

## Comparación de la castración quirúrgica al nacimiento versus inmunocastración sobre el comportamiento conductual y parámetros sanguíneos (testosterona y cortisol) en machos Holstein en engorda

### Comparison of surgical castration at birth versus immunocastration on behavioural response and blood parameters (testosterone and cortisol) in Holstein fattening bulls

Cristina Pérez Linares<sup>1</sup>, Jorge Armando Cervantes Cazares<sup>1</sup>, Fernando Figueroa Saavedra<sup>1,4</sup>, Alma Rossana Tamayo Sosa<sup>1</sup>, Alberto Barreras Serrano<sup>1</sup>, Issa Carolina García Reynoso<sup>1</sup>, José Leonardo Bolado Sarabia<sup>2</sup>, Francisco Gerardo Ríos Rincón<sup>2</sup>, Luis Antonio García Vega<sup>3</sup>

#### RESUMEN

Se comparó el comportamiento conductual y parámetros sanguíneos en toros inmunocastrados y quirúrgicamente castrados. Se utilizaron 720 machos Holstein de 7-8 meses de edad y peso aproximado de 240 kg. Un grupo fue inmunocastrado mediante vacunación con Bopriva (vacuna comercial anti-GnRH) los días 1, 21, 101 y 181 días de engorda y el otro grupo fue castrado quirúrgicamente al nacimiento. Se tomaron muestras de sangre los días de las vacunaciones para la determinación de testosterona y los días 181 y durante el desangrado en el sacrificio para analizar cortisol sanguíneo. Se evaluó el comportamiento sexual (montas y signos de flehmen), agresivo (amenazas y topetazos) y social (olfateos, acicalamiento, cabeza baja y vocalizaciones) no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos. La concentración de testosterona en ambos tratamientos fue por debajo de 1 ng/ml en todos los muestreos. Los niveles de cortisol en el día 181 de engorda fueron más bajos ( $p < 0.05$ ) con respecto al día de sacrificio en ambos tratamientos. El peso al sacrificio (242 días de engorda) fue de 595.0 kg en machos inmunocastrados y 620.74 kg en castrados quirúrgicamente.

**Palabras clave:** Bopriva, machos castrados, hormonas, engorda

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México

<sup>3</sup> Ganadera Mexicali S.A. de C.V., Mexicali, Baja California, México

<sup>4</sup> E-mail: fernando\_figueroa@uabc.edu.mx

Recibido: 27 de enero de 2020

Aceptado para publicación: 18 de agosto de 2020

Publicado: 25 de noviembre de 2020

## ABSTRACT

The behavioural response and blood parameters were compared in immunocastrated and surgically castrated bovine males. In total, 720 Holstein males, 7-8 months old and approximately 240 kg body weight were used. One group was immunocastrated by vaccination with Bopriva (commercial anti-GnRH vaccine) on days 1, 21, 101 and 181 days of the fattening and the other group was surgically castrated at birth. Blood samples were taken on vaccination days for testosterone determination and on days 181 and during slaughtering to analyse blood cortisol. Sexual behaviour (mounts and flehmen signs) and aggressive (threats and head butting) and social behaviour (sniffing, grooming, lowered head, and vocalization) were evaluated, finding no significant differences between treatments. Testosterone concentration in both treatments was below 1 ng/ml in all samples. Cortisol levels on day 181 of fattening were lower ( $p < 0.05$ ) with respect to the day of slaughtering in both treatments. Slaughter weight (242 days fattening) was 595.0 kg in immunocastrated males and 620.74 kg in surgically castrated males.

**Key words:** Bopriva, castrated male, hormone, fattening

## INTRODUCCIÓN

La castración quirúrgica en la producción ganadera es una práctica que se realiza para disminuir el comportamiento agresivo y sexual de los machos y mejorar la calidad de la canal y la carne (Mach *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2015). La castración proporciona canales con un alto porcentaje de marmoleo y grasa subcutánea, lo cual es deseable para la comercialización en las plantas de sacrificio (Freitas *et al.*, 2008). Con el fin de evitar la castración quirúrgica, se han realizado estudios utilizando la inmunocastración a través de una vacuna (Amatayakul-Chantler *et al.*, 2012; Miguel *et al.*, 2014; Marti *et al.*, 2015; Andreo *et al.*, 2016).

