

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL

LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

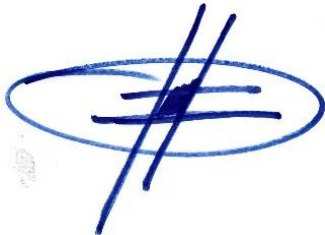
INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

TÍTULO DEL PROYECTO:

Bienestar y productividad en vacas lecheras: efectos de la estimulación táctil en el lenguaje corporal, expresión facial y respuesta térmica infrarroja

Prestadora del Servicio Social:
Jennifer Arlet Ríos Sandoval
Matricula: 2203021089

ASESOR INTERNO:
Dr. Daniel Mota Rojas
Número Económico: 26806



ASESORA EXTERNA:
MCA. Brenda Nayelli Reyes Sotelo
Cédula profesional: 4641809



Lugar de realización: Cuenca Lechera de la Alcaldía Xochimilco

Tiempo de dedicación: 480 horas.

Fecha de inicio y término: 20 de julio, 2025 – 20 de enero, 2026.

Índice

INTRODUCCIÓN	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	5
OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
ANTECEDENTES	7
Concepto actual de bienestar animal y bienestar positivo	7
Bases neurobiológicas de las emociones en mamíferos	9
Conducta motivada y necesidades comportamentales en bovinos	13
Enriquecimiento ambiental en sistemas de producción lechera	16
Interacción humano-animal y manejo positivo en bovinos	19
Indicadores conductuales y fisiológicos del estado emocional	22
Importancia de la estimulación táctil como modulador del estado emocional	27
Cepillos mecánicos	30
Importancia del lenguaje corporal (orejas, cola y cuerpo) en estados emocionales positivos y negativos	34
Importancia de las expresiones faciales.....	38
Balance térmico ante emociones positivas en rumiantes.....	40
MATERIAL Y MÉTODOS	43
Sujetos de estudio y diseño experimental	43
Estimulación táctil.....	43
Variables.....	44
Evaluación de la termografía infrarroja	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
Termografía infrarroja	48
Expresión facial	49
Postura corporal	50
DISCUSIÓN	52
Termografía infrarroja	52
Expresión facial	53
Postura corporal	54
Conclusiones.....	56
REFERENCIAS	57

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones actuales sobre el bienestar de las vacas lecheras han evolucionado desde un enfoque centrado exclusivamente en la reducción del estrés hacia un marco conceptual más amplio que reconoce la importancia de promover estados afectivos positivos como componente esencial del bienestar animal (Boissy *et al.*, 2007; Ede *et al.*, 2019; Mattiello *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2024a). Este enfoque resulta especialmente relevante en los sistemas de producción lechera, donde diversas prácticas rutinarias de manejo pueden ser percibidas por los animales como estímulos aversivos, generando respuestas conductuales y fisiológicas negativas que comprometen su bienestar (Jarosiewicz *et al.*, 2011; Mandel *et al.*, 2016). En este contexto, se ha propuesto la incorporación de estrategias de enriquecimiento ambiental y el fortalecimiento de una relación humano-animal positiva como herramientas para mejorar el estado emocional de los bovinos. Interacciones como el uso de una voz calmada, el contacto táctil mediante caricias o el uso de cepillos mecánicos han sido asociadas con la inducción de estados afectivos positivos, así como con mejoras en la salud, la adaptación al manejo y el desempeño productivo en animales de granja, incluyendo vacas lecheras (Mattiello *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2020; Orihuela *et al.*, 2019; von Keyserlingk *et al.*, 2009).

El enriquecimiento ambiental (EE) consiste en mejorar el entorno del animal al modificar y añadir elementos y prácticas que fomenten comportamientos naturales y promuevan más interacciones sociales, ya que estas no solo son esenciales para el bienestar y la producción animal, sino que también forman parte clave de las actividades diarias del ganado lechero (Bolt *et al.*, 2019; Mandel *et al.*, 2016; Marina *et al.*, 2024 ; Mota-Rojas *et al.*, 2024a,c). Varios estudios han demostrado que el EE mejora la capacidad de los animales domésticos para hacer frente al estrés. Por otro lado, la estimulación sensorial como EE busca activar los sentidos y, en el caso de la estimulación táctil, el uso de cepillos mejora conductas naturales y aporta beneficios y cambios fisiológicos, conductuales y productivos en el ganado lechero (Mota-Rojas *et al.*, 2024a,c; Ujita *et al.*, 2021; Wells *et al.*, 2009).

Entre los cambios conductuales observados en respuesta a la estimulación táctil en bovinos se han descrito respuestas propias del repertorio natural de la especie que forman parte de su lenguaje corporal, tales como la relajación o descenso de las orejas, el estiramiento del cuello y la aproximación hacia el humano que realiza la estimulación, incluyendo conductas exploratorias como olfatear o frotar la cabeza contra la persona. Estas respuestas han sido reportadas durante interacciones positivas con humanos, particularmente durante el cepillado o el contacto táctil, y se asocian con una disminución de la evitación y un aumento de conductas de acercamiento (Schmied *et al.*, 2008a; Schmied *et al.*, 2008b).

Estos cambios conductuales, junto con otros indicadores como las expresiones faciales y las variaciones en la temperatura superficial corporal evaluadas mediante termografía infrarroja, pueden constituir herramientas objetivas para valorar los efectos de la estimulación táctil sobre el estado emocional de los animales. El análisis del lenguaje corporal se ha utilizado ampliamente como método conductual para la evaluación de estados afectivos positivos y negativos en animales de granja, debido a que determinadas posturas y movimientos se asocian de manera consistente con la valencia emocional. Entre los distintos indicadores, la postura de las orejas se considera uno de los más prometedores, ya que puede reflejar cambios en el estado emocional dependiendo de la especie y del contexto (Battini *et al.*, 2019). Asimismo, otros componentes del lenguaje corporal, como la postura del cuello, la

orientación de la cabeza y la posición de la cola, han comenzado a investigarse como posibles indicadores del estado afectivo en vacas lecheras dentro de un marco integrador de evaluación emocional (de Oliveira y Keeling, 2018).

Por otra parte, la expresión facial constituye una forma de comunicación no verbal ampliamente conservada en los mamíferos, capaz de transmitir información tanto voluntaria como involuntaria relacionada con procesos emocionales y fisiológicos. Se ha propuesto que estas expresiones tienen un origen evolutivo ligado a funciones fisiológicas básicas y que actualmente pueden utilizarse como indicadores no invasivos para evaluar de manera cuantitativa los estados internos, emocionales y neurofisiológicos en distintas especies, incluyendo animales de producción (Mota-Rojas *et al.*, 2020b; Mota-Rojas *et al.*, 2023).

La evaluación de la respuesta térmica mediante termografía infrarroja se ha incorporado recientemente como una herramienta para el estudio de los estados emocionales en animales, incluyendo su aplicación en investigaciones sobre bienestar en especies de producción. Esta técnica permite registrar de forma no invasiva variaciones en la temperatura superficial corporal que reflejan cambios en la perfusión sanguínea cutánea regulados por el sistema nervioso autónomo, los cuales pueden estar asociados con la activación de mecanismos neurofisiológicos relacionados con la respuesta emocional. Estudios experimentales han demostrado que la IRT puede detectar modificaciones térmicas en regiones corporales específicas durante diferentes estados afectivos, lo que ha promovido su uso creciente como indicador fisiológico en investigaciones etológicas y de bienestar animal (Ermatinger *et al.*, 2019; Watanabe, 2023). Asimismo, debido a que esta técnica no requiere manipulación directa del animal y permite obtener mediciones a distancia, se considera especialmente adecuada para evaluar estados emocionales sin inducir estrés adicional ni alterar el comportamiento natural, lo que la convierte en una herramienta prometedora y de uso cada vez más frecuente en el estudio de las emociones en animales.

La evaluación de los estados emocionales en bovinos lecheros puede realizarse mediante indicadores conductuales y fisiológicos sensibles a las interacciones con el entorno y con el humano. El lenguaje corporal, incluyendo la postura de las orejas, la orientación de la cabeza y las conductas de aproximación, se ha utilizado como indicador del estado afectivo en vacas lecheras, mientras que la expresión facial se considera un indicador no invasivo relacionado con procesos emocionales y neurofisiológicos en mamíferos (Battini *et al.*, 2019; de Oliveira y Keeling, 2018; Mota-Rojas *et al.*, 2020b; Mota-Rojas *et al.*, 2023). De manera complementaria, la termografía infrarroja permite registrar cambios en la temperatura superficial asociados con variaciones en la circulación periférica regulada por el sistema nervioso autónomo, lo que ha favorecido su uso en la evaluación fisiológica de respuestas emocionales sin interferir con el comportamiento (Ermatinger *et al.*, 2019; Watanabe, 2023).

Las interacciones táctiles positivas, como el contacto manual o el cepillado, pueden modificar la conducta y la respuesta fisiológica de las vacas, y estos efectos pueden variar dependiendo de la región corporal estimulada y del contexto de manejo dentro de los sistemas lecheros (Mandel *et al.*, 2016; Schmied *et al.*, 2008a; Von Keyserlingk *et al.*, 2009). Por ello, la evaluación simultánea del lenguaje corporal, las expresiones faciales y la temperatura superficial puede proporcionar información objetiva sobre la respuesta de las vacas ante la estimulación táctil aplicada durante el manejo rutinario. Por lo tanto, el objetivo general del presente estudio fue evaluar las modificaciones en el lenguaje corporal, los cambios en las expresiones faciales y las variaciones en la temperatura superficial dérmica mediante termografía infrarroja en vacas lecheras expuestas a estimulación táctil aplicada en tres regiones corporales (región de la cruz, cuello ventral y cabeza) antes del ordeño.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

En México, la producción lechera ha mostrado un crecimiento sostenido en las últimas décadas, acompañado por la adopción de sistemas de producción más intensivos, en los cuales las interacciones humano-animal ocurren con mayor frecuencia durante el manejo diario (Maciel-Torres *et al.*, 2026). La calidad de estas interacciones puede influir directamente sobre el bienestar y la productividad del ganado, ya que un manejo brusco o aversivo se asocia con respuestas de miedo, aumento del estrés y disminución del desempeño productivo, mientras que un manejo calmado y consistente favorece una mejor adaptación de los animales al sistema de producción (Mota-Rojas *et al.*, 2020a; Von Keyserlingk *et al.*, 2009).

El establecimiento de una relación humano-animal positiva, así como la incorporación de estrategias de enriquecimiento ambiental, incluyendo el contacto táctil o el acceso a dispositivos de acicalamiento como cepillos mecánicos, ha demostrado mejorar el bienestar y facilitar el manejo en bovinos lecheros (DeVries *et al.*, 2007; Mandel *et al.*, 2016; McConnachie *et al.*, 2018). Sin embargo, los sistemas intensivos de producción pueden limitar la expresión de comportamientos naturales, lo que se ha asociado con respuestas fisiológicas relacionadas con el estrés, alteraciones en la función inmunitaria, problemas reproductivos y pérdidas productivas (Mandel *et al.*, 2016; Mota-Rojas *et al.*, 2024a).

El comportamiento de acicalamiento es considerado una actividad motivada en bovinos, y la privación de oportunidades para realizarlo puede provocar frustración, incremento de conductas anormales y mayor reactividad durante el manejo (DeVries *et al.*, 2007; Mandel *et al.*, 2016). En este contexto, el estudio del bienestar animal ha evolucionado desde un enfoque centrado únicamente en la reducción de experiencias negativas hacia la evaluación y promoción de estados afectivos positivos, los cuales se consideran fundamentales para una valoración integral del bienestar en animales de producción (Mattiello *et al.*, 2019; Keeling *et al.*, 2021; Mota-Rojas *et al.*, 2024a). Por lo tanto, el desarrollo de prácticas fiables y económicamente viables para evaluar los estados emocionales en el ganado resulta esencial para su aplicación en entornos productivos. Las estrategias de enriquecimiento pueden evaluarse mediante indicadores conductuales que se utilizan para evaluar el nivel de bienestar. No obstante, la investigación sobre expresiones faciales y lenguaje corporal como indicadores biológicos de estados emocionales positivos en el ganado sigue siendo limitada, ya que la mayoría de los estudios se han centrado en emociones negativas, como el dolor y el estrés asociados a procesos patológicos o procedimientos dolorosos. En consecuencia, existe poca evidencia sobre los cambios conductuales y el uso de la termografía infrarroja para la evaluación de emociones positivas (Hussein y Al-Nakshabendi, 2023; Nascimento *et al.*, 2022; Proctor y Carder, 2014). La investigación de estas respuestas conductuales y fisiológicas, mediante la observación directa y la termografía infrarroja, podría mejorar nuestra comprensión de cómo las vacas perciben su entorno, mejorar las evaluaciones de bienestar y optimizar la productividad en las unidades de producción (Battini *et al.*, 2019; Cain, 2024).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las modificaciones en el lenguaje corporal, los cambios en las expresiones faciales y cambios en la superficie dérmica en vacas lecheras expuestas a estimulación táctil en tres regiones corporales (región de la cruz, cuello ventral y cabeza) antes del ordeño.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los cambios en el lenguaje corporal (posición de las orejas, cola y cabeza) de vacas lecheras expuestas a estimulación táctil en tres regiones corporales.
- Analizar las modificaciones en las expresiones faciales (tensión en los músculos faciales (*M. orbicularis oculi* y *M. frontalis*) de la región superior de los ojos, apertura o cierre de los labios, dilatación de narinas, apertura ocular, porción visible del área blanca del ojo y presencia de parpadeo) en vacas lecheras expuestas a estimulación táctil en tres regiones corporales.
- Evaluar los cambios en la temperatura superficial en distintas ventanas térmicas faciales y corporales de vacas lecheras expuestas a estimulación táctil en tres regiones corporales.

ANTECEDENTES

Concepto actual de bienestar animal y bienestar positivo

El bienestar animal fue definido tradicionalmente a partir del Informe Brambell (1965), el cual resultó importante al relacionar explícitamente el bienestar con la experiencia subjetiva del animal. En este informe se estableció que “el bienestar es un término amplio que abarca tanto el estado físico como el mental del animal”; sin embargo, esta perspectiva se basaba principalmente en la evitación del sufrimiento y se centraba en la evaluación de estados negativos. En consecuencia, los enfoques tradicionales tendían a vincular el bienestar animal con la productividad y la ausencia de enfermedad (Dwyer *et al.*, 2026; Mellor *et al.*, 2016).

En consonancia con las conclusiones del Comité Brambell, posteriormente se estableció el marco de las Cinco Libertades, el cual comprende los dominios de (1) nutrición, (2) ambiente, (3) salud, (4) comportamiento y (5) estado mental. Los tres primeros dominios se enfocan principalmente en desequilibrios internos o alteraciones derivadas de deficiencias nutricionales, condiciones ambientales inadecuadas y factores relacionados con la salud. En contraste, el cuarto dominio aborda restricciones externas asociadas con el confinamiento físico, la limitación del movimiento, el espacio reducido o inadecuado, así como los efectos derivados de la presencia o ausencia de congéneres y de la interacción humano-animal (Mellor *et al.*, 2016; Mellor *et al.*, 2020; Salvin *et al.*, 2020). Con el tiempo, estas libertades han evolucionado hasta ser consideradas no sólo como principios fundamentales para la evaluación del bienestar animal, sino también, en determinados contextos, como representaciones de derechos básicos para los animales.

Sin embargo, en las últimas dos décadas, los avances en el conocimiento científico han evidenciado limitaciones importantes del marco de las Cinco Libertades para representar de manera integral la complejidad del bienestar animal. Aunque este enfoque continúa siendo uno de los más utilizados, se centra principalmente en las experiencias subjetivas de los animales, como la ausencia de hambre, sed, dolor y malestar, más que en los estados fisiológicos subyacentes que las originan (Mellor *et al.*, 2020). Asimismo, ha sido objeto de críticas por su carácter idealista y por la dificultad de su aplicación en condiciones prácticas, además de su énfasis predominante en la reducción de estados afectivos negativos, como el miedo, el dolor y el estrés, prestando relativamente poca atención a la promoción de experiencias positivas (Dwyer *et al.*, 2026).

Por otro lado, la investigación contemporánea sugiere que muchas de estas experiencias negativas, incluyendo el hambre, la sed, la disnea y el dolor, constituyen mecanismos biológicamente necesarios que promueven conductas adaptativas esenciales para la supervivencia, la prevención de daños y la recuperación frente a lesiones o enfermedades. En consecuencia, estos estados no pueden eliminarse por completo, sino únicamente reducirse de manera temporal, lo que ha puesto de manifiesto la necesidad de desarrollar enfoques de evaluación del bienestar animal más amplios y precisos, capaces de reflejar de mejor manera los procesos biológicos dinámicos que influyen sobre el bienestar de los animales (Mellor *et al.*, 2016).

Por lo tanto, los marcos conceptuales modernos proponen una definición más integral. El bienestar animal se entiende como el estado general del individuo, que incluye su salud física, su estado mental y su capacidad para expresar conductas propias de la especie (Chen *et al.*, 2026). Esta perspectiva reconoce la importancia tanto de las dimensiones afectivas como funcionales y, además, permite la medición objetiva de los factores que contribuyen al

bienestar. Dentro de este enfoque, un nivel adecuado de bienestar no se alcanza únicamente mediante la ausencia de condiciones adversas (como dolor, lesiones, enfermedad o estrés), sino también a través de la capacidad del animal para afrontar y adaptarse a los desafíos (Loor *et al.*, 2013). Asimismo, los enfoques contemporáneos enfatizan no sólo la reducción de experiencias negativas, como el dolor y el miedo, sino también la promoción de estados positivos, tales como el confort social, la exploración y la participación en conductas gratificantes (Mellor *et al.*, 2020).

A partir de estos avances, el concepto de bienestar animal positivo (PAW, por sus siglas en inglés) ha cobrado mayor relevancia en la literatura científica (Boissy *et al.*, 2007). Este enfoque representa un cambio importante, ya que deja de centrarse únicamente en reducir experiencias negativas y pone énfasis en la promoción de estados mentales positivos. Según un consenso desarrollado en Europa, el bienestar animal positivo se define como una condición en la que los animales pueden prosperar gracias al predominio de experiencias afectivas positivas, junto con el desarrollo de competencias y resiliencia. Así, el bienestar ya no se limita a mantener la salud física o evitar el sufrimiento, sino que también incluye la capacidad de los animales para experimentar situaciones gratificantes, tomar decisiones y alcanzar objetivos deseados (Dwyer, 2026).

En este contexto, se han propuesto diversas aplicaciones prácticas orientadas a promover experiencias positivas que contribuyan a mejorar la calidad de vida de los animales, favorecer el mantenimiento de estados emocionales positivos a largo plazo, fortalecer la relación entre emociones positivas y mejores resultados en salud, así como incorporar indicadores de bienestar positivo en las evaluaciones realizadas en granja (Boissy *et al.*, 2007; Freslon *et al.*, 2020). Dentro de este enfoque, la expresión de comportamientos propios de la especie es fundamental para generar estados afectivos positivos. Los animales que se encuentran en entornos adecuados, seguros y enriquecidos tienen mayor probabilidad de realizar conductas que les resultan gratificantes, como la exploración, el forrajeo, las interacciones sociales, el cuidado parental y el juego. Estas conductas se asocian con emociones positivas como confort, placer, interés, confianza y sensación de control. También pueden experimentar estados como apego social, seguridad, excitación y satisfacción tras alcanzar un objetivo (Mellor *et al.*, 2016; Mellor *et al.*, 2020).

De este modo la investigación actual en bienestar animal ha destacado no solo la importancia de proporcionar recursos adecuados y mantener la salud física, sino también de permitir que los animales expresen comportamientos naturales y gratificantes (Salvin *et al.*, 2020). En sistemas de producción, se han implementado estrategias de enriquecimiento ambiental para aumentar la autonomía de los animales y favorecer conductas propias de la especie. En bovinos, estas estrategias incluyen estímulos visuales, auditivos, nutricionales, olfativos y táctiles. Entre estos, los dispositivos de acicalamiento, como los cepillos mecánicos, han recibido especial atención por su uso frecuente y su efecto gratificante (Dunston-Clarke *et al.*, 2024).

En bovinos, el comportamiento de acicalamiento comprende el autoacicalamiento, el aloacicalamiento y la interacción con estructuras del entorno, incluyendo cepillos mecánicos u otras superficies disponibles para el rascado (Neave *et al.*, 2025). Además de cumplir una función relacionada con la higiene y el mantenimiento corporal, estas conductas también han sido consideradas indicadores potenciales de estados emocionales positivos. En particular, el uso de cepillos se ha asociado con experiencias placenteras y su uso tiende a disminuir durante situaciones negativas o estresantes, lo que sugiere que es útil como indicador del estado afectivo de los animales (Freslon *et al.*, 2020; Lecorps *et al.*, 2021). Por ello, los

cambios en estas conductas pueden ayudar a entender cómo los animales perciben distintas condiciones de manejo.

Lo anterior pone de manifiesto uno de los principales desafíos en el estudio del bienestar animal: el desarrollo de indicadores válidos, objetivos y aplicables en condiciones de producción que permitan evaluar de manera integral el rango completo de emociones, incluyendo los estados afectivos positivos. Actualmente se reconoce que las emociones son una parte esencial de la vida del ganado lechero, y que comprender cómo se expresan y regulan es clave para mejorar su bienestar. Aunque tradicionalmente se han utilizado indicadores físicos, productivos y sanitarios, las medidas basadas en el comportamiento y el estado emocional son consideradas más representativas de la experiencia subjetiva del animal (Battini *et al.*, 2019). En este contexto, conductas relacionadas con el acicalamiento y la respuesta a estímulos táctiles han sido propuestas como indicadores prometedores y no invasivos de bienestar positivo, debido a que reflejan aspectos asociados con la motivación, la percepción de recompensa y el estado afectivo de los animales (Boissy *et al.*, 2007; Dwyer, 2026). Por lo tanto, el presente estudio es clave tanto para entender el comportamiento como para mejorar la evaluación de bienestar animal y las prácticas de manejo orientas a aumentar la calidad de vida en animales de producción.

Bases neurobiológicas de las emociones en mamíferos

Las emociones son procesos complejos y multidimensionales que desempeñan un papel fundamental en la regulación del comportamiento y el bienestar animal. En consecuencia, las emociones están intrínsecamente vinculadas al bienestar animal, y su evaluación precisa es esencial para comprender cómo los animales perciben y responden a su entorno (Mota-Rojas *et al.*, 2025).

Una emoción se considera que está compuesta por tres componentes principales: un componente conductual, reflejado en la postura o en acciones observables; un componente autonómico, que involucra respuestas viscerales y endocrinas y un componente subjetivo, correspondiente a la experiencia emocional interna (Boissy *et al.*, 2007). En este contexto, diversas investigaciones han demostrado que la mayoría de los animales son capaces de experimentar una amplia gama de emociones tanto negativas como positivas, organizadas dentro de circuitos neuronales fundamentales como el miedo, la ira y el pánico, así como la búsqueda, el vínculo social y el juego. Estos sistemas emocionales se consideran adaptativos, ya que se han conservado a lo largo de la evolución debido a su papel esencial en la supervivencia, influyendo en el comportamiento, la toma de decisiones y las interacciones sociales (Mota-Rojas *et al.*, 2020b; Mota-Rojas *et al.*, 2025).

Estas respuestas emocionales afectan al organismo de manera integral, ya que involucran procesos motores, fisiológicos y bioquímicos, incluyendo cambios hormonales y neuroquímicos. Además, tanto la expresión de las emociones como los mecanismos neuronales que las regulan presentan similitudes importantes entre distintas especies. Esto sugiere que las emociones dependen de sistemas cerebrales conservados a lo largo de la evolución y de principios generales del funcionamiento neural (Zych y Gogolla, 2021).

Las emociones se generan a partir de la actividad coordinada de distintas redes cerebrales, y no únicamente de estructuras aisladas. Estas redes incluyen diversas regiones corticales y subcorticales que participan en la regulación de diferentes estados emocionales, como el miedo, la recompensa y las interacciones sociales. Entre las principales áreas

corticales se encuentran la corteza prefrontal (particularmente la corteza orbitofrontal), la corteza insular y la corteza cingulada anterior, las cuales integran información cognitiva y afectiva. Estas regiones interactúan con estructuras subcorticales como la amígdala, el núcleo accumbens, el pálido ventral, el hipotálamo y la sustancia gris periacueductal, formando circuitos interconectados que sustentan el procesamiento emocional (Zych y Gogolla, 2021).

Dentro de estas redes cerebrales, una característica importante es la presencia de circuitos interconectados que regulan estados emocionales opuestos, como el miedo y la recompensa, o la aversión y el deseo. Estos sistemas, distribuidos en regiones corticales y subcorticales, permiten mantener un equilibrio dinámico necesario para una adecuada regulación emocional (Tovote *et al.*, 2015; Zych y Gogolla, 2021). Entre las estructuras involucradas, la amígdala desempeña un papel central en la coordinación de las respuestas emocionales como parte de circuitos subcorticales conservados evolutivamente. Sus núcleos basolateral y central integran información sensorial y contextual proveniente del tálamo, el hipocampo y distintas regiones corticales, lo que permite evaluar estímulos emocionalmente relevantes y generar respuestas conductuales y autonómicas apropiadas (Mota-Rojas *et al.*, 2023). Además, estos procesos dependen de vías bidireccionales que conectan regiones del mesencéfalo con la amígdala y el núcleo accumbens, evidenciando la integración entre mecanismos neurobiológicos básicos y procesos de procesamiento cerebral de mayor complejidad relacionados con el comportamiento emocional (Carranza-Pinedo *et al.*, 2025).

Los estados emocionales positivos están sustentados por una red de regiones cerebrales involucradas en el procesamiento de la recompensa y el placer. Esta red incluye áreas corticales como la corteza orbitofrontal y la corteza prefrontal, la corteza insular y la corteza cingulada anterior, así como estructuras subcorticales que incluyen la amígdala, el núcleo accumbens y el pálido ventral. En conjunto, estas regiones contribuyen a la manera en que los animales perciben, evalúan y experimentan estímulos gratificantes (Mota-Rojas *et al.*, 2025). Dentro de esta red, la vía dopaminérgica mesolímbica desempeña un papel fundamental en la motivación y en los comportamientos dirigidos hacia objetivos. En particular, las proyecciones del área tegmental ventral hacia el núcleo accumbens participan en la anticipación y el procesamiento de recompensas. La amígdala contribuye a este proceso al asignar relevancia emocional a los estímulos, mientras que el núcleo accumbens funciona como un centro de integración de la información emocional y motivacional. Asimismo, los sistemas opioides endógenos modulan esta vía mediante el aumento de la actividad dopaminérgica, ya sea de forma indirecta a través del área tegmental ventral o directamente en el núcleo accumbens. En conjunto, esta interacción respalda el papel de la dopamina mesolímbica en la generación de estados emocionales positivos, particularmente aquellos asociados con la anticipación de recompensas y la expresión de conductas apetitivas (Boissy *et al.*, 2007).

En la mayoría de los mamíferos, estos procesos neurobiológicos no se limitan a la actividad cerebral central, sino que también se manifiestan a través de cambios fisiológicos periféricos, mediados principalmente por el sistema nervioso autónomo (SNA). Los reflejos autonómicos básicos se coordinan a nivel de la médula espinal, mientras que funciones más complejas y esenciales, como la respiración, la regulación de la presión arterial, la deglución y las respuestas pupilares, se integran en niveles superiores dentro del tronco encefálico. En conjunto, esta organización jerárquica permite que los procesos emocionales y neuronales del cerebro se traduzcan en respuestas fisiológicas coordinadas en todo el organismo (Kreibig, 2010).

El sistema nervioso autónomo (SNA) participa de manera fundamental en la regulación del estrés y la relajación a través de la interacción de sus dos ramas principales:

el sistema nervioso simpático y el sistema nervioso parasimpático. Ambos sistemas actúan de forma coordinada para regular la activación fisiológica frente a estímulos ambientales y emocionales (Balaban y Kurt, 2023).

Durante situaciones de estrés o dolor, los estímulos emocionalmente relevantes o amenazantes son procesados por estructuras del sistema límbico, como la amígdala, la cual envía señales al hipotálamo para activar la rama simpática. Como resultado, se producen cambios fisiológicos medibles, incluyendo el aumento de la actividad cardiovascular, la frecuencia respiratoria y la movilización de energía. Además, se activa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, promoviendo la liberación de glucocorticoides como el cortisol. En conjunto, esta respuesta coordinada sostiene estados emocionales de alta activación y prepara al organismo para responder de manera adaptativa ante situaciones potencialmente desafiantes (Kovács *et al.*, 2016; Kreibig, 2010; Von Borrell *et al.*, 2007).

En contraste, el sistema nervioso parasimpático (SNP) se asocia con estados emocionales positivos o de baja activación, como la relajación, la satisfacción y el vínculo social. Este sistema favorece la disminución de la frecuencia cardíaca, mejora la digestión y promueve procesos restaurativos. Además, es importante destacar que la actividad parasimpática, frecuentemente denominada tono vagal, predomina durante los periodos de reposo y se relaciona con la regulación emocional y la capacidad de recuperar el estado basal después de situaciones de estrés (Frondelius *et al.*, 2014; Kreibig, 2010).

