

**TRABAJO FIN DE GRADO**

---

**GRADO EN  
VETERINARIA**

¿Dejará de ser “oveja negra” si  
administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en  
ovino.

Alumna: Amanda Sampedro Garzón  
Tutor: Carlos Mínguez Balaguer  
Curso: 5º Veterinaria





## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quisiera agradecer a mis padres y mi familia por el esfuerzo realizado durante todo este tiempo, su paciencia y fuerza que me han animado a seguir. Gracias por apoyarme en todas mis decisiones, escucharme y aguantar mi mal humor en exámenes (y no exámenes) durante estos cinco años.

Agradecer la dedicación, paciencia y el trabajo de mi tutor y director, Dr. Carlos Mínguez Balaguer que tras tutorías “de luz y color” no me ha dado “garrotillo”. Gracias por orientarme y ayudarme ya que sin tu ayuda no hubiese sido posible. También agradecer a Joel Bueso Rodenas, María Moreno Manrique y Arantxa Villagrà por contar conmigo para la investigación de la cual hemos sacado este trabajo.



## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
1 INTRODUCCIÓN .....	3
1.1 Evolución del ovino .....	3
1.2 Situación actual .....	4
1.3 Bienestar animal.....	8
1.4 Estrés en animales de ganadería.....	9
1.4.1 Particularidades del estrés en ovino de carne .....	11
1.5 Uso de la melatonina en ganadería.....	16
1.6 Test Novel Object .....	18
2 OBJETIVOS .....	19
3 MATERIAL Y MÉTODOS .....	20
3.1 Animales.....	20
3.2 Diseño experimental .....	17
3.3 Análisis estadístico .....	20
4 RESULTADOS .....	21
5 DISCUSIÓN.....	26
6 CONCLUSIONES .....	28
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proporción de producción de ovinos por región del año 2019 (FAOSTAT, 2021) .....	4
Figura 2. Producción de ovinos: los 10 productores principales en 2019 (FAOSTAT, 2021) .....	4
Figura 3. Toneladas de carne de ovino exportadas de los 5 exportadores principales a nivel mundial (promedio 1993-2019) (FAOSTAT, 2021) .....	5
Figura 4. Toneladas de carne de ovino importadas de los 5 importadores principales a nivel mundial (promedio 1993-2019) (FAOSTAT, 2021). .....	5
Figura 5. Evolución de la producción de carne de ovino en la Unión Europea (1970-2000) (FAOSTAT, 2021) .....	6
Figura 6. Consumo de carne de ovino “per cápita” (kg.) (MAPA. Caracterización del sector ovino-caprino en España- Año 2019) .....	7
Figura 7. Valor de la Producción Final Ganadera en el año 2019 (MAPA. Caracterización del sector ovino-caprino en España- Año 2019) .....	8
Figura 9. Imagen del recinto donde se realizaron los test “ <i>Open Field</i> ” y <i>Novel Object</i> . Elaboración propia .....	18
Figura 8. Diagrama esquemático del diseño experimental para evaluar el efecto ansiolítico de la melatonina en ovino de carne. D= día; Implante Subcutáneo de Melatonina= Melovine® 18 mg; Diazepam= 0.1 mg/kg por vía intravenosa; SSF= suero fisiológico salino.Elaboración propia.....	19

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla resumen de los resultados observados para las diferentes variables según el método realizado (Kruskal-Wallis (K-W) o Anova) y <i>p-value</i> obtenida. Elaboración propia. ....	21
--	----



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

### RESUMEN

El estrés es un factor importante para el bienestar animal, en especial para los animales de ganadería, puesto que entre otros factores, podría repercutir negativamente en sus producciones. En el presente estudio, se intentó determinar el efecto ansiolítico de la melatonina en ovino de carne. Para ello, se realizó una comparación con tres grupos experimentales: Grupo 0 (al cual no se aplicó tratamiento), Grupo Melatonina (se aplicó un implante de melatonina subcutáneo de liberación prolongada, Melovine® 18 mg, 5 días antes de la prueba) y Grupo Control (se administró 0,1 mg/kg de diazepam vía intravenosa). Se tomó como Grupo Control el diazepam ya que se conoce su efecto ansiolítico. El test utilizado para determinar diferencias en el comportamiento fue el test *Novel Object* que consiste en introducir un objeto extraño para el animal y evaluar el miedo (estrés) hacia lo desconocido (objeto). Las variables analizadas referentes al *Novel Object*, en nuestro caso una pelota, fueron: miradas, acercamientos, acercamientos mirándola, veces que la ha tocado y olfateos. En los resultados obtenidos para las variables no se observaron diferencias significativas entre los tres tratamientos experimentales. En conclusión, en nuestro estudio no se determinó el efecto ansiolítico de la melatonina en la especie ovina. Por lo que, sería necesario realizar más estudios para certificar el efecto ansiolítico de la melatonina y la eficacia del *Novel Object*.