La vacuna anti-GnRH estimula la producción de anticuerpos que neutralizan al GnRH, suprimiendo la función testicular y, como consecuencia, una disminución en la concentración de testosterona circulante, disminuyendo el comportamiento sexual y sodomías y mejorando la calidad de la canal (Jannet *et al.*, 2012; Pérez-Linares *et al.*, 2017). Se ha observado una disminución en

montas, topetazos, olfateos y signos de *flehmen* en machos Holstein utilizando Bopriva (Bolado-Sarabia *et al.*, 2018). Esta alternativa ha sido muy aceptada como una opción para garantizar el bienestar animal.

En México, se realiza la castración de los machos Holstein al día siguiente de nacido, de modo que el animal se encuentra recuperado cuando inicia el periodo de engorda (alrededor de los 7 meses); sin embargo, no se tienen registros sobre las repercusiones de la castración en el animal. Una de las formas de evaluar el estrés en el ganado es cuantificando los niveles de cortisol; no obstante, se debe considerar que la adaptación al estrés depende de las intensidad y tipo de experiencias en el manejo del ganado (Dodzi y Mochenje, 2011).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue comparar el comportamiento conductual y parámetros sanguíneos de testosterona y cortisol en machos Holstein castrados quirúrgicamente al nacimiento con el de inmunocastrados con Bopriva durante el periodo de engorda.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización Geográfica

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Mexicali, Baja California, México. La región se caracteriza por tener un clima seco desértico, con temperatura promedio de 34.7 °C (-5 °C en invierno y 50 °C en verano), precipitación pluvial de 37 mm y humedad relativa cerca del 50% (García, 2004).

### Diseño del Estudio

Se utilizaron 720 machos Holstein con edades entre 7 y 8 meses y peso promedio de 240 kg, procedentes de una empresa lechera localizada en la ciudad de Torreón, Coahuila. La empresa que engorda ganado recibe mensualmente cerca de 1500 machos. La castración quirúrgica se realizó en la empresa lechera a las 24 h de nacidos, tomándose al azar 360 animales castrados para formar en cuatro semanas cuatro corrales con 90 animales cada uno. Asimismo, se seleccionaron 360 machos enteros en un lapso de un mes, los que fueron distribuidos en cuatro corrales con 90 animales cada uno. Los animales castrados conformaron el primer grupo experimental (T1: machos castrados quirúrgicamente), mientras que los machos enteros conformaron el segundo grupo experimental (T2: machos inmunocastrados).

### Manejo del Ganado

Al día siguiente de la llegada de los animales a la empresa de engorda se les realiza el manejo rutinario que consiste en la aplicación del antiparasitario, vacunas para complejo respiratorio bovino y anticlostridial, descorne, y colocación de un implante a base de acetato de trembolona, estradiol y tilosina (Component TE-200, Laboratorio ELANCO, México) para aumentar la ganancia de peso y mejorar la conversión alimenticia. Además, a los animales de T2 se les administró 1 ml de Bopriva (Zoetis, Salud Animal, México), vía SC, como primer componente del esque-

ma de inmunocastración (1 ml a las 24 horas de la recepción – Día 1 –, y en los días 21, 101 y 181 del experimento). A los animales de T1 se les administró 1 ml de solución salina en las mismas fechas.

Se registró el peso vivo los días 1, 21, 101 y 181 del experimento y antes del sacrificio (día 242). Los animales fueron alimentados dos veces al día, siguiendo un sistema de seis dietas que cumplen con los requerimientos de proteína y energía (limitando la primera y aumentando la segunda entre dietas), fibra y minerales (Pond *et al.*, 2004). La base de ingredientes utilizados fue trigo hojueleado, sudán, cebo, una premezcla de minerales y DDG (granos secos de destilería). El uso de los DDG en la alimentación de bovinos está descrito por Klopfenstein *et al.* (2008), Depenbusch *et al.* (2009) y Pecka-Kie<sup>3b</sup> *et al.* (2017).