Cuando las vacas experimentan estados emocionales positivos de baja excitación, como durante el acceso al pastoreo o el acariciado suave, suelen presentar ojos semicerrados y orejas caídas o dirigidas hacia atrás. Estos cambios físicos se han asociado con una reducción de la activación fisiológica y con un posible predominio de la actividad parasimpática. Por ejemplo, en un estudio realizado en vacas con acceso al pastoreo, el 67.8 % de los animales presentó ojos semicerrados y el 77.3 % mostró las orejas caídas o hacia atrás, lo que sugiere un aumento del tono parasimpático relacionado con estados de relajación (Battini *et al.*, 2019).

De manera similar, el papel del sistema parasimpático se hace más evidente a través de las respuestas de la frecuencia cardíaca. Se ha planteado que el acariciado combinado con estímulos auditivos relajantes también puede inducir estados positivos de baja activación al incrementar la variabilidad de la frecuencia cardíaca y disminuir la frecuencia cardíaca, ambos considerados indicadores de activación parasimpática (Lange *et al.*, 2020).

Es importante reconocer que las respuestas autonómicas no están reguladas únicamente por circuitos neuronales, sino que también están influenciadas por la señalización neuroquímica. Los neurotransmisores y neuromoduladores actúan dentro de estas vías para modular tanto la intensidad como la valencia emocional de las respuestas fisiológicas (Balaban y Kurt, 2023). Desde esta perspectiva, las emociones no son generadas por una sola región cerebral, sino que surgen de la actividad generalizada de sistemas neuromoduladores. En particular, neurotransmisores monoaminérgicos como la dopamina, la norepinefrina y la serotonina se proyectan ampliamente a través del cerebro, lo que les permite coordinar la actividad neuronal involucrada en la regulación emocional (Wang *et al.*, 2022).

Los neurotransmisores son mediadores esenciales de la comunicación interneuronal, responsables de transmitir señales entre neuronas y células diana. Diversos neurotransmisores, entre ellos la acetilcolina, la norepinefrina, la dopamina, la serotonina, las endorfinas y los neuropéptidos, desempeñan funciones fisiológicas y conductuales específicas (Balaban y Kurt, 2023). Entre estos, la dopamina, las endorfinas, la serotonina y la oxitocina se han asociado con estados positivos de bienestar y han sido utilizados como

indicadores de bienestar animal. En particular, la oxitocina ha sido estudiada en relación con experiencias placenteras e interacciones sociales positivas en los animales (Chen y Sato, 2016).

En las vacas lecheras, la oxitocina desempeña un papel importante al vincular las interacciones sociales y la estimulación táctil con respuestas emocionales y fisiológicas. Comúnmente se asocia con conductas positivas como el cuidado materno, el establecimiento de vínculos y la afiliación social. Sin embargo, sus efectos dependen del contexto, ya que también puede influir en respuestas como la vigilancia social o la agresividad. Más que actuar únicamente como una hormona “positiva”, la oxitocina parece incrementar la relevancia de los estímulos sociales al potenciar la atención hacia las señales sociales, mejorar el procesamiento de la información social e influir en la manera en que los animales asignan valor a estas interacciones (Love, 2013).

Por ejemplo, en el ganado bovino la oxitocina se libera al torrente sanguíneo mediante reflejos neuroendocrinos, especialmente en respuesta a estímulos táctiles como el contacto con los pezones durante el ordeño. Además de su liberación periférica, esta hormona también actúa en el cerebro, donde participa en la formación y el mantenimiento de los vínculos maternos, así como en la regulación del comportamiento social (Chen y Sato, 2016; Skånberg *et al.*, 2025).

Asimismo, se ha demostrado que el uso de cepillos mecánicos, considerados una forma de enriquecimiento ambiental, incrementa los niveles circulantes de oxitocina poco después de su utilización. Aunque el aumento en la concentración plasmática de OT fue pequeño, podría tener relevancia biológica, lo que sugiere que este comportamiento es percibido como placentero y potencialmente gratificante (Skånberg *et al.*, 2025). En conjunto, estos hallazgos destacan el papel de la oxitocina como un mediador clave que conecta la estimulación táctil, el comportamiento social y los estados emocionales en las vacas lecheras.

En los bovinos lecheros, las experiencias positivas están estrechamente relacionadas con la activación del sistema de recompensa dopaminérgico mesolímbico, el cual interactúa con procesos sociales y táctiles modulados por la oxitocina. Mientras que la oxitocina aumenta la relevancia y el valor percibido de los estímulos sociales y táctiles, la dopamina participa principalmente en la generación de recompensa, motivación y conductas dirigidas hacia objetivos (Kesner *et al.*, 2022; Love, 2013).

En este sentido, diversos estudios en mamíferos han demostrado que las vías neuronales que conectan las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo con el cuerpo estriado ventral y la corteza prefrontal participan activamente en el procesamiento de la recompensa. En estas vías, la dopamina actúa como un regulador clave de la actividad neuronal y de las respuestas conductuales frente a estímulos gratificantes (Barron *et al.*, 2010).

A nivel conductual, los estímulos recompensantes se caracterizan por inducir conductas de aproximación y por reforzar acciones que incrementan la probabilidad de obtener un resultado positivo, lo que explica por qué los animales tienden a repetir aquellas conductas asociadas con recompensas (Barron *et al.*, 2010). En este contexto, la señalización dopaminérgica, particularmente en el núcleo accumbens, resulta esencial para la motivación y ejecución de conductas de búsqueda de recompensa, así como para la regulación de estas respuestas en función del valor del estímulo, favoreciendo comportamientos dirigidos a la obtención y consumo de la recompensa (Halbout *et al.*, 2019). En sistemas de producción, estas bases neurobiológicas permiten interpretar ciertos comportamientos como indicadores de motivación positiva, por ejemplo, se ha observado que las vacas muestran una alta motivación por acceder a cepillos mecánicos, incluso cuando deben realizar un esfuerzo para

obtener dicho acceso (McConnachie *et al.*, 2018), lo cual sugiere que el cepillado puede ser percibido como un estímulo gratificante y puede activar mecanismos de recompensa.

Conducta motivada y necesidades comportamentales en bovinos

La conducta de los animales está guiada por procesos motivacionales moldeados por la selección natural que orientan al individuo hacia estímulos o acciones que incrementan su aptitud biológica. Estos procesos explican por qué los animales buscan determinados estímulos o realizan ciertas conductas que contribuyen a mantener su equilibrio fisiológico y conductual (Jensen y Toates, 1993).

Desde una perspectiva neurobiológica, el cerebro evalúa continuamente las consecuencias de la conducta en relación con un estado óptimo esperado, cuando existe una discrepancia entre el estado actual y ese estado ideal, se generan señales motivacionales que impulsan al animal a actuar. De esta forma, la motivación dirige el comportamiento hacia metas que favorecen la supervivencia y el bienestar del individuo. Estos mecanismos están asociados con sistemas neuronales de recompensa que permiten anticipar los resultados de las acciones y adaptar el comportamiento al entorno. La comprensión de estos procesos resulta fundamental para interpretar la conducta de los animales de producción y evaluar su bienestar (Manteuffel *et al.*, 2009; Mendl y Paul, 2004;).

Dentro de este marco conceptual se distinguen diferentes tipos de necesidades comportamentales. Algunas están estrechamente relacionadas con procesos fisiológicos inmediatos, como el hambre o la sed, cuya satisfacción produce cambios en variables metabólicas y hormonales. Sin embargo, también existen necesidades comportamentales que no dependen directamente de mecanismos fisiológicos reguladores. En estos casos, el animal parece necesitar ejecutar determinados patrones conductuales independientemente de su estado fisiológico inmediato (Boissy *et al.*, 2007).

Este tipo de necesidades fue descrito por Jensen y Toates (1993) como comportamientos que el animal debe realizar aun cuando no exista una retroalimentación fisiológica directa que los regule. Su valor biológico radica en los beneficios a largo plazo que aportan al individuo o a su descendencia, por lo que la propia ejecución del comportamiento genera refuerzos positivos dentro de los sistemas de recompensa del cerebro. Cuando estas conductas no pueden expresarse, el animal pierde una fuente importante de recompensa, lo que puede generar frustración o estrés (Beaver *et al.*, 2019; Dwyer *et al.*, 2026)

Este enfoque implica que el bienestar animal no depende únicamente de la satisfacción de necesidades fisiológicas básicas, como el acceso al alimento o al agua, sino también de la posibilidad de expresar comportamientos relevantes para la especie (Jensen y Toates, 1993; Mellor *et al.*, 2016). Los sistemas de alojamiento que restringen la expresión de estas conductas pueden generar conflictos entre las motivaciones internas del animal y las limitaciones del entorno. Por ello, identificar las conductas que los animales consideran prioritarias se ha convertido en un elemento clave para diseñar sistemas de producción que promuevan niveles adecuados de bienestar. De hecho, numerosos autores han señalado que el enriquecimiento ambiental y la mejora de las condiciones de alojamiento deben orientarse a permitir la expresión de comportamientos naturales y reducir la aparición de conductas anormales (Beaver *et al.*, 2019; Fraser y Duncan, 1998)

Los animales domésticos, incluidos los bovinos lecheros, conservan un repertorio conductual amplio que se ha mantenido a lo largo de la evolución y que continúa siendo

relevante incluso en sistemas de producción intensivos. Muchas de estas conductas persisten a pesar de los procesos de domesticación y selección genética, lo que indica que poseen una fuerte base biológica. El valor de una conducta depende tanto del estado interno del animal como de las oportunidades que ofrece el entorno para expresarla (Boissy *et al.*, 2007; Dwyer *et al.*, 2026). Cuando una conducta está impulsada por motivaciones internas fuertes, su restricción puede afectar negativamente el bienestar. Por el contrario, cuando el entorno permite su expresión, se favorecen estados emocionales positivos y una mejor adaptación al ambiente. Por esta razón, identificar las conductas que los animales valoran más constituye un paso fundamental para mejorar los sistemas de alojamiento y manejo en especies de producción (Mellor *et al.*, 2016).

Entre las conductas con alto valor motivacional en bovinos se encuentra el acicalamiento corporal. En condiciones naturales, los bovinos utilizan superficies rugosas como árboles o rocas para rascarse y eliminar suciedad, parásitos o material irritante del pelaje. Cuando los animales se mantienen en instalaciones cerradas donde estas superficies no están disponibles, puede generar incomodidad o frustración (Maciel-Torres *et al.*, 2026; Muraina y Forris *et al.*, 2026). Estudios de motivación han demostrado que las vacas están altamente motivadas para acceder a dispositivos de rascado o cepillos rotatorios, llegando a realizar esfuerzos comparables a los que realizan para acceder al alimento. Esto demuestra que el acicalamiento constituye una conducta relevante para el bienestar del animal y que su ausencia puede generar frustración. La incorporación de dispositivos de rascado en los sistemas de alojamiento puede ayudar a satisfacer esta necesidad comportamental y mejorar el confort de los animales (Beaver *et al.*, 2019; McConnachie *et al.*, 2018)

Las interacciones sociales constituyen otro componente importante del repertorio conductual de los bovinos. Estos animales viven naturalmente en grupos y establecen relaciones sociales relativamente estables que incluyen conductas afiliativas como el acicalamiento social, el juego y la sincronización de actividades. Estas interacciones contribuyen a mantener la cohesión del grupo y suelen asociarse con estados emocionales positivos (Maciel-Torres *et al.*, 2026). Cuando las interacciones sociales están restringidas, como ocurre en algunos sistemas de estabulación individual o amarre, se limita la expresión de estas conductas y puede verse afectado el bienestar. La presencia de comportamientos sociales positivos, junto con otras conductas asociadas con el confort o el interés por el entorno, suele utilizarse como indicador de estados emocionales favorables en animales de granja (Beaver *et al.*, 2019)

La exploración del entorno también constituye una conducta importante desde el punto de vista biológico. Este comportamiento forma parte de las conductas de búsqueda que permiten a los animales localizar recursos importantes como alimento o compañeros sociales (Keeling *et al.*, 2021). Estas conductas están asociadas con sistemas neuronales de recompensa relacionados con la motivación y la anticipación de resultados positivos (Mota-Rojas *et al.*, 2020). Cuando los animales enfrentan situaciones de estrés o privación de recompensas externas, pueden intentar compensar realizando comportamientos auto reforzantes como la exploración o el acicalamiento. Este fenómeno se ha relacionado con mecanismos neurobiológicos asociados con la motivación y la búsqueda de recompensa (Boissy *et al.*, 2007; Cronin *et al.*, 1985)

Los sistemas intensivos de producción animal suelen caracterizarse por ambientes relativamente pobres en estímulos y con oportunidades limitadas para la expresión del comportamiento natural. Cuando los animales no pueden realizar conductas que están fuertemente motivadas, se genera un conflicto entre las motivaciones internas y las restricciones del entorno. Este conflicto puede producir frustración, estrés y alteraciones del

comportamiento. La falta de oportunidades para interactuar con el ambiente también puede generar estados de aburrimiento crónico, definidos como una carencia prolongada de estímulos y desafíos ambientales. Estas condiciones pueden afectar tanto el comportamiento como los procesos cognitivos y emocionales de los animales (Manteuffel *et al.*, 2009)

Una de las consecuencias más visibles de estas condiciones es la aparición de conductas estereotipadas. Las estereotipias se definen como patrones conductuales repetitivos, invariantes y aparentemente carentes de función. Estas conductas se observan en numerosas especies mantenidas en cautiverio y se consideran indicadores importantes de bienestar comprometido (Li *et al.*, 2026). En el contexto de la ganadería intensiva, su aparición suele asociarse con ambientes con poca estimulación sensorial, restricción del espacio o limitaciones en la búsqueda de alimento. Con la intensificación de la producción ganadera, estas conductas han sido reconocidas cada vez más como un problema importante de bienestar en animales de granja (Li y Gu, 2024; Manteuffel *et al.*, 2009)

La restricción prolongada de las conductas motivadas también puede afectar la capacidad del animal para afrontar los desafíos del entorno. Cuando los animales perciben que no pueden controlar o modificar las condiciones que los rodean, pueden desarrollar estados similares a la indefensión aprendida. Este estado se caracteriza por una disminución de la actividad conductual y por cambios fisiológicos asociados con el estrés crónico (Li *et al.*, 2026; Moberg, 2000).

En contraste, cuando los animales pueden interactuar activamente con su entorno y obtener resultados positivos, se favorecen procesos de afrontamiento exitosos que reducen las respuestas fisiológicas de estrés. Un cierto nivel de estrés inicial puede ser necesario para activar mecanismos de alerta y adaptación, pero cuando el animal logra afrontar con éxito el desafío, las respuestas fisiológicas de estrés disminuyen (Boissy *et al.*, 2007; Dwyer *et al.*, 2026; Moberg, 2000)

Una de las estrategias más utilizadas para mejorar el bienestar animal en sistemas intensivos es la implementación de enriquecimiento ambiental. Este concepto se refiere a la modificación o adición de recursos en el entorno con el objetivo de aumentar su complejidad y proporcionar oportunidades para la expresión de conductas motivadas. Entre sus objetivos principales se encuentran la ampliación del repertorio conductual normal, la reducción de comportamientos anormales y la promoción de experiencias positivas para los animales. El enriquecimiento puede incluir cambios físicos en el ambiente, oportunidades de interacción social o estímulos cognitivos que fomenten la exploración y el aprendizaje. En general, el enriquecimiento se considera una estrategia fundamental para mejorar la calidad de vida de los animales mantenidos en cautiverio (Li *et al.*, 2026; Manteuffel *et al.*, 2009).

En el caso de los bovinos lecheros, los estímulos táctiles representan una forma particularmente relevante de enriquecimiento ambiental. La instalación de cepillos o dispositivos de rascado permite a los animales realizar conductas de acicalamiento que, de otro modo, serían difíciles de ejecutar en sistemas de estabulación cerrada (Beaver *et al.*, 2019). El acceso a estos dispositivos se ha asociado con un aumento en la actividad de los animales y con indicadores de mayor confort corporal. La elevada motivación que muestran las vacas por utilizar cepillos rotatorios sugiere que el acicalamiento constituye una necesidad comportamental importante. La incorporación de este tipo de recursos en los sistemas de alojamiento puede contribuir significativamente a mejorar el bienestar al permitir la expresión de conductas naturales y reducir la frustración asociada con su restricción (McConnachie *et al.* 2018)

Además del enriquecimiento físico, el enriquecimiento cognitivo también puede contribuir a mejorar la calidad de vida de los animales en sistemas de producción. Este tipo

de enriquecimiento implica proporcionar oportunidades para el aprendizaje y para la interacción activa con el entorno. Cuando los animales pueden realizar acciones que producen consecuencias predecibles y positivas, se generan emociones asociadas con la anticipación de recompensas. La posibilidad de controlar ciertos aspectos del ambiente reduce la incertidumbre y favorece respuestas de afrontamiento exitosas frente a posibles estresores. En conjunto, estas estrategias permiten promover estados emocionales positivos y mejorar el bienestar general de los animales (Boissy *et al.*, 2007; Dwyer *et al.*, 2026; Manteuffel *et al.*, 2009).

Enriquecimiento ambiental en sistemas de producción lechera

Los sistemas intensivos de producción lechera se caracterizan por ambientes altamente controlados que, si bien ofrecen ventajas como protección contra depredadores, condiciones climáticas adversas y una alimentación balanceada constante, también imponen limitaciones importantes sobre la conducta de los animales. La reducción del espacio disponible, la restricción del movimiento y la menor diversidad de estímulos ambientales generan condiciones monótonas que pueden afectar negativamente el bienestar (Beaver *et al.*, 2019; Mandel *et al.*, 2016).

En estos entornos, los animales enfrentan una disminución en las oportunidades para expresar comportamientos propios de la especie, lo que puede derivar en frustración, estrés y problemas de salud tanto física como conductual. Además, la reorganización social frecuente y la formación de nuevos grupos pueden incrementar la competencia y el estrés social en los animales (Morgan y Tromborg, 2007; Von Keyserlingk *et al.*, 2008).

En este contexto, el enriquecimiento ambiental surge como una estrategia clave para mitigar los efectos negativos de los sistemas intensivos. El enriquecimiento se define como la modificación del entorno de los animales con el objetivo de mejorar su funcionamiento biológico y su bienestar, proporcionando oportunidades adicionales para la expresión de conductas naturales. Esta estrategia busca aumentar la complejidad del ambiente, promover la exploración y permitir que los animales tengan cierto grado de control sobre su entorno (Mota-Rojas *et al.*, 2024).

Diversos estudios han demostrado que la incorporación de estímulos adicionales puede reducir indicadores de aburrimiento, como la inactividad prolongada, y fomentar comportamientos más activos y diversos. El aburrimiento, entendido como un estado afectivo negativo derivado de la falta de estímulos y oportunidades conductuales, ha sido identificado como un factor relevante en la disminución del bienestar en bovinos lecheros (Meagher, 2019; Russell *et al.*, 2024).

Además, el enriquecimiento ambiental no solo impacta el comportamiento, sino que también tiene efectos positivos a nivel fisiológico, cognitivo e inmunológico. Se ha observado que los animales en ambientes enriquecidos presentan mayor resiliencia frente a desafíos, mejor salud general y una mayor capacidad de adaptación. Esto sugiere que el enriquecimiento no actúa únicamente sobre un aspecto específico del bienestar, sino que contribuye a mejorar múltiples dominios biológicos de manera integrada. Desde una perspectiva ecológica, el bienestar animal depende de la interacción dinámica entre el individuo y su entorno, por lo que un ambiente que ofrezca variabilidad y oportunidades de interacción resulta fundamental para el desarrollo de respuestas adaptativas adecuadas (Colditz *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2022).

Environmental enrichment can be classified into several categories, including structural, social, sensory, cognitive, and tactile enrichment, each designed to stimulate species-specific behaviors and improve the animals' physical and emotional well-being (Mandel *et al.*, 2016)

El enriquecimiento estructural se refiere a modificaciones físicas del entorno que permiten a los animales expresar comportamientos naturales relacionados con el movimiento, el descanso y la interacción con el espacio. En sistemas lecheros, esto incluye la provisión de áreas de ejercicio, acceso a pastoreo, mejoras en las superficies de descanso y una adecuada distribución del espacio. Por ejemplo, el acceso a áreas de ejercicio o pastoreo permite a las vacas incrementar su actividad locomotora, explorar su entorno y realizar conductas sociales y de acicalamiento que son limitadas en sistemas de confinamiento. Asimismo, la calidad del área de descanso, incluyendo el tipo y cantidad de cama, influye directamente en el confort y bienestar de los animales. Las preferencias de las vacas por determinados materiales o condiciones de descanso reflejan la importancia de este tipo de enriquecimiento en la mejora de su bienestar (Fregonesi *et al.*, 2007; Mandel *et al.*, 2016).

El enriquecimiento social se centra en la provisión de oportunidades para la interacción entre individuos (Mandel *et al.*, 2016). Los bovinos son animales sociales que establecen jerarquías y relaciones estables dentro del grupo. La presencia de compañeros puede reducir el estrés, facilitar el aprendizaje y mejorar la capacidad de afrontamiento frente a situaciones adversas (Colditz *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2022). Sin embargo, prácticas comunes en sistemas intensivos, como el aislamiento temprano o el reagrupamiento frecuente, pueden alterar la estabilidad social y generar conflictos. La implementación de estrategias que reduzcan la competencia y favorezcan la estabilidad social, como mantener grupos estables o proporcionar suficiente espacio en comederos, puede mejorar significativamente el bienestar de los animales (De Paula Vieira *et al.*, 2012; Talebi *et al.*, 2014).

El enriquecimiento sensorial implica la estimulación de los sentidos del animal, incluyendo la vista, el oído y el olfato (Mandel *et al.*, 2016). En sistemas de producción, los estímulos auditivos pueden utilizarse para el manejo del ganado mediante condicionamiento, mientras que los estímulos visuales influyen en la percepción del entorno debido a la alta sensibilidad de los bovinos al movimiento y al contraste. Asimismo, el sentido del olfato juega un papel importante en la comunicación social y la detección de estados fisiológicos de otros individuos. La incorporación de estímulos sensoriales adecuados puede mejorar la interacción del animal con su entorno y reducir el estrés asociado a ambientes monótonos (Grandin, 2000)

Asimismo, el enriquecimiento cognitivo se basa en proporcionar a los animales oportunidades para aprender, resolver problemas y ejercer control sobre su entorno. Este tipo de enriquecimiento es especialmente relevante en sistemas intensivos, donde las oportunidades de estimulación mental suelen ser limitadas. Estudios han demostrado que los animales son capaces de desarrollar respuestas cognitivas complejas y que la posibilidad de anticipar recompensas o controlar ciertos aspectos del ambiente puede generar estados emocionales positivos. La falta de estimulación cognitiva, por el contrario, puede contribuir al desarrollo de aburrimiento y comportamientos anormales. Por ello, proporcionar desafíos adecuados y oportunidades de aprendizaje constituye un componente importante del bienestar animal (Broom, 2010; Colditz *et al.*, 2024; Mandel *et al.*, 2016).

Por otro lado, el enriquecimiento táctil se refiere a la provisión de estímulos que permiten al animal interactuar físicamente con su entorno, particularmente a través del contacto corporal (Dunston-Clarke *et al.*, 2024). Este tipo de enriquecimiento es

especialmente relevante en bovinos debido a la importancia del acicalamiento en su repertorio conductual. El contacto físico, ya sea mediante el acicalamiento propio o social, cumple funciones relacionadas con la higiene, el confort y posiblemente con la regulación emocional (Freslon *et al.*, 2020).

La estimulación táctil ha sido asociada con efectos positivos en el estado afectivo en diferentes especies, lo que sugiere que puede desempeñar un papel importante en la promoción del bienestar. En sistemas intensivos, donde los animales carecen de elementos naturales para interactuar, la provisión de estímulos táctiles adecuados resulta fundamental (DeVries *et al.*, 2007; Osório-Santos *et al.*, 2026).

Dentro del marco del enriquecimiento ambiental, los cepillos mecánicos representan una forma específica de enriquecimiento táctil y sensorial que permite a los bovinos expresar comportamientos naturales de acicalamiento (McConnachie *et al.*, 2018). En condiciones naturales, los animales utilizan elementos del entorno como árboles o postes para rascarse y alcanzar zonas del cuerpo difíciles de limpiar. En sistemas intensivos, la ausencia de estos elementos limita la expresión de este comportamiento, lo que puede generar incomodidad o frustración. La instalación de cepillos mecánicos proporciona una alternativa que permite a los animales satisfacer esta necesidad conductual (DeVries *et al.*, 2007).

El uso de cepillos ha sido ampliamente documentado como una conducta altamente motivada en bovinos (McConnachie *et al.*, 2018). Los animales utilizan estos dispositivos de manera frecuente y consistente, lo que indica que representan un recurso valioso dentro de su entorno. Además, su uso no solo está relacionado con la higiene corporal, sino también con experiencias positivas asociadas al contacto físico. La alta motivación por acceder a cepillos sugiere que su ausencia podría tener efectos negativos sobre el bienestar. Asimismo, cuando estos dispositivos no están disponibles, los animales pueden recurrir a estructuras del entorno, como paredes o bebederos, lo que puede aumentar el riesgo de lesiones (DeVries *et al.*, 2007; Van Os *et al.*, 2021).

Desde un punto de vista funcional, los cepillos pueden clasificarse en diferentes tipos, como estacionarios, móviles o rotatorios, cada uno con características específicas que influyen en su uso. Los cepillos rotatorios, por ejemplo, responden al contacto del animal y permiten una mayor interacción, mientras que los cepillos fijos representan una opción más simple y accesible (Osório-Santos *et al.*, 2026).

Independientemente de su tipo, estos dispositivos facilitan el acceso a regiones del cuerpo difíciles de alcanzar y promueven la expresión de comportamientos naturales. Además, su uso ha sido asociado con mejoras en la limpieza corporal, posibles incrementos en la producción y cambios en indicadores de bienestar, como la reducción del estrés o la detección temprana de enfermedades a través de cambios en el patrón de uso (Mandel *et al.*, 2016).

Finalmente, la integración de cepillos dentro de programas de enriquecimiento ambiental debe considerarse como parte de una estrategia más amplia que incluya diferentes tipos de estímulos y recursos. Aunque los cepillos representan una herramienta valiosa, su efectividad depende del contexto general del sistema de producción y de la disponibilidad de otros elementos de enriquecimiento. La combinación de enriquecimiento estructural, social, sensorial, cognitivo y táctil permite abordar de manera integral las necesidades comportamentales de los animales y promover un bienestar óptimo en sistemas intensivos de producción lechera (Colditz *et al.*, 2024; Mandel *et al.*, 2016; Russell *et al.*, 2024).

Interacción humano-animal y manejo positivo en bovinos

Una interacción puede definirse como un evento único y específico de contacto o encuentro entre un humano y un animal, el cual representa una experiencia aislada que puede contribuir a la formación de una relación más amplia entre ambos (Rault *et al.*, 2020). Las relaciones humano-animal (RHA) constituyen una parte esencial de las prácticas diarias en los sistemas de producción de bovinos de carne y leche, y se desarrollan a través de interacciones repetidas entre humanos y animales. Estas interacciones determinan la manera en que los animales perciben y responden a las personas con el tiempo, dando lugar a consecuencias tanto positivas como negativas. Es importante destacar que los animales domésticos pueden buscar el contacto con los humanos, y que las interacciones positivas se asocian con mejores estados emocionales y un mayor bienestar animal (Aubé *et al.*, 2023; Mota-Rojas *et al.*, 2024c; Waiblinger *et al.*, 2006).

Las interacciones humano-animal involucran múltiples canales sensoriales, incluyendo la percepción visual, táctil, olfativa y auditiva, y pueden presentarse de diferentes formas dentro de las unidades de producción, como la presencia visual de una persona, el desplazamiento entre los animales sin contacto físico, la comunicación vocal, el contacto físico, la alimentación como recompensa o prácticas de manejo invasivas y potencialmente aversivas. La manera en que un animal percibe estas interacciones puede clasificarse en positiva, neutral o negativa, y la categoría a la que pertenece una interacción depende en gran medida de las experiencias previas del animal con los humanos (Napolitano *et al.*, 2019; Waiblinger *et al.*, 2006).

Sin embargo, también es importante considerar que la percepción y respuesta de un animal frente a la interacción humana pueden verse influenciadas por sus rasgos individuales de personalidad. La personalidad, también denominada temperamento o estilo de afrontamiento, describe diferencias conductuales consistentes entre individuos a lo largo del tiempo y en distintos contextos. Los animales con un temperamento más tranquilo pueden adaptarse con mayor facilidad al manejo repetido y presentar menores respuestas de estrés, mientras que los individuos más reactivos pueden mostrar una mayor sensibilidad y respuestas de estrés más intensas ante las mismas interacciones (Mota-Rojas *et al.*, 2024b; Shahin *et al.*, 2018).

Las interacciones neutrales generalmente incluyen comunicación verbal calmada, manejo gentil y el uso cuidadoso de herramientas, mientras que las interacciones negativas involucran conductas como gritos, el uso de un tono de voz impaciente y el uso brusco de las manos o del equipo de manejo (Napolitano *et al.*, 2019). Estas prácticas aversivas se han asociado con un deterioro en el bienestar animal, ya que pueden inducir miedo y desencadenar respuestas de estrés tanto agudas como crónicas. Como consecuencia, los bovinos pueden presentar alteraciones fisiológicas relacionadas con el estrés, afectando negativamente su salud y productividad (Aubé *et al.*, 2023; Mota-Rojas *et al.*, 2020a). Además, los animales expuestos a manejo aversivo y con un mayor miedo hacia los humanos en general suelen tener más riesgo de experimentar lesiones, eventos traumáticos, mortalidad y una menor calidad de la carne (Zulkifli, 2013). Desde la perspectiva del manejo, estos animales también son más difíciles de manipular, lo que complica las prácticas rutinarias de manejo y puede reducir su eficiencia (Ellingsen *et al.*, 2014).

