

EFFECTOS DEL ESTRÉS PRENATAL POR CALOR EN LA REACCIÓN EMOCIONAL Y CONDUCTUAL DE CABRITAS DURANTE LA CRIA

Coloma, W., Mehaba, N., Such, X., Salama, A.A.K., y Caja, G.
Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal i dels Aliments,
Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra
E-mail: ahmed.salama@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Existe evidencia de que las condiciones ambientales a las que se vean sometidas las madres durante la gestación, modifican la programación fetal por medio de cambios fisiológicos y epigenéticos (Viltart y Vanbesien-Mailliot, 2007). Como consecuencia se condicionan de forma permanentemente el comportamiento, la salud y la productividad de su descendencia. Estudios en animales han mostrado que episodios de estrés durante la gestación tienen efectos negativos en la vida postnatal de la descendencia. Entre ellos destacan: reducción de la duración de la gestación y del peso al nacimiento (Seckl, 2001; Schneider et al., 1998; Schroeder et al., 2012), alteración del sistema inmune (Tuchscherer et al., 2002), reducción de las capacidades neuromotoras (locomoción, exploración y aprendizaje) (Vallée, 1997; Schneider et al., 2002; Hove et al., 2014), alteración del comportamiento sexual (Ordian et al., 2006) y reducción de la interacción social con episodios consistentes con depresión (Weinstock, 2001).

Aunque los efectos conductuales y neuroendocrinos del estrés prenatal se han estudiado ampliamente, se sabe poco de los efectos del estrés por calor en la especie caprina y su desarrollo en etapas posteriores. Se desconoce además si, un tipo concreto de estrés durante la vida fetal, podría condicionar la respuesta a otros tipos de estrés durante la posterior vida postnatal.

El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del estrés por calor en cabras al inicio de gestación, sobre la reacción de la descendencia a estreses de tipo emocional y conductual.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las condiciones de manejo y cuidado de los animales fueron realizados bajo procedimientos establecidos por el Comité Ético de Experimentación Animal y Humana de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra, referencia CEEAH 3419).

Características, tratamientos y manejo de las cabras: Se utilizaron 30 cabras lecheras multíparas de raza Murciano-Granadina ($41,8 \pm 5,7$ kg) que fueron divididas en 6 grupos equilibrados de 5 cabras, que se asignaron a tratamientos experimentales de temperatura ambiente durante el periodo anterior (d 1-12) y posterior (d 13-57) a la cubrición. Para ello se realizó una sincronización con esponjas vaginales (Sincropart 30 mg; Ceva Salud animal, Barcelona) y aplicación de eGC (400 UI) a su retirada (d 12). A partir del d 13, las cabras fueron cubiertas 2 veces por monta dirigida. Los tratamientos ambientales fueron (humedad relativa, 50-60%; fotoperiodo luz-oscuridad, 12-12 h):

- Termo-neutralidad (TN; n = 15): $15-20^{\circ}\text{C}$ durante todo el día y la noche
- Estrés por calor (EC; n = 15): $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante el día y $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante la noche.

Las cabras se ordeñaron 2 veces al día (8 y 17 h), en las correspondientes condiciones ambientales, y recibieron una ración total mezclada (forraje: concentrado, 70:30) de acuerdo con sus necesidades y agua a voluntad. Durante los días de duración de los tratamientos se midió la ingestión de alimento, y 2 veces/sem, la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria. A los 21 y 45 d después de la cubrición se realizó un diagnóstico de preñez mediante ecografía transrectal. A partir del día 45 de gestación todas las cabras se juntaron en un solo lote y siguieron el mismo manejo en condiciones semi-intensivas, con pastoreo (6 h/d) en praderas de secano y complementación en aprisco. Dos semanas antes de la fecha esperada de parto, las cabras se pesaron y se trasladaron a corrales de parto bajo vigilancia permanente.

Características, tratamientos y manejo de los cabritos: Inmediatamente después del parto los cabritos fueron separados de sus madres, pesados, desinfectados sus ombligos con una solución yodada e identificados con crotales oficiales. A continuación, recibieron el calostro de sus propias madres y se criaron todos juntos con leche artificial (150 g/L, Elvor, Saint-

Brice, Francia) mediante una amamantadora automática (Foerster-technik, Gerwigstr, Engen, Alemania) en un corral con calefacción (20°C) y cama de paja. Los cabritos macho se sacrificaron a los 9-10 kg de PV.

