

EVALUACIÓN DE LA DETECCIÓN DE CELO EN EXPLOTACIONES LECHERAS

Evaluation of Oestrus Detection in Dairy Farms

Néstor G. Sepúlveda Becker¹ y Evangelina Roderó Serrano²

¹*Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, CEBIOR, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.*

²*Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, España. E-mail: nestor@ufro.cl*

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo identificar y evaluar las prácticas de detección de celo utilizadas en explotaciones lecheras de la Región de la Araucanía en Chile. Para tal efecto, se seleccionaron 24 lecherías con régimen intensivo en las que se identificaron los métodos de detección utilizados, la valoración que entregaban los ganaderos a cada signo de celo y el tiempo dedicado a la detección visual de celo. La información obtenida permite señalar que la detección de estro se realiza fundamentalmente a partir de la observación visual de las modificaciones del comportamiento siendo el más utilizado la inmovilidad del animal y de mayor confiabilidad para los ganaderos. La utilización de métodos auxiliares de detección de celo se lleva a cabo en rebaños de mayor tamaño y con vacas de alto nivel productivo. Además ha quedado en evidencia que los ganaderos observan y valoran poco el resto de los signos del comportamiento sexual de la vaca en estro, y que para la detección de celo disponen de un insuficiente período de observación diaria.

Palabras clave : Detección de estro, comportamiento animal, reproducción, inseminación artificial, bovinos lecheros.

ABSTRACT

The aim of this work was to identify and evaluate different practices utilized by dairy farmers for estrus detection in the Araucania Region (IX Region) in Chile. An evaluation was performed on 24 intensive dairy farms in relation to the method utilized for estrus detection, the value appreciation given by the farmers to different cow signs during estrous and the time of day used by farmers for an estrus detection by visual observation. The information recollected shows that visual observation

is the most common method utilized and standing immobility was the most important sign used by the dairy farmers for estrus detection. Auxiliary methods were used on the larger dairy farms with high production level cows. Through this diagnostic study it is obvious that dairy farmers place little value on other behavior signs and that they dedicated insufficient time to this practice.

Key words: Oestrus detection, animal behaviour, reproduction, artificial insemination, dairy cows.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es una de las primeras biotecnologías utilizadas masivamente y que ha tenido mayor impacto en el desarrollo de producción lechera bovina [24]. Se estima que en el año 1998 se realizaron en el mundo más de 106 millones de primeros servicios de IA en bovinos, de los cuales 1,36 millones corresponden a servicios realizados en América del Sur [22].

Al implementarr un programa de IA en bovinos, el componente más costoso resulta ser la detección de estros, y en Estados Unidos de América las pérdidas por fallas en la detección de estro superan los 300 millones de dólares al año [17]. Por lo tanto, ésto determina que una eficiente y segura detección de estro seguido de una IA realizada oportunamente es el mayor desafío a que se enfrentan muchos rebaños lecheros [6,14,17]. Una baja tasa de detección de estro combinada con una pobre tasa de concepción al primer servicio son las principales causas de una baja eficiencia reproductiva en muchos rebaños lecheros, en especial en aquellos en que el sistema de producción es bajo confinamiento. El manejo intensivo puede inducir a un mayor estrés para interferir con la expresión normal del comportamiento sexual lo que dificulta la detección de celos [10,15].

La corta duración de los celos y la presentación de signos débiles suelen ser citados como la principal razón para la obtención de bajas tasas de preñez en vacas lecheras en sistemas intensivos, donde la intensidad y duración del celo puede verse afectada por factores como la edad, estado sanitario, clima, tipo de piso tamaño y composición del grupo de vacas, aislamiento, distracción por ruido o la presencia de un observador [1, 3, 10, 15, 18].

Antecedentes obtenidos en Chile, indican que las tasas de detección de estro en rebaños lecheros son en promedio alrededor de un 50%, siendo muy baja para los primeros estros (20%) y alcanzando alrededor del 80% al cuarto estro postparto [19]. Estos signos concuerdan con los obtenidos en otros países con más tradición ganadera sin embargo es necesario alcanzar tasas de un 70% de detección de celos para lograr aumentar los índices de eficiencia reproductiva [5,14].