En contraste, una relación humano-animal (RHA) positiva se define por una percepción cercana y favorable entre humanos y animales, reflejada en su comportamiento y considerada esencial para un buen bienestar animal (Ellingsen *et al.*, 2014). Este tipo de

relaciones generalmente se asocia con la ausencia de respuestas de miedo hacia los humanos, dando como resultado animales más tranquilos y fáciles de manejar (Waiblinger *et al.*, 2006).

Las interacciones positivas como el contacto táctil gentil y un tono de voz tranquilo han demostrado reducir las conductas de miedo y evitación, además de contribuir a una mejora en la productividad de los animales manejados por cuidadores con actitudes favorables (Mota-Rojas *et al.*, 2020a).

Por ejemplo, Ellingsen *et al.* (2014) encontraron que los becerros presentaban estados emocionales más positivos cuando se manejaban de manera calmada y paciente, incluyendo el uso de caricias suaves e interacciones vocales tranquilas. De manera similar, Shahin *et al.* (2018) reportaron una disminución en la distancia de evitación después de un periodo de estimulación táctil, lo que indicó una reducción en el miedo hacia los humanos independientemente de las diferencias individuales de personalidad. Respaldando estos hallazgos, Lürzel *et al.* (2015) demostraron que los becerros expuestos a caricias suaves mostraron respuestas de miedo reducidas tanto a corto como a mediano plazo, además de alcanzar una mayor ganancia diaria promedio de peso, un factor importante relacionado con una mejor producción de leche en etapas posteriores de la vida.

Además de los cambios conductuales, las interacciones positivas también pueden influir en las respuestas fisiológicas. Por ejemplo, Schmied *et al.* (2008a) observaron una disminución en la frecuencia cardíaca durante procedimientos veterinarios en animales que recibieron contacto táctil gentil. Asimismo, Waiblinger *et al.* (2004) demostraron que las respuestas de estrés pueden minimizarse mediante el uso de un manejo positivo y la presencia de una persona que proporcione interacciones calmadas durante procedimientos aversivos como la palpación rectal o la inseminación. De igual forma, Probst *et al.* (2013) reportaron que los animales sometidos a un manejo gentil antes del sacrificio tuvieron menor evitación hacia los humanos y menores signos de estrés, reflejados en niveles reducidos de lactato durante la exanguinación.

Estos resultados también están estrechamente relacionados con las actitudes humanas, ya que las creencias, emociones e intenciones conductuales hacia los animales suelen reflejarse en las prácticas de manejo. Está ampliamente demostrado que la actitud del cuidador hacia los animales influye en su comportamiento hacia ellos, lo que a su vez afecta las respuestas de miedo, el bienestar y la productividad de los animales (Zulkifli, 2013).

Por lo tanto, las personas que perciben al ganado como animales receptivos y capaces de establecer interacciones positivas tienen mayor probabilidad de realizar un manejo paciente, consistente y positivo, fortaleciendo así la relación humano-animal (Waiblinger *et al.*, 2002). Estas actitudes no surgen de manera aislada, sino que forman parte de un proceso más amplio influenciado por factores subyacentes como los valores personales, la empatía y las experiencias previas, los cuales moldean las creencias, las intenciones y, finalmente, el comportamiento hacia los animales. En este contexto, el conocimiento adecuado sobre el comportamiento animal y las prácticas correctas de manejo resulta fundamental para promover interacciones positivas, lo que resalta la importancia de los programas de capacitación dentro de los sistemas de producción pecuaria y proyectos como el presente que ponen a prueba los efectos que pudieran tener las interacciones humano-animal positivas. Dichos proyectos no solo mejoran la calidad de las interacciones humano-animal, sino que también generan beneficios mutuos, al favorecer el bienestar animal y aumentar la satisfacción laboral, la motivación y el desempeño de los cuidadores, contribuyendo finalmente a sistemas de producción más eficientes y sostenibles (Hemsworth & Coleman, 2025; Mota-Rojas *et al.*, 2024c).

Las relaciones humano-animal positivas pueden fortalecerse aún más mediante interacciones gratificantes, como la alimentación y el contacto táctil suave, las cuales no solo facilitan el aprendizaje en los animales de producción, sino que también promueven respuestas fisiológicas asociadas con una disminución del estrés (Mota-Rojas *et al.*, 2020a).

En este contexto, La estimulación táctil, particularmente cuando se aplica en regiones como el cuello, el dorso y los flancos, ha demostrado actuar como un estímulo positivo cuando se realiza de manera adecuada, beneficiando tanto a los animales como a los manejadores (Mota-Rojas *et al.*, 2024b). Además, las interacciones táctiles suaves pueden inducir cambios fisiológicos compatibles con efectos “antiestrés”, como la disminución de la frecuencia cardíaca, posiblemente relacionada con la liberación de oxitocina, favoreciendo así la relajación de los animales (Lürzel *et al.*, 2015).

Los efectos beneficiosos de la estimulación táctil están respaldados por mecanismos neurobiológicos relacionados con el tacto afectivo. Las caricias y el contacto suave activan receptores sensoriales de bajo umbral presentes en la piel, entre ellos las fibras aferentes C-táctiles (CT), que son fibras no mielinizadas especializadas en detectar estímulos placenteros. Estas fibras envían señales al cerebro a través de la vía espinotalámica hacia regiones como la corteza insular, encargada de procesar los aspectos emocionales del tacto. La activación de esta vía favorece el aumento de la actividad parasimpática, promoviendo un estado de relajación. Esto se refleja en disminuciones de la frecuencia cardíaca, un incremento en la variabilidad de la frecuencia cardíaca y una menor percepción del dolor. Además, las señales táctiles son procesadas en áreas cerebrales relacionadas con la regulación emocional, lo que fortalece la percepción positiva del contacto físico y respalda su importancia en la mejora del bienestar animal (Mota-Rojas *et al.*, 2024b).

A pesar de los beneficios de la estimulación táctil, es importante considerar que prácticas como el cepillado manual pueden ser percibidas inicialmente por los animales como estímulos novedosos. Frente a situaciones desconocidas, los bovinos suelen responder con miedo, ya que esta representa una reacción natural de defensa. Sin embargo, esta respuesta puede disminuir mediante la habituación, definida como la reducción gradual de la respuesta conductual tras la exposición repetida a un estímulo (Rault *et al.*, 2020). La implementación de prácticas de manejo positivo, particularmente durante edades tempranas, puede ayudar a evitar que los animales asocien a los humanos con experiencias negativas y, en cambio, favorecer la familiaridad y la confianza.

Por ejemplo, Ujita *et al.* 2021 demostraron que vaquillas de 12 ± 2 meses expuestas a interacciones positivas con humanos se volvieron menos reactivas y más tolerantes al manejo. Estos hallazgos resaltan la importancia de las experiencias tempranas en el desarrollo de una relación humano-animal positiva y estable a lo largo del tiempo.

En general, la habituación ocurre de manera progresiva mediante la exposición continua y ha sido ampliamente observada en bovinos, donde los animales pueden adaptarse rápidamente tanto a la presencia humana como a diferentes prácticas de enriquecimiento (Russell *et al.*, 2024).

Dado que la habituación y las interacciones positivas repetidas pueden influir en el desarrollo de la relación humano-animal, resulta fundamental evaluar cómo responden los animales ante la presencia y el contacto con los humanos para determinar la calidad de esta relación. La relación humano-animal puede evaluarse mediante la observación de interacciones espontáneas, en las que animales y personas interactúan de forma natural sin intervención directa, o mediante pruebas controladas basadas en estímulos diseñados para evaluar las respuestas de manera más estandarizada (Rault *et al.*, 2020), como se realizó en el presente estudio.

También se han utilizado diversos cuestionarios para evaluar las actitudes, creencias y niveles de satisfacción laboral de los cuidadores o manejadores (Mota-Rojas *et al.*, 2020a); sin embargo, estos métodos pueden presentar limitaciones, ya que las personas pueden modificar su comportamiento al saber que están siendo evaluadas. Por esta razón, suele obtenerse una mayor confiabilidad mediante la observación directa de las respuestas de los animales, utilizando pruebas conductuales como la distancia de evitación dentro del corral o en el área de alimentación, pruebas de aproximación o indicadores registrados durante procedimientos rutinarios como el ordeño (por ejemplo, movimientos de patas o patadas). Además, el uso de tecnologías de ganadería de precisión permite el monitoreo continuo de las respuestas de los animales al manejo humano, facilitando intervenciones oportunas para mejorar el bienestar animal (Napolitano *et al.*, 2020; Zulkifli, 2013).

Es importante destacar que las interacciones con los humanos pueden desencadenar una variedad de cambios biológicos (variaciones en la frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura corporal) así como cambios conductuales antes, durante y después de la interacción, y que estas respuestas funcionan como indicadores indirectos de la calidad de la relación humano-animal (Rault *et al.*, 2020). Estos cambios constituyen la base para la evaluación de los estados emocionales en bovinos mediante indicadores conductuales y fisiológicos.

Indicadores conductuales y fisiológicos del estado emocional

La evaluación del bienestar animal depende cada vez más de indicadores basados en el animal, ya que estos proporcionan un reflejo más preciso de las experiencias vividas por los animales en comparación con las medidas basadas únicamente en los recursos o las condiciones del entorno. En los sistemas de producción lechera, la mayoría de los protocolos establecidos para la evaluación del bienestar se enfocan principalmente en condiciones físicas, como la condición corporal, las lesiones y la cojera, así como en comportamientos observables, incluyendo interacciones sociales y agonísticas. Sin embargo, existen menos indicadores destinados a evaluar los estados emocionales, especialmente aquellos asociados con emociones positivas (Battini *et al.*, 2019; Carranza-Pinedo *et al.*, 2025).

Esta limitación resulta relevante considerando que distintos trabajadores del sector, como los productores, están interesados en contar con indicadores prácticos que les permitan identificar cuándo los animales se encuentran o no en buenas condiciones de bienestar (Keeling *et al.*, 2021). No obstante, la evaluación de los estados emocionales en los animales representa un desafío, ya que las emociones son subjetivas y no pueden medirse de manera directa. Por ello, los investigadores recurren a métodos indirectos que deben validarse utilizando situaciones conocidas como positivas o negativas (Neave, 2025). Además, dado que los animales no pueden expresar verbalmente cómo se sienten, sus estados emocionales se infieren mediante la observación de cambios en el comportamiento, las respuestas fisiológicas y los procesos cognitivos (Carranza-Pinedo *et al.*, 2025). Asimismo, las interacciones con los humanos pueden provocar cambios biológicos medibles antes, durante y después de la interacción (Rault *et al.*, 2020).

Entre los cambios fisiológicos observados se encuentran las alteraciones tanto en la temperatura corporal central como en la periférica. Estas variaciones de temperatura están asociadas con respuestas autonómicas frente a estímulos emocionales y pueden reflejar procesos afectivos subyacentes. En particular, se ha demostrado que las temperaturas

periféricas, como las registradas en la región ocular o nasal, varían en respuesta tanto a experiencias positivas como negativas (Ede *et al.*, 2019; Neave *et al.*, 2025).

Por ejemplo, en un estudio realizado por Stewart *et al.* (2009), los becerros sometidos al descorné sin anestesia local mostraron una disminución inicial en la temperatura ocular, probablemente debido a la vasoconstricción inducida por el estrés, seguida de un aumento sostenido, lo que refleja la naturaleza dinámica de la respuesta fisiológica al dolor y al estrés. De manera similar, eventos estresantes como el manejo y el transporte se han asociado con incrementos en la temperatura ocular, observándose respuestas más marcadas en individuos más temerosos, lo que indica que esta medida es sensible no solo al estrés, sino también a las diferencias individuales en la reactividad emocional (Lecorps *et al.*, 2018). Sin embargo, situaciones consideradas positivas, como la alimentación, también pueden generar ligeros aumentos en la temperatura ocular en bovinos (Gómez *et al.*, 2018).

Por otro lado, la temperatura nasal de las vacas parece disminuir durante situaciones presumiblemente positivas. Proctor y Carder (2014) encontraron que la temperatura nasal promedio disminuyó significativamente durante las caricias, en comparación con las temperaturas registradas antes y después de esta interacción. De manera similar, en un estudio posterior, Proctor y Carder (2016) observaron que tanto las experiencias positivas como las negativas provocaron disminuciones significativas en la temperatura nasal. En este caso, las experiencias evaluadas incluyeron la presentación de un alimento altamente preferido, asociada con excitación positiva, y la presentación de un alimento no comestible después de generar expectativa, relacionada con frustración.

Estos hallazgos indican que los aumentos y las reducciones en la temperatura nasal no son exclusivas de estados emocionales negativos, sino que ocurren en respuesta a cambios en la valencia emocional de manera más general. Por lo tanto, la temperatura nasal parece ser sensible a los cambios emocionales independientemente de si la experiencia es positiva o negativa, lo que resalta su utilidad como indicador de reactividad emocional más que de valencia emocional por sí sola.

El cortisol, junto con otros indicadores de activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), ha sido ampliamente utilizado para evaluar estados afectivos en bovinos, principalmente en respuesta a eventos negativos, estresantes o dolorosos (Ede *et al.*, 2019). Se han reportado incrementos en las concentraciones de cortisol en becerros expuestos a eventos estresantes agudos, como la persecución y el derribo durante rodeos españoles, donde los niveles aumentan durante el evento y posteriormente regresan a valores basales, reflejando una respuesta transitoria al estrés (Cáceres *et al.*, 2023).

De manera similar, se han documentado concentraciones elevadas de cortisol después de procedimientos como el descorne, cirugías, castración y marcaje (Adcock y Tucker, 2018). Aunque el cortisol suele asociarse con el estrés, las disminuciones en su concentración también pueden aportar información sobre estados más positivos o menos aversivos. Por ejemplo, se han observado menores niveles de cortisol en bovinos que recibieron tratamientos analgésicos durante procedimientos dolorosos como el descorne y la castración (Barrier *et al.*, 2014).

En este contexto, las interacciones positivas humano-animal, como el cepillado manual del abdomen en vacas lecheras, también se han asociado con una disminución en las concentraciones de cortisol durante el ordeño (Wredle *et al.*, 2022). En conjunto, estos hallazgos resaltan el valor del cortisol como un indicador fisiológico capaz de reflejar tanto estados emocionales negativos como, de manera indirecta, estados más positivos en bovinos.

La oxitocina es otra hormona que se ha utilizado para evaluar estados emocionales en bovinos, particularmente aquellos relacionados con experiencias positivas e interacciones sociales.

Skanberg *et al.* (2025) evaluaron las respuestas de oxitocina en vacas no lactantes después de tener acceso a un cepillo mecánico y reportaron un ligero aumento en las concentraciones de oxitocina poco tiempo después de su uso. Esta respuesta se observó principalmente en animales más jóvenes y con menor número de lactancias, lo que sugiere que la edad o el estado fisiológico pueden influir en la liberación de oxitocina. Además, la magnitud de la respuesta pareció variar según la región corporal estimulada, registrándose mayores incrementos cuando el cepillado se concentró en la cabeza y el cuello.

De igual forma, Lürzel *et al.* (2020) evaluaron los niveles de oxitocina durante interacciones positivas humano-animal y encontraron que ciertas respuestas conductuales, como la extensión del cuello durante las caricias, se asociaron positivamente con los niveles de oxitocina (Keeling *et al.*, 2021). Estos resultados sugieren que, aunque las respuestas de oxitocina pueden ser sutiles y estar influenciadas por diversos factores, siguen siendo un posible indicador de estados emocionales positivos en bovinos.

Dentro del estudio de los indicadores fisiológicos de las emociones, la frecuencia cardíaca (FC) es ampliamente reconocida como un indicador clave de los estados emocionales en distintas especies animales, ya que refleja cambios en la actividad del sistema nervioso autónomo durante las reacciones emocionales (Keeling *et al.*, 2021; Lv *et al.*, 2018). Además de la FC, la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) ha surgido como una herramienta valiosa para evaluar los procesos emocionales, debido a que proporciona información sobre el equilibrio entre la actividad simpática y parasimpática. Esta medida resulta particularmente útil para evaluar el estrés y la regulación emocional en mamíferos, ya que las VFC se asocian con cambios en el control autonómico vinculados a distintos estados afectivos (Carranza-Pinedo *et al.*, 2025).

En bovinos, numerosos estudios han reportado cambios en la VFC durante situaciones estresantes (Neave *et al.*, 2025). Por ejemplo, se ha demostrado que el aislamiento social en bovinos desencadena una respuesta aguda de estrés, caracterizada por un incremento inicial en la frecuencia cardíaca seguido de una disminución gradual con el paso del tiempo. Este patrón, observado en vacas lecheras por Mandel *et al.* (2019), está asociado con la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), probablemente reflejando una respuesta de miedo. De manera consistente, las frecuencias cardíacas más elevadas durante los primeros minutos de aislamiento suelen estar acompañadas por un aumento en la actividad locomotora, lo que indica un mayor estado de activación que disminuye conforme el animal comienza a adaptarse (Boissy y Neindre, 1997).

También se ha demostrado que la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) disminuye bajo prácticas de manejo estresantes, como el descorne (Stewart *et al.*, 2009). En ese estudio, los autores interpretaron que los becerros experimentaban estados emocionales negativos después del descorne sin anestesia, ya que los cambios observados en la actividad cardíaca indicaron una reducción de la actividad parasimpática o vagal. Esta disminución de la VFC suele asociarse con estrés agudo o con una activación emocional negativa. De manera similar, Kovács *et al.* (2013) encontraron que la VFC en vacas lecheras disminuyó durante etapas relacionadas con el manejo y la espera previa al ordeño, evidenciado por una reducción de la actividad parasimpática y un aumento en el balance simpático-vagal, lo que sugiere una respuesta de estrés.

Solo un número limitado de estudios ha evaluado cómo responde la frecuencia cardíaca (FC) en condiciones positivas. En un estudio, los becerros expuestos a una situación

inducida positivamente mostraron una menor frecuencia cardiaca (FC) en comparación con aquellos sometidos a un contexto negativo, lo que respalda la idea de que las emociones positivas se asocian con un estado autonómico más calmado. Sin embargo, la FC se encontraba elevada antes de la condición positiva, probablemente reflejando una activación anticipatoria, lo que indica que incluso las experiencias positivas pueden activar el sistema nervioso autónomo (Lv *et al.*, 2018).

La evidencia derivada de las interacciones sociales también respalda la relación entre los estados positivos y las respuestas autonómicas. Por ejemplo, los bovinos que recibieron lamido social (acicalamiento social o *allogrooming*) presentaron una disminución significativa en la FC, lo cual ha sido interpretado como un signo de relajación y de la experiencia de emociones positivas (Laister *et al.*, 2011).

En otro estudio que evaluó el efecto de las caricias en vacas que previamente se encontraban en un estado relajado y de baja activación, evidenciado por una FC baja y una aparente alta actividad parasimpática, se observó que durante las caricias la FC aumentó ligeramente (menor a 2 lpm). Este incremento probablemente estuvo relacionado con una leve activación física o con la interacción social, más que con una respuesta de estrés, ya que aumentos similares también se han registrado durante comportamientos positivos como el *allogrooming*. A pesar de este cambio en la FC, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC), lo que sugiere que el equilibrio autonómico permaneció estable y dominado por la actividad parasimpática (Lange *et al.*, 2020).

En conjunto, estos hallazgos indican que las experiencias positivas no siempre producen disminuciones claras en la FC o aumentos en la VFC, y que estas medidas fisiológicas deben interpretarse junto con el contexto conductual para evaluar con mayor precisión los estados emocionales en bovinos.

Cambios conductuales

Los cambios conductuales pueden dividirse en: a) movimientos “expresivos” automáticos de la cara, la voz y los gestos, y b) conductas más amplias o de todo el cuerpo (sobresaltarse, aproximarse, evitar, pelear, huir, rendirse o acicalarse). Estas conductas también pueden clasificarse como deliberadas o automáticas, dependiendo de si surgen de procesos dirigidos a una meta o no (Carranza-Pinedo *et al.*, 2025).

Entre los movimientos expresivos faciales, el porcentaje de blanco ocular o apertura ocular y la posición de las orejas se encuentran entre los indicadores más estudiados hasta la fecha en animales (Neave *et al.*, 2025). En general, ciertos patrones faciales se asocian con estados específicos; por ejemplo, expresiones como las orejas hacia atrás, las fosas nasales dilatadas, la boca abierta y la elevación de las cejas se han relacionado con dolor y estrés, mientras que movimientos como el parpadeo y los cambios en la posición de las orejas se vinculan con estados más positivos (Cain, 2024; Müller *et al.*, 2019).

De manera similar, el porcentaje de blanco ocular se ha utilizado como indicador de excitación emocional, donde valores elevados reflejan estados de alta activación (ya sean positivos o negativos) y valores bajos se asocian con estados de relajación, como ocurre cuando las vacas presentan los ojos semicerrados (Battini *et al.*, 2019; Proctor y Carder, 2015a).

Otros componentes del lenguaje corporal, como el movimiento de la cola y la postura del cuello, también aportan información relevante. En general, una cola con movimientos vigorosos y una postura del cuello más horizontal se han observado en contextos positivos,

como durante el cepillado, mientras que una cola inmóvil o colocada entre las patas traseras se asocia con estados negativos o aversivos (de Oliveira y Keeling, 2018; Machado *et al.*, 2024). Asimismo, la postura de las orejas se considera uno de los indicadores más consistentes, debido a la gran movilidad auricular que presentan los bovinos. En términos generales, las orejas relajadas o dirigidas hacia atrás se han asociado con estados positivos de baja excitación, mientras que las posiciones erguidas o dirigidas hacia adelante se relacionan con estados de alta excitación, como la frustración (Battini *et al.*, 2019; Lambert y Carder, 2018). En conjunto, estos indicadores respaldan el uso del lenguaje corporal como una herramienta útil para evaluar los estados emocionales en bovinos.

Además del lenguaje corporal y la expresión facial, el comportamiento también constituye un indicador clave del estado emocional en los bovinos. Los animales que se consideran estar en un estado emocional positivo tienden a presentar mayores niveles de juego, así como conductas afiliativas como la exploración y el lamido social. En contraste, los animales que experimentan emociones negativas, incluyendo miedo o angustia, suelen mostrar comportamientos como temblores, vocalizaciones, intentos de escape y un aumento en la defecación o micción (Lv *et al.*, 2018).

Entre los indicadores conductuales de estados emocionales positivos, el juego ha sido considerado como un posible indicador de bienestar positivo en bovinos, ya que normalmente solo se expresa cuando sus necesidades básicas se han cumplido (Neave, 2025). El comportamiento de juego se relaciona con el bienestar de dos maneras. En primer lugar, los animales tienen mayor probabilidad de involucrarse en actividades de juego cuando no experimentan condiciones negativas como hambre, miedo o incomodidad, lo que significa que el juego refleja la ausencia de estados afectivos negativos. En segundo lugar, el juego en sí mismo se considera una actividad placentera, por lo que niveles más altos de juego se asocian con experiencias emocionales positivas (Jensen *et al.*, 2014).

Los estudios experimentales respaldan esta interpretación. Por ejemplo, los becerros que recibieron una mayor cantidad de leche durante las primeras etapas de vida mostraron más juego locomotor, lo que sugiere un mejor bienestar en comparación con aquellos sometidos a dietas restringidas (Jensen *et al.*, 2014). Asimismo, los becerros expuestos a condiciones positivas, como recompensas alimenticias o enriquecimiento ambiental, presentan más conductas de juego locomotor como correr y saltar (Lv *et al.*, 2018).

De manera similar al juego, la exploración puede reflejar estados afectivos positivos, ya que los animales presentan una motivación natural para involucrarse en actividades de búsqueda de información, lo que sugiere que este comportamiento puede ser intrínsecamente gratificante. Se han descrito dos formas principales de exploración: la exploración inquisitiva, en la que el animal busca activamente la novedad, y la exploración inspectiva, que ocurre cuando el animal responde a un estímulo nuevo o ambiguo en su entorno. La exploración también se ve influenciada por estados emocionales como el miedo, ya que los animales que experimentan altos niveles de estrés o ansiedad tienden a reducir su actividad exploratoria. Por lo tanto, niveles elevados de exploración, particularmente en ambientes seguros y enriquecidos, generalmente se asocian con estados emocionales más positivos, mientras que una menor exploración puede indicar un bienestar comprometido (Boissy *et al.*, 2007; Keeling *et al.*, 2021; Westerath *et al.*, 2009).

Más allá del comportamiento exploratorio, las interacciones sociales afiliativas, como el *allogrooming* o acicalamiento social, son ampliamente reconocidas como indicadores de estados afectivos positivos en bovinos. Los comportamientos de acicalamiento, incluyendo tanto el autoacicalamiento como el lamido social, cumplen múltiples funciones que van desde

el mantenimiento higiénico hasta el establecimiento y fortalecimiento de vínculos sociales dentro del grupo (Horvath y Miller-Cushon *et al.*, 2019).

En particular, el *allogrooming* se ha asociado con experiencias emocionales positivas, ya que no solo contribuye a la cohesión social y estabilidad del grupo a largo plazo, sino que también proporciona efectos gratificantes inmediatos. Por ejemplo, los bovinos que reciben *allogrooming* por parte de sus compañeros de grupo presentan disminuciones en la frecuencia cardíaca, lo que se interpreta como un signo de relajación y un cambio emocional positivo (Hodgson *et al.*, 2014; Laister *et al.*, 2011). De manera similar, la estimulación táctil en regiones comúnmente lamidas durante el acicalamiento social, como el cuello y el pecho, se ha asociado con una disminución en la frecuencia cardíaca, un mayor estiramiento del cuello y posturas relajadas de las orejas (Schmied *et al.*, 2008).

Además, los bovinos muestran una clara motivación por participar en actividades relacionadas con el acicalamiento, ya que están dispuestos a realizar un esfuerzo similar para acceder a cepillos mecánicos como el que realizan para obtener alimento fresco, lo que sugiere que estas conductas son intrínsecamente gratificantes (McConnachie *et al.*, 2018). Por lo tanto, se ha propuesto que el *allogrooming* contribuye a reducir la tensión y promover la relajación, reforzando su papel como un indicador tanto a corto como a largo plazo de bienestar positivo en bovinos.

Importancia de la estimulación táctil como modulador del estado emocional

Los enfoques actuales sobre el bienestar del ganado lechero han dejado atrás una visión centrada únicamente en el estrés y las experiencias negativas, enfatizando la importancia de promover estados emocionales positivos como un componente fundamental del bienestar animal (Mota-Rojas *et al.*, 2024b). En este contexto, el bienestar animal no debe entenderse solamente como la ausencia de sufrimiento, sino también como la presencia de experiencias positivas, donde el equilibrio entre estados positivos y negativos favorezca a los primeros (Mattiello *et al.*, 2019). Dentro de este marco, la estimulación sensorial, particularmente la estimulación táctil, ha cobrado creciente interés como un modulador relevante de los estados emocionales, no solo por su capacidad para reducir el estrés, sino también por su potencial para inducir activamente experiencias afectivas positivas.

La relevancia de la estimulación táctil en bovinos está estrechamente relacionada con los comportamientos naturales de acicalamiento, los cuales se consideran tanto una necesidad biológica como una fuente de estados emocionales positivos (Mota-Rojas *et al.*, 2024a). Como se mencionó anteriormente, el *allogrooming* o acicalamiento social cumple diversas funciones en bovinos relacionadas con la generación de placer y con distintos propósitos sociales. Los vínculos entre individuos y las relaciones preferenciales se establecen, mantienen y refuerzan principalmente a través del *allogrooming*. Además, este comportamiento favorece la cohesión grupal, contribuye al mantenimiento de la estabilidad social, reduce la tensión entre los animales y se ha asociado con efectos calmantes en el ganado (Freslon *et al.*, 2020), lo que sugiere que las interacciones táctiles pueden generar efectos positivos tanto a corto como a largo plazo.

Desde una perspectiva fisiológica, se ha demostrado que la estimulación táctil activa mecanismos neuroendocrinos asociados con estados emocionales positivos, particularmente mediante la liberación de oxitocina, una hormona involucrada en el vínculo social y en las conductas afiliativas (Oliveira *et al.*, 2022). Por ejemplo, se ha reportado que el cepillado

produce efectos comparables a los del cuidado materno en becerros, aumentando las concentraciones de oxitocina de manera similar a los comportamientos de lamido, los cuales son considerados indicadores de afiliación social y cuidado (Chen y Sato, 2016; Chen *et al.*, 2026). La liberación de oxitocina inducida por la estimulación táctil podría operar mediante mecanismos de retroalimentación positiva, reforzando las conductas sociales y contribuyendo a la generación de estados emocionales positivos (Oliveira *et al.*, 2022).

La aplicación de estimulación táctil en los sistemas de producción, particularmente mediante el uso de cepillos, se ha propuesto como una estrategia para mejorar el bienestar animal en condiciones donde los comportamientos naturales pueden verse restringidos (Dunston-Clarke *et al.*, 2024). Esto resulta especialmente relevante en sistemas de confinamiento, donde las oportunidades para realizar acicalamiento social pueden ser limitadas. En estos contextos, el enriquecimiento táctil puede ayudar a mitigar algunos de los efectos negativos asociados al confinamiento al proporcionar a los animales con oportunidades para realizar conductas gratificantes y biológicamente relevantes (Mandel *et al.*, 2016).

