

**UNIVERSIDAD DE LA
REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SEPARACIÓN TRANSITORIA DE LA MADRE SOBRE EL
VÍNCULO ENTRE CORDEROS MELLIZOS**

por

KUSMINSKY Ivanna

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción animal
MODALIDAD Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2024

PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:



Madeleine Guerrero

Segundo miembro (Tutor):



Daniela Casuriaga

Tercer miembro:



Rodolfo Ungerfeld

Fecha:

04/04/2025

Autores:

Ivana Kliminsky 

nombre completo y firma

nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi tutora, Dra. Daniela Casuriaga Mallmann, por su amabilidad, apoyo y constante dedicación.

A los co-tutores, Dres. Aline Freitas-de-Melo y Rodolfo Ungerfeld, por confiarne este trabajo y dedicarme su tiempo.

A la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República por formarme como profesional durante toda la carrera.

A la escuela rural n°89 y al Liceo Rural de San Antonio, Salto. Por ser pilares fundamentales en mi formación académica.

A la Estación Experimental Las Brujas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) por permitir el uso de los animales y sus instalaciones para llevar a cabo el experimento.

A la biblioteca de Facultad de Veterinaria por ayudarme en la búsqueda y corrección de bibliografía.

A la Bach. Sofia Ackermann por su colaboración en las observaciones a campo y en el registro de datos.

A mi Esposo por siempre alentarme, ayudarme e impulsarme en todo y a mi bebé Elena que viene en camino bancándose todos estos meses de trabajo y estudio.

A mis padres Emilio, Karina, mis hermanos, Héctor, Diego, Paulina y al resto de mi familia, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible. Este título es de todos ustedes.

A mis Amigas por siempre estar motivándome y atentas cuando las necesitaba.

TABLA DE CONTENIDO

1	RESUMEN.....	5
2	SUMMARY	6
3	INTRODUCCION GENERAL.....	7
4	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
4.1	Organización y reconocimiento social en ovinos.....	8
4.2	Vínculos sociales en ovinos	9
4.2.1	Metodologías para el estudio de vínculos sociales en ovinos	9
4.2.2	Vínculo madre-cría y desarrollo de los corderos.....	10
4.2.3	Vínculo entre corderos mellizos.....	11
5	HIPÓTESIS.....	12
6	OBJETIVOS.....	13
7	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
7.1	Local de estudio, animales y su manejo.....	13
7.2	Distancia entre animales	14
7.2.1	Área de observación.....	14
7.2.2	Fotografías aéreas y medición de las distancias entre individuos	14
7.3	Registros de comportamiento	15
7.4	Análisis estadístico.....	16
8	RESULTADOS	17
8.1	Distancia entre hermanos vs otros corderos del grupo	17
8.2	Registros de comportamiento	18
8.2.1	Posturas: parado, echado y caminando	18
8.2.2	Comportamientos alimenticios: pastando y rumiando	19
8.2.3	Vocalizaciones.....	20
9	DISCUSIÓN.....	21
10	CONCLUSIONES.....	23
11	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 RESUMEN

El vínculo entre corderos mellizos es el segundo vínculo que se establece en la vida de los mismos. El vínculo entre hermanos se caracteriza por una proximidad física estrecha y una preferencia mutua, influenciado por el cuidado de la madre. A pesar de que los corderos mellizos muestran una clara preferencia por interactuar entre sí durante la lactancia, la influencia de la madre en este vínculo social ha sido escasamente investigada y no se han encontrado reportes sobre como la intensidad de este vínculo se modifica cuando la madre no está presente transitoriamente. Por ello, se planteó estudiar el efecto de la separación transitoria de la madre sobre la distancia entre corderos mellizos durante la lactancia. Se midió la distancia entre corderos y se compararon las siguientes mediciones: 1) la distancia entre cada cordero y su hermano y 2) la distancia promedio de cada mellizo hacia los otros corderos del grupo sin considerar a su hermano, en presencia y ausencia de la madre. En los días 81, 82 y 83, las madres y sus corderos fueron separados temporalmente durante aproximadamente 2 h. El trabajo de campo se realizó en la Estación Experimental Las Brujas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) (Canelones, Uruguay). Se utilizaron 20 ovejas multiparas y sus respectivos corderos mellizos. Se delimitó un cuadrilátero para la observación de los animales (67 m x 47 m x 73 m x 49 m) en el interior del potrero de 3,1 ha, colocando mallas eléctricas en sus bordes. A los 79, 81, 82 y 83 días de edad de los corderos, se tomaron fotografías aéreas del área de observación con un drone (DJI Mavic Air 2, Guangdong, China), volando a una altura de 39 m cada 20 minutos desde las 08:00 h hasta las 09:40 h, totalizando 6 fotografías/día. En cada registro se tomaron 2 fotografías que cubrían la totalidad del área de observación, presentando aproximadamente un 10% de superposición entre ambas. Las fotografías fueron alineadas y luego se realizaron las mediciones de distancia entre los corderos mediante el programa Photoshop (Adobe Systems Incorporated, versión 22.5.1). Para ello, se consideró la distancia mínima entre los dos individuos. Además, se registraron los siguientes comportamientos: caminando, echado, parado, rumiando y pastando. Los registros de comportamiento se hicieron en forma paralela a los registros fotográficos con una frecuencia cada 10 min mediante muestreo de barrido (scan). Las vocalizaciones se registraron usando un muestreo 0/1. La distancia entre los corderos mellizos fue menor respecto a la distancia promedio hacia los otros corderos del grupo antes y después de la separación maternal transitoria ($10,3 \pm 0,8$ m vs. $19,0 \pm 0,8$ m, respectivamente $P < 0,0001$). Se observó un aumento en la frecuencia de las vocalizaciones de los corderos, pero los demás comportamientos no se modificaron de acuerdo a la presencia o no de la madre. Del estudio realizado se concluyó que la intensidad del vínculo social entre corderos mellizos se mantiene durante la separación maternal transitoria, confirmando la existencia de un vínculo preferencial entre corderos mellizos que podría ser independiente de la presencia de la madre.

2 SUMMARY

The social bond between twin lambs is the second relationship to be established in the life of sibling lambs. This bond is characterized by physical closeness and mutual preference, which is influenced by maternal care. Although twin lambs show a clear preference for interacting with each other during lactation, the influence of the mother on this social bond has been scarcely investigated and no reports have been found on how the intensity of this bond is modified when the mother is temporary separated. Therefore, we study the effect of temporary maternal separation on the distances between twin lambs during lactation. Two types of distances were measured and compared: 1) the distance of each lamb from its sibling and 2) the mean distance from each twin to the other lambs of the flock without considering its sibling, in the presence of the mother or not. On days 81, 82 and 83, the mothers and their lambs were temporarily separated during 2 h approximately. The experiment was carried out at the Estación Experimental INIA Las Brujas Las Brujas Experimental Station of the National Institute of Agricultural Research (INIA) (Canelones, Uruguay) with 20 multiparous ewes and their twin lambs. A quadrilateral (67 m x 47 m x 73 m x 49 m) was delimited inside the 3.1 ha paddock for animal observation, placing electric nets at its edges. At 79, 81, 82 and 83 days of age, aerial photographs of the observation area were taken with a drone (DJI Mavic Air 2, Guangdong, China), flying at an altitude of 39 m every 20 minutes from 08:00 h to 09:40 h, totaling 6 photographs/day. For each recording, 2 photographs were taken covering the entire observation area, with approximately 10% overlap between them. The photographs were aligned and the distances between lambs were measured using Photoshop (Adobe Systems Incorporated, version 22.5.1). For this, the minimum distance between the two individuals was considered. In addition, the following behaviors were recorded: walking, lying, standing, ruminating and grazing. Behavioral recordings were recorded at the same period of the day that the pictures were taken at a frequency of every 10 min using scan sampling. Vocalizations were recorded using 0/1 sampling. The distance between twin lambs was smaller than the average distance to other lambs in the group before and after temporary maternal separation (10.3 ± 0.8 m vs. 19.0 ± 0.8 m, respectively $P < 0.0001$). An increase in the frequency of vocalizations of the lambs was observed, but the other behaviors did not change according to the presence or not of the mother. The study concluded that the intensity of the social bond between twin lambs is maintained during temporary maternal separation, indicating that the preferential bond between twin lambs could be independent of the mother's presence.

3 INTRODUCCION GENERAL

Los ovinos se caracterizan por ser individuos sociales y gregarios (Nowak et al., 2008). El reconocimiento entre individuos y el desarrollo de memoria social son mecanismos fundamentales para la organización del grupo, desempeñando un papel crucial en la supervivencia, reproducción y evolución de la especie (Ward et al., 2009). Debido a su carácter social. Los ovinos establecen vínculos con algunos de los individuos del grupo (Nowak et al., 2008). El vínculo madre-cría es el más fuerte y esencial, especialmente durante la lactancia, cuando la madre provee alimento, seguridad y enseña habilidades sociales y alimenticias a sus crías para su integración al grupo (Dwyer, 2007; Nowak & Boivin, 2015). Este vínculo se basa en la proximidad física, el cuidado materno y las interacciones que permiten a las crías reconocer a su madre mediante señales olfativas, visuales y auditivas (Freitas-de-Melo & Ungerfeld, 2016; 2022). A medida que el cordero crece, el vínculo con su madre experimenta cambios, especialmente asociados a la independencia nutricional y social que la cría va ganando de su madre (Weary et al., 2008). El vínculo madre-cría llega a su fin con el destete natural, el cual está influenciado por la alimentación de la oveja durante la gestación (Arnold et al., 1979). Este ocurre entre los 6 y los 12 meses de edad en ovinos silvestres (Geist, 1971; Grubb, 1974). A medida que progresla la lactancia, tanto la duración del amamantamiento como la producción de leche por parte de la madre disminuyen, mientras que, simultáneamente, se incrementa la cantidad y el tiempo de ingestión de alimentos sólidos por parte de las crías (Arnold et al., 1979; Freitas-de-Melo et al., 2018b). La distancia física entre ambos también aumenta gradualmente, y las interacciones sociales del cordero con otros miembros del grupo se intensifican (Weary et al., 2008).