### Testosterona Sérica y Cortisol Plasmático

Se seleccionaron 10 animales aleatoriamente por cada corral para la determinación de los niveles de testosterona sérica y cortisol plasmático. Se colectaron muestras de sangre (5 ml) de la vena coccígea los días del esquema de inmunocastración, más una muestra adicional durante el desangrado tras el sacrificio en la línea de producción en la planta de sacrificio para la determinación de testosterona. Las muestras para determinar cortisol plasmático se colectaron en el día 181 y durante el desangrado en tubos con heparina de sodio.

Las muestras fueron centrifugadas a 1372 g para obtener el suero y plasma, respectivamente, usando una centrifuga TRIAC (Clay Adams 0200, USA). Los sueros y plasma se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. La concentración de testosterona sérica fue determinada usando el kit de testosterona ELISA (Bovine) Kit (Abnova Corporation, Taiwan), siguiendo las instrucciones del fabricante. El cortisol plasmático fue determinado con el Accu-Bind ELISA Microwells

Kit (Monobind, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

El análisis de las muestras se hizo en el Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California.

### Comportamiento Conductual

Se realizó una observación semanal por corral apoyados por dos observadores en forma simultánea (1 corral con machos castrados y 1 corral con machos inmunocastrados) durante una hora. Los observadores se colocaron en la parte frontal del corral para una mejor visión. Las observaciones se hicieron en horario matutino (entre 06:50 y 11:50 h) o en horario vespertino (12:30 y 17:40 h), a partir de la segunda vacunación con Bopriva (Día 21) y concluyó un día antes del sacrificio, haciendo un total de 30 visitas por corral.

Se registró el número de eventos por corral de cada tratamiento. Las variables para evaluar el comportamiento sexual fueron montas y signos de *flehmen*; el comportamiento agresivo mediante topetazos y amenazas; y el comportamiento social mediante olfateos, acicalamiento, cabeza baja y vocalizaciones.

Las montas se registraron cuando un animal se sube a otro animal por la parte trasera; el signo de *flehmen* consistió cuando el animal levanta el labio superior después de oler la región genital a otro animal; los topetazos se determinaron cuando dos animales se ponen frente a frente empujándose con las cabezas; los signos de amenazas fueron considerados cuando el animal baja la cabeza y patea con una pata delantera raspando el piso; el olfateo se registró cuando un animal olfateó a otro animal; el acicalamiento fue considerado si un animal lamia a otro animal en la cabeza, cuello u hombro; la cabeza baja fue registrada como un signo de sumisión hacia otro animal, y todos los tipos de vocalizaciones se registraron como evento social.

### Sacrificio

Los animales fueron sacrificados a los 242 días de engorda, con un promedio de peso vivo de  $607.8 \pm 12.9$  kg. Los animales fueron arreados por vaqueros a caballo hasta la planta de sacrificio (1 km de distancia), donde ingresaron a corrales de descanso con acceso a agua por cerca de 5 horas. Todos los animales fueron sacrificados en una planta de sacrificio Tipo Inspección Federal (TIF), siguiendo la metodología descrita en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, «Método para dar muerte a los animales domésticos y silvestres».

### Análisis Estadístico

Para comparar los niveles de testosterona entre tratamientos (castrados quirúrgicamente e inmunocastrados) y su comportamiento en el tiempo (a partir del día 21 de vacunación finalizando un día antes de su sacrificio) se utilizó un modelo de medidas repetidas en el tiempo que incluyó el efecto común más los efectos fijos del tratamiento, el factor tiempo, la interacción tratamiento\*tiempo y el efecto aleatorio del error experimental. Para estudiar la interacción tratamiento\*tiempo se modeló una estructura de covarianza entre los registros, evaluando tres posibles estructuras de covarianza: no estructurada [UN], simetría compuesta [CS] y auto regresiva de primer orden [AR(1)], a través del criterio de Akaike y de Schwartz, siendo la mejor la que presentó menores valores para estos dos indicadores.