**PALABRAS CLAVE:** *Diazepam, Estrés, Melatonina, Novel Object, Ovino.*



## ABSTRACT

Stress is an important factor for animal welfare, in particular for livestock animals, since among other factors; it could have a negative impact on their production. In the present study, we attempted to determine the anxiolytic effect of melatonin in sheep meat. A comparison was made with three experimental groups: 0 Group (this group wasn't treated), Melatonin Group (this group was applied a subcutaneous melatonin implant, Melovine® 18 mg, 5 days before test) and Control Group (this group was administered 0,1 mg/kg of diazepam intravenously). Diazepam was taken as a Control Group because its anxiolytic effect is known. The test used to determine differences in behavior was the *Novel Object*. The *Novel Object* test consists of introducing a foreign object to the animal and evaluates the fear (stress) towards the unknown (object). The variables analyzed referring to the *Novel Object*, in our case a ball, were: looks, approaches, approaching looking, sometimes touching and sniffing. In the results obtained, no significant differences were observed between the three experimental treatments. In conclusion, our study didn't determine the anxiolytic effect of metatonin in sheep. Therefore, more studies would be needed to certify the anxiolytic effect of melatonin and the efficacy of the *Novel Object*.

**KEY WORDS:** *Diazepam, Stress, Melatonin, Novel Object, Ovine.*



## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Evolución del ovino

El ovino es una especie fundamental en la ganadería mundial que se explota con el fin de obtener carne, leche, lana, cuero y estiércol (Ganado ovino, 2021).

Hasta mediados del siglo pasado, el ovino era principalmente utilizado para la producción de lana, pero la crisis sufrida por esta fibra obligó a reorientarlos en su totalidad hacia la producción de corderos o leche, pasando la lana a ser un subproducto (Marsal Amenós, Morral y Palet, 2009).

Así mismo, el sistema de producción se basaba en manejo extensivo, fundamentado exclusivamente en el aprovechamiento de pastos naturales, residuos agrícolas, conservación del entorno y fijación de la población rural. En la actualidad, han evolucionado hacia sistemas semi-extensivos e incluso intensivos con alimentación suplementaria en determinadas épocas del año donde hay escasez de pastos y mayores necesidades de los animales (Gaspar et al., 2008). Otras prácticas como la trashumancia y trasterminancia, que fueron pilares de esta ganadería, han ido desapareciendo progresivamente hasta ser actividades residuales (Starrs, 2018).

Según el Análisis de la Evolución del Sector Ovino Español 2006-2012, estos sistemas también han sufrido un gran desarrollo en áreas como:

- a) La reproducción, generando mejores condiciones y aumentando fertilidad, lo que ha permitido la desestacionalización.
- b) Selección de caracteres cárnicos. Existen diferentes razas seleccionadas por rendimiento a la canal, calidad de la canal o ganancia media diaria como Fleischschaf, Ille de France, Berrinchon du Cher y Charmoise. Además, estas razas también se utilizan para realizar cruzamientos industriales.
- c) Selección de caracteres lecheros. Existen razas seleccionadas por producción de leche en litros, cantidad de grasa y proteína, relación grasa/proteína o duración de la lactación. Como por ejemplo, Lacaune y Assaf en cuanto a la producción de leche o Manchega en cuanto a la relación grasa/proteína para la elaboración de quesos (Haenlein, 2007).



Según el Informe sobre la situación actual y perspectivas de futuro del sector ovino en la Unión Europea de 2018 (European-Comission, 2018). Pese a todas estas mejoras, el sector ovino no se ha desarrollado tanto como el resto sistemas ganaderos en cuanto a la expansión del mercado (flujos de comercio internacional), existiendo un déficit de promoción y valorización de la calidad del producto.

## 1.2 Situación actual

En general, el ganado ovino lleva años en crisis agravada por la subida de los piensos, la falta de pastos, además del bajo consumo y la escasa rentabilidad de las explotaciones de madres (Garnier, 2010).

Según FAOSTAT (2021), a nivel mundial, Asia es el principal productor de carne de ovino del mundo (Figura 1).