El vínculo entre mellizos es el segundo que se establece en la vida de los corderos (Ligout,et al., 2004); Ligout & Porter, 2004). Se caracteriza por una proximidad física estrecha y una preferencia mutua, influenciado por el cuidado de la madre (Ligout et al., 2004; Walser et al., 1981). Los mellizos se reconocen a partir del séptimo día de vida mediante señales olfativas, auditivas y visuales (Ligout et al., 2004; Nowak & Lindsay, 1990). La presencia de la madre es necesaria para el establecimiento del vínculo entre corderos mellizos. La oveja, a partir del mes de vida de los corderos, oficia de “punto de encuentro” al permitirles amamantar en forma simultánea (Ewbank, 1964; 1967), generando así momentos de encuentro entre los hermanos. Aunque la cercanía entre corderos mellizos disminuye con el tiempo, los hermanos tienden a permanecer más juntos que con otros miembros del grupo (Abecia et al., 2022). En general, hay escasos estudios publicados sobre las bases del vínculo entre corderos mellizos, y la mayoría se centran en momentos específicos de la lactación (Ligout et al., 2004; Walser et al., 1981). Se ha demostrado que este vínculo se mantiene cuando la madre está presente (Casuriaga et al., 2022). Algunos estudios indican que el vínculo entre mellizos persiste incluso cuando la madre está ausente, y que su intensidad tiende a incrementarse durante los días posteriores al destete artificial (Casuriaga et al., 2022; 2024; Walser et al., 1981). Práctica que se realiza antes que el destete natural, y es caracterizado por el reemplazo completo del amamantamiento por alimentos sólidos (Weary et al., 2008; Brown 1964; Napolitano et al., 2008) Este manejo implica la separación de la oveja y su cordero, además de cambios nutricionales para el cordero, y del ambiente físico (comúnmente los corderos y las ovejas son llevados a potreros diferentes) y social (un ambiente que estaba formado por ovejas y corderos, será formado por solamente corderos u ovejas) (Brown 1964). La edad del destete artificial varía según el objetivo productivo Napolitano et al., 2008). Aunque los reportes son muy escasos Walser et al. (1986) y Casuriaga et al. (2024) reportaron que en los primeros días después del destete artificial, los corderos mellizos continúan siendo más cercanos entre sí respecto a otros corderos del grupo, sugiriendo que este vínculo se mantiene en ausencia de la madre. Esto dificulta conocer si el vínculo entre mellizos es mantenido por la madre o independiente de la presencia de esta. Entender las bases del vínculo social entre los corderos mellizos es clave para diseñar estrategias de manejo que favorezcan el bienestar de los ovinos. Por ejemplo, los corderos mellizos experimentan menores niveles de estrés y dolor durante procedimientos como el corte de cola cuando se mantienen juntos (Guesgen et al., 2014; Larrondo et al., 2020).

4 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Organización y reconocimiento social en ovinos

Los ovinos se caracterizan por ser individuos sociales y gregarios (Nowak et al., 2008). En condiciones silvestres, la organización de la majada se encuentra inherentemente ligada a la supervivencia, ajustándose para maximizar la obtención de alimentos y la defensa contra depredadores. La estructura social puede experimentar variaciones en escalas de tiempo cortas, sean días o semanas. Esto se debe a que los individuos ajustan sus interacciones en respuesta a cambios en el entorno, como la disponibilidad de recursos (Henzi et al., 2009; Sick et al., 2014) o por factores extrínsecos como ataques fallidos de depredadores, que causan que los miembros del grupo se separen temporalmente (Maldonado-Chaparro et al., 2018). El acceso al alimento se ve favorecido por la cooperación entre individuos que pueden reconocerse mutuamente. Según Tibbetts y Dale (2007), aquellos animales que pueden identificar a sus compañeros de grupo, son más propensos a formar asociaciones beneficiosas. Esta cooperación no solo maximiza el acceso a recursos, sino que también aumenta la eficacia en la defensa de estos frente a competidores. Además, la capacidad de reconocer a otros miembros del grupo fortalece las dinámicas de vigilancia. Según Frommen et al. (2007), los animales que pueden identificar a sus compañeros son más efectivos al alertar sobre la presencia de depredadores, lo que lleva a una respuesta más rápida y coordinada ante amenazas. Esto no solo aumenta las posibilidades de supervivencia para el grupo, sino que también mejora las oportunidades de reproducción al permitir que más individuos sobrevivan hasta la edad reproductiva.

En sistemas de producción, la estructura social de la majada se encuentra bajo la influencia directa del ser humano, quien determina la organización de la misma según sus objetivos productivos. Esto implica realizar ajustes en el tamaño, densidad, composición y movimientos del rebaño. Estas intervenciones pueden tener un impacto significativo en la estabilidad social, alterando sus dinámicas naturales y vínculos sociales, afectando su bienestar y comportamiento general (Estevez et al., 2007; Lynch et al., 1992). El manejo de las majadas se organiza para facilitar por ejemplo el periodo de apareamiento, los machos y hembras se agrupan para facilitar la encarnerada. Una vez finalizado este proceso, el grupo se reorganiza, quedando conformado exclusivamente por hembras y sus crías (Weller et al. 2018). Con excepción de separaciones temporales que se llevan a cabo para la realización de ciertos manejos puntuales como la señalada, madres y crías permanecen juntas hasta el destete artificial.

Comentado [GR1]: No aparece en referencias bibliográficas.

Comentado [IKH2]: Lo agregué

El reconocimiento entre individuos y el desarrollo de memoria social son mecanismos fundamentales para la organización del grupo, desempeñando un papel crucial en la supervivencia, reproducción y evolución de especies sociales (Ward et al., 2009). Este reconocimiento está dado por señales visuales, olfativas y auditivas (Freitas-de-Melo & Ungerfeld, 2016; 2022). Respecto a las señales visuales, Kendrick et al. (2001) reportó tienen la capacidad de aprender y recordar los rasgos faciales de al menos cincuenta ovinos con los que compartieron un mismo grupo social por dos años. Además, pueden reconocer caras de otros individuos mediante fotografías, presentando una mayor velocidad en la discriminación de las imágenes con los que habían sido previamente familiarizados (Da Costa et al., 2004). Tienen un sentido del olfato bien desarrollado, pudiendo discriminar olores de secreciones obtenidas de diferentes individuos (Kendrick, 2008). Las ovejas utilizan primariamente las señales olfativas para el reconocimiento de sus crías luego del parto, posteriormente. Las señales visuales y auditivas también actúan en el proceso de identificación entre la madre y sus crías (Kendrick 1994; Nowak et al., 2008). A diferencia de otras señales, las auditivas contribuyen a la identificación entre individuos a distancias mayores, especialmente en las interacciones entre la madre y sus crías a medida que los corderos crecen (Hinch et al., 1987; Nowak et al., 2008). Además de permitir el reconocimiento intraespecífico, las señales visuales, auditivas y olfativas se integran facilitando la comunicación entre individuos. En este sentido, tienen una buena percepción del movimiento y de la profundidad (Kendrick, 2008), reconociendo diferentes posturas asociadas a estados de alerta, al comportamiento sexual y de lucha (Kendrick et al., 1998). Pueden modificar el rango de frecuencia de sus vocalizaciones o emitir señales olfativas para comunicar estados emocionales (Boissy et al, 1998; Kendrick et al., 2001), permitiendo una mejor adaptación al entorno. Tienen la capacidad de percibir la presencia y el estado emocional

de sus congéneres, y esta conciencia influye en cómo responden al entorno. Como resultado, las interacciones con sus pares desempeñan un papel crucial en el bienestar de los mismos. (Veissier et al., 1998).

4.2 Vínculos sociales en ovinos

Como en otras especies sociales, los ovinos establecen vínculos con algunos de los integrantes del grupo. Estos vínculos determinan en gran medida la disposición de los individuos en el espacio, modulando así la organización social. Las relaciones sociales varían a lo largo de la vida en ovinos, pudiendo durar semanas o incluso años. El primer vínculo en establecerse y el más intenso es entre la madre y su cordero (Veissier et al., 1998), y en el caso de partos múltiples, en segundo lugar, sería entre hermanos (Ligout, Keller & Porter, 2004; Ligout, & Porter, 2004). El vínculo madre-cría se ha definido como un lazo emocional mutuo preferencial de duración relativamente larga que resiste las separaciones temporales (Newberry & Swanson, 2008). También existen asociaciones entre individuos no emparentados que se fortalecen cuando las crías son separadas de su madre (Arnold & Grassia, 1985; Fraser & Broom, 1990; Veissier et al., 1998; Walser & Williams, 1986). En el caso de corderos mellizos, Walser et al. (1986) y Casuriaga et al. (2024) reportaron que en los primeros días después del destete artificial, los corderos mellizos continúan siendo más cercanos entre sí respecto a otros corderos del grupo, sugiriendo que este vínculo se mantiene en ausencia de la madre.