El análisis de las variables de conducta (montas, topetazos, amenazas, signos de *flehmen*, olfateos, acicalamiento, cabeza baja y vocalizaciones) (30 visitas en total, además del tiempo de reposo *ante mortem* en los corrales de descanso) se realizó con el valor promedio sobre el total de eventos de los cuatro corrales por tratamiento. Para probar las diferencias entre tratamientos en su forma de comportamiento en los periodos se analizó utilizando un modelo lineal que incluía los efectos fijos de tratamiento y la interacción

tratamiento \* periodo como covariable, más el efecto aleatorio del error. La comparación entre pendientes se realizó con el estadístico t de Student y la comparación entre medias de tratamiento se realizó utilizando medias ajustadas por la covariable en el modelo. La significancia fue declarada para valores de  $p < 0.05$ . El análisis se realizó utilizando el paquete estadístico SAS 9.4 con el procedimiento PROC GLM (modelo lineal general), la comparación de pendientes a través del enunciado ESTIMATE y para las medias mínimo cuadráticas el enunciado LSMEANS (SAS, 2015).

## RESULTADOS

La concentración de testosterona en los animales de ambos tratamientos estuvo por debajo de 1 ng/ml en todos los momentos de evaluación de la vacunación (1, 21, 101 y 181

días de la engorda) y en el día del sacrificio (día 242). Los valores medios de las variables de comportamiento conductual durante el periodo de engorda no fueron significativamente diferentes entre tratamientos (Cuadro 1).

Los valores medios de cortisol sérico fueron menores en el día 181 de engorda con respecto a los niveles en el día de sacrificio de los animales (día 242) en ambos tratamientos ( $p < 0.05$ ), lo que indica que el manejo previo de los animales al sacrificio propició un aumento en los niveles de cortisol independientemente de los tratamientos.

El peso vivo promedio en el día 1 de la engorda fue similar entre tratamientos; sin embargo, el peso de los machos castrados quirúrgicamente fue superior ( $p < 0.05$ ) durante el periodo de engorda hasta el día del sacrificio en comparación con los machos inmunocastrados (Cuadro 3), tal y como lo describe Cervantes-Cazares *et al.* (2020).

Cuadro 1. Valores medios  $\pm$  error estándar (EE) en las variables de comportamiento conductual<sup>1</sup> de machos Holstein durante el periodo de engorda, según el tipo de castración

Variable	Castrados quirúrgicamente	Inmunocastrados	$\pm$ EE	$p > t$
Comiendo	10.63	11.38	1.34	0.57
Topes	18.40	17.22	1.68	0.48
Olfateos	15.36	15.68	1.64	0.84
Acicalamiento	23.90	26.01	1.47	0.15
Parados	41.08	42.90	2.67	0.49
Echados	29.32	30.68	2.73	0.61
Montas	20.02	23.67	2.38	0.60
Amenazas	3.02	3.85	0.47	0.16
Flehmen	6.02	5.62	0.70	0.24
Vocalización	7.42	6.21	1.09	0.83
Cabeza baja	0.77	1.08	0.20	0.27

<sup>1</sup> Montas, amenazas, signos de *flehmen*, vocalización y cabeza baja se analizaron con el modelo de Kruskal-Wallis porque sus varianzas no fueron homogéneas

Cuadro 2. Valores medios  $\pm$  error estándar (EE) de cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) de machos Holstein durante el periodo de engorda, según el tipo de castración

	Día 181	Sacrificio	$\pm$ EE	$p>t$
Castrados	1.89 <sup>b</sup>	2.86 <sup>a</sup>	0.38	0.02
Inmunocastrados	2.10 <sup>b</sup>	3.53 <sup>a</sup>	0.30	0.0002

<sup>a,b</sup> Literales diferentes dentro de filas son estadísticamente diferentes ( $p<0.05$ )

Cuadro 3. Peso vivo (kg) de machos Holstein castrados durante el periodo de engorda

Días de engorda	Castrados quirúrgicamente (T1)	Inmunocastrados (T2)
1	243.3 $\pm$ 2.5	238.4 $\pm$ 2.5
21	278.3 $\pm$ 2.5	269.7 $\pm$ 2.5
101	394.9 $\pm$ 2.5	379.5 $\pm$ 2.5
181	520.8 $\pm$ 2.5	509.5 $\pm$ 2.5
242	620.7 $\pm$ 6.9	595.0 $\pm$ 6.9

## DISCUSIÓN

Diversos estudios demuestran una reducción del comportamiento agresivo y sexual por efecto de la inmunocastración y un comportamiento conductual similar entre toros quirúrgicamente castrados y toros inmunocastrados (Huxsoll *et al.*, 1998; Price *et al.*, 2003; Marti *et al.*, 2015; Moreira *et al.*, 2015).