Los cabritos hembra (TN, n = 16; EC, n =10) a los 30 ± 15 d de edad (final del periodo de cría) se sometieron de forma individual a 2 test de comportamiento, de acuerdo con la metodología de Rouseel et al. (2005):

- Test de entorno nuevo (TEN): 5 d consecutivos.
- Test de objeto nuevo (TON): 1 d (48 h después de los TEN), utilizando un cono de tráfico con bandas rojas y blancas.

Ambos tests (8 min de duración) se realizaron en un local (arena) de 4×4×2 m, en cuyo suelo se pintaron con tiza blanca 9 cuadrados de 1.3×1.3 m. El acceso a la arena se realizó por una puerta de guillotina, colocada en el centro de uno de los lados, y conectada a una caja de 50×50×60 cm. Cada cabrita, elegida aleatoriamente, se colocó en la caja al inicio del test, abriendo la puerta 30 s después. Las variables medidas fueron: tiempo de recorrido hacia delante, número de cuadrados recorridos, número de saltos, número de husmeos de la arena y número de vocalizaciones.

Para el TON, las cabritas fueron llevadas nuevamente a la arena colocando el cono de tráfico en el centro del lado opuesto a la puerta de entrada. Además de las variables medidas en los TEN, se registró también el tiempo transcurrido hasta el primer husmeo del objeto nuevo y el número de husmeos.

Análisis estadísticos: Los datos obtenidos se analizaron como medidas repetidas mediante el procedimiento GLIMMIX para el TEN y PROC Genmod para el TON, ajustados a una distribución Poisson o a una negativa binomial para los datos de recuentos, o mediante el procedimiento MIXED bajo un modelo lineal mixto para los datos numéricos continuos con el paquete estadístico SAS v.9.1.3 (SAS Inst., Cary, NC, USA). Los modelos incluyeron el tratamiento (TN vs. EC) como efecto fijo y, en el caso de medidas repetidas, el día y su interacción con el tratamiento. Las diferencias se declararon a $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de estrés por calor las cabras EC tuvieron un 16% menos de ingestión ($P < 0,05$) y mayores temperatura rectal (+0,68°C; $P < 0,01$) y frecuencia respiratoria (+76 resp/min; $P < 0,01$), que las TN. Por otro lado, las cabras EC acortaron 3 d ($P < 0,01$) su gestación (Tabla 1). Consecuentemente, el peso al nacimiento de los cabritos fue un 7% menor en las EC, pero esta diferencia no fue significativa ($P < 0,13$).

Tabla 1. Prolificidad, peso al nacimiento de los cabritos y duración de la gestación en cabras sometidas a condiciones termo-neutras (TN) o estrés por calor (EC).

Item	TN	EC	EED ¹	P valor
Prolificidad, cabritos/cabra parida	2,31	2,23	0,31	0,806
Peso al nacimiento, kgPV	2,34	2,18	0,10	0,123
Gestación, d	146	143	1	0,002

¹EED = error estándar de la diferencia.

Los resultados de los test de comportamiento se han resumido en la Tabla 2. Durante los TEN, las cabritas EC realizaron un 21% menos de husmeos ($P < 0,01$) que las TN. Este test se utiliza para evaluar la expresión del miedo en cabras y ovejas (Forkman et al., 2007), interpretando que mayores husmeos corresponden a bajos niveles de miedo en cabras (Ruiz-Miranda y Callard, 1992). Este resultado concuerda con lo indicado por Roussel (2005) en cabritas nacidas de cabras expuestas a estrés por transporte a final de gestación, observando también una disminución del husmeo cuando las madres fueron tratadas con corticotropina. En cuanto al resto de variables medidas en los TEN, las cabritas nacidas de madres EC disminuyeron el número de cuadros recorridos ($P < 0,13$) y el número de vocalizaciones ($P < 0,10$), indicando una conducta menos reactiva. Finalmente, no se observaron diferencias entre TN y EC en el número de saltos ni el recorrido hacia delante.

Respecto al TON, se observó también una tendencia a la reducción (16%; $P < 0,10$) en el número de husmeos en las cabritas EC vs. TN, pero no se detectaron diferencias en el resto de variables medidas o en las interacciones con el objeto nuevo.