4.2.1 Metodologías para el estudio de vínculos sociales en ovinos

Existen diversas formas de comprobar la presencia de un vínculo entre dos individuos. Una de ellas es analizar el grado de proximidad que mantienen los mismos, ya que los animales que poseen un vínculo permanecen más juntos entre sí, que con otros individuos del grupo (Ozella et al., 2022). El vínculo entre corderos mellizos ha sido evaluado mediante esta forma. Por ejemplo, se ha registrado la frecuencia con la que los hermanos se encontraban juntos dentro de una zona determinada (Walser et al., 1981). Asimismo, se ha medido subjetivamente la cercanía entre los hermanos mellizos a partir de longitudes corporales y se ha determinado el número de veces en que el hermano era el individuo más cercano a su cordero mellizo (Casuriaga et al., 2022). Además, se ha evaluado el tiempo en que los hermanos permanecen juntos en comparación con otros corderos del grupo (Abecia et al., 2022).

Otra manera de comprobar que existe un vínculo social entre dos individuos es evaluando la prioridad de un animal por otro, lo que se realiza mediante un test estandarizado, conocido como prueba de preferencia. Esta prueba, se determina midiendo variables como tiempo que el animal demora en acercarse al individuo con el cual tiene el vínculo y el tiempo que permanece junto a él (Freitas-de-Melo et al., 2022). Esta se ha utilizado para el estudio del vínculo entre corderos mellizos (Ligout et al., 2004) y para estudiar el vínculo madre-cría (Nowak et al., 1989; Ungerfeld et al., 2018). Los corderos mellizos presentan preferencia por su hermano en relación a otro cordero a partir del séptimo día de vida (Ligout et al., 2004; Nowak & Lindsay., 1990). Esto sugiere que la prueba de preferencia podría no ser siempre el mejor método para evaluar el vínculo entre hermanos.

La medición de la respuesta de estrés desencadenada a partir de la separación de los individuos que mantienen el vínculo, es otra forma de evaluar la existencia e intensidad del mismo (Freitas-de-Melo y Ungerfeld, 2016). En este sentido, la intensidad de la respuesta de estrés a la separación de los individuos, puede utilizarse para determinar la intensidad del vínculo entre los mismos. Este tipo de método ha sido utilizado fundamentalmente para la evaluación del vínculo madre-cría (Freitas-de-Melo et al., 2018). La prueba de separación-reunión es una prueba estandarizada que consiste en la separación transitoria de la madre y su cría, observándose un incremento en las vocalizaciones y en la temperatura rectal durante el período de separación (Freitas-de-Melo et al., 2018). Esta respuesta se reduce cuando los individuos se reencuentran, lo que indica la existencia del vínculo (Freitas-de-Melo et al., 2018a). La respuesta de estrés a la separación también puede evaluarse luego de una separación definitiva tal como sucede al destete, se caracteriza por un aumento de las vocalizaciones, del tiempo que el animal pasa

parado y caminando, y costeando (caminar contra el alambrado repetidamente) (Freitas-de-Melo et al., 2016; 2022). Estos comportamientos reflejan estrés y tienen un impacto productivo negativo, ya que al aumentar los comportamientos relacionados con la búsqueda de la cría o de la madre, las ovejas y corderos reducen los comportamientos de alimentación y descanso (Damián et al., 2013; Freitas-de-Melo et al., 2016; Freitas-de-Melo et al., 2017). Sin embargo, no hemos encontrado trabajos que reporten el uso de esta metodología para la evaluación del vínculo entre hermanos.

Comentado [GR3]: No aparecen en referencias bibliográficas

Comentado [IKH4]: Están ambas.

4.2.2 Vínculo madre-cría y desarrollo de los corderos

El vínculo madre-cría es fuerte, selectivo y se establece durante las primeras horas posparto (Nowak et al., 2008). Cuando se aproxima el momento del parto, las ovejas tienden a aislarse del resto de la majada, eligiendo un sitio donde parir (Lynch et al., 1990). Esto favorece el reconocimiento y cuidado de las crías por parte de su propia madre, evitando interferencias con otras ovejas de la majada. La selectividad materna es clave para la supervivencia de sus crías. La aceptación del cordero por parte de su madre implica que la misma proeve los cuidados maternos selectivos y que permita que el cordero se amamante (Dwyer & Lawrence, 2005; Dwyer, 2007; Dwyer, 2014). A su vez, estarechaza agresivamente a todos aquellos corderos que intenten amamantarse y que no hubieran sido previamente identificados como sus crías (Numan et al., 2006). El reconocimiento de la cría se produce dentro de las 2 horas posparto (Nowak et al., 2011), lo que está influenciado por la experiencia materna previa (Keller et al., 2003; Nowak et al., 2011). Durante las primeras horas posparto, las ovejas son fuertemente atraídas por el líquido amniótico que recubre a los recién nacidos (Poindron & Le Neindre, 1980). La madre limpia a sus corderos, estimulando el reconocimiento olfativo de los mismos (Banchero et al., 2005). Seguido a esto, estimula a que los corderos se paren y logren amamantarse lo cual indica su aceptación hacia el cordero (Nowak et al., 2007). La búsqueda activa de la madre y su ubre por parte del cordero refuerza el comportamiento maternal de la oveja, fortaleciendo el vínculo madre-cría (Mora-medina et al., 2016). Los corderos logran diferenciar a su madre de otras ovejas en un lapso de 24 horas posteriores al parto, esta capacidad de discriminación mejora con el transcurso de los días (Nowak et al., 1989). Aproximadamente a los tres días de vida, el cordero reconoce a su madre a través de la visión y audición (Searby & Jouventin, 2003). A medida que el cordero crece, integra las diferentes señales (olfativas, visuales y auditivas) en el reconocimiento de la madre, y va teniendo un rol más activo en el mantenimiento de este vínculo (Hinch et al., 1987). La madre es un referente social para sus crías y desempeña un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento de los vínculos sociales de las mismas. La interacción del cordero con su madre estimula su capacidad de aprendizaje y promueve su posterior integración a la majada. En esta etapa, la madre es un modelo social a partir del cual el cordero aprende como pastar, seleccionar los alimentos para ingerir y como vincularse con los demás individuos del grupo (Napolitano et al., 2008; Nicol, 1995; 2008; Nowak et al., 2008; Veissier et al., 1998). El adecuado establecimiento y el mantenimiento del vínculo madre-cría en ovinos es crucial para el desarrollo de los corderos y su bienestar a largo plazo, ya que la madre proporciona alimento y una base segura desde la que explorar el entorno y desarrollar vínculos sociales (Curley & Keverne, 2005; Nowak & Boivin, 2015).

La intensidad del vínculo madre-cría cambia a lo largo de la lactancia. Durante los primeros días y semanas de vida, la cría depende completamente de su madre, las ovejas permiten a los corderos mamar todas las veces que ellos lo requieren y existe una gran cercanía entre la madre y sus crías (Hinch, 1989). Durante el posparto, el desarrollo nutricional y social de la cría es gradual. A medida que los corderos crecen, la oveja comienza a restringir el amamantamiento, lo que lleva a que la producción láctea comience a decaer (Banchero et al., 2005; Fonséca et al., 2016). Debido a esto, los corderos comienzan a sustituir su dieta líquida por una sólida, aumentando la frecuencia de pastoreo y, consecuentemente su desarrollo ruminal (Lyford, 1988). Estos cambios nutricionales favorecen que el cordero aumente el tiempo destinado al pastoreo, desplazándose más y estableciendo así nuevas interacciones sociales con otros corderos. A partir del mes de vida el cordero busca socializar con otros corderos, aumentando su distancia de la madre (Hinch et al., 1987). Ésta aumenta desde el nacimiento hasta el destete natural (Hinch et al., 1987). El cual es un proceso progresivo a partir del que las crías adquieren independencia nutricional y social de su madre (Weaby et al., 2008), en condiciones silvestres ocurre entre los 6 y 12 meses de edad (Geist 1971; Grubb, 1974). En los sistemas de producción

se practica el destete artificial, manejo productivo que implica la realización del destete a edades en las que las crías aún tienen un vínculo social fuerte con la madre, provocando alteraciones conductuales y fisiológicas en ambos individuos (Newberry & Swanson, 2008; Weary et al., 2008). Cuando se produce la separación definitiva de la madre, los corderos experimentan estrés (Freitas-de-Melo et al., 2022). Luego del destete las relaciones sociales entre corderos tienen que reorganizarse por completo, lo que lleva al desarrollo de una organización social nueva. Durante estos períodos disminuye la distancia entre individuos y aumenta la sincronía de actividades y encuentros sociales (Veissier et al., 1998). Se ha sugerido que la transmisión del aprendizaje entre semejantes puede mejorar después del destete (Fraser & Broom., 1990; Veissier et al., 1998).

Comentado [GR5]: Anteriormente, tanto en la introducción como en otras secciones de la revisión bibliográfica, se menciona varias veces el concepto "destete artificial", sin explicar de qué se trata. Tal vez sería bueno que la definición que se da a continuación, se de la primera vez que se hace referencia a dicho manejo.