Según Malafaia *et al.* (2011), las interacciones agresivas y sexuales como la sodomía pueden ser originadas por el ocio de los animales, por la jerarquía de dominancia y por el confinamiento con una alta densidad de los animales en el corral, lo cual está asociado con factores ambientales como el estrés térmico. En el presente estudio, la densidad de carga en los corrales fue de 8.9 m<sup>2</sup> por animal, espacio suficiente en lotes de 90 animales donde la capacidad en corrales es de 100 animales, considerando que los animales llegan a un peso promedio final de 600 kg.

Los valores de concentración de testosterona reportados en el estudio concuerdan con lo reportado por otros investigadores. Así, Marti *et al.* (2017) reportaron en bovinos castrados quirúrgicamente e inmunocastrados concentraciones de testosterona por debajo de 1 ng/ml durante la engorda y Janett *et al.* (2012) reportaron valores de 0.5 ng/ml en bovinos inmunocastrados, mientras que Mach *et al.* (2009) obtuvieron valores de 1.8  $\pm$  0.68 ng/ml en bovinos castrados con burdizzo; y Price *et al.* (2003) reportaron concentraciones de 0.1  $\pm$  0.01 ng/ml a los 4 meses de la castración quirúrgica en bovinos.

El cortisol es un indicador fisiológico que permite observar la adaptación biológica del animal a condiciones de estrés por procesos de manejo previo en la engorda y transporte

(Grandin, 2000; Losada-Espinosa *et al.*, 2015). Sus valores séricos se incrementan como respuesta de los animales a ambientes estresantes (Ndlovu *et al.*, 2008). Es de esperar que el día del sacrificio se presenten situaciones estresantes para los toros como son el arreo a caballo hasta la planta de sacrificio, el uso de picana eléctrica, y los ruidos propios de la planta de sacrificio que ocasionaron que aumentaran los niveles de cortisol en el ganado, independiente el tipo de castración (Lensink *et al.*, 2001; Ferguson y Werner, 2008; Terlouw *et al.*, 2008). Grandin y Shivley (2015) afirman que cuando el animal se siente con espacio restringido, como lo experimenta durante el último tramo de la manga para entrar al cajón de noqueo, se estimula un incremento de cortisol plasmático.

El peso promedio al sacrificio fue de 595.0 kg para los machos inmunocastrados y de 620.7 kg para los castrados quirúrgicamente ( $p < 0.05$ ). Si bien era de esperarse una respuesta similar entre tratamientos, se requiere evaluar el impacto económico y los indicadores de bienestar animal a fin de poder hacer recomendaciones adecuadas a nivel de establo lechero y de corral de engorda.

## CONCLUSIONES

- El comportamiento conductual y los niveles de testosterona durante los siete meses del periodo de engorda fueron similares entre machos tratados con un inmunocastrador y machos castrados quirúrgicamente al nacimiento.
- Los niveles de cortisol se incrementan, en respuesta a agentes estresantes el día de sacrificio de los animales independientemente el tipo de castración.
- El peso vivo promedio al sacrificio de los machos inmunocastrados fue significativamente superior que el de los machos castrados quirúrgicamente ( $p < 0.05$ ).