Esto ha motivado el desarrollo del presente trabajo cuyos objetivos fueron conocer que métodos se utilizan para la detección de celos, los signos que se observan y el tiempo que se dedica a esta práctica en explotaciones lecheras en Chile sometidas a régimen de confinamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado entre los meses de Julio y Noviembre de 1999, en explotaciones lecheras ubicadas en el sur de Chile (38° Lat. Sur). Se seleccionaron 24 lecherías con uso de IA al menos durante los últimos 5 años; con un nivel de producción de leche superior a los 5.000 Kg por lactancia y que la explotación contara con un alto grado de confinamiento.

La información fue obtenida mediante entrevista personal a los responsables de la detección de celos a través de una encuesta, que se correspondía con los siguientes apartados:

a) aspectos generales de la explotación, que incluía el número de vacas en ordeño, la producción de leche al año y la producción media por vaca/día. Durante la visita a la explotación se observó el sistema de estabulación existente, agrupándose en 4 tipos: estabulación trabada, estabulación libre, estabulación libre con cubículos y estabulación libre cubierta con cubículos. Para lograr una mejor caracterización del grado de confinamiento se estableció si ésta era permanente (todo el día) o sólo se estabulaba en la noche y de acuerdo al número de meses que el rebaño en producción permanecía confinado, así por ejemplo, si un rebaño estaba confinado día y noche durante 12 meses, correspondía a un índice 24 y si el confinamiento era sólo nocturno por el mismo período el índice era 12.

b) aspectos relacionados con la detección de estro. Se obtuvo información respecto a los métodos de detección de estro que se utilizaban en el predio y la frecuencia para cada método de observación. El tiempo dedicado a la detección de celos fue consultado sobre la base de tres posibles respuestas: 1) no dedican tiempo especial a la detección de celos, ésta se realiza durante las labores diarias (ordeño, aseo, ali-

mentación); 2) dedican entre 30 y 60 minutos diarios exclusivamente a detectar celos; 3) se disponía de más 60 minutos diarios a la observación de celos.

c) valoración de cada entrevistado daba los diferentes signos que manifiesta una vaca en estro. Basado en los principales signos de estro que describe la literatura para los bovinos [1, 7, 8, 11], se establecieron 11 signos relacionados con el estro.

1. La vaca acepta la monta de otra vaca y se queda quieta.
2. La vaca monta o trata de montar a otras vacas.
3. Otras vacas tratan de montarla, pero no acepta la monta.
4. La vaca se muestra excitada y nerviosa, camina, está inquieta y no come.
5. Se observa una descarga de mucus transparente desde la vulva.
6. Se observa en la grupa pelos hirsutos, sucios o la piel se encuentra excoriada recientemente.
7. El animal persigue a otras vacas e intenta montarlas, coloca su mentón en el lomo de otros animales.
8. La vaca muge frecuentemente.
9. Se observa la vulva roja y edematosa o inflamada.
10. La vaca lame y olfatea los genitales de otra vaca u otra vaca lo realiza con ella.
11. Se observa una disminución repentina de la producción de leche durante el ordeño.

Se consultó a los entrevistados sobre la seguridad que le merecía cada uno de los signos para detectar con plena certeza una vaca en celo, estableciéndose tres tipos de respuestas: el signo es muy seguro y sugiere plena certeza que la vaca está en celo; el signo es poco seguro y no ofrece seguridad de celo; el signo no es seguro y no lo considera relacionado con el celo de la vaca.

Los datos fueron almacenados en hojas de cálculo y exportados al programa estadístico SYSTAT [21]. Se obtuvieron estadísticos descriptivos y se calcularon parámetros de posición (media) y dispersión (desviación estándar). Se realizó un análisis de conglomerados (cluster), [21] para agrupar las explotaciones según número de vacas y producción de leche, lo cual fue relacionado con los métodos de detección utilizados a través de un análisis de correlación de Pearson [21].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de las explotaciones

El número de vacas, la producción de leche y el grado de confinamiento de cada rebaño, fueron utilizados para reali-