Tabla 2. Comportamiento de cabritas lactantes nacidas de madres sometidas a condiciones termo-neutras (TN) o de estrés por calor (EC) durante los primeros 45 d de gestación.

Variable	TN	EC	EED ¹	P valor
Cabritas, n	16	10	-	-
Test de entorno nuevo				
Cuadros recorridos, n	46,0	36,3	0,2	0,101
Saltos, n	3,2	2,2	0,5	0,442
Husmeos, n	32,8	26,2	0,1	0,008
Vocalizaciones, n	177	154	1	0,099
Recorrido hacia adelante, s	57,4	50,7	0,3	0,534
Test de objeto nuevo				
Cuadros recorridos, n	47,4	38,9	0,1	0,126
Saltos, n	4,8	2,3	0,5	0,412
Husmeos, n	36,1	30,0	0,1	0,093
Vocalizaciones, n	156	161	1	0,670
Recorrido hacia adelante, s	48,9	41,0	0,1	0,220
Husmeos del objeto nuevo, n	14,8	10,5	0,1	0,135
Latencia del primer husmeo al objeto nuevo, s	53,8	77,4	0,4	0,562

¹EED = error estándar de la diferencia.

En conclusión, el estrés por calor durante el periodo de cubrición hasta los primeros 45 días de gestación, reduce la duración de la gestación con efectos probables en el peso de los cabritos. Los resultados de los tests de comportamiento sugieren que la reactividad emocional de las cabritas se vio alterada por el estrés por calor sufrido en el útero. Resulta especialmente interesante observar como la exposición del feto a un tipo de estrés en el medio uterino (i.e., estrés por calor) puede modificar su capacidad de repuesta a otros tipos de estrés (e.g., estrés del entorno) en la vida postnatal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forkman, B., et al. 2007. *J. Physiol. Behav.* 92:340-374
- Hove, V., et al. 2014. *J. Neuropsychophar.* 24:595-607
- Ordian, N., et al. 2006. *J. Ross. Fiziol. Zh. Im. I. M. Sechen.* 92:1100-1110
- Roussel, S., et al. 2005. *Horm. Behav.* 47:256-266
- Ruiz-Miranda, C. & Callard, M. 1992. *J. Anim. Behav. Sci.* 33:277-285
- Schneider et al. 2002. *J. Psychoneuroendocrinology* 27: 285–298
- Schneider, M., et al. 1998. *J. Dev. Psychopathol.* 10(3): 40-427
- Schroeder, M., et al. 2012. *J. Dev. Psychobiol.* 55:176-192
- Seckl, J.R. 2001. *J. Mol. Cell. Endocrin.* 185:61-71
- Tuchscherer, M., et al. 2002. *J. Vet. Immunol. Immunop.* 86:195-203
- Valle, M., et al. 1997. *J. JNeurosci.* 17: 2626-2636
- Viltart, O., et al. 2007. *J. Sci. World* 1:1493-1537
- Weinstock, M. 2001. *J. Prog. Neurobiol.* 20:427-451.

Agradecimientos: Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto AGL2013-44061-R).

EFFECTS OF PRENATAL HEAT STRESS ON EMOTIONAL AND BEHAVIORAL REACTIONS OF MILK FED FEMALE GOAT KIDS

ABSTRACT: Murciano-Granadina goats (n=30; 41.8±5.70kg) were exposed to 2 treatments: thermal-neutral (TN; n=15; 15 to 20°C.); and heat stress (HS; n=15; 30 to 37°C). The TN and HS goats were maintained under the ambient treatment conditions from 15 d before mating until 45 d of pregnancy. Female kids born in TN (n=16) and HS (n=10) were used at 30±15 d age for novel arena test (NAT) and novel objet test (NOT). Compared to TN, HS goats had 3-d shorter pregnancy duration ($P<0.01$), and kids had 7% lower birth weight ($P<0.13$). In NAT, HS kids had lower number of sniffs ($P<0.01$) and vocalizations ($P<0.10$). In NOT, HS kids also tended to show lower number of sniffs ($P<0.10$). In conclusion, heat stress during the first third of pregnancy shortened the gestation length. Exposing the fetus in utero to a specific type of stress (i.e. heat stress) modifies its response to a different kind of stress (i.e. isolation in different environment) during the postnatal life.

Keywords: Heat stress, fetal programming, emotional reactivity, goat kids.