## LITERATURA CITADA

1. **Amatayakul-Chantler S, Jackson JA, Stegner J, King V, Rubio LMS, Howard R, Lopez E, et al. 2012.** Immunocastration of *Bos indicus* x Brown Swiss bulls in feedlot with gonadotropin-releasing hormone vaccine Bopriva provides improved performance and meat quality. *J Anim Sci* 90: 3718-3728. doi: 10.2527/jas.2011-4826
2. **Andreo N, Bridi AM, Soares AI, Prohmann PEF, Peres LM, Taritano MA, Takabayashi AA. 2016.** Fatty acid profile of beef from immunocastrated (BOPRIVA) Nellore bulls. *Meat Sci* 17: 12-17. doi: 10.1016/j.meatsci.2016.02.029
3. **Bolado-Sarabia JL, Pérez-Linares C, Figueroa-Saavedra F, Tamayo-Sosa AR, Barreras-Serrano A, Sánchez-López E, García-Reynoso IC, et al. 2018.** Effect of immunocastration on behaviour and blood parameters (cortisol and testosterone) of Holstein bulls. *Austral J Vet Sci* 50: 77-81. doi: 10.4067/S0719-81322018000200077
4. **Cervantes-Cazares JA, Pérez-Linares C, Figueroa-Saavedra F, Tamayo-Sosa AR, Barreras-Serrano A, Rios-Rincón FG, Sánchez-López E, et al. 2020.** Comparación de la castración quirúrgica al nacimiento versus inmunocastración sobre las características de la canal y carne en machos Holstein. *Rev Mex Cienc Pec* 11: 455-467. doi: 10.22319/rmcp.v11i2.4885
5. **Depenbusch BE, Coleman CM, Higgins JJ, Drouillard JS. 2009.** Effects of increasing levels of dried corn distillers grains with solubles on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of yearling heifers. *J Anim Sci* 87: 2653-2663. doi: 10.2527/jas.2008-1496
6. **Dodzi MS, Muchenje V. 2011.** Avoidance-related behavioural variables and their relationship to milk yield in pasture-

- based dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 133: 11-17. doi: 10.1016/j.applamin.-2011.04.014
7. **Ferguson DM, Werner RD. 2008.** Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? *Meat Sci* 80: 12-19. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.05.004
  8. **Freitas AK, Restle J, Pacheco PS, Padua JT, Lage ME, Miyagi SE, Silva GFR. 2008.** Características de carcaças de bovinos Nelore inteiros vs castrados em duas idades, terminados em confinamiento. *Rev Bras Zootec* 37: 1055-1162. doi: 10.1590/51516-3598200-8000600016
  9. **García E. 2004.** Modiûcaciones al sistema de clasiûcación climática de Koppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). México DF: Univ. Autónoma de México. 90 p.
  10. **Miguel GZ, Faria MH, Roça RO, Santos CT, Suman SP, Faitarone AB, Delbem NL, et al. 2014.** Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore x Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. *Meat Sci* 96: 884-891. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.-08.030
  11. **Grandin T. 2000.** Livestock handling on transport. Wallingford, UK: CABI Publishing. 459 p.
  12. **Grandin T, Shivley C. 2015.** How farm animals react and perceive stressful situations such as handling, restraint, and transport. *Animals* 5: 1233-1251. doi: 10.3390/ani5040409
  13. **Huxsoll CC, Price EO, Adams, TE. 1998.** Testis function, carcass traits, and aggressive behavior of beef bulls actively immunized against gonadotropin-releasing hormone. *J Anim Sci* 76: 1760-1766. doi: 10.2527/1998.7671760x
  14. **Janett F, Gerig T, Tschuor AC, Amatayakul-Chantler S, Waljer J, Howard R, Bollwein H, et al. 2012.** Vaccination against gonadotropin-releasing factor (GNRF) with Bopriva® significantly decreases testicular development, serum testosterone levels and physical activity in pubertal bulls. *Theriogenology* 78: 182-188. doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.01.035
  15. **Klopfenstein TJ, Erickson GE, Bremer VR. 2008.** Board-invited review: use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. *J Anim Sci* 86: 1223-1231. doi: 10.2527/jas.2007-0550
  16. **Lensink B, Fernández X, Gozzi G, Florand L, Veissier I. 2001.** The influence of farmers behavior on calves reactions to transport and quality of veal meat. *J Anim Sci* 79: 642-652. doi: 10.2527/2001.793642x
  17. **Losada-Espinosa M, Villaroel M, Marla MA, Miranda de la Lama GC. 2018.** Pre-slaughter cattle welfare indicators for use in commercial abattoirs with voluntary monitoring systems: A systematic review. *Meat Sci* 138: 34-48. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.12.004
  18. **Malafaia P, Barbosa JD, Takarnia CH, Oliveira CMC. 2011.** Distúrbios comportamentais em ruminantes não associados a doenças: origem, significado e importância. *Pesqui Vet Brasil* 31: 781-790. doi: 10.1590/501100-736X2011-000900010
  19. **Mach N, Bach A, Velarde A, Devant M. 2008.** Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Sci* 78: 232-238. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.06.02
  20. **Mach N, Bach A, Realini C, Font-Furnols M, Velarde A, Devant M. 2009.** Burdizzo pre-pubertal castration effects on performance, behavior, carcass characteristics, and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *Meat Sci* 81: 329-334. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.08.007
  21. **Marti S, Devant M, Amatayakul-Chandler S, Jackson JA, Lopez E, Janzen ED, Schwartzkopf-Genswein KS. 2015.** Effect of anti-gonadotropin-releasing factor vaccine and band castration on indicators of welfare in beef cattle. *J Anim Sci* 93: 1581-1591. doi: 10.2527/jas.2014-8346