TABLA I
ESTRATIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS CON RELACIÓN AL NÚMERO DE VACAS EN ORDEÑA, PRODUCCIÓN MEDIA* DE LECHE POR VACA AL DÍA Y GRADO DE CONFINAMIENTO

| Cluster | Rebaños N° | Vacas/ rebaño n± DE | (rango) | Leche/vaca al día L±DE | (rango) | Grado de confinamiento | (rango) |
|---------|------------|------------------------|---------|---------------------------|---------|---------------------------|---------|
| 1 | 14 | 59 ± 17 | 35–84 | 18,5 ± 2,1 | (15-23) | 12,4 | (8-15) |
| 2 | 7 | 146 ± 31 | 105–190 | 22,5 ± 4,0 | (18-30) | 14,6 | (10-24) |
| 3 | 3 | 300 ± 69 | 260–380 | 25,3 ± 0,6 | (25-26) | 24 | (24) |

DE = Desviación estándar

zar el análisis de conglomerados (cluster), que permitió establecer los 3 grupos que muestra la TABLA I. La estratificación de las explotaciones en estos tres grupos concuerda con otros estudios en los sistemas lecheros de la zona sur de Chile, en donde es posible encontrar lecherías pequeñas con alrededor de 50 vacas, lecherías de tamaño medio (150 vacas) y lechería de gran tamaño con un número superior a las 250 vacas en ordeño [20].

En todas las explotaciones lecheras las labores de ordeño y de detección de celos son realizadas por personal contratado, el propietario rara vez se comprometía en estas actividades, dedicándose principalmente a labores administrativas.

El grado de confinamiento medio de las lecherías fue de 12,9 puntos y el sistema más utilizado correspondió a sistemas de estabulación libre sobre piso de cemento con cubículos bajo techo.

Métodos de detección de celos

La TABLA II, muestra los métodos de detección de celo utilizados en las explotaciones lecheras, todas usan el método de detección de celos por observación visual, que es la forma más común, fácil y económica para detectar el celo, razón que puede explicar la utilización de este método en todas las explotaciones.

En este estudio se pudo comprobar que un 50% de las explotaciones utilizaba uno o más métodos auxiliares a la observación visual, entre los que se encontraba el uso de pinturas en la base de la cola, el uso de detectores de monta, la utilización de toros celadores y el uso de instrumentos que mide la impedancia eléctrica en el mucus o mucosa vaginal.

Lehrer y col. [12] señalan, que al aumentar el tamaño y el grado de confinamiento de los rebaños lecheros, la baja detección de estros se transformó en un grave problema, para lo cual fueron creados métodos de ayuda para detectar estros no obstante su uso, aún sigue siendo complementario a la observación visual.

La aplicación de pintura en la base de la cola resultó en un método auxiliar utilizado frecuentemente en dos explotaciones, sin embargo la mayoría de las explotaciones recurría a métodos auxiliares solamente durante ciertos períodos, para concentrar los servicios de IA o se aplicaba en vacas que no presentan celo después de un período postparto prolongado. Al

respecto se recomienda [11], no combinar métodos de detección y sólo utilizar uno hasta que esté totalmente evaluado en las condiciones de cada sistema productivo, ya que estos métodos auxiliares pueden facilitar la detección de celos, sin embargo hay que considerar el mayor costo y problemas que se pueden derivar de su uso. Los detectores de monta y la aplicación de pintura en la cola, son efectivos cuando las vacas se encuentran en pastoreo, pero no así, cuando las vacas se mantienen en alta densidad en condiciones intensivas, estos métodos muestran una alta proporción de falsos positivos [13].

El análisis de Pearson demostró una correlación positiva entre la utilización de varios métodos de detección de celos en una misma explotación con el número de vacas en ordeño ($r=0,69$; $P<0,001$), con la producción de leche por vaca ($r=0,70$; $P<0,001$) y con el grado de confinamiento de la lechería ($r=0,78$; $P<0,001$). Así se pudo constatar que los rebaños de mayor tamaño, mayor nivel de producción de leche por vaca y mayor grado de confinamiento, utilizaban más métodos de detección de celos que los rebaños pequeños y de menor producción por vaca. Posiblemente en los rebaños más numerosos y con mayor nivel productivo los ganaderos intentan mejorar sus tasas de detección para lo cual recurren a otros métodos auxiliares de detección de celo además de la observación visual. Esta correlación, lógicamente viene determinada por la rentabilidad económica de las explotaciones de mayor nivel, pero también se ve justificada por una mayor necesidad de estas últimas ante la relación directa nivel de producción-número de problemas de fertilidad [10, 15, 18, 22].