Comentado [IKH6]: Ahora Lo describi mas arriba, en la pag 7

4.2.3 Vínculo entre corderos mellizos

Los corderos mellizos desarrollan un vínculo social preferencial entre si poco tiempo después del nacimiento (Walser et al., 1981). Al mes de edad los hermanos pasan más tiempo juntos que con otros corderos del grupo (Abecia et al., 2022). Además, Ozella et al. (2022) reportaron que, en corderos mellizos entre 7 y 28 días de edad, el grado de asociación entre los hermanos es mayor respecto al que mantienen con su madre. El reconocimiento ocurre a partir del séptimo día de vida, y está basado en una combinación de señales visuales, olfativas y auditivas (Ligout et al., 2004a; 2004b; Nowak, 1991). A los 20 días de vida, responden preferencialmente a las vocalizaciones de su hermano en comparación con las de corderos desconocidos (Ligout et al., 2004a). Los hermanos demuestran preferencia por interactuar con su mellizo aún si los mismos no pueden verse ni oírse, lo que demuestra el reconocimiento olfativo (Ligout et al., 2004b). Además, en el mismo trabajo, Ligout et al. (2004b) demostraron que corderos mellizos, a los que se les administró un anestésico local en las fosas nasales para bloquear la percepción olfativa, igualmente mostraron preferencia por su hermano respecto a un cordero desconocido. Estos trabajos demuestran que el reconocimiento entre hermanos es multisensorial.

Comentado [GR7]: No aparecen en referencias bibliográficas

Comentado [IKH8]: Revise y si están ambas referencias.

La presencia de la madre juega un papel fundamental en la formación del vínculo entre mellizos. Se ha reportado que los corderos mellizos criados por sus madres desarrollan preferencia por su hermano mientras que aquellos corderos criados artificialmente no lo hacen (Ligout et al., 2004). Las ovejas melíckeras favorecen el amamantamiento sincrónico de sus crías, evitando que sus crías mamen por separado (Ewbank, 1964), contribuyendo a una mayor cercanía entre los mellizos respecto a otros individuos del grupo. Por tanto, la madre establece un punto de encuentro entre los hermanos para la realización de una actividad placentera (mamar), que genera liberación de oxitocina (neurohormona asociada al establecimiento de vínculos sociales) en la madre y en sus crías (Nowak et al., 2007; 2021). Esto da lugar a una interacción temprana y prolongada entre los hermanos que no está presente en los corderos criados artificialmente, lo que explicaría que los mismos no desarrolle preferencia por su hermano (Ligout et al., 2004). Se ha reportado que los corderos desarrollan nuevos lazos sociales con sus congéneres (Weary et al., 2008), pudiendo establecer relaciones de amistad como previamente fue reportado en bovinos (Bouissou & Andrieu, 1978).

La distancia entre corderos mellizos aumenta durante la lactación, posiblemente debido al desarrollo de nuevas interacciones sociales con otros miembros del grupo por parte de cada mellizo, especialmente durante el pastoreo (Casuriaga et al., 2024; Ozella et al., 2022). Además, el aumento de la distancia entre los hermanos podría ser consecuencia de una disminución del vínculo con la madre. Sin embargo, es interesante observar que la distancia hacia la madre no parece variar significativamente, sugiriendo que el vínculo materno se mantiene constante (Casuriaga et al., 2024). Las nuevas interacciones sociales se establecen dentro del radio de cercanía con la madre, ya que la misma continúa siendo el contacto social más importante. Esto demuestra el papel crucial que juega la madre en la vida del cordero durante esta fase, y posiblemente en el vínculo entre hermanos (Ramírez et al., 2011). A pesar de que los corderos mellizos se distancian a medida que crecen, los mismos siguen manteniendo una mayor preferencia por interactuar entre sí en comparación con los demás corderos del grupo (Casuriaga et al., 2022). Se ha demostrado que este vínculo se mantiene al menos durante la lactación, cuando la madre está presente (Casuriaga et al., 2022). Debido al rol que cumple la madre en el mantenimiento del vínculo durante la lactación podría esperarse que la intensidad del vínculo

entre mellizos disminuya luego de la separación de la madre. Sin embargo, son muy pocos los trabajos que estudiaron el vínculo entre mellizos luego de la separación de la madre. Walser et al. (1986) y Casuriaga et al. (2024) reportaron que en los primeros días después del destete artificial, los corderos mellizos continúan siendo más cercanos entre sí respecto a otros corderos del grupo, sugiriendo que este vínculo se mantiene en ausencia de la madre, aunque los reportes son muy escasos. Esto dificulta conocer si vínculo entre mellizos es mantenido por la madre o independiente de la presencia de esta.

5 HIPÓTESIS

El vínculo preferencial entre corderos mellizos se mantiene durante la separación transitoria de la madre.

6 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Determinar si el vínculo preferencial entre corderos mellizos se mantiene durante la separación transitoria de la madre.

4.2 Objetivos específicos:

- 1) Determinar si la separación transitoria de la madre a los 81, 82 y 83 días de edad afecta la relación entre la distancia entre los corderos mellizos y con otros individuos del grupo social.
- 2) Determinar si la separación transitoria de la madre afecta el comportamiento de los corderos mellizos.

|

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Local de estudio, animales y su manejo

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental Las Brujas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) en Canelones, Uruguay, a 34° S. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética del INIA (INIA.2020.17). Se utilizaron 11 ovejas Milchschaaf ($56,6 \pm 2,8$ kg) y sus corderos mellizos (3 pares de hembras, 2 pares de machos y 6

pares de ambos sexos) y 9 ovejas Finnish Landrace ($52,2 \pm 3,3$ kg) y sus corderos mellizos (3 pares de hembras, 3 pares de machos y 3 pares de ambos sexos). Todas las ovejas eran multíparas. Las pariciones se llevaron a cabo en invierno, a fines de agosto. Se realizó el control de parición, y las ovejas paridas permanecieron en parideras durante 48 horas con sus respectivos corderos. Los corderos machos fueron castrados a las 24 horas de nacidos mediante anillos de goma.

Durante el experimento, los animales pastorearon en una pradera de Dactylis, Lotus y Trébol blanco en una superficie de 5,8 hectáreas (disponibilidad de forraje: 1000 kg materia seca/ha; altura promedio de la pastura: 8,9 cm), con libre acceso a agua y sombra natural. Durante los primeros 21 días posparto, las ovejas y sus corderos pastorearon a cielo abierto durante el día (07:00 h a 18:30 h), y permanecieron dentro de un galpón durante la noche (18:30 h a 07:00 h), donde se les suministró 300 gramos de maíz quebrado por oveja. Desde el Día 22 hasta el final del experimento, los animales pastorearon a cielo abierto.

7.2 Distancia entre animales

7.2.1 Área de observación

Se midió la distancia entre corderos mellizos en presencia y ausencia de la madre. Para eso, se delimitó un área de observación de 67 m x 47 m x 73 m x 49 m, utilizando mallas eléctricas. Los animales se introdujeron en dicha área 30 minutos antes de iniciar los registros. Dentro del área de observación, se dispusieron 12 escalas de 5 metros que se utilizaron como referencia para medir las distancias entre todos los corderos del grupo durante las observaciones. Además, se pintaron 15 cruces en el suelo que sirvieron como guía para la toma de fotografías aéreas (Figura 1). Las ovejas se identificaron mediante números pintados en la zona dorsal y lateral, mientras que los corderos se identificaron mediante una combinación de símbolos y colores en la zona dorsal y números en los laterales (Figura 1B). La identificación realizada en la zona dorsal se realizó con el propósito de simplificar la identificación de los animales en las fotografías aéreas, mientras que la identificación en los laterales facilitó la observación y registro del comportamiento a nivel terrestre.

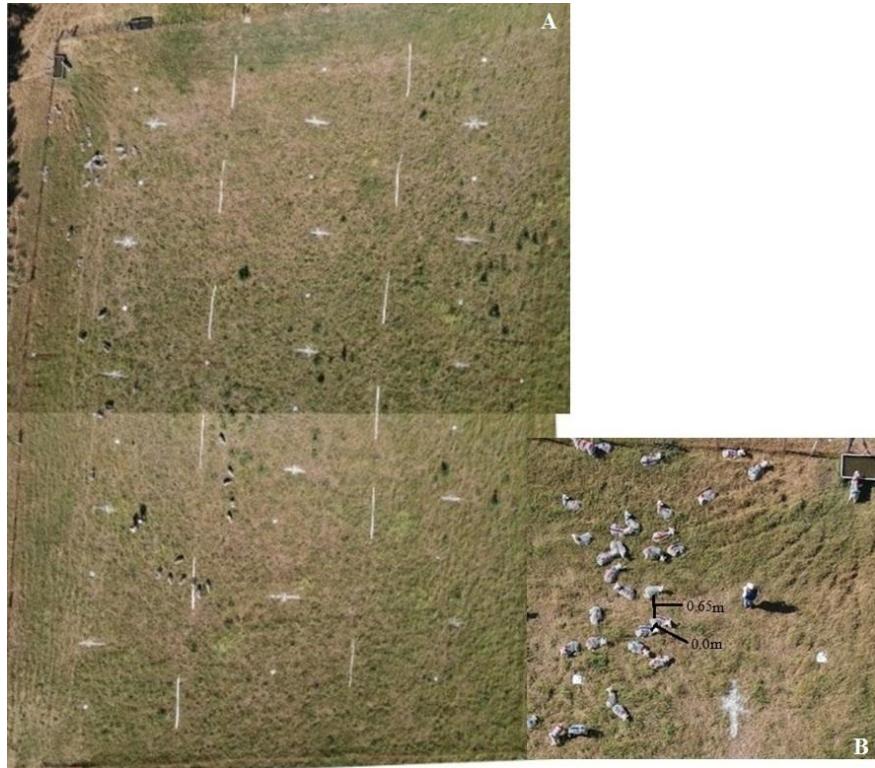
7.2.2 Fotografías aéreas y medición de las distancias entre individuos