22. **Marti S, Jackson JA, Sloomans N, Lopez E, Hodge A, Pérez-Juan M, Devant M, et al. 2017.** Effects on performance and meat quality of Holstein bulls fed high concentrate diets without implants following immunological castration. *Meat Sci* 126: 36-42. doi: 10.1016/j.meatsci.2016.11.013
23. **Moreira V, Martins K, Ribeiro F, Campos T, Moraes R, Franco LL, Barbosa E. 2015.** Efeitos da castração e homeopatia sobre o desempenho, características de carcaca e comportamento de bovinos machos cruzados terminados em confinamento. *Semin-Cienc Agrar* 36: 1725-1734. doi: 10.5433/1679-0359.-2015v36n3p1725
24. **Ndlovu Y, Chimonyo M, Okoh AI, Munchenje V. 2008.** A comparison of stress hormone concentrations at slaughter in Nguni, Bonsmara and Angus steers. *African J Agric Res* 3: 93-100.
25. **Pecka-Kie<sup>3b</sup> E, Zachwieja A, Mieta D, Zawadzki W, Zielak-Steciwo A. 2017.** Use of corn dried distillers grains (DDGS) in feeding of ruminants. In: Jacob-Lopes E, Queiroz-Zepka L (eds). *Frontiers in bioenergy and biofuels*. IntechOpen, [Internet]. Available in: <https://www.intechopen.com/books/frontiers-in-bioenergy-and-biofuels/use-of-corn-dried-distillers-grains-ddgs-in-feeding-of-ruminants>
26. **Pérez-Linares C, Bolado-Sarabia JL, Figueroa-Saavedra F, Barreras-Serrano A, Sánchez-López E, Tamayo-Sosa AR, Godina AA, et al. 2017.** Effect of immunocastration with Bopriva on carcass characteristics and meat quality of feedlot Holstein bulls. *Meat Sci* 123: 45-49. doi: 10.1016/j.meatsci.-2016.08.006
27. **Pond WG, Church DB, Pond KR, Schoknecht PA. 2004.** Basic animal nutrition and feeding. 5<sup>th</sup> ed. New York, USA: Wiley & Sons. 608 p.
28. **Price EO, Adams TE, Huxsoll CC, Borgwardt RE. 2003.** Aggressive behavior is reduced in bulls actively immunized against gonadotropin-releasing hormone. *J Anim Sci* 81: 411-415. doi: 10.2527/2003.812411x
29. **SAS Institute Inc. 2015.** Statistical Analysis System. SAS software release 9.4. STAT 14.1. SAS, User's Guide. SAS Inst., Cary, N.C.
30. **Terlouw EMC, Arnould C, Auperin B, Berri C, Le Bihan-Duval E, Veronique ED, Mounier L. 2008.** Pre-slaughter conditions, animal stress and welfare: current status and possible future research. *Animal* 2: 1501-1507. doi: 10.1017/S1751731108002723