Valoración de los signos de celo. Considerando que la detección de celos por observación visual era el método empleado por todas las explotaciones, se consultó al personal encargado de esta labor la valoración o seguridad que ellos asignaban a cada signo de estro observado en una vaca en celo.

La TABLA III muestra el grado de seguridad que fue asignado por los encargados de la detección de celos, a cada signo de celo, siendo el reflejo de inmovilidad que presentan las vacas al ser montadas el signo más seguro para ellos (23/24 respuestas). Sólo un ganadero no reconoció a este comportamiento como signo seguro de celo inclinándose por la monta a otras vacas como el signo que le entregaba la mayor seguridad. Los encuestados consideraron una media de 5,3 signos o comportamientos (seguros o poco seguros) que presentan las vacas en celo, el rango fluctuó entre ganaderos que observan 8 signos a

TABLA II
MÉTODOS PARA DETECTAR CELOS Y SU FRECUENCIA DE UTILIZACIÓN

| Método | Explotaciones en que se utiliza | | Uso del método (n) | |
|-----------------------|---------------------------------|------|--------------------|------------|
| | (n) | (%) | Frecuente | Esporádico |
| Detección visual | 24 | 100 | 24 | 0 |
| Pintura en la cola | 7 | 29,2 | 2 | 5 |
| Detectores de presión | 7 | 29,2 | 0 | 7 |
| Toro celador | 3 | 12,5 | 0 | 3 |
| Conductibilidad | 3 | 12,5 | 0 | 3 |

TABLA III
VALORACIÓN ASIGNADA POR LOS GANADEROS A LOS DIFERENTES SIGNOS RELACIONADOS CON EL CELO.

| Signos consultados | N° de respuestas | | |
|---|------------------|-------------------|---------------|
| | Signo muy seguro | Signo poco seguro | Sin seguridad |
| 1. Acepta monta y se queda quieta | 23 | 1 | 0 |
| 2. Monta a otras vacas | 5 | 16 | 3 |
| 3. Tratan de montarla y no acepta la monta | 0 | 11 | 13 |
| 4. La vaca se encuentra excitada y nerviosa | 0 | 10 | 14 |
| 5. Descarga mucus transparente por la vagina | 0 | 10 | 14 |
| 6. Pelos hirsutos y/o excoriaciones en la grupa | 0 | 17 | 7 |
| 7. Persigue a otras vacas e intenta montarlas | 0 | 8 | 16 |
| 8. Brama frecuentemente | 0 | 3 | 21 |
| 9. Se observa la vulva roja y edematosa | 0 | 6 | 18 |
| 10. Lame o es lamida por otras vacas | 0 | 2 | 22 |
| 11. Baja su producción de leche | 0 | 11 | 13 |

algunos que sólo observan 2 signos. El signo mas observado y valorado por los ganaderos (TABLA III) es el reflejo de inmovilidad que presenta una vaca al ser montada por otra vaca. Le siguen en importancia la tendencia de la vaca a montar o intentar montar a otras vacas y la observación de escoriaciones, pelos sucios o hirsutos en la grupa. Los signos que menos se valoraron como indicativos de una vaca en estro fueron; el mugido frecuente, el olfateo y/o lamido genital a otras vacas y la observación de la vulva roja y edematizada.

El principal signo de receptividad sexual en la vaca es aceptar la monta y mantenerse inmóvil [8]. El ganadero está muy familiarizado con este signo por lo que es muy fácil su identificación, sin embargo, debido al corto tiempo que las vacas demuestran este signo es bastante difícil tener la oportunidad de observarlo, ya que este comportamiento representa menos del 1% del período de estro, y en condiciones de estabulación se ha obtenido un promedio de sólo 2,9 montas (rango 0-7 montas) en vacas en estro [1, 23]. Este período además de ser corto es poco definido, existen vacas que muestran su celo en pocas horas y muchas veces durante la noche, esto ha sido reportado en trabajos en donde el 90% de los casos de "anestro" han sido vacas en las que se ha fallado en el diagnóstico del

celo [2]. También existen muchos factores que disminuyen la presentación de este signo como el tipo de suelo, la densidad de animales, el clima, pero uno de los factores más influyentes es el número de vacas en celo [4, 9, 10, 15, 16].