La distancia entre animales se midió a partir de fotos aéreas tomadas con un drone (DJI Mavic Air 2, Guangdong, China) volando a 39 m. Antes de comenzar los registros, los animales se habituaron al uso del drone varias veces hasta que no se observaron cambios comportamentales. En los días 81, 82 y 83, las madres y sus corderos fueron separados temporalmente. Para eso, desde las 07:30 h hasta las 10:15 h, se trasladaron a las madres a un galpón cerrado donde no tenían contacto visual, táctil o auditivo con sus crías. Las fotografías se tomaron antes (Día 79) y después de la separación transitoria de la madre (Días 81, 82 y 83) desde las 08:00 h hasta las 09:40 h cada 20 min, totalizando 6 fotografías/día. Además, el día 80, de 08:00 h a 10:00 h, ovejas y corderos fueron acostumbrados a la separación materna temporal para minimizar la influencia del estrés provocado por la separación abrupta de la madre en el comportamiento de los corderos (Freitas- de-Melo et al., 2022).

En cada muestreo, se tomaron 2 fotos con un 10% de superposición entre ellas para crear una imagen completa del área donde se encontraban los animales (Figura 1 A). Para asegurar la superposición entre las fotografías, ambas fotos incluyeron las mismas cruces pintadas en el suelo en el área de observación (Figura 1A). Al momento de capturar cada fotografía, se tomó cuidado que estas cruces aparecieran en las mismas fotos para tener una referencia al momento de la alineación de las dos fotos. Se analizaron las figuras mediante Photoshop 2021 (Adobe Systems Incorporated, v22.5.1.441). Primeramente, se alineaban las fotografías considerando las cruces dibujadas en las zonas de superposición. Posteriormente, se identificaron a los corderos con números del 1 al 40 en las fotografías utilizando la herramienta "capa" del Photoshop, lo que se hizo para agilizar las mediciones. Por ejemplo, el cordero identificado con dos cruces rojas sobre su dorso con el número 17 en color verde sobre su lateral, se identificó como el número 1 en el programa Photoshop. Su hermano mellizo, que tenía los mismos símbolos y números pintados, en color azul, recibió el número 2 y así sucesivamente para los

siguientes corderos. Para las mediciones de las distancias se utilizó la herramienta "regla" del Photoshop. En cada registro se midió el número de píxeles de cada escala, y se hizo corresponder el promedio de los píxeles de todas las escalas con una distancia de 5 m. Se calculó el coeficiente de variación en la medición de las escalas de 5 m en el 10 % de las fotografías, el mismo fue de 1,5%. Este procedimiento se realizó individualmente para cada registro fotográfico. Se midieron las distancias entre corderos, considerando siempre la distancia mínima entre los dos individuos, independientemente de la parte del cuerpo implicada. Por ejemplo, de las patas de un individuo a la cabeza de otro, de cabeza a cabeza, de cuartos a cabeza, etc. (Figura 1B). Cada medición se registró en hojas de cálculo de Excel, especificada para cada día, la hora de la toma fotográfica y el individuo medido. Se calculó el promedio de las distancias de cada mellizo en relación a los demás individuos del grupo, sin considerar al hermano.

Figura 1. A) Fotografía aérea del potrero de observación. La imagen completa del potrero se construyó a partir de 2 fotos tomadas con un drone volando a 39 m de altura, con una superposición de 10% entre sí y se alinearon para construir una imagen completa del potrero de observación, B) Identificación de los animales mediante una combinación de símbolos y colores pintados en la zona dorsal de los corderos y números en los laterales. Ejemplo de la medición de distancias entre hermanos mellizos y con otros corderos del grupo.



7.3 Registros de comportamiento

Dos observadores entrenados registraron los comportamientos: parado, echado, caminando, pastando, rumiando y vocalizando en los mismos momentos en los que se tomaron las fotografías (ver Sección 5.2.2). Los mismos se registraron mediante muestreo de barrido (scan), totalizando 11 registros/día. Las vocalizaciones se registraron utilizando muestreo focal.

7.4 Análisis estadístico

Se verificó la normalidad de los residuos con el test de Shapiro-Wilk. Todos los datos fueron analizados con un modelo mixto (SAS Institute, Cary, NC, EE.UU). Se midió la distancia entre corderos y se compararon las siguientes mediciones: 1) la distancia entre cada cordero y su hermano y 2) la distancia promedio de cada mellizo hacia los otros corderos del grupo sin considerar a su hermano. Para el análisis se utilizó un modelo mixto, incluyendo el sexo y la raza como factores aleatorios. Como factores fijos el modelo incluyó el tipo de medición, el tiempo (días) y la interacción entre ellos. Para evitar seudoréplica la madre fue incluida como factor aleatorio, agrupando los datos de los corderos mellizos a los de la madre.

Se calculó la frecuencia de cada comportamiento, la que se expresó como el porcentaje de las observaciones/día. Las frecuencias de parado, echado, caminando, pastando, rumiando y vocalizando se compararon usando un modelo mixto. El modelo incluyó el tiempo como efecto fijo y el sexo, la raza y la madre del cordero como efectos aleatorios. Los datos se presentan como MMC ± EEM. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si $p \leq 0,05$ y las tendencias cuando $0,05 < p \leq 0,1$.

8 RESULTADOS

8.1 Distancia entre hermanos vs otros corderos del grupo

La distancia entre hermanos fue menor que la distancia promedio en relación a otros corderos del grupo ($10,3 \pm 0,8$ m vs. $19,0 \pm 0,8$ m, distancia promedio a su hermano y a otros corderos respectivamente, $P < 0,0001$). Las distancias variaron a lo largo del tiempo ($P < 0,0001$). Hubo interacción entre el tipo de distancias y el tiempo ($P = 0,02$). En todos los días, la distancia entre hermanos fue menor que la distancia promedio en relación a otros corderos del grupo ($P < 0,0001$). La distancia entre hermanos y la distancia promedio en relación a otros corderos del grupo disminuyó desde el día 79 así como también lo hizo al día 81 ($P = 0,0002$ y $P < 0,0001$). Entre el día 81 al 82, la distancia promedio en relación a otros corderos del grupo disminuyó ($P = 0,02$), mientras que la distancia entre hermanos no cambió durante el mismo período. Ambas distancias se incrementaron desde el Día 82 al 83 para la distancia entre hermanos y el promedio de la distancia a otros individuos del grupo ($P < 0,0001$ en ambos) (Figura 2).

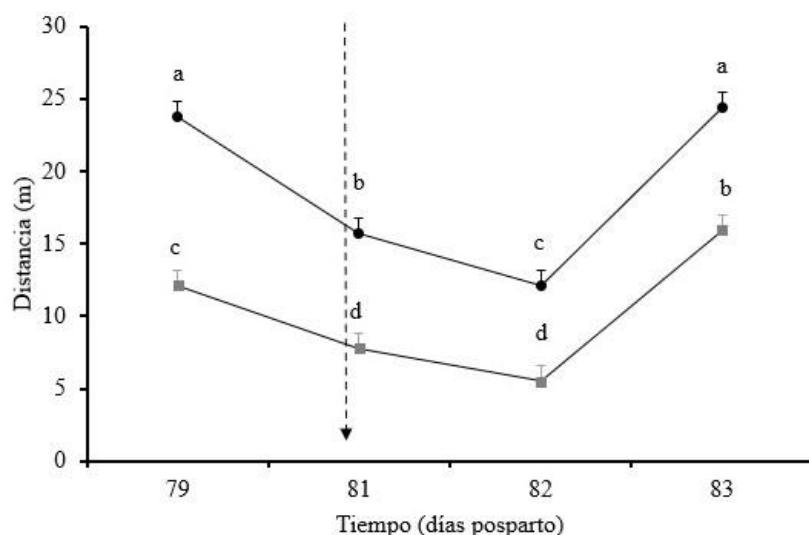


Figura 2. Distancia (MMC ± EEM) entre hermanos (-■-) y distancia promedio de cada mellizo con respecto a los otros corderos del grupo (-●-) antes y después de la separación transitoria de la madre (79, 81, 82 y 83 días de edad). Los días 79, 81, 82 y 83 los corderos se separaron temporalmente de sus madres durante 2 horas. Letras diferentes indican diferencias en el tiempo ($P < 0,05$). Flecha indica inicio separación transitoria maternal.

8.2 Registros de comportamiento

8.2.1 Posturas: parado, echado y caminando

El tiempo afectó el porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron parados ($P < 0,0002$) y echados ($P < 0,0001$). El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron parados aumentó desde el día 82 al 83 ($P < 0,0001$), manteniéndose sin cambios entre los días 79, 81 y 82. (Figura 3A). El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron echados disminuyó desde el día 82 al 83 ($P < 0,0001$), manteniéndose sin cambios en los días 79, 81 y 82. (Figura 3B). No hubo efecto del tiempo en el porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron caminando (Figura 3C).