Además de permitir que las vacas expresen comportamientos naturales de rascado y frotamiento, el uso de cepillos se ha relacionado con una mejor limpieza corporal y, en algunos casos, con un mejor desempeño productivo, como un incremento en la producción de leche (Ujita *et al.*, 2021). Asimismo, el acceso a cepillos se ha asociado con indicadores conductuales y fisiológicos de estados emocionales positivos, incluyendo posturas relajadas de las orejas, un mayor movimiento de la cola y disminuciones en la frecuencia cardíaca (Oliveira *et al.*, 2018).

Estos efectos beneficiosos de la estimulación táctil sobre las respuestas conductuales y fisiológicas en bovinos han sido ampliamente documentados. Por ejemplo, Waiblinger *et al.* (2004) demostraron que el contacto táctil redujo las respuestas de estrés durante procedimientos veterinarios y de manejo, evidenciado por menores valores de frecuencia cardíaca en las vacas que recibieron estimulación en comparación con los animales control. De manera similar, Bertenshaw *et al.* (2008) reportaron que las vaquillas expuestas a breves periodos de estimulación táctil en regiones como el cuello, los hombros y la cabeza mostraron una menor reactividad durante el ordeño después del parto. En concordancia con estos hallazgos, Ujita *et al.* (2021) observaron mejoras en el comportamiento y un aumento en la producción de leche en vacas lecheras que recibieron cepillado antes y después del parto, lo que sugiere que los efectos de la estimulación táctil pueden extenderse más allá de las respuestas emocionales inmediatas e influir en variables relacionadas con la productividad.

Sin embargo, es importante reconocer que los efectos de la estimulación táctil no son uniformes y pueden variar dependiendo de múltiples factores internos y externos, incluyendo el sistema de manejo, la experiencia previa con cepillos, la etapa fisiológica y la edad, el contacto humano y el ambiente.

En los sistemas intensivos de producción, el diseño del alojamiento y las condiciones de manejo desempeñan un papel clave en la expresión de este comportamiento (Mandel *et al.*, 2016). Por ejemplo, las vacas alojadas en sistemas más restrictivos tienden a interactuar más con los cepillos, probablemente debido a la disponibilidad limitada de recursos alternativos para el acicalamiento, mientras que los animales mantenidos en sistemas basados en pastoreo o con baja densidad de alojamiento pueden utilizar los cepillos con menor frecuencia (Maciel-Torres *et al.*, 2026).

Además, los factores de estrés ambientales y fisiológicos pueden reducir significativamente el uso de los cepillos. La exposición a altas temperaturas y humedad se ha asociado con una disminución en la actividad de acicalamiento, observándose menos tiempo

de cepillado conforme aumenta la temperatura. De igual manera, procedimientos invasivos como la inseminación artificial o el diagnóstico de gestación pueden reducir el comportamiento de cepillado hasta en un 50 % (Mandel *et al.*, 2013).

La dinámica social dentro del grupo también desempeña un papel importante en el acceso al cepillado. Diversos estudios han demostrado que el uso de cepillos está fuertemente influenciado por la jerarquía social, siendo los individuos dominantes quienes los utilizan con mayor frecuencia en comparación con los animales subordinados (Foris *et al.*, 2021; Foris *et al.*, 2023). Esto indica que los patrones de uso de los cepillos no dependen únicamente de la motivación intrínseca de los animales, sino que también están condicionados por restricciones sociales dentro del grupo (Maciel-Torres *et al.*, 2026).

Los factores de manejo relacionados con la disponibilidad y el diseño de los recursos también influyen en el comportamiento de cepillado. Se ha demostrado que la ubicación de los cepillos afecta su uso, observándose mayores niveles de interacción cuando estos se colocan en áreas consideradas como de alto tránsito, como los pasillos de alimentación o de acceso al agua. De igual manera, la proporción cepillo: vaca y el tamaño del grupo son factores determinantes, ya que una mayor disponibilidad (grupos más pequeños o menor competencia) favorece un mayor uso individual de los cepillos. El tipo de cepillo también influye, ya que los cepillos giratorios o mecánicos tienden a generar interacciones más prolongadas y frecuentes en comparación con los dispositivos fijos, probablemente debido a una estimulación táctil más intensa (Foris *et al.*, 2023; Maciel-Torres *et al.*, 2026).

Además, las etapas fisiológicas también pueden influir en el comportamiento de acicalamiento. Se ha observado que las vacas utilizan el cepillo mecánico antes del parto y después de la separación de su becerro, pero no mientras el becerro permanece presente. Asimismo, se ha reportado que las vacas con acceso a un cepillo dedicaron más tiempo a lamer a sus becerros, lo que sugiere que el enriquecimiento puede influir positivamente en el comportamiento maternal (Newby *et al.*, 2013).

En este contexto, la estimulación táctil no debe considerarse de manera aislada, sino como parte de un marco más amplio que incluye tanto el enriquecimiento ambiental como la interacción humano-animal.

En los sistemas de producción lechera, las interacciones táctiles suaves, como las caricias, se utilizan comúnmente durante el manejo rutinario y han demostrado reducir las respuestas de miedo hacia los humanos, mejorando así la relación humano-animal. Además, los animales suelen buscar activamente el contacto táctil, lo que indica que este tipo de estimulación podría representar una conducta motivada con un valor gratificante intrínseco, más que simplemente un mecanismo para reducir el estrés (Hemsworth *et al.*, 2000; Schmied *et al.*, 2008).

Sin embargo, es importante destacar que tanto la evidencia observacional como la experimental sugieren que los efectos de la estimulación táctil no son uniformes, sino que dependen de la región corporal donde se aplica. Diversos estudios han demostrado que acariciar áreas comúnmente involucradas en el acicalamiento social, como la cruz y la región ventral del cuello, provoca respuestas conductuales y fisiológicas más intensas en comparación con regiones menos frecuentemente acicaladas, como la parte lateral del tórax (Schmied *et al.*, 2008). En particular, la estimulación de la región ventral del cuello se ha asociado de manera consistente con respuestas positivas más pronunciadas y con mejoras en la relación humano-animal en comparación con otras regiones corporales (Lange *et al.*, 2020). Esto respalda la idea de que las prácticas de manejo pueden optimizarse al imitar comportamientos sociales propios de la especie.

Los cambios observados en la respuesta fisiológica y el lenguaje corporal de los bovinos durante la estimulación táctil administrada por humanos y mediante cepillos mecánicos sugieren que ambos tipos de estimulación pueden inducir estados emocionales positivos bajo condiciones adecuadas (Muraina y Foris *et al.*, 2026).

En becerros, el cepillado repetido por parte de humanos se ha asociado con un aumento en las concentraciones de oxitocina y una disminución en los niveles de cortisol, lo que sugiere un cambio hacia un estado afectivo más positivo (De-Sousa *et al.*, 2024). De manera similar, los animales expuestos tanto a estimulación táctil como a ambientes enriquecidos han mostrado concentraciones más elevadas de oxitocina circulante y menores niveles de lactato en comparación con los grupos control, lo que indica una reducción del estrés y una mejor regulación fisiológica (Miranda *et al.*, 2023). A pesar de esta evidencia, las mediciones fisiológicas directas durante el uso de cepillos mecánicos siguen siendo limitadas.

En el lenguaje corporal se ha observado que los becerros buscan activamente el contacto humano cuando este involucra el cepillado, mostrando comportamientos como inclinarse hacia el estímulo y estirar el cuello, los cuales se interpretan como indicadores de placer percibido (Proctor y Carder, 2015; Westerath *et al.*, 2014).

Sin embargo, es importante señalar que estas respuestas positivas no siempre ocurren de manera inmediata, ya que los animales pueden mostrar miedo o evitación e un inicio hacia estímulos táctiles novedosos o hacia humanos desconocidos, lo que resalta la importancia de la habituación para que los efectos beneficiosos puedan manifestarse (Westerath *et al.*, 2014).

Además, también deben considerarse las variaciones individuales, ya que el temperamento puede influir significativamente en las respuestas a la estimulación táctil. Los bovinos con un temperamento más excitable tienden a mostrar respuestas de miedo más intensas durante el manejo, lo que puede traducirse en conductas de evitación al cepillado o reacciones impredecibles hacia los cuidadores. En contraste, los animales más tranquilos generalmente son menos reactivos y pueden establecer relaciones humano-animal más positivas (Mota-Rojas *et al.*, 2024b).

Por lo tanto, comprender la influencia de factores como el comportamiento natural, la interacción humano-animal, el temperamento del animal, la habituación y las condiciones ambientales resulta fundamental para interpretar y evaluar adecuadamente los efectos de la estimulación táctil sobre el animal. En conjunto, este enfoque proporciona una base directa para los objetivos del presente estudio y contribuye al desarrollo de estrategias de manejo orientadas a favorecer experiencias positivas en los sistemas de producción bovina.

Cepillos mecánicos

El acicalamiento es un comportamiento natural esencial en el ganado vacuno (DeVries, 2007). A través del acicalamiento social (allogrooming), los bovinos establecen, mantienen y refuerzan vínculos sociales preferenciales, contribuyendo a la cohesión del grupo y a la estabilidad social general (Freslon *et al.*, 2020). Este comportamiento afiliativo ha demostrado reducir la tensión social y ejercer efectos calmantes dentro del grupo, promoviendo un entorno social más relajado. Además de estos beneficios a largo plazo, el acicalamiento social también parece proporcionar recompensas inmediatas, ya que se ha asociado con la inducción de estados emocionales positivos a corto plazo (Laister *et al.*, 2011). En consecuencia, el acicalamiento contribuye positivamente al estado afectivo del

animal al reducir el aburrimiento, el estrés y la frustración, al tiempo que fortalece las relaciones sociales entre congéneres (McConnachie *et al.*, 2018; Schukken y Young, 2009; Reyes, 2022). Este comportamiento puede fortalecer los vínculos sociales con otros congéneres, favorecer la limpieza, eliminar parásitos y contribuir positivamente al estado afectivo del animal, reduciendo el aburrimiento, el estrés y la frustración (McConnachie *et al.*, 2018; Reyes, 2022).

En este sentido, dentro de los marcos conceptuales establecidos de bienestar animal, como el modelo de los Cinco Dominios, el acicalamiento puede situarse en la interfaz entre el bienestar físico y mental (Mellor *et al.*, 2020). Mientras que el dominio físico se relaciona con la salud de la piel, la eliminación de parásitos y los comportamientos de mantenimiento, el dominio mental abarca las experiencias afectivas asociadas con la estimulación táctil, incluyendo la relajación y el placer (Boissy *et al.*, 2007; Proctor *et al.*, 2015).

En los sistemas de producción donde el ganado no se encuentra en entornos naturales, esta conducta se promueve mediante el uso de cepillos mecánicos debido a que numerosos estudios han demostrado que estos dispositivos permiten a las vacas acicalarse con mayor eficacia, especialmente en zonas de difícil acceso, y evitan el uso de superficies abrasivas para acicalarse y rascarse (Keeling, 2016; Mandel *et al.*, 2016). Además, el cepillado mecánico se considera un sustituto funcional de los sustratos naturales de acicalamiento, especialmente en sistemas de estabulación donde los animales carecen de acceso a árboles u otras estructuras, promoviendo así la expresión de comportamientos específicos de la especie. En estos entornos, las vacas muestran una alta motivación por interactuar con los cepillos, aunque su uso puede variar en función de factores como la jerarquía social, el estado de salud, el estado afectivo y la competencia por el acceso (Sadrzadeh *et al.*, 2024).

Más allá de facilitar el acicalamiento, se ha demostrado que los cepillos mecánicos imitan patrones naturales de acicalamiento, proporcionando beneficios tanto físicos como psicológicos. Su uso se ha asociado con un aumento en la expresión de comportamientos naturales, una mejora en las interacciones sociales y la modulación de las respuestas fisiológicas al estrés (Maciel-Torres *et al.*, 2026). En contraste, en entornos restrictivos o subóptimos, las vacas pueden intentar acicalarse frotándose contra superficies duras como cercas, portones o estructuras de alimentación, lo que puede comprometer la eficiencia del acicalamiento y afectar negativamente el bienestar. La provisión de cepillos mecánicos ofrece una estimulación táctil adecuada, permitiendo a los animales acceder a regiones corporales de difícil alcance y reduciendo la aparición de comportamientos anormales o redirigidos (Li *et al.*, 2024; Mota-Rojas *et al.*, 2024).

Desde su introducción a mediados de la década de 1980, los cepillos automatizados representaron un avance importante, ya que estos dispositivos suelen estar equipados con interruptores que pueden ser activados por las propias vacas, permitiendo un uso repetido y voluntario (DeVries *et al.*, 2007). Al facilitar la expresión del comportamiento natural de acicalamiento, estos sistemas pueden ayudar a reducir la frustración y el estrés asociados al aburrimiento en condiciones de estabulación intensiva. Como resultado, los cepillos mecánicos se han convertido en una característica cada vez más común en las explotaciones lecheras a nivel mundial y actualmente son ampliamente considerados como una forma de enriquecimiento ambiental que favorece tanto el bienestar animal como los resultados productivos (Van Os *et al.*, 2011; Velásquez-Muñoz *et al.*, 2019). Su capacidad para satisfacer de manera eficiente las necesidades de acicalamiento se ha relacionado no solo con mejoras en la expresión conductual, sino también con un mejor desempeño fisiológico. En particular, diversos estudios han reportado incrementos en la producción de leche que oscilan entre el

8% y el 17.6%, especialmente en vacas multíparas, lo que sugiere que facilitar comportamientos naturales puede tener beneficios directos sobre la productividad (Li *et al.*, 2024).

En este contexto, diversos estudios han evaluado los efectos específicos del uso de cepillos mecánicos (MB). DeVries *et al.* (2007) evaluaron la implementación de MB en 72 vacas lecheras donde encontraron beneficios en las vacas provistas de MB en relación con el cuidado materno. Las vacas enriquecidas lamieron a sus terneros durante períodos prolongados (8,7 min) en contraste con el ganado no enriquecido. De manera similar, Horvath *et al.* (2020) reportaron que proporcionar a los terneros acceso a cepillos mecánicos estacionarios incrementó la participación en conductas de acicalamiento y redujo los comportamientos orales anormales asociados con un enriquecimiento ambiental limitado. Los terneros con acceso a cepillos dedicaron más tiempo al acicalamiento en comparación con aquellos sin acceso y mostraron reducciones en conductas de succión dirigidas al corral y comportamientos no nutritivos dirigidos a pezones, particularmente alrededor de los momentos de alimentación. Además, los terneros con acceso a cepillos presentaron una mejor limpieza del pelaje durante el destete.

Otros estudios han encontrado que las vacas están altamente motivadas para acceder a los cepillos. Por ejemplo, Strappini *et al.* 2021 determinaron en 25 terneros Holstein Friesian destetados una preferencia (hasta 60 veces mayor) por MB rotacionales y cuerda horizontal en comparación con cepillos estacionarios.

De manera similar, la influencia que tienen los MB en las conductas motivadas fue reportada por McConnachie *et al.* (2018), en vacas Holstein preñadas y lactantes. Al comparar una habitación con alimento fresco o una con un MB automatizado (donde los animales podían entrar después de empujar una puerta con peso), los autores encontraron que las vacas estaban altamente motivadas para acceder al cepillo. Además, se demostró que el cepillado fomenta la actividad. Velasquez-Munoz *et al.* (2019), informaron que en 165 vaquillas Holstein, la adición de MB disminuyó el tiempo de inactividad en $1,1 \pm 0,82$ min. Además, el tiempo de alimentación aumentó en 0,58 min/h, lo que sugiere que el acicalamiento es un recurso con un valor similar al de la comida. Estos resultados no solo respaldan la idea de que los MB motivan el acicalamiento, sino que el ganado prefiere en gran medida los espacios proporcionados por dicha estimulación táctil.

De acuerdo con Maciel-Torres *et al.* (2026), los cepillos mecánicos pueden proporcionar beneficios que van más allá de satisfacer la motivación de acicalamiento en el ganado lechero. Su uso se ha asociado con un aumento en la productividad, una reducción de la frustración y estrés, la modulación de la actividad del eje hipotálamo–hipófisis–adrenal y del equilibrio autonómico, así como con mejoras en la producción de leche.

En este contexto varios autores coinciden en que el uso de MB puede reducir el estrés por manejo, observándose una disminución de la frecuencia cardíaca (FC) (DeVries *et al.*, 2007; Moncada *et al.*, 2019; Newby *et al.*, 2013). Asimismo, el aumento en el uso de MB después de que las vacas son separadas de sus terneros reduce el aislamiento y las reacciones adversas (Newby *et al.*, 2013). Sin embargo, otros estudios han reportado un efecto no significativo sobre el estrés (Mandel *et al.*, 2018).

Por otro lado, el efecto sobre la producción de leche se ha reportado en varios estudios, Li *et al.* (2024) reportaron que las vacas provistas con MB mostraron mejoras en la producción de leche, con los mayores efectos observados en vacas de cuarto y quinto parto. En comparación con los grupos control, la producción total de leche a 305 días aumentó hasta 2299.1 kg/vaca en vacas de cuarto parto y 1029.48 kg/vaca en vacas de quinto parto, con diferencias significativas en estos grupos. Aunque las vacas en lactancia, secas y perinatales

mostraron diferentes patrones de uso de los cepillos, las vacas perinatales presentaron los niveles más altos de interacción. De manera similar, Schukken y Young (2009) reportaron que el uso de cepillos mecánicos incrementó significativamente la producción diaria de leche en vacas de segundo parto en aproximadamente 1 kg/día (3.5%). Este incremento se hizo más evidente con el tiempo y se estabilizó alrededor de seis meses después de la instalación de los cepillos. En contraste, no se observaron diferencias significativas en vacas de primer parto o con más de dos partos. Además, las vacas se adaptaron fácilmente a los cepillos y los utilizaron con frecuencia durante todo el período de estudio.

Asimismo, en un estudio realizado por Lechuga *et al.* (2023), se evaluó la producción residual de leche mediante el uso de oxitocina en vacas expuestas a estímulos ambientales como la música y el cepillado mecánico. Las vacas no expuestas a ninguno de estos estímulos presentaron hasta un 41% más de volumen residual de leche en comparación con aquellas expuestas a uno o ambos estímulos. Además, el acceso a cepillos resultó en un aumento significativo en la producción diaria de leche, con un promedio de 5.24 L/día frente a 3.49 L/día en vacas sin acceso. De igual manera, las vacas expuestas a estos estímulos presentaron niveles más elevados de serotonina, lo que sugiere un efecto positivo sobre el bienestar animal y el estado emocional.

Diversos estudios también han explorado los efectos fisiológicos de los cepillos mecánicos sobre las respuestas al estrés y la regulación autonómica en el ganado lechero. Griffin *et al.* (2024) evaluaron la influencia de sistemas automatizados de cepillado sobre las concentraciones de cortisol salival en vacas lecheras en sistemas de estabulación libre. Los resultados mostraron que las vacas utilizaron más los cepillos durante la tarde, mientras que las concentraciones de cortisol fueron mayores en la mañana. Aunque la relación entre el uso del cepillo y los niveles de cortisol fue relativamente débil, el uso durante la primera mitad del estudio mostró una ligera asociación con menores concentraciones de cortisol, lo que sugiere un posible efecto calmante del enriquecimiento mediante acicalamiento. De manera similar, Wredle *et al.* (2022) reportaron que el cepillado abdominal durante el ordeño redujo significativamente las concentraciones de cortisol a 1, 5 y 14 minutos después del inicio del ordeño, a pesar de no observarse efectos sobre la liberación de oxitocina o ACTH. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la estimulación táctil a través del acicalamiento o cepillado puede activar vías parasimpáticas y reducir las respuestas fisiológicas al estrés en vacas lecheras. En conjunto, estos estudios sugieren que estrategias de enriquecimiento ambiental como los MB pueden influir positivamente en el estado emocional, la relajación y el bienestar general en sistemas lecheros intensivos.

Aunque la literatura generalmente respalda los efectos positivos de los cepillos mecánicos (MB) sobre el bienestar y la productividad del ganado lechero, varios estudios han reportado variabilidad en la magnitud y consistencia de estas respuestas entre animales y sistemas de producción (Maciel-Torres *et al.*, 2026).

Desde una perspectiva biológica, factores como la paridad y el nivel de producción pueden influir en la capacidad de respuesta de las vacas al enriquecimiento táctil. Las vacas multíparas y de alta producción suelen estar expuestas a mayores demandas metabólicas y estrés fisiológico, lo que puede incrementar su sensibilidad a estrategias de enriquecimiento ambiental como los MB. En consecuencia, estos animales pueden presentar respuestas conductuales y fisiológicas más marcadas en comparación con vacas primíparas o de menor producción (Li *et al.*, 2024; Schukken y Young, 2009). Asimismo, Muraina y Foris (2026) describieron el acicalamiento como un comportamiento de “baja resiliencia”, lo que implica que su expresión es altamente sensible a cambios en la condición fisiológica del animal y a desafíos ambientales. Como resultado, las actividades relacionadas con el acicalamiento

pueden disminuir rápidamente durante estados de enfermedad e incluso podrían servir como un posible indicador de salud.

Las condiciones de manejo y del entorno también pueden influir de manera significativa en el uso de los MB y en los beneficios asociados. Factores como el diseño de las instalaciones, la densidad de alojamiento, la competencia social y la accesibilidad a los recursos pueden modificar tanto la frecuencia de uso de los cepillos como las respuestas conductuales del ganado. Foris *et al.* (2021) reportaron que las vacas socialmente dominantes interactuaban con mayor frecuencia con los MB que los animales subordinados, especialmente durante periodos de mayor actividad alimenticia. De manera interesante, las interacciones agonistas que ocurrían directamente en el cepillo no se asociaron con la duración del cepillado, lo que sugiere que la dinámica social general del grupo puede restringir indirectamente el acceso de los individuos subordinados. De forma similar, Foris *et al.* (2023) observaron que el uso de los cepillos aumentaba cuando estos se ubicaban cerca de áreas de alimentación y bebida, y cuando las vacas se alojaban en grupos más pequeños. Asimismo, se ha señalado que las condiciones ambientales pueden influir en la motivación de acicalamiento, ya que niveles elevados de temperatura y humedad se han asociado con una reducción en el uso de cepillos (Mandel *et al.*, 2013). No obstante, los autores enfatizan que actualmente no existen recomendaciones científicamente validadas sobre la ubicación óptima de los cepillos ni sobre la proporción adecuada entre vaca:cepillo.

Adicionalmente, las características de los cepillos y las diferencias metodológicas entre estudios pueden contribuir a las inconsistencias en los resultados reportados. Los cepillos rotatorios generalmente promueven una mayor interacción y tiempos de uso más prolongados en comparación con los cepillos estacionarios, lo que podría potenciar sus efectos conductuales y fisiológicos (Maciel-Torres *et al.*, 2026). La variabilidad en el diseño experimental, incluyendo el tamaño de muestra, el periodo de observación, la etapa de lactancia, las rutinas de manejo y los enfoques estadísticos, puede dificultar aún más la comparación entre estudios y contribuir a resultados inconsistentes en relación con el uso de cepillos y parámetros productivos como la producción de leche y el desempeño reproductivo (Li *et al.*, 2024; Foris *et al.*, 2021; Foris *et al.*, 2023; Mandel *et al.*, 2013; Maciel-Torres *et al.*, 2026).

Por lo tanto, dado que el acicalamiento es una conducta esencial para el ganado lechero, la estimulación táctil a través de MB puede ayudar a motivar a los animales a realizar conductas específicas de la especie. Además, el ganado también puede experimentar estados emocionales positivos como el placer (Boissy *et al.*, 2007; Proctor *et al.*, 2015). En conjunto, los MB representan una herramienta relevante para mejorar la productividad y el bienestar animal, al promover tanto la expresión conductual como experiencias positivas. Sin embargo, su efectividad depende de factores individuales y de manejo, por lo que su implementación debe considerarse dentro de un enfoque integral de bienestar.

Importancia del lenguaje corporal (orejas, cola y cuerpo) en estados emocionales positivos y negativos

El estudio de las emociones en los animales de producción ha adquirido una creciente relevancia dentro del campo del bienestar animal, ya que permite comprender de manera más integral cómo los animales perciben y responden a su entorno (Machado y Oliveira, 2020). Las emociones se definen como estados biológicos transitorios originados por procesos

neuropsicológicos, los cuales se expresan a través de componentes conductuales, fisiológicos, cognitivos y subjetivos. Cada uno de estos componentes se caracteriza por una valencia específica, la cual indica si la experiencia es positiva o negativa, y también puede diferir en términos de intensidad de activación y duración. Por lo tanto, profundizar en el entendimiento de estos procesos emocionales es esencial para mejorar el bienestar animal, ya que favorece el desarrollo de mejores prácticas de manejo y de cuidados más adecuados para los animales bajo responsabilidad humana (Mota-Rojas *et al.*, 2025b; Neethirajan *et al.*, 2021).

En este contexto, cada vez se reconoce más que la investigación en bienestar animal debe ir más allá del enfoque tradicional centrado únicamente en la identificación de experiencias negativas. Actualmente, también se considera fundamental comprender y reconocer los estados emocionales positivos, ya que estos desempeñan un papel esencial en la calidad de vida de los animales. De este modo, un buen bienestar no solo implica la ausencia de sufrimiento, sino también la presencia de experiencias positivas y gratificantes (Boissy *et al.*, 2007; Proctor *et al.*, 2015).

Dentro de este contexto, el uso de indicadores observables ha surgido como una herramienta clave para evaluar los estados emocionales en los animales. Los animales dependen de una compleja combinación de posturas corporales y expresiones faciales para comunicar sus estados emocionales, y ciertos indicadores específicos, como la posición de las orejas, el movimiento de la cola, la apertura ocular y la postura general del cuerpo, han sido ampliamente utilizados en investigaciones para evaluar las respuestas emocionales en animales de producción (Battini *et al.*; Mota-Rojas *et al.*, 2025b; Reefmann *et al.*, 2009; Tamioso *et al.*, 2018). Estos indicadores representan un medio práctico y no invasivo para interpretar las respuestas emocionales tanto a estímulos positivos como negativos, contribuyendo así a una evaluación más integral del bienestar animal.

Varios estudios han examinado la relación entre el movimiento de la cola y la expresión emocional en diversas especies, revelando que los patrones de movimiento de la cola son específicos de cada especie e incluso pueden cambiar con la edad. Esto sugiere que el mismo movimiento puede señalar diferentes estados emocionales en diferentes animales (Keeling *et al.*, 2021; Machado y Silva, 2019; Machado *et al.*, 2024).

La postura y el movimiento de la cola son especialmente notorios en los perros y se han asociado estrechamente con distintos estados emocionales. Diversas investigaciones han demostrado que los perros presentan diferentes movimientos de la cola dependiendo del estímulo que perciben. Quaranta *et al.* (2007) demostraron que los perros exhiben movimientos asimétricos de la cola en función del estímulo visual presentado. Cuando los perros observaban a sus dueños, el movimiento de la cola mostraba una marcada inclinación hacia el lado derecho y con mayor amplitud, lo que sugiere un estado emocional positivo. Un movimiento similar, aunque menos pronunciado, orientado hacia la derecha también se observó cuando los perros veían a una persona desconocida.

En contraste, los estados emocionales negativos, como el miedo, se asocian con posturas de la cola bajas e inmóviles. Flint *et al.* (2018) reportaron que los cachorros que experimentaban miedo mostraban un descenso progresivo de la cola, reducción en su movimiento y una posición entre las extremidades posteriores hasta alcanzar la región ventral del abdomen. Estos hallazgos indican que la postura y los patrones de movimiento de la cola pueden funcionar y adaptarse como indicadores de la valencia emocional en algunos animales.

En cuanto a los animales de producción, las posiciones de la cola también han sido propuestas como indicadores no invasivos de excitación y valencia emocional (Machado y

Oliveira *et al.*, 2020). En cerdos, Wallgren *et al.* (2019) sugieren que los movimientos de la cola, en general, pueden ser un buen indicador conductual de emociones positivas. Los autores encontraron que el movimiento de la cola y el elevado número de cambios en su posición se observaron con mayor frecuencia durante eventos positivos y gratificantes en comparación con eventos negativos. Otro estudio encontró que las cabras orientaban las orejas hacia atrás con menor frecuencia y pasaban más tiempo con la cola levantada en situaciones positivas que en situaciones negativas (Briefer *et al.*, 2015).

Sin embargo, Reefmann *et al.* (2009) también observaron que las ovejas elevaban la cola durante experiencias negativas, como la separación de los miembros del grupo, mientras que este comportamiento no se presentaba durante actividades consideradas positivas, como la rumia o la alimentación. Estos hallazgos sugieren que una cola elevada podría estar asociada, en términos generales, con un alto nivel de activación emocional, independientemente de si la experiencia tiene una valencia positiva o negativa.

En vacas, la investigación sobre el movimiento de la cola es limitada. Un estudio de Oliveira y Keeling (2018) analizó tanto la postura de la cola como la del cuello en vacas durante actividades rutinarias. Las posturas del cuello se categorizaron en: por encima de la horizontal, horizontal, por debajo de la horizontal y hacia abajo; mientras que los movimientos de la cola se clasificaron en: colgando estacionaria, movimiento pequeño, dirigido, vigoroso o doblado hacia los lados. Los resultados indicaron que la postura más común en todas las actividades era el cuello por debajo de la horizontal y la cola colgando estacionaria. Sin embargo, estas posturas fueron menos frecuentes durante el cepillado, donde se observó una mayor tendencia de posición horizontal del cuello y un movimiento vigoroso de la cola, lo que sugiere que el cepillado puede estar vinculado a un estado emocional positivo.