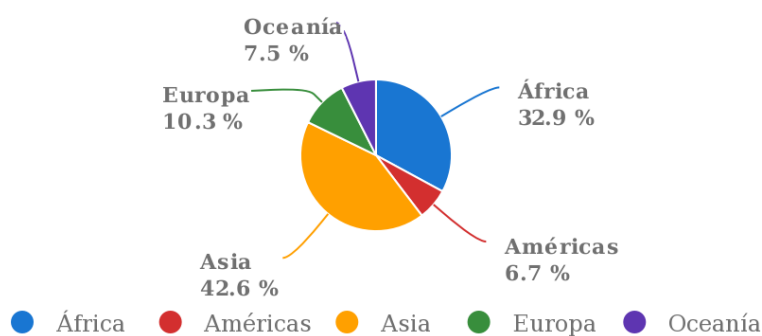


Figura 1. Proporción de producción de ovinos por región del año 2019 (FAOSTAT, 2021)

Destaca China que ha pasado de 111 millones de cabezas en 1994 a 163 millones en 2019; seguido de India (74.260.615 cabezas en 2019) y Australia (65.755.408 cabezas en 2019) (Figura 2).

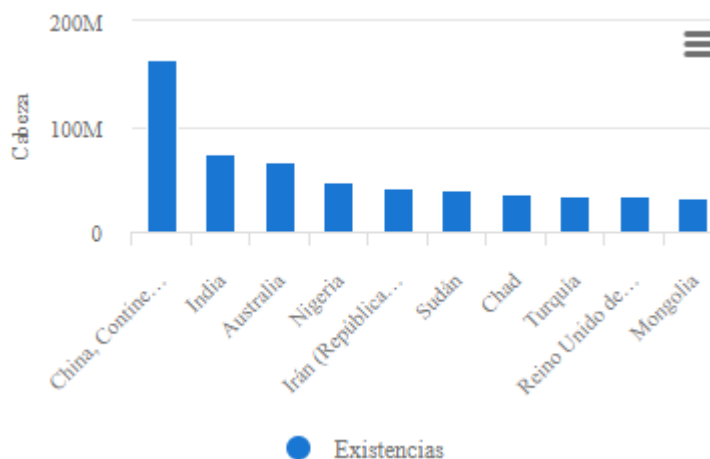


Figura 2. Producción de ovinos: los 10 productores principales en 2019 (FAOSTAT, 2021)



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

El comercio mundial se basa principalmente en las exportaciones de corderos de Nueva Zelanda a la Unión Europea (UE) y de carneros a Oriente Medio (Red meat, 2009).

Nueva Zelanda exporta 367,753.52 kilogramos (kg) de carne de ovino, seguido de Australia con 313,949.15 kg, Reino Unido e Irlanda del Norte con 90,094.74 kg, Irlanda con 49,383.15 kg y España, que ocupa el quinto lugar, con 22,194.07 kg de carne (Figura 3).

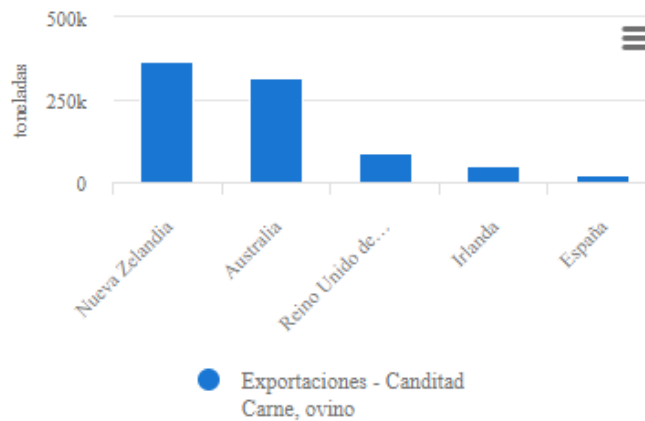


Figura 3. Toneladas de carne de ovino exportadas de los 5 exportadores principales a nivel mundial (promedio 1993-2019) (FAOSTAT, 2021)

Por otro lado, Francia es el principal importador de carne de ovino con 127,668 kg; seguido de Reino Unido con 102,647.33 kg; China con 96,997.78 kg y Arabia Saudita con 47,145 kg (Figura 4).

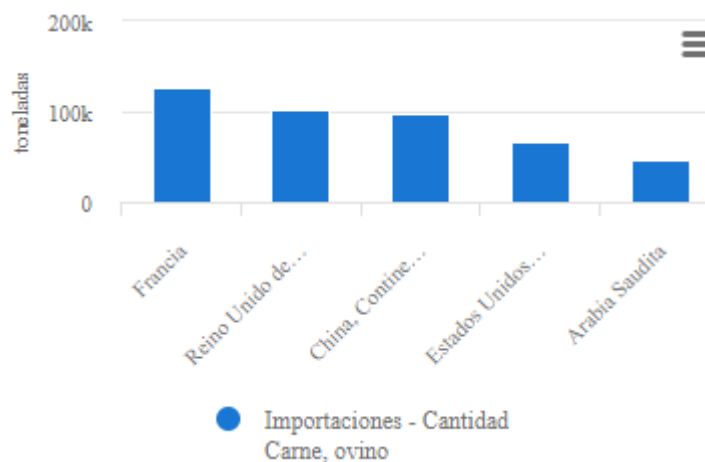


Figura 4. Toneladas de carne de ovino importadas de los 5 importadores principales a nivel mundial (promedio 1993-2019) (FAOSTAT, 2021).