La TABLA IV muestra que un alto porcentaje de los rebaños que se analizaron (87,5%), se efectúa la observación de celos durante el tiempo que están ejecutando otras labores en el predio y sólo en 3 lecherías se dedica un período de tiempo exclusivamente para este propósito. Dos lecherías dedican períodos menores a una hora diaria a detectar celo y sólo una, que resultó ser el de mayor número de vacas en ordeño, disponía a una persona dedicada exclusivamente a la detección de celos y a la IA.

El ganadero determina algunos factores que son parte de su manejo diario tales como la hora, la frecuencia de observaciones y el tiempo que invierte en la detección de estros. Sin embargo, no sólo es necesario dedicar mas tiempo a las observaciones o hacerlo con más frecuencia para tener un óptimo resultado en la detección de estros, sino que se necesita además un buen conocimiento del comportamiento y de los síntomas de las vacas durante el estro y también del comportamiento previo al estro [23].

TABLA IV
HORAS AL DÍA DEDICADAS A LA OBSERVACIÓN VISUAL
DE CELOS EN LOS 24 REBAÑOS ENCUESTADOS

| Tiempo dedicado | Nº predios (%) |
|---|----------------|
| No dedican tiempo específico, la detección se realiza durante las labores diarias (ordeño, aseo, alimentación). | 21 (87,5%) |
| Dedican entre media y una hora diaria exclusivamente para detectar celos. | 2 (8,3%) |
| Dedican más de una hora diaria a detectar estros. | 1 (4,2%) |

Son muchos los trabajos que indican que es necesario contar con períodos dedicados exclusivamente a la observación de los animales para así poder identificar los diferentes signos de estros. Se estima que para obtener tasas de detección superior a un 50% se requiere un tiempo de observación de 30 minutos dos veces al día [23].

Por lo tanto si el ganadero no dispone de un horario exclusivo para dedicarlo a la observación de estros, la posibilidad de realizar una detección es muy baja, sobre todo si ignora o no da importancia a otros comportamientos relacionados con el estro, como se ha detectado en este trabajo.