De manera similar, Machado *et al.*, 2024 estudiaron terneros lecheros y encontraron que aquellos que recibían un estímulo acariciador (positivo) mostraban un mayor movimiento de la cola, mientras que los expuestos a un estímulo negativo tendían a colocarla entre las patas traseras, una postura comúnmente relacionada con emociones negativas en otras especies, previamente mencionadas, como los perros (Keeling *et al.*, 2021). De acuerdo con Quaranta *et al.* (2007), el movimiento de la cola podría estar relacionado con el procesamiento emocional y la lateralización cerebral. Los autores sugieren que el movimiento de la cola refleja distintos estados motivacionales y emocionales, específicamente tendencias de aproximación o evitación. Los estímulos asociados con emociones positivas y conductas de acercamiento producen una mayor amplitud del movimiento hacia el lado derecho del cuerpo, lo cual se asocia con la activación del hemisferio izquierdo del cerebro. En contraste, los estímulos asociados con emociones negativas o conductas de evitación producen un mayor movimiento hacia el lado izquierdo, reflejando la activación del hemisferio derecho. Por lo tanto, los autores sugieren que el movimiento de la cola no es simplemente una conducta motora, sino una expresión conductual de la valencia emocional controlada de manera asimétrica por el cerebro.

Sin embargo, estos hallazgos se han descrito principalmente en perros, y se requiere mayor investigación para determinar si mecanismos similares de lateralización emocional están presentes en el ganado bovino.

Por otro lado, las posturas de las orejas también se consideran indicadores clave tanto para la comunicación social como para la expresión de estados internos en diversas especies. Los rumiantes tienen músculos altamente desarrollados alrededor de las orejas lo que les permiten moverlas en distintas direcciones, esto da como resultado que su estudio sea un indicador prometedor de las emociones (Battini *et al.*, 2019). Además, se ha propuesto que los músculos responsables del movimiento de las orejas en animales están relacionados

evolutivamente con los músculos implicados en el movimiento de las cejas en humanos, las cuales desempeñan un papel importante en la expresión emocional. En consecuencia, la postura de las orejas en mamíferos de granja podría reflejar distintos estados emocionales (Boissy *et al.*, 2011).

Es debido a esto que las observaciones conductuales, como el movimiento de las orejas, pudieran proporcionar información inmediata y espontánea sobre el estado del animal, aunque su evaluación puede requerir entrenamiento del observador debido a que las respuestas emocionales suelen ser rápidas y de corta duración. Sin embargo, las posturas auriculares asociadas con las emociones pueden variar entre especies, lo que dificulta establecer un patrón conductual universal (Machado y Oliveira *et al.*, 2020; Proctor *et al.*, 2014).

Por ejemplo, Tamioso *et al.* (2018) investigaron las posturas auriculares en ovejas mediante la clasificación de diferentes posiciones de las orejas, incluyendo erguidas, horizontales, hacia atrás y asimétricas. Sus resultados mostraron que se observaron posiciones horizontales de las orejas con mayor frecuencia durante el acariciado, lo que sugiere una posible asociación con un efecto calmante o de relajación, especialmente en los individuos más reactivos. De manera similar, Reefmann *et al.* (2009) reportaron que los estados emocionales negativos en ovejas estaban asociados con cambios más frecuentes en la posición de las orejas, mientras que los estados emocionales positivos se caracterizaban por una mayor proporción de posturas auriculares relajadas.

Otro autor reportó que la postura de las orejas en cabras está asociada con los niveles de atención y la valencia emocional. Las cabras mostraron una mayor proporción de posiciones auriculares orientadas hacia adelante cuando se encontraban más alertas, particularmente al mantener distancia de un estímulo, lo que sugiere un incremento en la vigilancia o en el nivel de atención. En contraste, se observó una menor proporción de posturas auriculares hacia adelante cuando las cabras fueron expuestas a imágenes positivas, indicando un menor estado de alerta y un estado emocional más relajado o con menor activación (Bellegarde *et al.*, 2017). Estos hallazgos sugieren que la postura auricular hacia adelante puede reflejar un mayor nivel de atención o vigilancia, mientras que su disminución podría estar asociada con condiciones emocionales más positivas en algunos animales.

En vacas, se han identificado cuatro tipos de posturas auriculares influenciadas por los niveles de excitación y valencia emocional. Las orejas dirigidas hacia atrás y las orejas colgando se han asociado con estados emocionales positivos de baja excitación. En contraste, las orejas en posición vertical sobre la cabeza, con el pabellón auricular orientado hacia adelante o hacia un lado, así como las orejas en un plano horizontal con el pabellón mirando hacia adelante, se han observado principalmente en estados de alta excitación, como la frustración (Lambert y Carder, 2019). Estos hallazgos son importantes porque sugieren que las vacas realizan ciertas posturas de la oreja en respuesta a emociones positivas y negativas.

Una de las variables estudiadas por Oliveira y Keeling (2018) fue la posición de las orejas mientras las vacas eran acariciadas, alimentadas y durante la espera en fila. Los autores encontraron que, durante la espera, las vacas mostraban predominantemente posiciones auriculares axiales y orientadas hacia adelante, lo que podría reflejar un mayor nivel de atención o anticipación. En contraste, durante la alimentación y el cepillado (experiencias positivas), se observaron con mayor frecuencia posiciones auriculares dirigidas hacia atrás. Como se mencionó previamente, la posición auricular “hacia atrás y abajo” ha sido asociada en investigaciones anteriores con bajos niveles de activación y estados

emocionales positivos. Además, las posiciones auriculares asimétricas fueron más comunes durante el cepillado, lo que indica una posible asociación con situaciones emocionalmente relevantes o estimulantes.

En conclusión, estos hallazgos resaltan que la postura auricular en bovinos depende del contexto y puede proporcionar información sobre sus experiencias emocionales, aunque algunas posiciones podrían reflejar múltiples estados afectivos. Sin embargo, las posturas auriculares por sí solas pueden no ser suficientes para determinar con precisión un estado emocional específico y, por lo tanto, deben evaluarse junto con otros indicadores conductuales, como las expresiones faciales y otras señales de postura corporal.

Importancia de las expresiones faciales

Las expresiones faciales son consideradas indicadores conductuales importantes para la evaluación de los estados emocionales y del bienestar animal. Debido a que los animales no pueden comunicar verbalmente sus emociones, la valoración de sus estados afectivos depende en gran medida de la observación de componentes expresivos como el comportamiento, la postura corporal y las expresiones faciales, ya que estos pueden aportar información relevante sobre el estado interno del individuo y su interacción con el entorno (Bellegard *et al.*, 2017; Zimmermann *et al.*, 2024).

A lo largo de la evolución, las expresiones faciales también han funcionado como herramientas comunicativas adaptativas que contribuyeron a la interacción social y a la supervivencia de las especies (Machado *et al.*, 2023). Aunque tradicionalmente se han descrito como manifestaciones involuntarias y poco flexibles de los estados emocionales, más que como señales de comunicación intencional (Kaminski *et al.*, 2017), se ha observado que la mayoría de las especies de mamíferos son capaces de producir movimientos faciales que constituyen una parte importante de su repertorio conductual (Waller y Micheletta *et al.*, 2014).

Asimismo, Charles Darwin reconoció que, al igual que en los humanos, las expresiones faciales de los animales pueden cambiar según contextos sociales positivos o negativos y ante diferentes estímulos externos, reflejando tanto condiciones internas como externas (Bellegard *et al.*, 2017; Mota-Rojas *et al.*, 2023).

En consecuencia, en los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de las expresiones faciales como indicadores no invasivos de distintos estados afectivos en los animales, incluyendo estrés, dolor, miedo y placer (Cain *et al.*, 2023; Spunt *et al.*, 2017). En el ganado lechero, esto ha adquirido particular relevancia con investigadores y productores, ya que cada vez más buscan métodos no invasivos para evaluar el bienestar mediante señales conductuales, incluidas las expresiones faciales y los movimientos corporales (Zhang *et al.*, 2025).

Desde un punto de vista fisiológico, las expresiones faciales se producen mediante patrones coordinados de contracción y relajación de la musculatura facial, regulados por mecanismos neuronales involucrados en el procesamiento emocional (Spunt *et al.*, 2017). De acuerdo con Mota-Rojas *et al.* (2023), los estímulos emocionales son procesados en regiones cerebrales como la amígdala, especialmente durante situaciones estresantes o amenazantes. Posteriormente, los impulsos nerviosos se transmiten a través del nervio facial, activando los músculos responsables de los movimientos faciales. Debido a que estos músculos se encuentran estrechamente conectados con la piel y los tejidos circundantes, su activación genera cambios visibles en distintas estructuras faciales, incluyendo los ojos, las orejas, los labios y las fosas nasales. Además, los movimientos faciales sutiles pueden aparecer

rápidamente tras experiencias positivas o negativas y se han relacionado con respuestas neurofisiológicas mediadas por neurotransmisores asociados con la agresión, el estrés o estados placenteros, las cuales se manifiestan a través de las expresiones faciales.

Para entender mejor la relación entre la musculatura facial y los estados emocionales, los investigadores se han enfocado en las bases anatómicas que subyacen a los movimientos faciales. Esto dio lugar al desarrollo del Sistema de Codificación de Acción Facial (Facial Action Coding System, FACS), un método basado en la anatomía diseñado para identificar y clasificar objetivamente los movimientos faciales de acuerdo con la activación de músculos faciales específicos (Waller y Micheletta, 2014). Originalmente desarrollado en humanos, el FACS posteriormente fue adaptado para diversas especies animales, incluyendo gatos, perros, primates y, más recientemente se está desarrollando en bovinos (Zimmermann *et al.*, 2024). El sistema se basa en la identificación de Unidades de Acción Facial (Facial Action Units, FAUs), las cuales corresponden a movimientos musculares individuales asociados con cambios en la apariencia facial (Müller *et al.*, 2019).

En bovinos, las expresiones emocionales son producidas principalmente mediante la acción coordinada de los músculos que rodean los ojos, las orejas, el hocico, los labios y las fosas nasales. Músculos como el *M. orbicularis oculi* y el *M. frontalis* están asociados con la elevación de las cejas, el estrechamiento orbital y el aumento de la visibilidad de la esclerótica, mientras que el *M. levator nasolabialis*, el *M. caninus* y el *M. orbicularis oris* contribuyen a la dilatación de las fosas nasales y a los movimientos del labio superior. Además, los músculos auriculares regulan la postura y el movimiento de las orejas, los cuales también han sido relacionados con diferentes estados afectivos (Cain *et al.*, 2024).

La aplicación de enfoques basados en el FACS en grandes animales domésticos ha sido útil para la evaluación de expresiones faciales asociadas con el dolor. Diversos estudios en bovinos han identificado cambios como asimetría auricular, estrechamiento orbital, tensión en la región supraorbital, dilatación de las fosas nasales y alteraciones en la forma de la boca después de procedimientos dolorosos, incluyendo el descorne, la inducción de mastitis, la cojera y diferentes intervenciones quirúrgicas (Zhang *et al.*, 2025). De manera similar, se han desarrollado escalas de muecas faciales (*Grimace Scales*) para razas bovinas Holstein, Nellore y cruzas, y recientemente también se desarrolló una Escala de Muecas para Becerras (*Calf Grimace Scale*), con el objetivo de estandarizar la evaluación del dolor mediante unidades específicas de acción facial, proporcionando así un método más objetivo y reproducible para evaluar estados emocionales en bovinos (Farghal *et al.*, 2024).

Aunque las expresiones faciales han sido ampliamente estudiadas en relación con el dolor y los estados emocionales negativos en bovinos, la investigación enfocada en indicadores faciales asociados con emociones positivas aún es limitada.

Entre las características faciales investigadas en ganado lechero, la visibilidad de la esclerótica, comúnmente conocida como “ojo blanco”, ha recibido considerable atención como un posible indicador del estado emocional y del nivel de activación. Diversos estudios han demostrado que un aumento en la visibilidad de la esclerótica se asocia con una fuerte activación emocional en las vacas y puede presentarse tanto durante experiencias positivas como negativas (Battini *et al.*, 2017; Cain, 2024; Proctor y Carder, 2015a).

Por ejemplo, Sandem *et al.* (2006) observaron que las vacas que anticipaban la entrega de alimento mostraban un incremento significativo en la visibilidad del ojo blanco, lo que sugiere un estado de alta activación emocional relacionado con anticipación positiva o excitación. Una vez que las vacas comenzaban a comer, la visibilidad de la esclerótica disminuía por debajo de los niveles basales y se acompañaba de conductas más calmadas, indicando un estado emocional positivo más relajado.

De manera similar, Lambert y Carder (2017) reportaron que la visibilidad del ojo blanco aumentaba en vacas expuestas a estímulos gratificantes, apoyando la idea de que este indicador puede reflejar estados emocionales positivos de alta activación y no exclusivamente emociones negativas. En contraste, las situaciones positivas de baja activación se han asociado con una menor visibilidad de la esclerótica y expresiones faciales más relajadas, incluyendo ojos parcialmente cerrados (Sandem *et al.*, 2002). Asimismo, Cerezo *et al.* (2025) encontraron que las becerras cepilladas mostraban con mayor frecuencia ojos parcialmente cerrados y conductas interpretadas como señales de interacción positiva o relajación durante los procedimientos de manejo, lo que sugiere que ciertos tipos de estimulación táctil pueden reducir el estrés y promover estados afectivos más tranquilos.

La interpretación de la visibilidad de la esclerótica parece depender no solo de la valencia emocional, sino también del nivel de activación emocional del animal. Battini *et al.* (2017) sugirieron que la visibilidad del ojo blanco refleja principalmente el grado de activación emocional, mientras que otras características faciales, como la postura de las orejas, podrían aportar información complementaria sobre si el estado emocional es positivo o negativo. En su estudio, las vacas que presentaban ojos semicerrados y orejas dirigidas hacia atrás o caídas se asociaron generalmente con estados emocionales positivos de baja activación y con condiciones de relajación, particularmente en sistemas basados en pastoreo. En contraste, la visibilidad del ojo blanco combinada con posturas auriculares hacia adelante o erectas se observó con mayor frecuencia en situaciones relacionadas con vigilancia, estrés, miedo o competencia por recursos.

Estos hallazgos sugieren que los indicadores faciales deben interpretarse en conjunto con otras respuestas conductuales y posturales para lograr una evaluación más precisa de los estados emocionales en bovinos.

Balance térmico ante emociones positivas en rumiantes

Los estados emocionales están acompañados por una amplia variedad de respuestas fisiológicas que ayudan a los organismos a adaptarse a los desafíos ambientales e internos. Entre estas respuestas, las alteraciones en la temperatura corporal y en la termorregulación han recibido más atención como posibles indicadores de los estados afectivos en los animales. Los estímulos emocionales pueden activar el sistema nervioso autónomo, desencadenando cambios en la distribución del flujo sanguíneo y en la actividad vascular periférica que posteriormente cambia la temperatura corporal (Carranza-Pinedo *et al.*, 2025).

En mamíferos, tanto los factores estresantes físicos como psicológicos se han relacionado con aumentos transitorios de la temperatura corporal central, conocidos comúnmente como fiebre emocional o hipertermia inducida por estrés. Estas respuestas se consideran parte de los mecanismos adaptativos que se activan ante eventos emocionalmente relevantes (Comin *et al.*, 2023; Proctor y Carder, 2015).

A nivel fisiológico, estos cambios térmicos están mediados principalmente por la activación del sistema nervioso simpático, el cual redistribuye el flujo sanguíneo desde los tejidos periféricos hacia los órganos internos y los músculos mediante procesos de vasoconstricción, favoreciendo así las demandas fisiológicas asociadas con la respuesta de lucha o huida (Ede *et al.*, 2019). Como resultado, regiones periféricas como los ojos, la nariz y la superficie de la piel suelen presentar disminuciones de temperatura durante situaciones de estrés o dolor (Neave *et al.*, 2025; Stewart *et al.*, 2008).

Sin embargo, las respuestas térmicas no se asocian exclusivamente con estados emocionales negativos. También se han observado variaciones en la temperatura periférica durante emociones de valencia positiva, lo que sugiere que los cambios térmicos pueden reflejar interacciones complejas entre la actividad simpática y parasimpática, la valencia emocional y los niveles de activación (Carranza-Pinedo et al., 2025).

En particular, las emociones positivas activan el sistema nervioso parasimpático, que regula funciones como la reducción de la frecuencia cardíaca, la broncoconstricción, la vasodilatación y la miosis, las cuales pueden alterar la temperatura externa (Ermatinger et al., 2019). Por lo tanto, los cambios en la temperatura corporal son reconocidos cada vez más como indicadores fisiológicos valiosos en la investigación sobre bienestar animal, ya que pueden proporcionar información indirecta sobre las experiencias emocionales de los animales (Comin et al., 2023).

La termografía infrarroja (IRT) es una técnica remota y no invasiva utilizada para medir la temperatura superficial mediante la detección de la radiación electromagnética emitida por cualquier objeto con una temperatura superior al cero absoluto (Ermatinger et al., 2019; Travain y Valsecchi, 2021). El uso de esta tecnología se basa en el principio de que las variaciones en el flujo sanguíneo debajo de la piel producen cambios en la temperatura de la superficie corporal. Estos cambios de temperatura son emitidos en forma de radiación infrarroja (fotones), la cual puede ser captada por cámaras infrarrojas térmicas (TIR) y posteriormente interpretada como temperatura cutánea durante el análisis de las imágenes. Este proceso permite a los investigadores identificar y evaluar regiones específicas de interés, respaldando la aplicación de la tecnología TIR para detectar respuestas inflamatorias en determinadas áreas corporales y para evaluar temperaturas superficiales como indicadores de la temperatura corporal en los animales (Jorquera-Chavez et al., 2019).

En el ámbito del bienestar bovino, la termografía infrarroja (TIR) se ha utilizado para el diagnóstico de condiciones como mastitis y cojera mediante la identificación de áreas inflamadas. Asimismo, ha sido empleada para evaluar respuestas de estrés y dolor asociadas con procedimientos de manejo invasivos, entre ellos el descorne, la castración, el manejo y el transporte. Además, se ha explorado el uso de la termografía infrarroja (IRT) para la detección temprana de enfermedades como la diarrea viral bovina (BVD), la enfermedad respiratoria bovina (BRD) y la diarrea neonatal en becerros (NCD), así como para identificar variaciones en la eficiencia alimenticia del ganado (Lowe et al., 2020).

Más recientemente, y en relación con el presente estudio, esta técnica ha comenzado a destacar como un método completamente no invasivo y libre de contacto, con potencial para identificar cambios en el estado emocional del ganado lechero (Gómez et al., 2018; Neave et al., 2025; Proctor y Carder, 2015; Travain y Valsecchi, 2021).

Un estudio realizado por Tamioso et al. 2017 analizó las respuestas de la temperatura corporal en ejemplares sometidos a cepillados regulares en la parte ventral del cuello, la zona lateral del pecho y la cruz. Los resultados indicaron un aumento de la temperatura en la cruz y la nariz, probablemente debido a la vasodilatación periférica y al incremento del flujo sanguíneo en la piel. Esta respuesta fisiológica podría estar relacionada con emociones positivas, como lo sugieren indicadores conductuales como posturas relajadas de las orejas y ojos semicerrados. Además, estos hallazgos indican que tanto la temperatura de la cruz como la nasal reflejan estados fisiológicos asociados a la relajación durante y después del cepillado. Un estudio similar en cabras arrojó resultados distintos, ya que la temperatura de los ojos y la nariz disminuyó significativamente durante el proceso de cepillado, mientras que la temperatura de las orejas no presentó variaciones (Hussein y Al-Nakshabendy., 2023).

Asimismo, Proctor y Carder (2015b) investigaron los cambios en la temperatura nasal de vacas en respuesta a un estado emocional positivo y de baja excitación inducido por caricias. Sus resultados mostraron un descenso significativo en la temperatura nasal durante las caricias, probablemente debido a la vasoconstricción periférica asociada con la valencia emocional más que con el nivel de excitación. Además, las vacas a menudo se quedaban dormidas durante el proceso, lo que refuerza su efecto calmante. Estos hallazgos sugieren que tanto los estados emocionales positivos como los negativos pueden influir en la temperatura periférica, destacando su potencial como indicador de la valencia emocional.

La variabilidad observada entre los estudios puede explicarse parcialmente por las diferencias en las regiones anatómicas evaluadas, ya que distintas ventanas térmicas presentan diferentes patrones de vascularización y sensibilidades autonómicas. En bovinos, las áreas que rodean la carúncula lagrimal y el borde medial posterior del párpado inferior se consideran particularmente adecuadas para la termografía infrarroja debido a que contienen densas redes capilares altamente sensibles a los cambios en el flujo sanguíneo mediados por el sistema nervioso simpático (Comin *et al.*, 2023; Stewart *et al.*, 2008). Gracias a esta abundante vascularización y a la proximidad de los vasos sanguíneos con la superficie de la piel, la región ocular puede reflejar rápidamente alteraciones en la circulación periférica y en la temperatura corporal central. Además, la región ocular presenta ventajas prácticas para la evaluación termográfica, ya que su definición anatómica facilita la identificación consistente y la medición precisa de la temperatura en las imágenes térmicas (Lowe *et al.*, 2020).

De manera similar, la temperatura nasal ha sido ampliamente utilizada como indicador de actividad autonómica y de respuestas emocionales en bovinos. Durante situaciones estresantes o de alta activación emocional, la activación del sistema nervioso simpático promueve la vasoconstricción periférica, redirigiendo el flujo sanguíneo desde los tejidos periféricos no esenciales hacia órganos vitales como el cerebro y los músculos esqueléticos. De forma simultánea, la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal incrementa la liberación de catecolaminas y glucocorticoides, contribuyendo a cambios en la producción y disipación de calor. Debido a que la región nasal es altamente periférica y sensible a las fluctuaciones en la perfusión sanguínea, las reducciones en el flujo sanguíneo suelen asociarse con disminuciones en la temperatura nasal, lo que convierte a esta área en un indicador fisiológico útil de estrés y reactividad emocional (Proctor y Carder, 2015). Sin embargo, la dirección y magnitud de las respuestas térmicas pueden variar dependiendo de la temperatura ambiental, la valencia emocional, el nivel de activación y la región corporal evaluada, lo que podría explicar los hallazgos inconsistentes reportados entre estudios que involucran estimulación táctil positiva en rumiantes.

Estos hallazgos respaldan el uso de la termografía infrarroja como una herramienta complementaria, no invasiva, para evaluar respuestas fisiológicas asociadas con los estados emocionales en bovinos. No obstante, las respuestas térmicas deben interpretarse junto con indicadores conductuales y otros parámetros fisiológicos, ya que los cambios en la temperatura periférica pueden verse influenciados por múltiples factores.

En el presente estudio, la termografía infrarroja será utilizada para evaluar cambios en la temperatura superficial en diferentes ventanas térmicas, incluyendo ojos, nariz, orejas, ubre y cola, junto con indicadores conductuales y expresiones faciales, durante la estimulación táctil mediante cepillado manual en vacas lecheras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio y diseño experimental

Se incluyeron 24 vacas lecheras de la raza Holstein, multíparas y en estado fisiológico de producción, con un peso promedio entre 350 y 450 kg. Debido a la disponibilidad limitada de sujetos, todas las vacas participaron en los cuatro grupos experimentales y recibieron la totalidad de los estímulos, los cuales fueron aplicados en días distintos. Asimismo, los datos que se obtuvieron de las 24 vacas antes del estímulo táctil fueron utilizados como el grupo control sin estimulación (Lechuga *et al.*, 2023; Schmied *et al.*, 2008).

- Grupo control (n=24): vacas control (sin estimulación táctil)
- G1(n=24): vacas con estimulación táctil en el cuello
- G2(n=24): vacas con estimulación táctil en la cruz
- -G3 (n=24): vacas con estimulación táctil en la cabeza

Todos los grupos experimentales tuvieron tres tiempos de evaluación, descritos a continuación:

- T1: Pre-estímulo táctil (5 minutos antes de la estimulación).
- T2: Durante estímulo táctil (5 minutos)
- T3: Post estímulo táctil (Inmediatamente después de culminada la estimulación, por 5 minutos)

Estimulación táctil

La primera semana del protocolo experimental se designó a la habituación de los animales a los investigadores y al sitio donde se llevó a cabo la estimulación táctil. La estimulación táctil se realizó siempre por el mismo investigador, el cual inicialmente se acercaba a los animales por detrás, de manera tranquila. El investigador se colocaba de pie junto al animal, a la altura del hombro del mismo y permanecía en silencio durante todo el procedimiento. Cabe destacar que, durante la fase experimental, y debido a limitaciones de manejo y tiempo, fue necesario sujetar a los animales en los comederos, ya que previamente ninguno permanecía inmóvil durante el cepillado, a pesar de haber realizado una fase de habituación con los investigadores. Las áreas de cepillado correspondieron a aquellas que, de acuerdo con Schmied *et al.* (2005), responden a las regiones corporales donde se lleva a cabo el lamido social en la especie: 1) Región de la cruz; 2) Cuello ventral; 3) Cabeza (Figura 1).

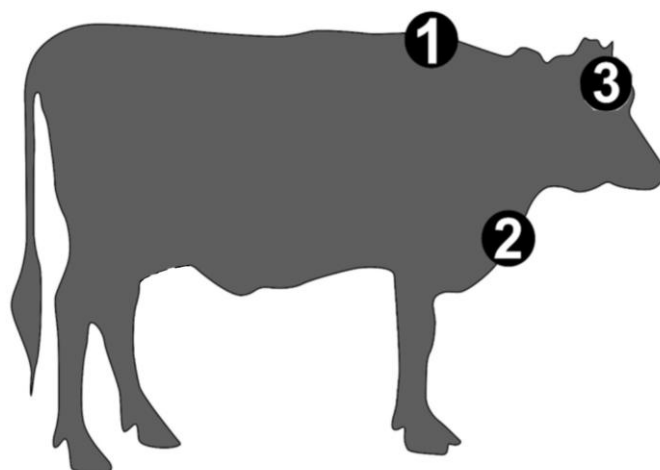


Figura 1. Regiones de estimulación táctil en vacas lechera. 1. Región de la cruz. 2. Cuello ventral 3. Cabeza

Para la estimulación táctil se utilizó un cepillo de cerdas duras, 25 cm de largo, marca Reynera, modelo 6-0-5009, compuesta por un cabezal de plástico resistente y cerdas sintéticas rígidas, diseñada para ejercer un contacto firme y uniforme. El mango metálico se retiró para poder proporcionar mayor estabilidad y control durante su manipulación. Este instrumento fue empleado como herramienta de estimulación táctil, permitiendo una aplicación constante y homogénea del estímulo durante el cepillado. El cepillado en cada región corporal tuvo una duración de cinco minutos, durante los cuales se aplicó una presión constante y se realizó de manera vertical, manteniéndose una velocidad de 40 a 60 cepilladas por minuto (imitando el lamido social) (Lange *et al.*, 2020; Reyes *et al.*, 2022; Schmied *et al.*, 2005;). El procedimiento se realizó diario durante 3 semanas.

Variables

Evaluación de la postura corporal

La posición de las orejas, la cola y la cabeza se evaluó a través de un muestreo focal, empleando grabaciones diarias continuas con una cámara de alta resolución de la marca CANON colocada a 1 m de distancia del sujeto de estudio, enfocando principalmente de lado izquierdo del animal (desde la nariz hasta la cola). La duración del video fue de 2 minutos durante el T1, 1 minutos en el T2 y 2 minutos en el T3. Los cambios en la posición de orejas, cola y cabeza se evaluaron empleando las metodologías de Proctor y Carder (2014), Lamber y Carder (2019) y de Oliveira y Keeling (2018). En primera instancia, la posición de las orejas se identificó siguiendo la descripción de Proctor y Carder (2014) de cuatro posiciones únicas de las orejas (EP), en donde EP1 refiere a orejas erguidas sobre la cabeza, con el pabellón auricular orientado hacia adelante o hacia un lado. La postura EP2 se caracteriza por orejas hacia adelante, donde el pabellón auricular mira hacia adelante con la oreja en un plano horizontal. La postura EP3 se observa con orejas sostenidas hacia atrás, sobre el cuello de la vaca, pero sin inclinarse hacia abajo ni colgar. Finalmente, la postura EP4 se observa con orejas colgando de la cabeza de la vaca, sin estar sostenidas hacia atrás, y cayendo

naturalmente perpendiculares a la cabeza (Figura 2a). La posición de la cola y la cabeza se describe en la Figura 2.B, de acuerdo con la metodología de Oliveira y Keeling (2018).