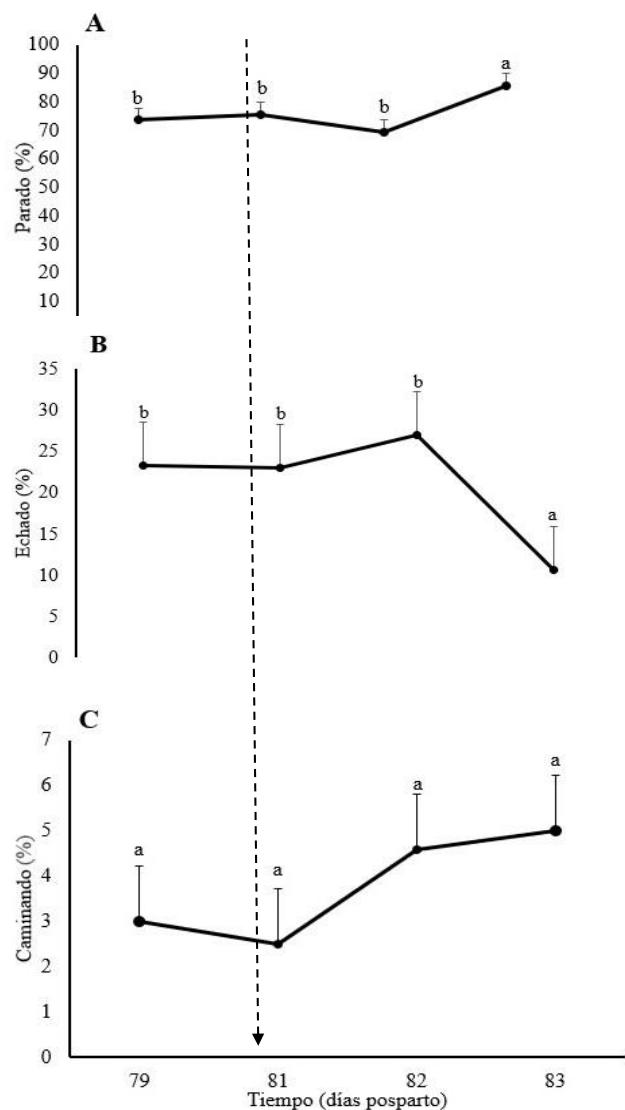


Figura 3. Porcentaje (MMC ± EEM) de observaciones en que los corderos fueron observados (A) parados, (B) echados y (C) caminando durante los días 79, 81, 82 y 83 posparto. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P < 0,05$). Flecha indica día de inicio de separación temporal.

8.2.2 Comportamientos alimenticios: pastando y rumiando

El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron pastando y rumiando varió a lo largo del tiempo ($P < 0,001$, para ambos). El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron pastando aumentó desde el día 82 al 83 ($P < 0,001$), manteniéndose sin cambios en los días 79, 81 y 82 ($P < 0,001$). (Figura 4A).

El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron rumiando disminuyó desde el día 82 al 83 ($P < 0,001$), manteniéndose sin cambios en los días 79, 81 y 82 (Figura 4B).

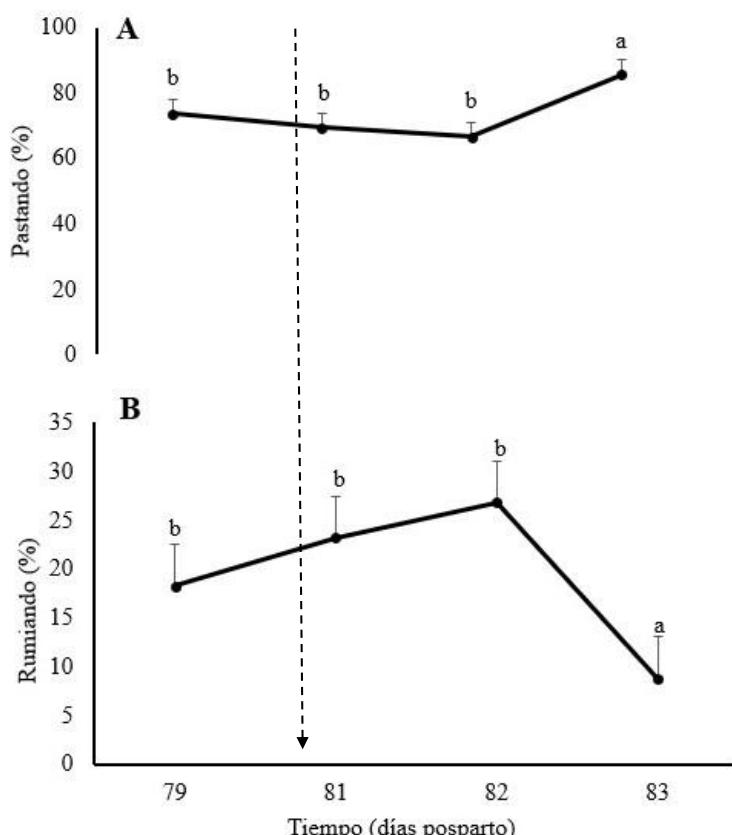


Figura 4. Porcentaje (MMC ± EEM) de observaciones en que los corderos fueron observados (A) pastando y (B) rumiando durante los días 79, 81, 82 y 83 posparto. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P < 0,05$). Flecha indica día de inicio de separación temporal.

8.2.3 Vocalizaciones

El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron vocalizando varió con el tiempo ($P < 0,001$). El porcentaje de observaciones en que los corderos estuvieron vocalizando aumentó el día 79 y 81 ($P < 0,001$), disminuyó desde el día 81 al 82 ($P < 0,001$), manteniéndose sin cambios entre los días 82 y 83. Los valores observados al día 83 fueron similares a los valores del día 79 ($P < 0,001$) (Figura 5).

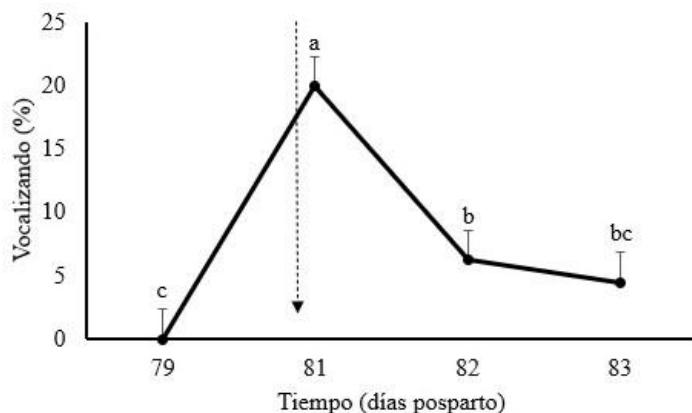


Figura 5. Porcentaje (MMC ± EEM) de observaciones en que los corderos fueron observados vocalizando durante los días 79, 81, 82 y 83 posparto. Diferentes letras indican diferencias en el tiempo ($P < 0,001$). Flecha indica día de inicio de separación temporal.

9 DISCUSIÓN

Los corderos estuvieron más cerca de su hermano mellizo que de los otros corderos del grupo independientemente de la separación maternal transitoria. Esto sugiere que el vínculo entre corderos mellizos se mantiene en el periodo de lactación independiente de la presencia de la madre. En ovinos, la distancia entre individuos se considera un indicador de la intensidad del vínculo entre los mismos (Abecia et al., 2022; Casuriaga et al., 2022; Walser et al., 1981). Por ello, los corderos mellizos posiblemente tenían un vínculo social preferencial entre sí en relación a los otros corderos del grupo, que se mantuvo durante las separaciones transitorias de la madre. De forma similar, Casuriaga et al. (2022) reportaron que la mayor cercanía entre hermanos en comparación con otros corderos del grupo persiste durante varios días después del destete artificial, debilitándose gradualmente luego del mismo.

El primer día de la separación maternal transitoria, se observó un aumento de la cercanía entre todos los corderos del grupo y del número de vocalizaciones. Este aumento de la cohesión del grupo podría indicar que los corderos percibieron la pérdida transitoria de la madre como una situación estresante, desencadenando respuestas de alarma, similares a las observadas ante la presencia de un predador (Dwyer, 2004). El incremento en la frecuencia de vocalizaciones el primer día de la separación maternal transitoria indica la existencia de un fuerte vínculo madre-cría, y la dependencia de los corderos por sus madres (Freitas-de-Melo et al., 2017; 2018). La separación madre-cría a edades en las que las crías aún tienen un vínculo social fuerte con la madre, y son dependientes de la misma, provocan alteraciones conductuales y fisiológicas indicadoras de estrés en ambos individuos (Newberry & Swanson, 2008; Weary et al., 2008). Las vocalizaciones de los corderos están asociadas con la búsqueda de la madre, y su aumento podría interpretarse como una estrategia para maximizar sus posibilidades de reencuentro con la misma (Lindström, 2016).