CONCLUSIONES

- La información obtenida a partir de esta experiencia indica que existe un deficiente conocimiento de los signos de estros por parte de los ganaderos encargados de la detección de celo en estas explotaciones, ya que su mayoría da importancia a un sólo signo de estro. Si bien este signo, es él más importante, los demás pueden ser de mucha ayuda y no deben descartarse sobre todo en los casos en que el tiempo de observación es muy reducido.
- La frecuencia y duración de la detección de celos es otro punto que precisa mayor atención por parte de los ganaderos ya que en la mayoría de las explotaciones estudiadas no se cuenta con un período de tiempo dedicado especialmente a la observación del comportamiento de las vacas, sino que hacen observaciones cuando realizan otras actividades en la lechería (aseo o alimentación de las vacas), lo cual está demostrado que no es el momento más adecuado.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a los ganaderos que gentilmente colaboraron con este estudio. Este trabajo forma parte del Proyecto DIUFRO Nº 9902, financiado por la Dirección de Investigación de la Universidad de La Frontera.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. ALBRIGHT, J.L.; C.W. ARAVE. **The behaviour of cattle**. Edit. CAB International, Oxon, UK. 1997.
- [2]. APPLEYARD, W.T.; COOK, B. The estrus detection in dairy cattle. **Vet. Rec.** 99: 253-256. 1976.
- [3]. ESSLEMONT, R.J.; BRYANT M.J. Oestrus behaviour in a herd of dairy cows. **Vet. Rec.** 99: 472-475. 1976.
- [4]. ESSLEMONT, R.J.; FLENCROSS, R.G.; BRYANT, J.J. POPE, G.S. A quantitative study of preovulatory behaviour in cattle. **Appl. Anim. Ethol.** 6: 1-17. 1980.
- [5]. ESSLEMONT, R.J.; KOSSAIBATI, M.A. The use of database to manage fertility. **Anim. Reprod. Sci.** 60-61: 725-741. 2000.
- [6]. FOOTE, R.H. Oestrus detection and oestrus detection aids. **J. Dairy Sci.**, 58: 248-256. 1974.
- [7]. FRASER, A.F.; BROOMD, M. **Farm animal behaviour and welfare**. Edit. Bailliere Tindall, London, England. 1990.
- [8]. HAFEZ, E.S.E.; SCHEIN, M.W. EWBANK, R. The behaviour of cattle IN: **The behaviour of domestic animals**. Ed. E.S.E Hafez. Bailliere, Tindall and Cassell, London, U.K. 235-295 pp. 1969
- [9]. HURNIK, J. F.; KING, G.J. ROBERTSON, H.A. Estrous and estrous related behaviour in postpartum Holstein cows. **Appl. Anim. Ethol.**, 2: 55-68. 1975
- [10]. KING, G.J. Sexual behaviour in cattle. In: **Studies on the reproductive efficiency of cattle using RIA techniques**. IAEA, Vienna, Austria. 59-71 pp. 1990.
- [11]. KILGOUR, R.; DALTON, C. Cattle. In: **Livestock behaviour**. Westview Press. Boulder Co. USA. 320 pp. 1984.
- [12]. LEHRER, A. R.; LEWIS, G.S.; AIZINBUD, E. Oestrus detection in cattle: recent development. **Anim. Reprod. Sci.** 28:355-361. 1992.
- [13]. MCMILLAN, K.L.; TAUFA, V.K.; BARNES D.R.; DAY, A.M.; HENRY, R. Detecting estrus in synchronized heifers using tail paint and aerosol raddle. **Theriogenology**, 30: 1099-1114. 1988.
- [14]. NEBEL, R.L.; DRANSFIELD, M.G.; JOST, S.M.; BAME, J.H. Automated electronic systems for the detection of oestrus and timing of IA in cattle. **Anim. Reprod. Sci.** 60-61: 713-723. 2000.
- [15]. ORIHUELA, A. Some factors affecting the behavioural manifestation of estrus in cattle: a review. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 70: 1-16. 2000.
- [16]. PENNINGTON, J.A.; ALBRIGHT, J.L.; DIECKMAN, M.A.; CALLAHAN, C.J. 1985. Sexual activity of Holstein cows: seasonal effect. **J. Dairy Sci.** 68: 3023-3030.

- [17] SENGER, P.L. Automated detection of oestrus; can be it a reality? In: **Proc. 27th Annual Conference of the American Association of Bovine Practicioners**. Penn. USA. 1-10 pp. 1994.
- [18] SEPÚLVEDA, N. Eficiencia reproductiva en vacas lecheras. **Frontera Agrícola**, 3: 47-50. 1995.
- [19] SEPÚLVEDA, N.; RISOPATRÓN, RODRÍGUEZ, J.; PÉREZ, F.E. Use of nuclear techniques for evaluation of first service conception rate in dairy herds with artificial insemination in Chile. **IAEA-TECDOC 1220**, Vienna, Austria. 93-100 pp. 2000.
- [20] SMITH, R. Caracterización de los sistemas productivos lecheros en dos zonas de Chile. En: **XIII Curso de Actualización: Producción Animal**. Ed. L. Latrille. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 274-302 pp. 1999.
- [21] SYSTAT 6.0 for Windows. SPSS Inc. 444 North Michigan Av. Chicago IL. U.S.A. 1996.
- [22] THIBIER, M., WAGNER, H.G. World stadistics for artificial insemination in cattle. In **Proc. 14th International Congress in Animal Reproduction**, Stockholm, Sweden. Vol 2. 15: 2. 2000.
- [23] VAN VLIET, J. H.; VAN EEDENBURG, F.J.C.M. Sexual activities and oestrus detection in lactation Holstein cows. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 50: 57-69. 1996.
- [24] WILMUT, I.; YOUNG, L.; DESOUSAP, T.; KING. New opportunities in animal breeding and production. **Anim. Reprod. Sci.** 60-61: 5-14. 2000.