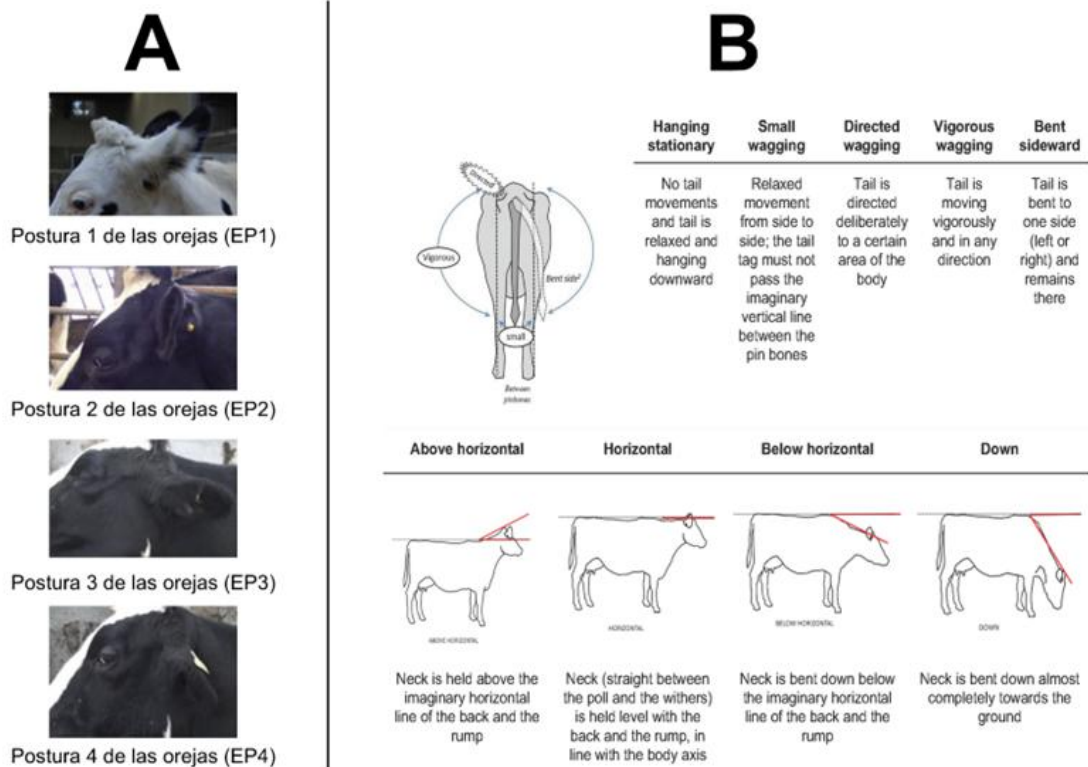


Figura 2. Representación esquemática para evaluar la posición de las orejas (A), cola y cabeza (B) en vacas lecheras durante la estimulación táctil (Oliveira y Keeling, 2018).

Después de obtener los videos de cada sujeto de estudio, éstos se analizaron detenidamente en el software de edición de video CLIPCHAMP y se llevó a cabo el registro de la frecuencia de los cambios en cada tiempo de evaluación (T1, T2 y T3).

Evaluación de la expresión facial

La expresión facial se registró a través de una videograbación continua diaria con una cámara de alta definición de la marca CANON. La cámara se enfocó principalmente al lado rostral de la cabeza para posteriormente identificar cambios en 4 unidades de acción facial o movimientos faciales (UAF) de acuerdo con Müller *et al.* (2015) y Cain, 2024, descritas en la Tabla 1. Las grabaciones fueron tomadas durante todas las fases (T1, T2 y T3) y procesadas en el software de edición de video CLIPCHAMP que se utilizó para llevar a cabo el registro, cuadro por cuadro de los cambios en las UAF.

Unidades de acción facial	Categorías	Descripción
Apertura ocular	Abiertos	Ojos completamente abiertos
	Semicerrados	Ojos entrecerrados (ojos cerrados en un 50% aproximadamente)
Área blanca de los ojos (esclera)	Visible	
	No visible	
Levantamiento de la ceja	Normal	Sin tensión muscular en la zona por encima de los ojos
	Levantada	Tensión muscular y elevación de la zona por encima de los ojos
Parpadeo	Presente	
	Ausente	
Posición de los labios	Cerrados	Labios superior e inferior juntos
	Abiertos	Labios superior e inferior separados

Tabla 1. Unidades de acción facial a evaluar en vacas lecheras Holstein recibiendo estimulación táctil (Bosholn y Ancaes, 2018, Battini *et al.*, 2019; Machado *et al.*, 2023).

Evaluación de la termografía infrarroja

Se utilizó una cámara térmica FLIR™ E60, con una sensibilidad térmica de $<0.05^{\circ}\text{C}$ y precisión de $\pm 2\%$. Las imágenes térmicas se capturaron a una distancia aproximada de 1 m de los animales y con un ángulo de 90° . El enfoque se dirigió a las regiones rostrales y corporales de las vacas para delimitar cinco ventanas térmicas, las cuales se ilustran en la **Figura 3** (Mota-Rojas *et al.*, 2021; Bang *et al.*, 2022). Las imágenes se almacenaron en formato JPG y posteriormente se procesaron mediante el software **FLIR Tools** (FLIR Systems, USA) para obtener las variaciones térmicas, incluyendo las temperaturas máximas y mínimas utilizadas en los análisis posteriores.

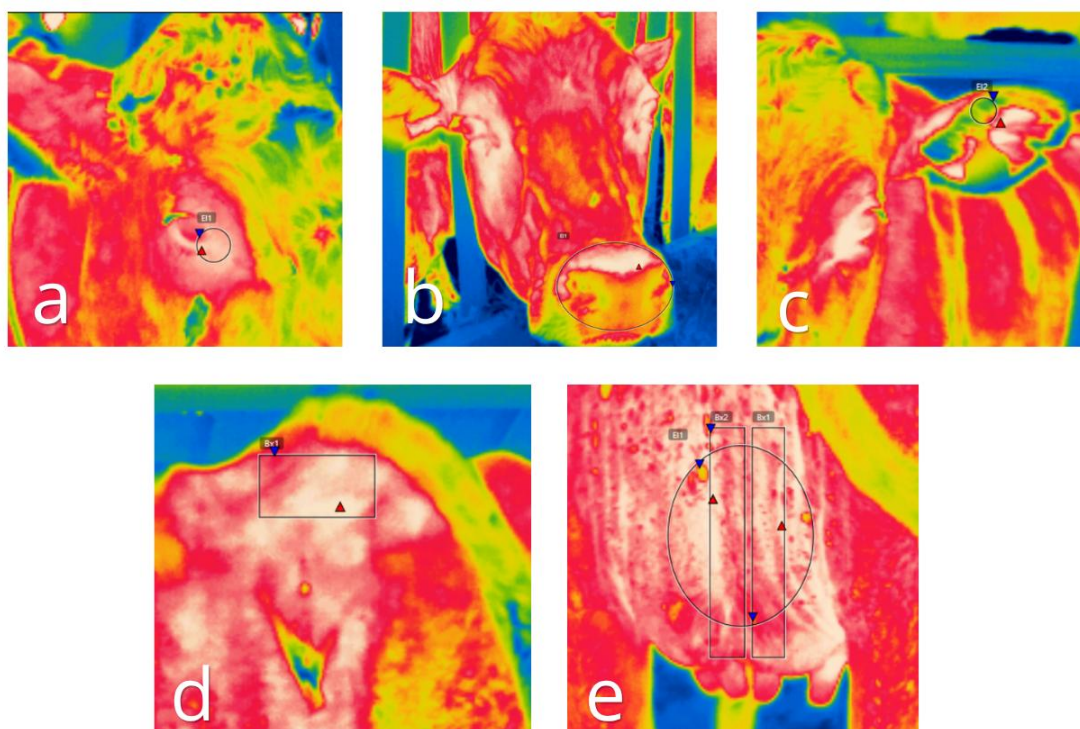


Figura 3. Ventanas térmicas por evaluar en vacas lecheras Holstein expuestas a estimulación táctil. a) Periocular; b) Nasal; c) Auricular; d) Base de la cola; e) Ubre

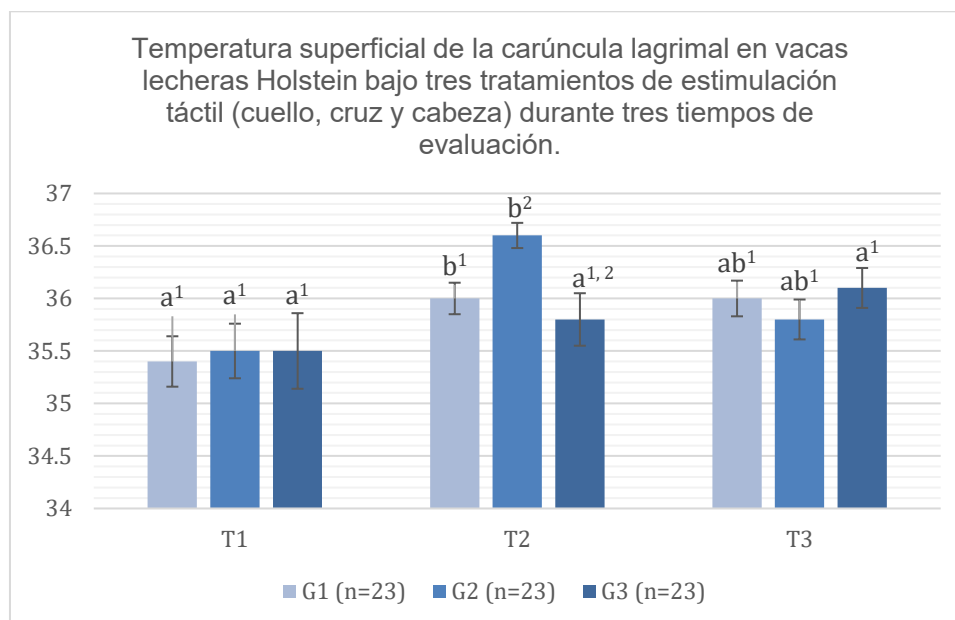
Los datos fueron analizados utilizando el programa **GraphPad Prism versión 10.0.2** (San Diego, CA, USA). La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de **Kolmogorov–Smirnov**. Para analizar la frecuencia de las diferentes posiciones de orejas, cabeza y cola, así como los cambios en la expresión facial y en las ventanas térmicas en cada tiempo de evaluación, se aplicó un **modelo lineal mixto con distribución binomial** para las variables de postura y expresión facial. En el modelo, las distintas posiciones de cada región corporal se incluyeron como variables de respuesta, mientras que los tipos de estimulación táctil (sin estimulación, cuello, cruz o cabeza) se consideraron como factores fijos. Cada animal se incluyó como un efecto aleatorio.

Las comparaciones múltiples de las posturas corporales y de la expresión facial se realizaron mediante la prueba **post hoc de Tukey**, mientras que las comparaciones de las temperaturas se efectuaron aplicando una corrección previa y posteriormente la prueba de Tukey. En todos los análisis, el nivel de significancia se estableció en **$p < 0.05$** .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Termografía infrarroja

El análisis estadístico arrojó diferencias significativas en la temperatura superficial promedio de las ventanas térmicas carúncula lagrimal y auricular evaluadas en las vacas entre los grupos experimentales y durante los tiempos de evaluación (ver Figura 4 y 5).



^{a,b} Literales distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre eventos (T₁, T₂ y T₃)

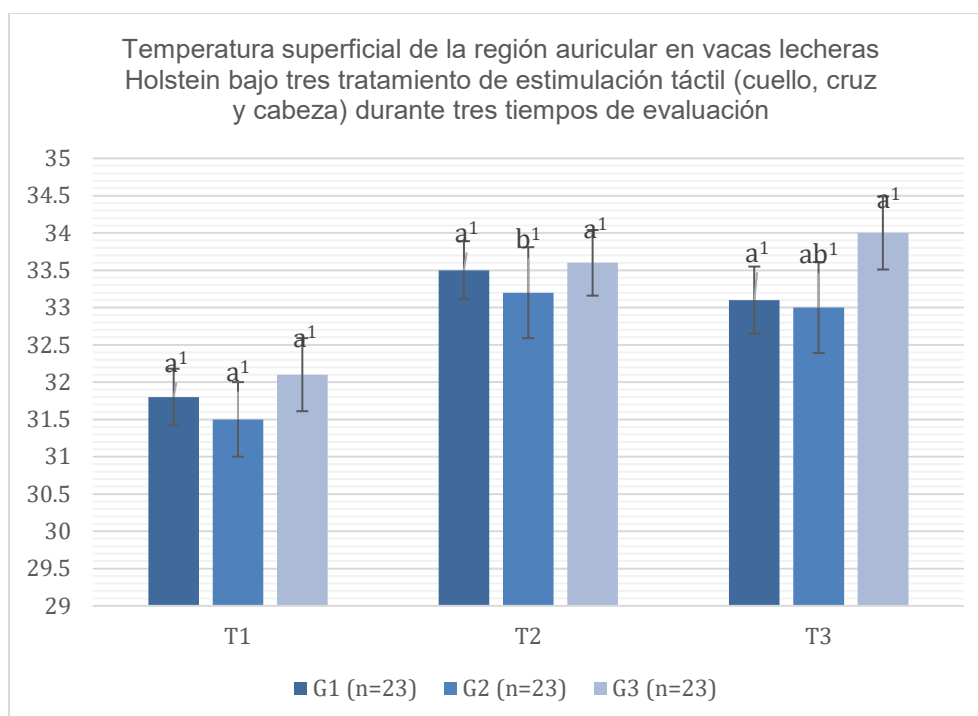
^{1,2} Numerales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (G1, G2 y G3).

** corresponde a $p = 0.0054$ y * a $p = 0.0100$

Abreviaciones de tratamientos (G1: estimulación en el cuello, G2: Estimulación en la cruz y G3: Estimulación en la cabeza) y tiempos de evaluación (T₁: Pre-estímulo, T₂: Estímulo y T₃: Post-estímulo).

Figura 4. Temperatura superficial de la carúncula lagrimal en vacas lecheras Holstein bajo tres tratamientos de estimulación táctil (cuello, cruz y cabeza) durante tres tiempos de evaluación.

En la ventana térmica de la carúncula lagrimal (ver figura 4) los grupos de estimulación en el cuello y la cruz (G1 y G2) mantuvieron una persistencia en el incremento de la temperatura superficial significativa durante el cepillado (T₂) en contraste con el grupo estimulado en la cabeza (G3); en el cual la temperatura superficial no evidencio diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control sin estimulación (T₁) y después de ser estimulado (T₃). La temperatura del G1, aumentó de 35.4 ± 0.24 °C durante T₁ a 36.0 ± 0.15 °C en T₂ ($P = 0.0054$), mientras que el G2 aumentó de 35.5 ± 0.26 °C a 36.6 ± 0.12 °C ($P = 0.0100$). Posteriormente, durante la etapa post-estímulo (T₃), ambos grupos mostraron una ligera disminución en la temperatura respecto a T₂. En contraste, el grupo G3 no presentó diferencias significativas entre los tiempos de evaluación ($P > 0.05$). Además, durante T₂ se observaron diferencias significativas entre tratamientos, donde G2 presentó mayores valores de temperatura superficial en comparación con G1 y G3.



^{a,b} Literales distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre eventos (T₁, T₂ y T₃)

^{1,2} Numerales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (G1, G2 y G3).

** corresponde a $p = 0.0054$ y * a $p = 0.0100$

Abreviaciones de tratamientos (G1: el cuello, G2: La cruz y G3: La cabeza) y tiempos de evaluación (T₁: Pre-estímulo, T₂: Estímulo y T₃: Post-estímulo).

Figura 5. Temperatura superficial de la región auricular en vacas lecheras Holstein bajo tres tratamientos de estimulación táctil (cuello, cruz y cabeza) durante tres tiempos de evaluación

En la región auricular (ver figura 5), los grupos G1 y G2 mostraron incrementos en la temperatura superficial durante T2 respecto a T1. En G1, la temperatura aumentó de 31.8 ± 0.38 °C a 33.5 ± 0.39 °C ($P = 0.0309$), mientras que en G2 aumentó de 31.5 ± 0.50 °C a 33.2 ± 0.61 °C. Sin embargo, únicamente G1 presentó diferencias significativas entre tiempos. El grupo G3 mostró un incremento de temperatura entre T1 y T3, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para esta ventana térmica

Expresión facial

En los hallazgos de expresión facial se observaron diferencias en la frecuencia de presentación de las Unidades de Acción Facial (FAUs) valoradas en las vacas entre los grupos experimentales y durante los tiempos de evaluación. Al menos, 3 de 5 FAUs mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la frecuencia de presentación (Ver Tabla 2).

FAU	Grupo	T ₁	T ₂	T ₃	P-value
Ojos semicerrados	G1 (n=23)	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.09 ^{b,1}	0.0 ± 0.10 ^{b,1}	P = 0.0423
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.08 ^{b,1}	0.0 ± 0.10 ^{b,1}	P = 0.0019
	G3 (n=23)	1.0 ± 0.09 ^{a,1}	0.0 ± 0.07 ^{b,1}	0.0 ± 0.08 ^{a,c,1}	P = 0.0127
	P-Value	<i>P > 0.05</i>	<i>P > 0.05</i>	<i>P > 0.05</i>	
Esclera visible	G1 (n=23)	0.0 ± 0.04 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{b,1}	0.0 ± 0.09 ^{a,b,1}	P = 0.0126
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.0 ^{a,1}	0.0 ± 0.09 ^{b,1}	0.05 ± 0.05 ^{a,b,1}	P = 0.0037
	G3 (n=23)	1.0 ± 0.09 ^{a,1}	0.0 ± 0.07 ^{a,1}	0.0 ± 0.08 ^{a,c,1}	<i>P > 0.05</i>
	P-Value	<i>P > 0.05</i>	<i>P > 0.05</i>	<i>P > 0.05</i>	
Ceja elevada	G1 (n=23)	0.0 ± 0.07 ^{a,1}	0.0 ± 0.08 ^{b,1}	0.0 ± 0.09 ^{a,b,1}	P = 0.1649
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.06 ^{b,1}	0.0 ± 0.08 ^{a,b,1}	P = 0.139
	G3 (n=23)	0.0 ± 0.10 ^{a,2}	0.0 ± 0.06 ^{a,1}	0.0 ± 0.04 ^{b,1}	P = 0.139
	P-Value	P = 0.175	<i>P > 0.05</i>	<i>P > 0.05</i>	

^{a,b,c} Literales distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre eventos (T₁, T₂ y T₃)

^{1,2} Numerales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (G1, G2 y G3).

p-values en negritas representan diferencias estadísticamente significativas entre eventos y tratamientos.

Abreviaciones de tratamientos (G1: el cuello, G2: La cruz y G3: La cabeza) y tiempos de evaluación (T₁: Pre-estímulo, T₂: Estímulo y T₃: Post-estímulo).

Tabla 2. Mediana y Error estándar de la media (SEM) de las puntuaciones en FAUs de vacas Holstein en los 3 grupos de estimulación táctil (cuello, cruz y cabeza) durante los tres tiempos experimentales.

Para la FAU “ojos semicerrados”, los tres grupos mostraron diferencias significativas entre tiempos. En G1 y G2, la frecuencia de ojos semicerrados aumentó durante T₂ y T₃ en comparación con el T₁, considerado el grupo control sin estimulación ($P = 0.0423$ y $P = 0.0019$, respectivamente). Para el G3, los resultados fueron distintos con la mayor frecuencia observada durante T₁, seguida de una disminución durante y después de la estimulación (T₂ y T₃) ($P = 0.0127$).

En la FAU “esclera visible”, G1 y G2 presentaron diferencias significativas entre tiempos ($P = 0.0126$ y $P = 0.0037$, respectivamente). En ambos grupos, la frecuencia de presentación aumentó durante la estimulación (T₂) respecto al grupo control sin estimulación (T₁). Para el grupo estimulado en la cabeza (G3) no se observaron diferencias significativas entre tiempos.

Para la FAU “ceja elevada”, únicamente el grupo estimulado en la cabeza (G3) mostró diferencias significativas entre tiempos, observándose una disminución de la frecuencia durante la etapa post-estimulación (T₃) respecto a la etapa sin estimulación (T₁) ($P = 0.139$). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para esta FAU.

Postura corporal

En el presente estudio, se encontró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tiempos y grupos en al menos 4 posturas corporales relacionadas con las orejas y la cola (ver Tabla 3).

Postura	Grupo	T ₁	T ₂	T ₃	P-value
OREJAS					
Postura auricular 2	G1 (n=23)	1.0 ± 0.09 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	1.0 ± 0.09 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G2 (n=23)	1.0 ± 0.09 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G3 (n=23)	1.0 ± 0.07 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{b,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,b,1}	<i>P</i> = 0.0087
	P-Value	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05	
Postura auricular 3	G1 (n=23)	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.09 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G3 (n=23)	0.0 ± 0.08 ^{a,2}	1.0 ± 0.10 ^{b,1}	0.0 ± 0.10 ^{a,b,1}	<i>P</i> = 0.0244
	P-Value	<i>P</i> = 0.152	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05	
Postura auricular 4	G1 (n=23)	0.0 ± 0.04 ^{a,1}	0.0 ± 0.09 ^{b,1}	0.0 ± 0.06 ^{a,c,1}	<i>P</i> = 0.0049
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.06 ^{a,1}	0.0 ± 0.09 ^{b,1}	0.0 ± 0.08 ^{a,b,1}	<i>P</i> > 0.05
	G3 (n=23)	0.0 ± 0.07 ^{a,2}	0.0 ± 0.10 ^{b,1}	0.0 ± 0.09 ^{a,c,1}	<i>P</i> = 0.0013
	P-Value	<i>P</i> = 0.175	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05	
COLA					
VW (vigorous wagging)	G1 (n=23)	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.09 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G2 (n=23)	0.0 ± 0.09 ^{a,1}	1.0 ± 0.10 ^{a,1}	0.0 ± 0.10 ^{a,1}	<i>P</i> > 0.05
	G3 (n=23)	0.0 ± 0.09 ^{a,1}	1.0 ± 0.09 ^{b,2}	1.0 ± 0.10 ^{a,b,1}	<i>P</i> = 0.0047
	P-Value	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> = 0.121	<i>P</i> > 0.05	

^{a,b,c} Literales distintas indican diferencias significativas (*p* < 0.05) entre eventos (T₁, T₂ y T₃)

^{1,2} Numerales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (*p* < 0.05) entre tratamientos (G1, G2 y G3).

p-values en negritas representan diferencias estadísticamente significativas entre eventos y tratamientos.

Abreviaciones de tratamientos (G1: el cuello, G2: La cruz y G3: La cabeza) y tiempos de evaluación (T₁: Pre-estímulo, T₂: Estímulo táctil y T₃: Post-estímulo).

Tabla 3. Mediana y Error estándar de la media (SEM) de las puntuaciones en la postura corporal de vacas Holstein en los 3 grupos de estimulación táctil (cuello, cruz y cabeza) durante los tres tiempos experimentales.

En la postura auricular 2, el grupo cepillado en la cabeza presentó diferencias significativas entre tiempos (*P* = 0.0087), observándose una disminución en la frecuencia de presentación durante la estimulación (T₂) en comparación con nula estimulación (T₁). Los grupos que fueron estimulados en cuello y cruz no mostraron diferencias significativas entre tiempos.

Asimismo, para la postura auricular 3, el grupo G3 presentó un incremento significativo en la frecuencia de presentación durante T₂ respecto a T₁ y T₃ (*P* = 0.0244). En contraste, los grupos G1 y G2 no mostraron diferencias significativas entre tiempos. En la postura auricular 4, G1 y G3 presentaron diferencias significativas entre tiempos (*P* = 0.0049 y *P* = 0.0013, respectivamente). En ambos grupos, la frecuencia de presentación aumentó durante la estimulación (T₂) respecto a T₁. G2 no mostró diferencias significativas entre tiempos para esta postura.

Respecto a la postura de cola “VW: Vigorous Wagging”, únicamente G3 presentó diferencias significativas entre tiempos (*P* = 0.0047), observándose un incremento en la

frecuencia de presentación durante T2 y T3 en comparación con T1. Además, durante T2 se identificaron diferencias significativas entre tratamientos, donde una vez más, el grupo estimulado en la cabeza presentó esta postura con más frecuencia respecto a los grupos estimulados en el cuello y la cruz.

DISCUSIÓN

Termografía infrarroja

Los incrementos de temperatura observados en la carúncula lagrimal y en las regiones auriculares durante el estímulo táctil (T2) podrían estar asociados con cambios en la actividad autonómica inducidos por la estimulación táctil. Un patrón térmico similar fue descrito por Tamioso et al. (2017), quienes evaluaron la respuesta de la temperatura corporal en animales sometidos a cepillados repetidos en regiones como la parte ventral del cuello, la zona lateral del tórax y la cruz. En su estudio también registraron un incremento de la temperatura, en distintas regiones como la cruz y en la nariz, lo cual fue atribuido a procesos de vasodilatación periférica y a un mayor flujo sanguíneo cutáneo. Este aumento térmico se ha asociado con respuestas fisiológicas compatibles con estados emocionales positivos.

En concordancia con estos hallazgos, el incremento de temperatura observado en la carúncula lagrimal y en las regiones auriculares durante el estímulo táctil (T2) podría corresponder a una respuesta de hipertermia aguda atribuida a la activación de mecanismos neurobiológicos centrales vinculados al procesamiento de la recompensa y la termorregulación. En este contexto, la estimulación táctil se ha asociado de manera consistente con la liberación de neurotransmisores y neuropéptidos relacionados con la recompensa, en particular dopamina y oxitocina, como consecuencia de la activación de mecanorreceptores cutáneos de bajo umbral que transmiten señales a través de fibras A β mediante la vía de las columnas dorsales–lemnisco medial hacia estructuras corticales y subcorticales. Estas señales táctiles alcanzan tanto la corteza somatosensorial, como estructuras límbicas e hipotalámicas involucradas en el procesamiento emocional y la regulación autonómica, incluyendo la amígdala (AMYG), el núcleo accumbens (NAc), el núcleo supraóptico (SON), el núcleo paraventricular (PVN) y el área tegmental ventral (VTA). Notablemente, en el VTA se origina la activación del sistema dopaminérgico mesolímbico que promueve la liberación de dopamina en estas regiones (Mota-Rojas *et al.*, 2024).

La dopamina también desempeña un papel relevante en la termorregulación, principalmente a través de sus acciones a nivel hipotalámico. De acuerdo con Vybíral y Janský (1988), la activación de las vías dopaminérgicas eleva el umbral de temperatura corporal central requerido para activar respuestas termorreguladoras clave, tales como la termogénesis inducida por frío, los ajustes en la actividad vasomotora periférica y la pérdida de calor por evaporación respiratoria (jadeo) en algunos mamíferos. En consecuencia, el organismo permite una temperatura interna más elevada antes de iniciar mecanismos de disipación de calor, favoreciendo la conservación térmica y el incremento en la producción de calor, lo que puede conducir finalmente a un estado de hipertermia.

Además, estudios en cabras han mostrado que este aumento térmico no siempre responde a un efecto farmacológico directo de la dopamina, sino que puede surgir de manera secundaria durante estados de activación conductual, cuando la activación simpática

predomina sobre los mecanismos de disipación térmica, promoviendo mayor producción de calor y vasoconstricción periférica (De Roij, 1977). Esto es consistente con los hallazgos del presente estudio, en el que la hipertermia parece depender del contexto y asociarse a la activación inducida por el estímulo, más que a una respuesta de estrés.

Además de la dopamina, los mecanismos oxitocinérgicos también podrían estar involucrados en los cambios termográficos observados en el presente estudio. Durante interacciones táctiles afiliativas, como el cepillado y las caricias, se ha reportado un aumento en las concentraciones circulantes de oxitocina en vacas (Dickson *et al.*, 2024; Skånberg *et al.*, 2025). La oxitocina actúa sobre regiones hipotalámicas clave para la termorregulación, en particular el núcleo paraventricular, donde modula respuestas autonómicas, vasomotoras y termogénicas. De acuerdo con Worth *et al.* (2024), la activación de estas vías puede favorecer cambios en el flujo sanguíneo periférico y en la temperatura corporal, promoviendo incrementos localizados de la temperatura superficial. En este contexto, los aumentos térmicos detectados mediante termografía infrarroja durante el estímulo táctil en el presente estudio podrían ser compatibles con la participación conjunta de mecanismos dopaminérgicos y oxitocinérgicos asociados con la regulación autonómica y el procesamiento de estímulos táctiles afiliativos (Kasahara *et al.*, 2013; Mota-Rojas *et al.*, 2021).

En conjunto, estos mecanismos neurofisiológicos podrían contribuir a explicar no solo las variaciones termográficas observadas, sino también algunos de los cambios conductuales y de expresión facial registrados durante y después del cepillado.

Expresión facial

En el presente estudio se observaron diferencias en la frecuencia de presentación de las Unidades de Acción Facial (FAUs) entre los grupos experimentales y los tiempos de evaluación. Particularmente, hubo un alto porcentaje de exposición de la esclera (FAU 2) registrado durante el cepillado.

Aunque el aumento en la visibilidad de la esclera se ha asociado tradicionalmente con respuestas de estrés o miedo en los animales (Grandin, 2014; Grandin, 2025), diversos estudios han señalado que esta respuesta también se puede presentar durante estados de alta vigilancia y de excitación positiva, como la anticipación de recompensas y las interacciones afiliativas (Cain, 2024; Lambert y Carder, 2017; Proctor y Carder, 2015; Sandem *et al.*, 2002). Esto sugiere que la exposición escleral no constituye un indicador exclusivo de estados emocionales negativos, sino que podría reflejar distintos niveles de activación dependiendo del contexto en el que ocurre.

Por ejemplo, Sandem *et al.* (2006) demostraron que la presentación de un estímulo condicionado positivo (alimentación), generó un aumento marcado en la visibilidad de la esclera en vacas lecheras, lo cual fue interpretado por los autores como un estado de alerta o activación anticipatoria. Se asumió que esta activación estaba relacionada con la motivación de los animales por obtener información visual clara de su entorno en expectativa de una recompensa. De igual forma observaron una disminución de la visibilidad de la esclera después de la recompensa, lo que indica que la exposición escleral varía en función de la fase del estado motivacional (Proctor y Carder, 2015; Sandem *et al.*, 2006). De manera similar, en el presente estudio la frecuencia de esclera visible disminuyó después del periodo de cepillado en la mayoría de las vacas, lo que sugiere que los animales pudieron haber pasado de un estado de activación anticipatoria a uno más relajado tras recibir un estímulo considerado recompensante como el cepillado.