El segundo día de la separación maternal transitoria, la distancia entre hermanos no cambió respecto al día anterior, mientras que el promedio de las distancias hacia otros individuos continuó disminuyendo. Esto podría indicar que la cercanía entre hermanos confiere cierto grado de protección mutua en ausencia de la madre, o que no depende solamente de la presencia de la misma. En este sentido, los corderos mellizos separados de su madre y aislados del grupo social vocalizan menos cuando están acompañados de su hermano en comparación con aquellos que son separados de él y acompañados con un cordero desconocido (Porter et al., 1995). El tercer día de separación maternal, la distancia entre mellizos y la distancia promedio hacia los otros individuos del grupo aumentó y hubo una disminución en el número de vocalizaciones. Posiblemente esto se debe a que los corderos sufrieron un acostumbramiento a las separaciones y aprendieron que la madre regresaría al grupo social. El aumento de la dispersión de los corderos en el espacio durante la ausencia de la madre podría estar asociado a estados menos estresados o más relajados, y por consiguiente a un mayor tiempo dedicado a la exploración del entorno. Asimismo, este incremento de la dispersión de los corderos del grupo coincidió con un aumento de la frecuencia de pastoreo, que también podría haber permitido un aumento del número de interacciones sociales entre los corderos en relación al inicio del periodo (Ozella et al., 2022). Una mayor cantidad de interacciones sociales en el grupo podría promover el desarrollo de nuevas preferencias sociales para cada hermano, pudiendo explicar el aumento de la distancia entre los mismos observada al final del experimento.

En el presente trabajo, no se registraron cambios en las frecuencias de los comportamientos de alimentación y descanso (echado, pastando, rumiando) durante los primeros dos días de la separación maternal. Esto sugiere que la ausencia transitoria de la madre no fue percibida por los corderos como una situación de elevado grado de estrés, como ocurre luego del destete artificial (Freitas-de-Melo et al., 2022). Como se mencionó anteriormente, se especula que los corderos aprendieron que la madre regresaría al grupo social a partir de la repetición de la separación maternal transitoria, por consiguiente, el comportamiento de los corderos no fue afectado de manera importante. La adaptación gradual a la separación materna jugó un papel clave en la moderación de los efectos de la ausencia de la misma. Esto permite interpretar con mayor confiabilidad que los cambios en la distancia entre hermanos en relación a los demás corderos del grupo, posiblemente fue producto de la ausencia de la madre y no de la respuesta de estrés o miedo desencadenada luego de la separación materna.

Al tercer día de la separación maternal transitoria la frecuencia de vocalizaciones, uno de los principales indicadores de estrés luego de la separación maternal (Freitas-de-Melo et al., 2022), volvió a los valores basales, indicando que posiblemente los corderos estaban dedicados a actividades diferentes a la búsqueda de la madre. Por ejemplo, se observó un incremento en la frecuencia de pastoreo y del comportamiento parado y una reducción en las frecuencias echado y rumiando. El aumento del tiempo parado, posiblemente estaba asociado al aumento en la frecuencia de pastoreo, ya que en los ovinos estos comportamientos normalmente ocurren asociados (Lynch, 1992). Por consecuencia, se registró una reducción en el tiempo en que los corderos fueron observados echados, ya que esta conducta disminuye con el aumento del tiempo parado. Aunque la reducción en el tiempo de rumia es un indicador confiable de la activación de la respuesta de estrés (Freitas-de-Melo, et al., 2016), la disminución en la frecuencia de esta conducta el tercer día de la separación material posiblemente no estaba relacionada al mismo, ya que la frecuencia de los demás comportamientos no indicaba haber estrés.

Los resultados de esta Tesis establecen bases para futuros estudios aplicados y abren alternativas para estudiar el vínculo entre corderos mellizos. Al comprender más profundamente los mecanismos de formación de los vínculos sociales se puede optimizar el bienestar animal, mejorar las prácticas de manejo y obtener una visión más completa del comportamiento ovino. Por ejemplo se podría evitar la separación de los hermanos cuando se realizan manejos puntuales en corrales, así como evaluar el efecto de la presencia del hermano sobre la respuesta de su mellizo ante un agente estresor. Asimismo, cabría preguntarse ¿los corderos mellizos que tienen vínculos fuertes entre sí durante la lactancia logran mejores indicadores productivos (ganancia de peso, calidad de la lana) a largo plazo si se mantienen juntos? A nivel genético sería desafiante comprender cómo interactúan los factores genéticos y ambientales en la formación de los vínculos sociales, y cómo se adaptan los vínculos sociales a los cambios en el entorno social.

Las investigaciones en vínculos sociales tienen el potencial de transformar nuestra comprensión hacia estos animales. Al combinar enfoques etológicos, neurobiológicos y genéticos, podemos construir un conocimiento sólido y detallado de los factores que influyen en las relaciones sociales en los ovinos.

10 CONCLUSIONES

El vínculo preferencial entre los corderos mellizos se mantuvo durante las separaciones transitorias de la madre, ya que la distancia entre los corderos mellizos fue menor respecto a la distancia promedio hacia los otros corderos del grupo independientemente de la presencia de la madre. Por tanto, el mantenimiento del vínculo entre corderos mellizos durante el periodo de lactación no es completamente dependiente de la presencia de la madre. En los primeros días de la separación maternal transitoria se observó un aumento en la frecuencia de las vocalizaciones de los corderos, pero no hubo cambios en los demás comportamientos. Esto sugiere que los cambios observados en las distancias entre individuos fueron en mayor grado debido a la ausencia de la madre y en menor grado por el estrés desencadenado por la separación madre-cría.

11 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia, J. A., Canudo, C., Palacios, C., & Canto, F. (2022). Measuring lamb activity during lactation by actigraphy. *Chronobiology International*, 39(10), 1368-1380.
- Arnold, G.W., & Grassia, A. (1985). Spatial relationships between ewes and lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 14, 253-261.
- Arnold, G. W., Wallace, S. R., & Maller RA. (1979). Some factors involved in natural weaning processes in sheep. *Applied Animal Ethology* 5:43-50.
- Banchero G., Quintans G., Milton J., & Lindsay D. (2005). Comportamiento maternal y vigor de los corderos al parto: efecto de la carga fetal y la condición corporal. *INIA Serie de Actividades de Difusión*, 342, 13-18.
- Bouissou, M., & Andrieu, S. (1978). Etablissement des relations préférentielles chez les bovins domestiques. *Behaviour*, 64, 148-157.
- Boissy, A., Bouix, J., Orgeur, P., Poindron, P., Bibé, B. y Le neindre, P., (2005). Genetic analysis of emotional reactivity in sheep: effects of the genotypes of the lambs and of their dams. *Genetics Selection, Evolution*. 37, 381-401
- Brown, T.H. (1964). Early weaning of lambs. *Agric Science*. (63):191-204.
- Casuriaga, D., Ungerfeld, R., Ciappesoni, G., & Freitas-de-Melo, A. (2022). Lambs are more stressed at early weaning when housed with their twin. *Tropical Animal Health and Production*, 54, 123.
- Casuriaga, D., Ungerfeld, R., Ciappesoni, G., & Freitas-de-Melo, A. (2024). Growing up side by side: Social attachment between twin lambs and the role of the mother's presence. *Applied Animal Behaviour Science*, 276, 106322.
- Curley, J.P., & Keverne, E.B. (2005). Genes, brains and mammalian social bonds. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 561-567.
- Da Costa, A. P., Leigh, A. E., Man, M. S., & Kendrick, K. M. (2004). Face pictures reduce behavioural, autonomic, endocrine and neural indices of stress and fear in sheep. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1552), 2077-2084.
- Damián, J. P., Hötzl, M. J., Banchero, G., & Ungerfeld, R. (2013). Behavioural response of grazing lambs to changes associated with feeding and separation from their mothers at weaning. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 913-918.
- Dwyer, C. M. (2004). How has the risk of predation shaped the behavioural responses of sheep to fear and distress?. *Animal Welfare*, 13(3), 269-281.
- Dwyer, C. (2007). Genetic and physiological determinants of maternal behavior and lamb survival: implications for low-input sheep management. *Journal of Animal Science*. 86, 246-258.
- Dwyer, C. (2014). Maternal behaviour and lamb survival: from neuroendocrinology to practical application. *Animal*, 8(1), 102-112.
- Dwyer, C., & Lawrence A.B. (2005). A review of the behavioural and physiological adaptations of hill and lowland breeds of sheep that favour lamb survival. *Applied Animal Behaviour Science*, 93, 235-260.
- Estevez, I., Andersen, I. L., & Navdal, E. (2007). Group size, density and social dynamics in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science*, 103, 185-204.
- Ewbank, E. (1967). Nursing and suckling behaviour amongst Clun Forest ewes and lambs. *Animal Behaviour*, 15, 251-258.