Asimismo, el incremento en la exposición de la esclera observado durante el estímulo táctil podría estar relacionado con cambios en la activación autonómica registrados durante el cepillado. Hallazgos similares han sido descritos previamente en bovinos expuestos a estímulos asociados con activación emocional o anticipación de recompensa, donde la esclera visible aumenta durante fases de atención o vigilancia conductual (Lambert y Carder, 2017; Sandem *et al.*, 2006).

Desde una perspectiva fisiológica, el aumento en la exposición de la esclera es consistente con la activación del sistema nervioso simpático y refleja un incremento en la activación emocional (Ede *et al.*, 2019). Las fibras simpáticas posganglionares que se originan en el ganglio cervical craneal inervan las estructuras oculares, incluyendo el músculo dilatador del iris, lo que conduce a la dilatación pupilar, así como los músculos responsables de la elevación del párpado superior y la estabilización de la membrana nictitante en el canto medial. Estos efectos resultan en una mayor apertura ocular y una mayor visibilidad de la esclera (Cunningham, 2020). Estos cambios en la posición palpebral y la apertura del ojo también pueden favorecer la expresión de otras acciones faciales relacionadas con los ojos. En bovinos, el músculo frontal (*m. frontalis*) presenta amplias conexiones con el músculo orbicular del ojo (*m. orbicularis oculi*), y la contracción de este complejo muscular eleva la ceja y produce un pliegue por encima del ojo (Cain, 2024). Por lo tanto, la elevación de las cejas puede presentarse junto con respuestas oculares vinculadas a la activación, como una mayor apertura del ojo y mayor visibilidad de la esclera, durante estados de alta excitación o activación emocional. En este estudio, la presencia frecuente de cejas elevadas (FAU 3) probablemente representa una respuesta facial coordinada asociada a la excitación, más que a un estado emocional específico.

Sin embargo, la visibilidad de la esclera también se ha relacionado con conductas como agresión, vocalizaciones y enrollamiento de la lengua (Sandem *et al.*, 2002), la ausencia de estas respuestas en este estudio sugiere que los incrementos observados no reflejan estados emocionales negativos. En conjunto, los hallazgos apoyan que la esclera visible actúa principalmente como un indicador de activación emocional, más que de la valencia emocional en las vacas (Lambert y Carder, 2017; Sandem *et al.*, 2006).

Además de los cambios en la visibilidad de la esclera, la alta frecuencia de ojos semicerrados (FAU 1) observada durante el cepillado aporta información relevante sobre el estado emocional de las vacas. Esta expresión facial se ha asociado con bajos niveles de activación y con experiencias positivas o relajadas, particularmente en contextos no aversivos como el contacto táctil y la alimentación (Proctor y Carder, 2015; Sandem *et al.*, 2002; Tamioso *et al.*, 2017). Aunque la presencia de animales alimentándose durante nuestro estudio pudo contribuir parcialmente a esta respuesta, la coexistencia de ojos semicerrados con cambios dinámicos en la visibilidad de la esclera sugiere que el cepillado pudo haber favorecido, en algunos individuos, una transición hacia estados de menor activación y valencia positiva (Mattiello *et al.*, 2024; Neave, 2025; Tamioso *et al.*, 2017;). En conjunto, estos hallazgos respaldan el uso de los ojos semicerrados y de las posturas auriculares relajadas como posibles indicadores conductuales de emociones positivas en vacas, especialmente en contextos de baja activación

Postura corporal

En el presente estudio, las posturas auriculares observadas con mayor frecuencia durante el periodo de estimulación táctil (T2) correspondieron a la postura 2 (orejas orientadas hacia adelante), postura 3 (orejas sostenidas hacia atrás sobre el cuello) y postura 4 (orejas

colgando). La presencia de estas posturas durante el cepillado sugiere posibles variaciones en el nivel de activación conductual de las vacas a lo largo de la estimulación.

Estudios previos indican que la postura auricular en las vacas está estrechamente modulada por la estimulación táctil, como el cepillado y las caricias en el cuello y la cruz. Las orejas orientadas hacia adelante o por encima de la línea del cuello se asocian con estados de mayor activación, independientemente de la valencia emocional, mientras que las orejas a la altura o por debajo de dicha línea se vinculan con estados emocionales positivos y conductas afiliativas (Lambert y Carder, 2019; Neave, 2025; Proctor y Carder, 2015; Skanberg *et al.*, 2025).

De forma similar, el movimiento vigoroso de la cola fue una postura frecuente en este estudio. Aunque su significado emocional en bovinos no está completamente definido, la evidencia disponible lo asocia principalmente con estados de valencia positiva, ya que se presenta con mayor frecuencia durante experiencias gratificantes como el cepillado (Leonetti *et al.*, 20624; Oliveira y Keeling, 2016; Yayou *et al.*, 2009) y disminuye en contextos estresantes caracterizados por elevaciones de cortisol (Tamioso *et al.*, 2017). En conjunto, estas respuestas posturales podrían contribuir a la interpretación de que la estimulación táctil probablemente indujo una respuesta emocional positiva observable a través del lenguaje corporal.

Los estados emocionales positivos en los mamíferos se generan mediante la activación de redes neuronales distribuidas que integran regiones corticales y subcorticales, comúnmente denominadas redes emocionales. Estas redes incluyen áreas corticales como la corteza prefrontal, incluyendo las regiones orbitofrontales, insular y del cíngulo anterior, junto con estructuras subcorticales involucradas en el procesamiento de la recompensa y el afecto, tales como el núcleo accumbens, el pálido ventral, la amígdala, la sustancia gris periacueductal y el hipotálamo (Zych y Gogolla, 2021). Dentro de estas redes, sistemas de neurotransmisores como la dopamina y la serotonina desempeñan un papel modulador y se encuentran estrechamente asociados con el procesamiento de la recompensa, la motivación y la generación de estados emocionales positivos (Mota-Rojas *et al.*, 2025a).

En consecuencia, las posturas auriculares observadas en este estudio pueden explicarse por la activación de vías sensoriales-límbicas-motoras inducidas por la estimulación táctil. El cepillado es detectado por mecanorreceptores cutáneos y fibras táctiles C, cuyas señales aferentes se transmiten a la médula espinal y posteriormente a centros encefálicos superiores, donde son procesadas por estructuras límbicas, en particular la amígdala. La activación de estas áreas emocionales modula la actividad de regiones motoras corticales y de núcleos del tallo encefálico, incluido el núcleo motor facial. El nervio facial (par craneal VII), originado en este núcleo, inerva tanto la musculatura facial como los músculos auriculares, y su organización musculotópica puede permitir que el procesamiento emocional influya directamente en los movimientos de las orejas, particularmente a través del subnúcleo medial encargado de la inervación auricular (Mota-Rojas *et al.*, 2024b Mota-Rojas *et al.*, 2025a).

En los rumiantes, esto es particularmente relevante debido a la musculatura auricular bien desarrollada que permite movimientos independientes y versátiles de las orejas (Battini *et al.*, 2019). La rotación y posición de las orejas se producen principalmente por la acción de músculos auriculares extrínsecos, como los músculos escútuloauricular, cérvicoauricular, cigomáticoauricular y parietoauricular, mientras que los músculos auriculares intrínsecos contribuyen a ajustes finos de la postura y la forma del pabellón auricular (Cain, 2024).

Esta organización neuroanatómica ayuda a la interpretación de las posturas auriculares como indicadores confiables de estados emocionales en el ganado bovino

(Reefman *et al.*, 2009; Schmied *et al.*, 2008). Por lo tanto, la mayor frecuencia de posturas auriculares relajadas observada durante las caricias en el presente estudio puede ser consistente con la expresión de un estado emocional positivo mediado por circuitos sensoriales, límbicos y motores faciales integrados.

CONCLUSIONES

La estimulación táctil produjo modificaciones fisiológicas y conductuales de las vacas lecheras evaluadas. Los cambios observados incluyeron variaciones en la temperatura superficial de distintas ventanas térmicas previamente establecidas, así como modificaciones en indicadores de lenguaje corporal y expresión facial, entre ellos la postura auricular, el movimiento de la cola, la visibilidad de la esclera y la frecuencia de ojos semicerrados. Asimismo, los hallazgos demuestran que la respuesta de los animales varió dependiendo de la región corporal estimulada y del momento de evaluación.

Entre los tratamientos evaluados, la estimulación aplicada en la región de la cruz presentó las respuestas térmicas más evidentes durante el periodo de estimulación, particularmente en la carúncula lagrimal, mientras que la estimulación en cuello también mostró incrementos en la temperatura auricular. Asimismo, los cambios observados en algunos indicadores faciales y posturales fueron consistentes con respuestas previamente descritas en la literatura durante interacciones táctiles positivas y situaciones de baja excitación fisiológica, tal como ojos semicerrados. Sin embargo, debido a que las variables utilizadas corresponden a indicadores indirectos, los resultados deben interpretarse con precaución y no como evidencia concluyente de emociones positivas.

Los resultados obtenidos coinciden con el enfoque actual de bienestar animal, el cual reconoce la importancia de promover experiencias positivas y permitir la expresión de conductas biológicamente relevantes en bovinos lecheros. En este contexto, la estimulación táctil y las estrategias de enriquecimiento asociadas al acicalamiento pueden representar herramientas útiles para modificar la respuesta conductual y fisiológica de los animales durante el manejo rutinario. No obstante, la magnitud y dirección de estas respuestas pueden verse influenciadas por factores individuales, ambientales y fisiológicos, así como por la región corporal estimulada.

Asimismo, la evidencia obtenida en este proyecto sugiere que la termografía infrarroja también puede ser una herramienta útil para identificar respuestas fisiológicas, específicamente cambios de temperatura, compatibles con estados emocionales aparentemente positivos en vacas. Sin embargo, es importante destacar que no debe considerarse por sí sola como una herramienta definitiva para medir emociones positivas en bovinos. Se sugiere que para una evaluación más precisa del bienestar animal y el estado emocional de los bovinos, se utilice una combinación de indicadores fisiológicos (termografía infrarroja), expresiones faciales y lenguaje corporal.

Finalmente, el presente proyecto contribuye a la creciente evidencia sobre el uso de indicadores fisiológicos y conductuales en la evaluación del bienestar animal y aporta información sobre el efecto de la estimulación táctil en vacas lecheras dentro de sistemas de producción. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales que permitan validar de manera más precisa la relación entre estas respuestas y los posibles estados emocionales positivos, así como determinar la consistencia de estos indicadores bajo diferentes condiciones de manejo y producción.

REFERENCIAS

1. Acharya, R. Y., Hemsworth, P. H., Coleman, G. J., & Kinder, J. E. (2022). The Animal-Human Interface in Farm Animal Production: Animal Fear, Stress, Reproduction and Welfare. *Animals*, 12(4), 487. <https://doi.org/10.3390/ani12040487>
2. Adcock, S. J., & Tucker, C. B. (2018). Painful procedures. En Elsevier eBooks (pp. 157-198). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100938-3.00008-5>
3. Aubé, L., Mollaret, E., Mialon, M., Mounier, L., Veissier, I., & De Boyer Des Roches, A. (2023). Measuring the human–animal relationship in cows by avoidance distance at pasture. *Applied Animal Behaviour Science*, 265, 105999. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.105999>
4. Balaban, Z., & Kurt, G. (2023). Neurotransmitters of Autonomic Nervous System. En *Physiology*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.112007>
5. Barrier, A. C., Coombs, T. M., Dwyer, C. M., Haskell, M. J., & Goby, L. (2014). Administration of a NSAID (meloxicam) affects lying behaviour after caesarean section in beef cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 155, 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.02.015>
6. Barron, A. B., Søvik, E., & Cornish, J. L. (2010). The Roles of Dopamine and Related Compounds in Reward-Seeking Behavior Across Animal Phyla. *Frontiers In Behavioral Neuroscience*, 4, 163. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2010.00163>
7. Battini, M., Agostini, A., & Mattiello, S. (2019). Understanding Cows' Emotions on Farm: Are Eye White and Ear Posture Reliable Indicators? *Animals*, 9(8), 477. <https://doi.org/10.3390/ani9080477>
8. Beaver, A., Ritter, C., & Von Keyserlingk, M. A. (2019). The dairy cattle housing dilemma. *Veterinary Clinics Of North America Food Animal Practice*, 35(1), 11-27. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.11.001>
9. Bellegarde, L. G., Haskell, M. J., Duvaux-Ponter, C., Weiss, A., Boissy, A., & Erhard, H. W. (2017). Face-based perception of emotions in dairy goats. *Applied Animal Behaviour Science*, 193, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.03.014>
10. Bertenshaw, C., Rowlinson, P., Edge, H., Douglas, S., & Shiel, R. (2008). The effect of different degrees of 'positive' human–animal interaction during rearing on the welfare and subsequent production of commercial dairy heifers. *Applied Animal Behaviour Science*, 114(1-2), 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.12.002>
11. Boissy, A., & Neindre, P. L. (1997). Behavioral, Cardiac and Cortisol Responses to Brief Peer Separation and Reunion in Cattle. *Physiology & Behavior*, 61(5), 693-699. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(96\)00521-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(96)00521-5)
12. Boissy, A., Aubert, A., Désiré, L., Greiveldinger, L., Delval, E., & Veissier, I. (2011). Cognitive sciences to relate ear postures to emotions in sheep. *Animal Welfare*, 20(1), 47-56. <https://doi.org/10.1017/s0962728600002426>
13. Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M. B., Moe, R. O., Spruijt, B., Keeling, L. J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I., & Aubert, A. (2007). Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & Behavior*, 92(3), 375-397. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.003>
14. Bolt, S. L., & George, A. J. (2019). The use of environmental enrichment on farms benefits animal welfare and productivity. *Livestock*, 24(4), 183-188. <https://doi.org/10.12968/live.2019.24.4.183>

15. Bosholn, M., & Anciães, M. (2022). Focal animal sampling. En Springer eBooks (pp. 2761-2764). https://doi.org/10.1007/978-3-319-55065-7_262
16. Briefer, E. F., Tettamanti, F., & McElligott, A. G. (2014). Emotions in goats: mapping physiological, behavioural and vocal profiles. *Animal Behaviour*, 99, 131-143. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.11.002>
17. Broom, D. M. (2010). Cognitive ability and awareness in domestic animals and decisions about obligations to animals. *Applied Animal Behaviour Science*, 126(1-2), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.05.001>
18. Caceres, S., Moreno, J., Crespo, B., Silvan, G., & Illera, J. C. (2023). Physiological Stress Responses in Cattle Used in the Spanish Rodeo. *Animals*, 13(16), 2654. <https://doi.org/10.3390/ani13162654>
19. Cain, B. (2024). Facial expression in cattle in different affective states [Tesis]. Swedish University of Agricultural Sciences.
20. Carranza-Pinedo, V., Krohs, U., & Richter, S. H. (2025). Towards a scientific definition of animal emotions: Integrating innate, appraisal, and network mechanisms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 172, 106127. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2025.106127>
21. Casas-Alvarado, A., Martínez-Burnes, J., Mora-Medina, P., Hernández-Avalos, I., Domínguez-Oliva, A., Lezama-García, K., Gómez-Prado, J., & Mota-Rojas, D. by (2022). Thermal and Circulatory Changes in Diverse Body Regions in Dogs and Cats Evaluated Infrared Thermography. 789. *Animals*, 12(6), <https://doi.org/10.3390/ani12060789>
22. Cerezo, M. P., Brusin, V., Trindade, P. H. E., Hernández, A., Jung, J., Berg, C., & Da Costa, M. J. R. P. (2025). Limited Short-Term Effects of Tactile Stimulation on the Welfare of Newborn Nellore Calves. *Veterinary Sciences*, 12(4), 393. <https://doi.org/10.3390/vetsci12040393>
23. Chen, S., & Sato, S. (2016). Role of oxytocin in improving the welfare of farm animals — A review. *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 30(4), 449-454. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.1058>
24. Chen, Y., Atashi, H., Lemal, P., Wijnrocx, K., Tran, M., Evrard, J., Christiaens, B., & Gengler, N. (2026). Prediction of welfare scores throughout lactation by random regression test-day models in Walloon Holstein dairy cows. *Journal Of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-27722>
25. Colditz, I., Campbell, D., Ingham, A., & Lee, C. (2024). Review: Environmental enrichment builds functional capacity and improves resilience as an aspect of positive welfare in production animals. *Animal*, 18(6), 101173. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101173>
26. Comin, M., Atallah, E., Chincarini, M., Mazzola, S. M., Canali, E., Minero, M., Cozzi, B., Rossi, E., Vignola, G., & Costa, E. D. (2023). Events with Different Emotional Valence Affect the Eye's Lacrimal Caruncle Temperature Changes in Sheep. *Animals*, 14(1), 50. <https://doi.org/10.3390/ani14010050>
27. Cronin, G. M., Wiepkema, P. R., & Van Ree, J. M. (1985). Endogenous opioids are involved in abnormal stereotyped behaviours of tethered sows. *Neuropeptides*, 6(6), 527-530. [https://doi.org/10.1016/0143-4179\(85\)90114-3](https://doi.org/10.1016/0143-4179(85)90114-3)
28. De Oliveira, D., & Keeling, L. J. (2018). Routine activities and emotion in the life of dairy cows: Integrating body language into an affective state framework. *PLoS ONE*, 13(5), e0195674. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195674>

29. De Paula Vieira, A., De Passillé, A., & Weary, D. (2012). Effects of the early social environment on behavioral responses of dairy calves to novel events. *Journal Of Dairy Science*, 95(9), 5149-5155. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5073>.
30. De Rooij, T. A., Frens, J., Bakker, J., & Németh, F. (1977). Thermoregulatory effects of intraventricularly injected dopamine in the goat. *European Journal Of Pharmacology*, 43(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(77\)90153-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(77)90153-4).
31. De-Sousa, K. T., Miranda, C. O., Negrão, J. A., Filho, A. E. V., Salles, M. S. V., Simili, F. F., & Faro, L. E. (2024). Effects of brushing dairy calves on behaviour, physiology and genes expression. *Applied Animal Behaviour Science*, 282, 106456. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2024.106456>
32. DeVries, T., Vankova, M., Veira, D., & Von Keyserlingk, M. (2007). Short Communication: Usage of Mechanical Brushes by Lactating Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 90(5), 2241-2245. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-648>
33. Dickson, E. J., Monk, J. E., Lee, C., McDonald, P. G., Narayan, E., & Campbell, D. L. (2024). Loss of a grooming enrichment impacts physical, behavioural, and physiological measures of welfare in grazing beef cattle. *Animal*, 18(3), 101091. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101091>
34. Dunston-Clarke, E. J., Stockman, C., Sinclair, J., & Collins, T. (2024). Brush Use in Lot-Fed Cattle Shows Continued Use and Positive Behaviour. *Animals*, 15(1), 44. <https://doi.org/10.3390/ani15010044>
35. Dwyer, C., Jørgensen, G., & Gautier, J. (2026). Review: How do we measure welfare on farm? Indicators, proxies and gold standards. *Animal*, 101790. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2026.101790>
36. Ede, T., Lecorps, B., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2019). Symposium review: Scientific assessment of affective states in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102(11), 10677–10694. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16325>
37. Ellingsen, K., Coleman, G., Lund, V., & Mejdell, C. (2014). Using qualitative behaviour assessment to explore the link between stockperson behaviour and dairy calf behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 10-17.
38. Ermatinger, F., Brügger, R., & Burkart, J. (2019). The use of infrared thermography to investigate emotions in common marmosets. *Physiology & Behavior*, 211, 112672. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112672>
39. Farghal, M., Pajor, E., Luna, S. P. L., Pang, D., Windeyer, M. C., & Ceballos, M. C. (2024). Development of the calf grimace scale for pain and stress assessment in castrated Angus beef calves. *Scientific Reports*, 14(1), 25620. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77147-6>
40. Flint, H. E., Coe, J. B., Serpell, J. A., Pearl, D. L., & Niel, L. (2018). Identification of fear behaviors shown by puppies in response to nonsocial stimuli. *Journal Of Veterinary Behavior*, 28, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2018.07.012>
41. Foris, B., Lecorps, B., Krahn, J., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2021). The effects of cow dominance on the use of a mechanical brush. *Scientific Reports*, 11(1), 22987. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02283-2>
42. Foris, B., Sadrzadeh, N., Weary, D., & Keyserlingk, M. (2023). The Effect of Placement and Group Size on the Use of an Automated Brush by Groups of Lactating Dairy Cattle. *Animals*, 13.
43. Fraser, D., & Duncan, I. J. (1998). 'Pleasures','pains' and animal welfare: toward a natural history of affect. *Animal welfare*, 7(4), 383-396.

44. Fregonesi, J., Veira, D., Von Keyserlingk, M., & Weary, D. (2007). Effects of Bedding Quality on Lying Behavior of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90,(12), 5468-5472. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0494>
45. Freslon, I., Peralta, J. M., Strappini, A. C., & Monti, G. (2020). Understanding Allogrooming Through a Dynamic Social Network Approach: An Example in a Group of Dairy Cows. *Frontiers In Veterinary Science*, 7, 535. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00535>
46. Frondelius, L., Järvenranta, K., Koponen, T., & Mononen, J. (2014). The effects of body posture and temperament on heart rate variability in dairy cows. *Physiology & Behavior*, 139, 437-441. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.12.002>
47. Gómez, Y., Bieler, R., Hankele, A., Zähner, M., Savary, P., & Hillmann, E. (2017). Evaluation of visible eye white and maximum eye temperature as non-invasive indicators of stress in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 198, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.10.001>
48. Grandin, T. (2000). Handling and welfare of livestock in slaughter plants. En *CABI eBooks* (pp. 409-439). <https://doi.org/10.1079/9780851994093.0409>
49. Grandin, T. (2014). Preslaughter handling: Behavior of cattle, pigs, sheep, bison, and deer during handling and transport. En *Animal welfare* (pp. 84–89). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00251-8>
50. Grandin, T. (2025). Slaughter plants: Behavior and welfare assessment. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-29068-8.00009>
51. Griffin, A., Hardin, C., Tilley, K., Burlison, M., & McGee, M. (2024). 272 Relationships of salivary cortisol and automated brush system usage in freestall housed dairy cattle. *Journal Of Animal Science*, 102, 6-7. <https://doi.org/10.1093/jas/skae234.007>
52. Halbout, B., Marshall, A. T., Azimi, A., Liljeholm, M., Mahler, S. V., Wassum, K. M., & Ostlund, S. B. (2019). Mesolimbic dopamine projections mediate cue-motivated reward seeking but not reward retrieval in rats. *eLife*, 8. <https://doi.org/10.7554/elife.43551>
53. Hemsworth, P. H., Coleman, G. J., Barnett, J. L., & Borg, S. (2000). Relationships between human-animal interactions and productivity of commercial dairy cows. *Journal Of Animal Science*, 78(11), 2821. <https://doi.org/10.2527/2000.78112821x>
54. Hodgson, G. M. W., Flay, K. J., Perroux, T. A., & McElligott, A. G. (2024). You lick me, I like you: understanding the function of allogrooming in ungulates. *Mammal Review*, 54(4), 373-386. <https://doi.org/10.1111/mam.12351>
55. Horvath, K., & Miller-Cushon, E. (2019). Characterizing grooming behavior patterns and the influence of brush access on the behavior of group-housed dairy calves. *Journal Of Dairy Science*, 102(4), 3421-3430. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15460>
56. Horvath, K., Allen, A., & Miller-Cushon, E. (2020). Effects of access to stationary brushes and chopped hay on behavior and performance of individually housed dairy calves. *Journal Of Dairy Science*, 103(9), 8421-8432. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18042>
57. Hussein, J., & Al-Nakshabendi, A. I. (2023). Can facial expressions and infrared thermography be used to measure positive emotions in goats? *Bulgarian Journal Of Agricultural Science*, 4(29), 733-739.
58. Jarosiewicz, K.; Słowiński, M. Obrót Przedubojowy Przyczyną Stresu u Drobiu. *Med. Weter*. 2011, 67, 309–312.

59. Jensen, M., Duve, L., & Weary, D. (2015). Pair housing and enhanced milk allowance increase play behavior and improve performance in dairy calves. *Journal Of Dairy Science*, 98(4), 2568-2575. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8272>
60. Jensen, P., & Toates, F. (1993). Who needs 'behavioural needs'? Motivational aspects of the needs of animals. *Applied Animal Behaviour Science*, 37(2), 161-181. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(93\)90108-2](https://doi.org/10.1016/0168-1591(93)90108-2)
61. Jorquera-Chavez, M., Fuentes, S., Dunshea, F. R., Warner, R. D., Poblete, T., & Jongman, E. C. (2019). Modelling and Validation of Computer Vision Techniques to Assess Heart Rate, Eye Temperature, Ear-Base Temperature and Respiration Rate in Cattle. *Animals*, 9(12), 1089. <https://doi.org/10.3390/ani9121089>
62. Kaminski, J., Hynds, J., Morris, P., & Waller, B. M. (2017). Human attention affects facial expressions in domestic dogs. *Scientific Reports*, 7(1), 12914. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12781-x>
63. Kasahara, Y., Sato, K., Takayanagi, Y., Mizukami, H., Ozawa, K., Hidema, S., So, K.-H., Kawada, T., Inoue, N., Ikeda, I., Roh, S.-G., Itoi, K., & Nishimori, K. (2013). Oxytocin receptor in the hypothalamus is sufficient to rescue normal thermoregulatory function in male oxytocin receptor knockout mice. *Endocrinology*, 154(11), 4305–4315. <https://doi.org/10.1210/en.2012-220>
64. Keeling, L. J., De Oliveira, D., & Rustas, B. O. (Eds.). (2016). Use of mechanical rotating brushes in dairy cows – a potential proxy for performance and welfare? *Precision Dairy Farming 2016*. <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-829-2>
65. Keeling, L. J., Winckler, C., Hintze, S., & Forkman, B. (2021). Towards a Positive Welfare Protocol for Cattle: A Critical Review of Indicators and Suggestion of How We Might Proceed. *Frontiers In Animal Science*, 2. <https://doi.org/10.3389/fanim.2021.753080>
66. Kesner, A. J., Calva, C. B., & Ikemoto, S. (2022). Seeking motivation and reward: Roles of dopamine, hippocampus, and supramammillo-septal pathway. *Progress In Neurobiology*, 212, 102252. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2022.102252>
67. Klein, B. G. (2020). *Cunningham's textbook of veterinary physiology* (6th ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-06149-4>
68. Kovács, L., Kézér, F., Kulcsár-Huszenicza, M., Ruff, F., Szenci, O., & Jurkovich, V. (2016). Hypothalamic-pituitary-adrenal and cardiac autonomic responses to transrectal examination differ with behavioral reactivity in dairy cows. *Journal Of Dairy Science*, 99(9), 7444-7457. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10454>
69. Kovács, L., Tőzsér, J., Bakony, M., & Jurkovich, V. (2013). Short communication: Changes in heart rate variability of dairy cows during conventional milking with nonvoluntary exit. *Journal Of Dairy Science*, 96(12), 7743-7747. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7030>
70. Kreibig, S. D. (2010). Autonomic nervous system activity in emotion: A review. *Biological Psychology*, 84(3), 394-421. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.03.010>
71. Laister, S., Stockinger, B., Regner, A., Zenger, K., Knierim, U., & Winckler, C. (2011). Social licking in dairy cattle—Effects on heart rate in performers and receivers. *Applied Animal Behaviour Science*, 130(3-4), 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.12.003>
72. Lambert, H. S., & Carder, G. (2016). Looking into the eyes of a cow: Can eye whites be used as a measure of emotional state? *Applied Animal Behaviour Science*, 186, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.11.005>

73. Lambert, H., & Carder, G. (2018). Positive and negative emotions in dairy cows: Can ear postures be used as a measure? *Behavioural Processes*, 158, 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2018.12.007>
74. Lange, A., Bauer, L., Futschik, A., Waiblinger, S., & Lürzel, S. (2020). Talking to Cows: Reactions to Different Auditory Stimuli During Gentle Human-Animal Interactions. *Frontiers In Psychology*, 11, 579346. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.579346>
75. Lange, A., Franzmayr, S., Wisenöcker, V., Futschik, A., Waiblinger, S., & Lürzel, S. (2020a). Effects of Different Stroking Styles on Behaviour and Cardiac Parameters in Heifers. *Animals*, 10(3), 426. <https://doi.org/10.3390/ani10030426>
76. Lange, A., Waiblinger, S., Heinke, A., Barth, K., Futschik, A., & Lürzel, S. (2020b). Gentle interactions with restrained and free-moving cows: Effects on the improvement of the animal-human relationship. *PLoS ONE*, 15(11), e0242873. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242873>
77. Lechuga, K. K. D. S. L., Caldara, F. R., De Castro Burbarelli, M. F., Odakura, A. M., Ouros, C. C. D., Garcia, R. G., Félix, G. A., De Lima Almeida Paz, I. C., Santos, V. M. o. D., & Braz, J. M. (2023). Music and Tactile Stimuli during Daily Milking Affect the Welfare and Productivity of Dairy Cows. *Animals*, 13(23), 3671. <https://doi.org/10.3390/ani13233671>
78. Lecorps, B., Kappel, S., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2018). Dairy calves' personality traits predict social proximity and response to an emotional challenge. *Scientific Reports*, 8(1), 16350. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34281-2>
79. Lecorps, B., Welk, A., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2021). Postpartum Stressors Cause a Reduction in Mechanical Brush Use in Dairy Cows. *Animals*, 11(11), 3031. <https://doi.org/10.3390/ani11113031>
80. Leonetti, S., Cimarelli, G., Hersh, T. A., & Ravignani, A. (2024). Why do dogs wag their tails? *Biology Letters*, 20(1), 20230407. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2023.0407>
81. Li, C., & Gu, X. (2024). Oral stereotypic behaviors in farm animals and their causes. *Animal Research And One Health*, 2(3), 337-351. <https://doi.org/10.1002/aro2.48>
82. Li, C., Gao, J., Shu, H., Zhao, G., & Gu, X. (2026). Stereotypic behaviors across species: From neurobiological mechanisms to farm animal welfare. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 185, 106637. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2026.106637>
83. Li, H., Zhang, R., Li, H., Yuan, H., Zhang, R., Ren, H., Xiao, J., Li, Z., Wang, A., Jin, Y., & Lin, P. (2024). Effects of Using Mechanical Brushes on the Productive Performance of Dairy Cows. *Veterinary Sciences*, 11(10), 481. <https://doi.org/10.3390/vetsci11100481>
84. Lechuga, K. K. D. S. L., Caldara, F. R., De Castro Burbarelli, M. F., Odakura, A. M., Ouros, C. C. D., Garcia, R. G., Félix, G. A., De Lima Almeida Paz, I. C., Santos, V. M. o. D., & Braz, J. M. (2023d). Music and Tactile Stimuli during Daily Milking Affect the Welfare and Productivity of Dairy Cows. *Animals*, 13(23), 3671. <https://doi.org/10.3390/ani13233671>
85. Lloyd, D. M., McGlone, F. P., & Yosipovitch, G. (2015). Somatosensory pleasure circuit: from skin to brain and back. *Experimental Dermatology*, 24(5), 321-324. <https://doi.org/10.1111/exd.12639>
86. Loor, J. J., Bertoni, G., Hosseini, A., Roche, J. R., & Trevisi, E. (2013). Functional welfare – using biochemical and molecular technologies to understand better the welfare state of peripartur dairy cattle. *Animal Production Science*, 53(9), 931-953. <https://doi.org/10.1071/an12344>

87. Love, T. M. (2013). Oxytocin, motivation and the role of dopamine. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 119, 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.06.011>
88. Lowe, G., McCane, B., Sutherland, M., Waas, J., Schaefer, A., Cox, N., & Stewart, M. (2020). Automated Collection and Analysis of Infrared Thermograms for Measuring Eye and Cheek Temperatures in Calves. *Animals*, 10(2), 292. <https://doi.org/10.3390/ani10020292>
89. Lürzel, S., Bückendorf, L., Waiblinger, S., & Rault, J. (2020). Salivary oxytocin in pigs, cattle, and goats during positive human-animal interactions. *Psychoneuroendocrinology*, 115, 104636. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104636>
90. Lürzel, S., Münsch, C., Windschnurer, I., Futschik, A., Palme, R., & Waiblinger, S. (2015). The influence of gentle interactions on avoidance distance towards humans, weight gain and physiological parameters in group-housed dairy calves. *Applied Animal Behaviour Science*, 172, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.09.004>
91. Lv, J., Li, J., Wang, C., Zhao, P., Bi, Y., Zhang, X., Yi, R., Li, X., & Bao, J. (2018). Positive or negative emotion induced by feeding success or failure can affect behaviors, heart rate and immunity of suckling calves. *Physiology & Behavior*, 196, 185-189. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.09.006>
92. Machado, M., & Silva, I. J. O. (2019). Body expressions of emotions: does animals have it? *Journal Of Animal Behaviour And Biometeorology*, 8(1), 1-10. <https://doi.org/10.31893/jabb.20001>
93. Machado, M., Silveira, R. M. F., Bittar, C. M. M., Lobos, C. M. V., & Da Silva, I. J. O. (2023). Can the emotional state of calves be noticed by their facial expression and heart rate? *Applied Animal Behaviour Science*, 260, 105874. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.105874>
94. Machado, M., Silveira, R. M. F., Bittar, C. M. M., Lobos, C. M. V., & Da Silva, I. J. O. (2024). Do the ear and tail positions reflect the emotional state of calves? *Journal Of Animal Behaviour And Biometeorology*, <https://doi.org/10.31893/jabb.2024017> 12(2), 2024017.
95. Maciel-Torres, S. P., Ruiz-González, A., Orzuna-Orzuna, J. F., Arenas-Báez, P., Garay-Martínez, J. R., & Granados-Rivera, L. D. (2026). Brushing as Environmental Enrichment in Dairy Cattle: Effects of Different Brushing Modalities on Behavior, Health, and Production. *Veterinary Sciences*, 13(5), 450. <https://doi.org/10.3390/vetsci13050450>
96. Mandel, R., Wenker, M. L., Van Reenen, K., Keil, N. M., & Hillmann, E. (2018). Can access to an automated grooming brush and/or a mirror reduce stress of dairy cows kept in social isolation? *Applied Animal Behaviour Science*, 211, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.12.007>
97. Mandel, R., Whay, H., Klement, E., & Nicol, C. (2016). Invited review: Environmental enrichment of dairy cows and calves in indoor housing. *Journal Of Dairy Science*, 99(3), 1695-1715. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9875>
98. Mandel, R., Whay, H., Nicol, C., & Klement, E. (2013). The effect of food location, heat load, and intrusive medical procedures on brushing activity in dairy cows. *Journal Of Dairy Science*, 96(10), 6506-6513. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6941>
99. Manteuffel, G., Langbein, J., & Puppe, B. (2009). Increasing farm animal welfare by positively motivated instrumental behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(3-4), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.014>

100. Marina, H., Ren, K., Hansson, I., Fikse, F., Nielsen, P., & Rönnegård, L. (2024). New insight into social relationships in dairy cows and how time of birth, parity, and relatedness affect spatial interactions later in life. *Journal Of Dairy Science*, 107(2), 1110-1123. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23483>
101. Mattiello, S., Battini, M., De Rosa, G., Napolitano, F., & Dwyer, C. (2019). How Can We Assess Positive Welfare in 9(10), 758. <https://doi.org/10.3390/ani9100758>
102. Mattiello, S., Celozzi, S., Soli, F. M., & Battini, M. (2024). Exploring positive welfare measures: Preliminary findings from a prototype protocol in loose housing dairy cattle farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1368363. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1368363>
103. McConnachie, E., Smid, A. M. C., Thompson, A. J., Weary, D. M., Gaworski, M. A., & Von Keyserlingk, M. A. G. (2018). Cows are highly motivated to access a grooming substrate. *Biology Letters*, 14(8), 20180303. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2018.0303>
104. McCrea, K. (2016). The body language of dairy calves – Investigating emotions through ear posture, tail posture, and stepping behaviour [Proyecto de Licenciatura]. Swedish University of Agricultural Sciences.
105. Meagher, R. (2019). Is boredom an animal welfare concern? *Animal Welfare*, 28(1), 21-32. <https://doi.org/10.7120/09627286.28.1.021>
106. Mellor, D. (2016). Updating Animal Welfare Thinking: Moving beyond the “Five Freedoms” towards “A Life Worth Living”. *Animals*, 6(3), 21. <https://doi.org/10.3390/ani6030021>
107. Mellor, D. J., Beausoleil, N. J., Littlewood, K. E., McLean, A. N., McGreevy, P. D., Jones, B., & Wilkins, C. (2020). The 2020 Five Domains Model: Including Human–Animal Interactions in Assessments of Animal Welfare. *Animals*, 10(10), 1870. <https://doi.org/10.3390/ani10101870>
108. Mendl, M., & Paul, E. (2004). Consciousness, emotion and animal welfare: insights from cognitive science. *Animal Welfare*, 13(S1), S17-S25. <https://doi.org/10.1017/s0962728600014330>
109. Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. *En CABI Publishing eBooks* (pp. 1-21). <https://doi.org/10.1079/9780851993591.0001>
110. Moncada, A. C., Neave, H. W., Von Keyserlingk, M. A., & Weary, D. M. (2019). Use of a mechanical brush by dairy cows with chorioptic mange. *Applied Animal Behaviour Science*, 223, 104925. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.104925>
111. Morgan, K. N., & Tromborg, C. T. (2006). Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, 102(3-4), 262-302. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.032>
112. Mota-Rojas, D., Broom, D. M., Orihuela, A., Velarde, A., Napolitano, F., & Alonso-Spilsbury, M. (2020a). Effects of human-animal relationship on animal productivity and welfare. *Journal Of Animal Behaviour And Biometeorology*, 8(3), 196-205. <https://doi.org/10.31893/jabb.20026>
113. Mota-Rojas, D., Lezama-García, K., Domínguez-Oliva, A., Olmos-Hernández, A., Verduzco-Mendoza, A., Casas-Alvarado, A., Torres-Bernal, F., & Martínez-Burnes, J. (2023). Neurobiology of emotions in animal relationships: Facial expressions and their biological functions in mammals. *Journal Of Animal Behaviour And Biometeorology*, 11, 2023ss01. <https://doi.org/10.31893/jabb.23ss01>
114. Mota-Rojas, D., Orihuela, A., Martínez-Burnes, J., Gómez, J., Mora-Medina, P., Alavez, B., Ramírez, L., & González-Lozano, M. (2020b). Neurological modulation of

- facial expressions in pigs and implications for production. *Journal Of Animal Behaviour And Biometeorology*, 8(4), 232-243. <https://doi.org/10.31893/jabb.20031>
115. Mota-Rojas, D., Pereira, A. M. F., Wang, D., Martínez-Burnes, J., Ghezzi, M., Hernández-Avalos, I., Lendez, P., Mora-Medina, P., Casas, A., Olmos-Hernández, A., Domínguez, A., Bertoni, A., & De Mira Geraldo, A. (2021). Clinical Applications and Factors Involved in Validating Thermal Windows Used in Infrared Thermography in Cattle and River Buffalo to Assess Health and Productivity. *Animals*, 11(8), 2247. <https://doi.org/10.3390/ani11082247>
 116. Mota-Rojas, D., Velarde, A., Strappini, A. C., Orihuela, A., & Ghezzi, M. D. (2024a). *Animal Welfare Book* (4.a ed., caps 13 y 14). B.M. Editores.
 117. Mota-Rojas, D., Whittaker, A. L., Bienboire-Frosini, C., Buenhombre, J., Mora-Medina, P., Domínguez-Oliva, A., Martínez-Burnes, J., Hernández-Avalos, I., Olmos-Hernández, A., Verduzco-Mendoza, A., Casas-Alvarado, A., Lezama-García, K., & Grandin, T. (2025a). The neurobiological basis of emotions and their connection to facial expressions in non-human mammals: insights in nonverbal communication. *Frontiers In Veterinary Science*, 12, 1541615. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1541615>
 118. Mota-Rojas, D., Whittaker, A. L., Domínguez-Oliva, A., Strappini, A. C., ÁlvarezMacías, A., Mora-Medina, P., Ghezzi, M., Lendez, P., Lezama-García, K., & Grandin, T. (2024b). Tactile, Auditory, and Visual Stimulation as Sensory Enrichment for Dairy Cattle. *Animals*, 14(9), 1265. <https://doi.org/10.3390/ani14091265>
 119. Mota-Rojas, D., Whittaker, A. L., Lanzoni, L., Bienboire-Frosini, C., Domínguez-Oliva, A., Chay-Canul, A., Fischer, V., Hernández-Avalos, I., Bragaglio, A., Nannoni, E., Olmos-Hernández, A., Bettencourt, A. F., Mora-Medina, P., Martínez-Burnes, J., Casas-Alvarado, A., & Grandin, T. (2025b). Clinical interpretation of body language and behavioral modifications to recognize pain in domestic mammals. *Frontiers In Veterinary Science*, 12, 1679966. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1679966>
 120. Mota-Rojas, D., Whittaker, A. L., Strappini, A. C., Orihuela, A., Domínguez-Oliva, A., Mora-Medina, P., Álvarez-Macías, A., Hernández-Avalos, I., Olmos-Hernández, A., Reyes-Sotelo, B., & Grandin, T. (2024c). Human animal relationships in Bos indicus cattle breeds addressed from a Five Domains welfare framework. *Frontiers In Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1456120>
 121. Müller, B. R., Soriano, V. S., Bellio, J. C. B., & Molento, C. F. M. (2019). Facial expression of pain in Nellore and crossbred beef cattle. *Journal Of Veterinary Behavior*, 34, 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2019.07.007>
 122. Müller, B.R. (2015). Dor em Bovinos na Marcação a Ferro Quente: Expressão Facial, Outros Indicadores Comportamentais e Fisiológicos e a Percepção dos Produtores. <http://hdl.handle.net/1884/38047>.
 123. Muraina, H., & Foris, B. (2026). Grooming using brushes in cattle: A review of benefits, influencing factors, and monitoring opportunities. *Applied Animal Behaviour Science*, 300, 107019. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2026.107019>
 124. Napolitano, F., Bragaglio, A., Sabia, E., Serrapica, F., Braghieri, A., & De Rosa, G. (2020). The human–animal relationship in dairy animals. *Journal Of Dairy Research*, 87(S1), 47-52. <https://doi.org/10.1017/s0022029920000606>
 125. Nascimento, A. P. A. D., Castro, M. S. M., De Sousa Oliveira, D., Silveira, R. M. F., Vega, W. H. O., Nobre, M. E. M., Andrioli, A., & De Vasconcelos, A. M. (2022). Environmental enrichment in dairy goats in a semi-arid region: Thermoregulatory and

- behavioral responses. *Journal Of Thermal Biology*, 106, 103248. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103248>
126. Neave, H. W. (2025). Measuring minds: Understanding the mental states of dairy cattle in different management conditions. *JDS Communications*, 6(3), 479–483. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2024-0712>
 127. Neethirajan, S., Reimert, I., & Kemp, B. (2021). Measuring Farm Animal Emotions—Sensor-Based Approaches. *Sensors*, 21(2), 553. <https://doi.org/10.3390/s21020553>
 128. Newby, N. C., Duffield, T. F., Pearl, D. L., Leslie, K. E., LeBlanc, S. J., & Von Keyserlingk, M. A. (2013). Short communication: Use of a mechanical brush by Holstein dairy cattle around parturition. *Journal Of Dairy Science*, 96(4), 2339-2344. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6016> improve
 129. Oliveira, C. M., Lima, M. L. P., Filho, A. E. V., Salles, M. S. V., Simili, F. F., Negrão, J. A., Ribeiro, E. G., & Faro, L. E. (2023). Benefits of tactile stimulation and environmental enrichment for the welfare of crossbred dairy calves. *Journal Of Applied Animal Research*, 51(1), 130-136. <https://doi.org/10.1080/09712119.2022.2162531>
 130. Orihuela, A., Mota-Rojas, D., Velarde, A., Strappini-Asteggiano, A., De la Vega, L. T., Borderas-Tordesillas, F., & Alonso-Spilsbury, M. (2019). Environmental enrichment to behaviour in farm animals. *CABI Reviews*, 1-25. <https://doi.org/10.1079/pavsnnr201813059>
 131. Osório-Santos, Z., Byrd, J. L., DeHaven, M. T., & Neave, H. W. (2025). Preferences of dairy cows for different types of grooming brushes. *Journal Of Dairy Science*, 109(2), 1843-1853. <https://doi.org/10.3168/jds.2025-27263>
 132. Probst, J. K., Hillmann, E., Leiber, F., Kreuzer, M., & Neff, A. S. (2013). Influence of gentle touching applied few weeks before slaughter on avoidance distance and slaughter stress in finishing cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 144(1-2), 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.12.007>
 133. Proctor, H. S., & Carder, G. (2014). Can ear postures reliably measure the positive emotional state of cows? *Applied Animal Behaviour Science*, 161, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.09.015>
 134. Proctor, H. S., & Carder, G. (2015a). Measuring positive emotions in cows: Do visible eye whites tell us anything? *Physiology & Behavior*, 147, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.04.011>
 135. Proctor, H. S., & Carder, G. (2015b). Nasal temperatures in dairy cows are influenced by positive emotional state. *Physiology & Behavior*, 138, 340-344.
 136. Quaranta, A., Siniscalchi, M., & Vallortigara, G. (2007). Asymmetric tail-wagging responses by dogs to different emotive stimuli. *Current Biology*, 17(6), R199-R201. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.02.008>
 137. Rault, J., Waiblinger, S., Boivin, X., & Hemsworth, P. (2020). The Power of a Positive Human–Animal Relationship for Animal Welfare. *Frontiers In Veterinary Science*, 7, 590867. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.590867>
 138. Reefmann, N., Kaszás, F. B., Wechsler, B., & Gyga, L. (2009). Ear and tail postures as indicators of emotional valence in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(3–4), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.013>
 139. Reyes, F. S., Gimenez, A. R., Anderson, K. M., Miller-Cushon, E. K., Dorea, J. R., & Van Os, J. M. C. (2022). Impact of Stationary Brush Quantity on Brush Use in Group-Housed Dairy Heifers. *Animals*, 12(8), 972. <https://doi.org/10.3390/ani12080972>.
 140. Ruíz, R. A., Bravo, O. G. B., Chávez, A. J. G., & Albarrán, M. R. (2024). Principales sistemas de producción de leche en México: recopilación actual de parámetros

- productivos, reproductivos y de manejo. *Ciencias Veterinarias y Producción Animal*, 32-47. <https://doi.org/10.29059/cvpa.v1i2.16>
141. Russell, A. L., Randall, L. V., Eyre, N., Kaler, J., & Green, M. J. (2024). Novel enrichment reduces boredom-associated behaviors in housed dairy cows. *JDS Communications*, 5(5), 452-456. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2023-0475>
 142. Russell, A. L., Randall, L. V., Kaler, J., Eyre, N., Thompson, J., & Green, M. J. (2024). Housed dairy cows utilise varied environmental enrichments and show diverse inter-individual variation in habituation. *Applied Animal Behaviour Science*, 274, 106241. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2024.106241>
 143. Sadrzadeh, N., Foris, B., Krahn, J., Von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2024). Automated monitoring of brush use in dairy cattle. *PLoS ONE*, 19(6), e0305671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305671>
 144. Salvin, H. E., Lees, A. M., Cafe, L. M., Colditz, I. G., & Lee, C. (2020). Welfare of beef cattle in Australian feedlots: a review of the risks and measures. *Animal Production Science*, 60(13), 1569-1590. <https://doi.org/10.1071/an19621>
 145. Sandem, A., Braastad, B. O., & Bakken, M. (2005). Behaviour and percentage eyewhite in cows waiting to be fed concentrate—A brief report. *Applied Animal Behaviour Science*, 97(2-4), 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.08.003>
 146. Sandem, A., Braastad, B., & Bøe, K. (2002). Eye white may indicate emotional state on a frustration–contentedness axis in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 79(1), 1-10. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(02\)00029-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(02)00029-1)
 147. Sandem, A.-I., Braastad, B. O., & Bakken, M. (2006). Behaviour and percentage eye-white in cows waiting to be fed concentrate: A brief report. *Applied Animal Behaviour Science*, 97(2–4), 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.08.003>
 148. Schmied, C., Boivin, X., & Waiblinger, S. (2008a). Stroking Different Body Regions of Dairy Cows: Effects on Avoidance and Approach Behavior Toward Humans. *Journal Of Dairy Science*, 91(2), 596-605. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0360>
 149. Schmied, C., Boivin., Waiblinger., S. (2005) Ethogram of Social Licking: Investigations in a Beef Suckler Herd. In KTBL-Schrift 441, Aktuelle Arbeiten zur Artgemäßen Tierhaltung; Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTBL): Darmstadt, Germany, 86–92.
 150. Schmied, C., Waiblinger, S., Scharl, T., Leisch, F., & Boivin, X. (2008b). Stroking of different body regions by a human: Effects on behaviour and heart rate of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.01.013> 109(1), 25-38.
 151. Schukken, Y., & Young, D. (2009). Field study on milk production and mastitis Effect of the DeLaval Swinging Cow Brush. En DeLaval Swinging Cow Brush Study.
 152. Shahin, M. (2018). The effects of positive human contact by tactile stimulation on dairy cows with different personalities. *Applied Animal Behaviour Science*, 204, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.04.004>
 153. Skånberg, L., Agenäs, S., Bruckmaier, R., de Oliveira, D., & Keeling, L. (2025). Plasma oxytocin in dry dairy cows after using a mechanical brush. *JDS Communications*, 6(4), 573–577. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2025-0747>
 154. Spunt, R. P., Ellsworth, E., & Adolphs, R. (2016). The neural basis of understanding the expression of the emotions in man and animals. *Social Cognitive And Affective Neuroscience*, 12(1), 95-105. <https://doi.org/10.1093/scan/nsw161>
 155. Stewart, M., Stafford, K., Dowling, S., Schaefer, A., & Webster, J. (2007). Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local

- anaesthetic. *Physiology & Behavior*, 93(4-5), 789-797. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.044>
156. Stewart, M., Stookey, J., Stafford, K., Tucker, C., Rogers, A., Dowling, S., Verkerk, G., Schaefer, A., & Webster, J. (2009). Effects of local anesthetic and a nonsteroidal antiinflammatory drug on pain responses of dairy calves to hot-iron dehorning. *Journal Of Dairy Science*, 92(4), 1512-1519. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1578>
 157. Strappini, A. C., Monti, G., Sepúlveda-Varas, P., De Freslon, I., & Peralta, J. M. (2021). Measuring Calves' Usage of Multiple Environmental Enrichment Objects Provided Simultaneously. *Frontiers* <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.698681>
 158. Talebi, A., Von Keyserlingk, M., Telezhenko, E., & Weary, D. (2014). Reduced stocking density mitigates the negative effects of regrouping in dairy cattle. *Journal Of Dairy Science*, 97(3), 1358-1363. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6921>
 159. Tamioso, P. R., Molento, C. F. M., Boivin, X., Chandèze, H., Andanson, S., Delval, É., Hazard, D., Da Silva, G. P., Taconeli, C. A., & Boissy, A. (2018). Inducing positive emotions: Behavioural and cardiac responses to human and brushing in ewes selected for high vs low social reactivity. *Applied Animal Behaviour Science*, 208, 56-65. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2018.08.001>
 160. Tamioso, P. R., Rucinke, D. S., Taconeli, C. A., Da Silva, G. P., & Molento, C. F. M. (2017). Behavior and body surface temperature as welfare indicators in selected sheep regularly brushed by a familiar observer. *Journal Of Veterinary Behavior*, 19, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2017.01.004>
 161. Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews. Neuroscience*, 16(6), 317-331. <https://doi.org/10.1038/nrn3945>
 162. Travain, T., & Valsecchi, P. (2021). Infrared Thermography in the Study of Animals' Emotional Responses: A Critical Review. *Animals*, 11(9), 2510. <https://doi.org/10.3390/ani11092510>
 163. Uddin, J., Phillips, C. J., Auboeuf, M., & McNeill, D. M. (2021). Relationships between body temperatures and behaviours in lactating dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 241, 105359. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2021.105359>
 164. Ujita, A., Faro, L. E., Vicentini, R. R., Lima, M. L. P., De Oliveira Fernandes, L., Oliveira, A. P., Veroneze, R., & Negrão, J. A. (2020). Effect of positive tactile stimulation and prepartum milking routine training on behavior, cortisol and oxytocin in milking, milk composition, and milk yield in Gyr cows in early lactation. *Applied Animal Behaviour Science*, 234, 105205. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.105205>
 165. Ujita, A., Seekford, Z., Kott, M., Goncherenko, G., Dias, N. W., Feuerbacher, E., Bergamasco, L., Jacobs, L., Eversole, D. E., Negrão, J. A., & Mercadante, V. R. G. (2021). Habituation Protocols Improve Behavioral and Physiological Responses of Beef Cattle Exposed to Students in an Animal Handling Class. *Animals*, 11(8), 2159. <https://doi.org/10.3390/ani11082159>
 166. Van Os, J. M., Goldstein, S. A., Weary, D. M., & Von Keyserlingk, M. A. (2021). Stationary brush use in naive dairy heifers. *Journal Of Dairy Science*, 104(11), 12019-12029. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20467>
 167. Velasquez-Munoz, A., Manriquez, D., Paudyal, S., Solano, G., Han, H., Callan, R., Velez, J., & Pinedo, P. (2019). Effect of a mechanical grooming brush on the behavior and health of recently weaned heifer calves. *BMC Veterinary Research*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2033-3>
 168. Von Borell, E., Langbein, J., Després, G., Hansen, S., Leterrier, C., Marchant, J., Marchant-Forde, R., Minero, M., Mohr, E., Prunier, A., Valance, D., & Veissier, I.

- (2007). Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. *Physiology & Behavior*, 92(3), 293-316. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.01.007>
169. Von Keyserlingk, M., Olenick, D., & Weary, D. (2008). Acute Behavioral Effects of Regrouping Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 91(3), 1011-1016. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0532>
 170. Von Keyserlingk, M., Rushen, J., De Passillé, A., & Weary, D. (2009). Invited review: The welfare of dairy cattle—Key concepts and the role of science. *Journal Of Dairy Science*, 92(9), 4101-4111. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2326>
 171. Vybiral, S., & Janský, L. (1989). The role of dopaminergic pathways in thermoregulation in the rabbit. *Neuropharmacology*, 28(1), 15–20. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(89\)90061-0](https://doi.org/10.1016/0028-3908(89)90061-0)
 172. Waiblinger, S., Boivin, X., Pedersen, V., Tosi, M., Janczak, A. M., Visser, E. K., & Jones, R. B. (2006). Assessing the human–animal relationship in farmed species: A critical review. *Applied Animal Behaviour Science*, 101(3-4), 185-242. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.02.001>
 173. Waiblinger, S., Menke, C., & Coleman, G. (2002). The relationship between attitudes, personal characteristics and behaviour of stockpeople and subsequent behaviour and production of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 79, 195-219.
 174. Waiblinger, S., Menke, C., Korff, J., & Bucher, A. (2003). Previous handling and gentle interactions affect behaviour and heart rate of dairy cows during a veterinary procedure. *Applied Animal Behaviour Science*, 85(1-2), 31-42. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2003.07.002>
 175. Waller, B. M., & Micheletta, J. (2013). Facial Expression in Nonhuman Animals. *Emotion Review*, 5(1), 54-59. <https://doi.org/10.1177/1754073912451503>
 176. Wallgren, T., Larsen, A., & Gunnarsson, S. (2019). Tail Posture as an Indicator of Tail Biting in Undocked Finishing Pigs. *Animals*, 9(1), 18. <https://doi.org/10.3390/ani9010018>
 177. Watanabe, S. (2023). Infrared thermography for non-invasive measurement of social inequality aversion in rodents and potential usefulness for future animal-friendly studies. *Frontiers In Behavioral Neuroscience*, 17. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1131427>
 178. Wells, D. L. (2009). Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(1-2), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.01.002>
 179. Westerath, H. S., Gygax, L., & Hillmann, E. (2014). Are special feed and being brushed judged as positive by calves? *Applied Animal Behaviour Science*, 156, 12-21. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.04.003>
 180. Westerath, H. S., Laister, S., Winckler, C., & Knierim, U. (2008). Exploration as an indicator of good welfare in beef bulls: An attempt to develop a test for on-farm assessment. *Applied Animal Behaviour Science*, 116(2-4), 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2008.08.012>
 181. Worth, A. A., Feetham, C. H., Morrissey, N. A., & Luckman, S. M. (2024). Paraventricular oxytocin neurons impact energy intake and expenditure: Projections to the bed nucleus of the stria terminalis reduce sucrose consumption. *Frontiers in Endocrinology*, 15, 1449326. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1449326>
 182. Wredle, E., Svennersten-Sjaunja, K., Munksgaard, L., Herskin, M. S., Bruckmaier, R. M., & Uvnäs-Moberg, K. (2022). Feeding and Manual Brushing Influence the Release

- of Oxytocin, ACTH and Cortisol Differently During Milking in Dairy Cows. *Frontiers In Neuroscience*, 16, 671702. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.671702>
183. Yayou, K., Ito, S., Yamamoto, N., Kitagawa, S., & Okamura, H. (2009). Relationships of stress responses with plasma oxytocin and prolactin in heifer calves. *Physiology & Behavior*, 99(3), 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.11.016>
 184. Zhang, C., Juniper, D. T., & Meagher, R. K. (2022). Effects of physical enrichment and pair housing before weaning on growth, behaviour and cognitive ability of calves after weaning and regrouping. *Applied Animal Behaviour Science*, 249, 105606. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2022.105606>
 185. Zhang, S., Sailunaz, K., & Neethirajan, S. (2025). Micro-Expression-Based Facial Analysis for Automated Pain Recognition in Dairy Cattle: An Early-Stage Evaluation. *AI*, 6(9), 199. <https://doi.org/10.3390/ai6090199>
 186. Zimmermann, B., Castro, A. N. C., Lendez, P. A., Illia, M. C., Illia, M. P. C., Teyseyre, A. R., Toloza, J. M., Ghezzi, M. D., & Mota-Rojas, D. (2024). Anatomical and functional basis of facial expressions and their relationship with emotions in horses. *Research In Veterinary Science*, 180, 105418. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2024.105418>
 187. Zulkifli, I. (2013). Review of human-animal interactions and their impact on animal productivity and welfare. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4 (1), 25. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-25>
 188. Zych, A. D., & Gogolla, N. (2021). Expressions of emotions across species. *Current Opinion in Neurobiology*, 68, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2021.01.003>