- Ewbank, R. (1964). Observations on the suckling habits of twin lambs. *Animal Behaviour*, 12, 34-37.
- Fraser, A. F., & Broom, D.M. (1990). *Farm animal behaviour and welfare* (3a ed.). Bailliere Tindall.
- Fonseca, V.F.C., Saraiva, E.P., Arruda, M.F., Pereira, W.E., Pimenta Filho, E.C., Santos, S.G.C.G., & Silva, J.A. (2016). Mother-offspring relationship in Morada Nova sheep bred in atropical semiarid environment: a perspective on maternal investment and parental conflict. *Applied Animal Behaviour Science*, 183, 51-58.
- Freitas-de-Melo, A., Agrati, D., Rodriguez, M. G. K., Pérez-Clariget, R., & Ungerfeld, R. (2022). Sex or maternal care? Nursing oestrous ewes prefer to interact with rams over their lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 257, 105800.
- Freitas-de-Melo, A., & Ungerfeld, R. (2016). Artificial weaning in sheep: stress response and animal welfare. *Revista Mexico Science*, 3, 361-375.
- Freitas-de-Melo, A., & Ungerfeld, R. (2022). Mother-offspring bond in sheep: implications for animal welfare". *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 123.
- Freitas-de-Melo. A., Terrazas, A., Ungerfeld, R., Hötzeld, M., Orihuela, A., & Pérez-Clariget, R. (2017). Early mother-young relationship and feeding behaviour of lambs are unaffected by low pasture allowance until the beginning of the last third of gestation in single-bearing ewes. *Animal Production*, 58, 930-936.
- Freitas-de-Melo. A., Terrazas, A., Ungerfeld, R., Hötzeld, M., Orihuela, A., & Pérez-Clariget, R. (2018). Influence of low pasture allowance during pregnancy on the attachment between ewes and their lambs at birth and during lactation. *Applied Animal Behaviour Science*, 199, 9-16.
- Frommen, J., Mehlis, M., Brendler, C., & Bakker, T. (2007). Shoaling decisions in three-spined sticklebacks. *Gasterosteus aculeatus*, familiarity, kinship and inbreeding. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61(4), 533-539.
- Guesgen, M. J., Beausoleil, N. J., Minot, E. O., Stewart, M., & Stafford, K. J. (2014). Social context and other factors influence the behavioural expression of pain by lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 159, 41-49.
- Geist, V. (1971). Behavior of ewes and lambs. En G. B. Schaller (Ed.), *Mountain Sheep* (pp. 239-255). University of Chicago Press.
- Grubb, P. (1974). Social organization of Soay sheep and the behaviour of ewes and lambs. En *Island Survivors* (pp. 131-159). Athlone.
- Henzi, S., Lusseau, D., Weingrill, T., Van Schaik, C., & Barrett, L. (2009). Cyclicity in the structure of female baboon social networks. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63(7), 1015-1021.
- Hinch, G.N. (1989). The suckling behaviour of triple, twin and single lambs at pasture. *Applied Animal Behaviour Science*, 22, 39-48.
- Hinch, G. N., Lecrivain, E., Lynch, J. J., & Elwin, R. L. (1987). Changes in maternal-young associations with increasing age of lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 17, 305-318.
- Keller, M., Meurisse, M., Poindron, P., Nowak, R., Ferreira, G., Shayit, M., & Levy F. (2003) Maternal experience influences the establishment of visual, auditory, but not olfactory recognition of the newborn lamb by ewes at parturition. *Developmental Psychobiology*, 43, 167-176.
- Kendrick, K. M. (1998). Neurobiological correlates of visual and olfactory recognition in sheep. *Behavioural Processes*, 33, 89-112.

- Kendrick, K. M., da Costa, A. P., Leigh, A. E., Hinton, M. R., & Peirce, J. W. (2001). Sheep don't forget a face. *Nature*, 414(6860), 165-166.
- Larrondo, C., Orihuela, A., Strappini, A., Acosta-Jamett, G., Mota-Rojas, D., & Gallo, C. (2020). Provision of straw and the presence of undocked lambs reduce the behavioural and physiological expressions of pain and stress associated with tail docking in lambs: a preliminary study. *Animal Production Science*, 61(4), 423-431.
- Ligout, S., Keller, M., & Porter, R.H. (2004a). The role of olfactory cues in the discrimination of agemates by lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 68, 785-792.
- Ligout, S., & Porter, R.H. (2004b). Effect of maternal presence on the development of social relationships among lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 88, 47-59.
- Lindström, K. (2016). Vocalizations and the response of ewes to the calls of their lambs. *Behaviour Processes*, 131, 45-51.
- Lyford, S.J. (1988). Growth and development of the ruminant digestive system. En D.C. Church (Ed.), *The Ruminant Animal* (pp. 44-63). Waveland.
- Lynch, J. J., Hinch, G. N., & Adams, D. B. (1992). The behaviour of sheep. Biological principles and implications for production. CAB International and CSIRO.
- Lynch, J.J., Leng, R.A., Hinch, G.N., Nolan, J., Bindon, B.M., Piper, & L.R. (1990). Effects of cottonseed supplementation on birth weights and survival of lambs from a range of litter sizes. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 18, 516.
- Maldonado-Chaparro, A., Alarcón-Nieto, G., Klarevas-Irby, J., & Farine. D. (2018). Experimental disturbances reveal group-level costs of social instability. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285, 20181577.
- Mora-Medina, P., Orihuela, A., Arch-Tirado, E., Roldán-Santiago, P., Terrazas, A., & Mota-Rojas, D. (2016). Sensory factors involved in mother-young bonding in sheep: a review. *Veterinární medicína*, 61(11), 595-611.
- Napolitano F., De Rosa G., & Sevi A. (2008). Welfare implications of artificial rearing and early weaning sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 110, 58-72.
- Negritu, G., Codreanu, N (2009). Behavior interferences in sheep, according to physiological status, ontogenetic development and social organization. *Scientific Works*, 55, 63-67.
- Newberry, R.C., & Swanson, J.C. (2008). Implications of breaking mother-young social bonds. *Applied Animal Behaviour Science*, 110, 3-23.
- Nicol, C. J. (1995). The social transmission of information and behavior. *Applied Animal Behaviour Science*, 44, 79-98.
- Nowak, R., & Boivin, X. (2015). Filial attachment in sheep: similarities and differences between ewe-lamb and human-lamb relationships. *Applied Animal Behaviour Science*, 164, 12-28.
- Nowak, R., Keller, M., & Levy, F. (2011). Mother-Young Relationships in Sheep. A Model for a Multidisciplinary Approach of the Study of Attachment in Mammal. *Journal of Neuroendocrinology*, 23, 1042-1053.
- Nowak, R., Keller, M., Val Lailler, D., & Levy, F. (2007). Perinatal visceral events and brain mechanisms involved the development of mother-young bonding in sheep. *Hormones and Behaviour*, 52, 92-98.
- Nowak, R., Lévy, F., Chaillou, E., Cornilleau, F., Cognié, J., Marnet, P. G., & Keller, M. (2021). Neonatal suckling, oxytocin, and early infant attachment to the mother. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 612651.

- Nowak, R., & Lindsay, D.R. (1990). Effect of breed and litter size on mother discrimination by 12-h-old lambs. *Behaviour*, 115, 1-13.
- Nowak, R., Poindron, P., & Putu, I. G. (1989). Development of mother discrimination by single and multiple newborn lambs. *Developmental Psychobiology*, 22, 833-845.
- Nowak, R., Porter, R. H., Blache, D., & Dwyer, C. M. (2008). Behaviour and the welfare of the sheep. En *The welfare of sheep* (pp. 81-134). Springer.
- Numan, M., Fleming, A., & Levy, F. (2006) Maternal behavior. En J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (pp. 1921-1994). Academic Press.
- Ozella, L., Price, E., Langford, J., Lewis, K. E., Cattuto, C., & Croft, D. P. (2022). Association networks and social temporal dynamics in ewes and lambs. *Applied Animal Behaviour*
- Poindron, P., & Le Neindre, P. (1980). Endocrine and sensory regulation of the maternal behavior in the ewe. *Advances in the Study of Behaviour*, 11, 75-119.
- Porter, R. H., Nowak, R., & Orgeur, P. (1995). Influence of a conspecific agemate on distress bleating by lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 45, 239-244.
- Ramírez, M.G., Soto, R., Poindron, P., Álvarez, L., Valencia, J. D., González, F. R., & Terrazas, A. M. (2011). Comportamiento maternal alrededor del parto y reconocimiento madre-cría en ovinos Pelibuey. *Veterinaria México*, 42(1), 11-25.
- Searby, A., & Jouventin, P. (2003). Mother-lamb acoustic recognition in sheep: a frequency coding. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Science*, 270(1526), 1765-1771.
- Sick, C., Carter Alecia, J., Marshall, H., Knapp, L., Dabelsteen, T., & Cowlishaw, G. (2014). Evidence for varying social strategies across the day in chacma baboons. *Biology Letters*, 10, 20140249.
- Walser, E., Willadsen, S., & Hague, P. (1981). Pair association between lambs of different breeds born to Jacob and Dalesbred ewes after embryo transplantation. *Applied Animal Behaviour Ethology*, 7, 351-358.
- Walser, E., & Williams, T. (1986). Pair-association in twin lambs before and after weaning. *Applied Animal Behaviour Science*, 15, 241-245.
- Tibbetts, E., & Dale, J. (2007) Individual recognition: it is good to be different. *Trends Ecology Evolution*, 22(10), 529-537.
- Ungerfeld, R., Freitas-de-Melo, A., Nowak, R., & Lévy, F. (2018). Preference for the mother does not last long after weaning at 3 months of age in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 205, 28-33.
- Veissier, I., Boissy, A., Nowak, R., Orgeur, P., & Poindron, P. (1998). Ontogeny of social awareness in domestic herbivores. *Applied Animal Behaviour Science*, 57, 233-245.
- Ward, A., Webster, M., Magurran, A., Currie, S., & Krause, J. (2009). Species and population differences in social recognition between fishes: a role for ecology?. *Behaviour Ecology*, 20, 511-516
- Weary, D.M., Jasper, J., & Hotze, I. M. (2008). Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, 110, 24-41.
- Weller, M. (2018). Sheep management practices: Understanding the welfare implications. *Small Ruminant Research*, 165, 52-58.