Puesto que Reino Unido, Irlanda y Dinamarca son países significativos en cuanto a producción, exportaciones e importaciones de ovinos, con la entrada de estos a la UE en 1973, aumentó la producción y el consumo, viéndose necesaria una reglamentación común (Figura 5).

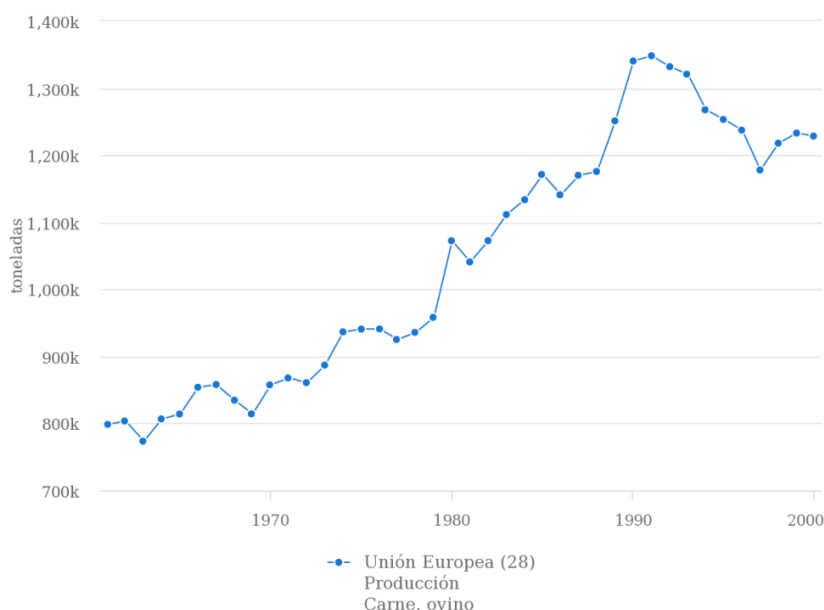


Figura 5. Evolución de la producción de carne de ovino en la Unión Europea (1970-2000) (FAOSTAT, 2021).

La regulación del mercado de ovino y caprino en la UE se realizó con posterioridad a la del resto de carnes, aplicándose por primera vez en la campaña 1980/1981. (SEOC, 2002).

Según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2020), Reino Unido aportaba el 25,6% del censo comunitario de ovino, seguido de España que aportó el 18,26%.

Según el Informe sobre la situación actual y perspectivas de futuro del sector ovino en la Unión de 2018. A pesar del aumento de producciones, este sector presenta una fuerte dependencia de las ayudas de la Política Agrícola Común (PAC) signo de la vulnerabilidad que además debe hacer frente a la constante caída del consumo de carne. Solo representa un 3% de la Producción Final Ganadera (PFG) y recibe un 3,5% del presupuesto agrícola en subvenciones y ayudas.

Dado que el consumo de carne de ovino dentro de la UE ha presentado un descenso del 40% en los últimos 15 años, ha pasado de 3,6 kilogramos per cápita a 2 kilogramos en la actualidad. Esto es debido a que es una carne relativamente cara, presenta un sabor marcado y necesita tiempo de elaboración por lo que es una carne consumida principalmente en periodos de festividad como Semana Santa y Navidad siendo el producto final cordero ternasco o de cebo precoz.



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

En particular, en España, el consumo de carne de ovino en 2019 fue de 1,31 kg per cápita/año (Figura 6).

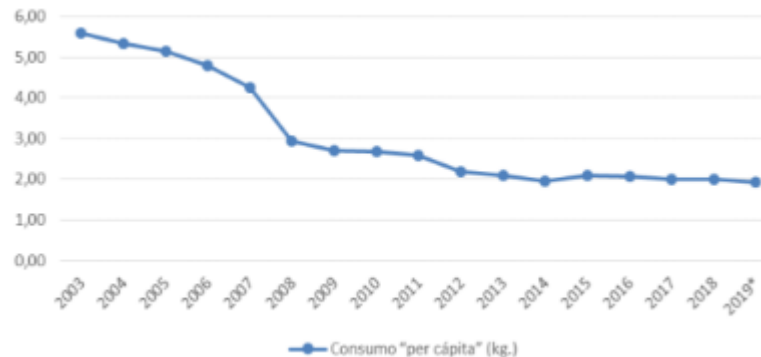


Figura 6. Consumo de carne de ovino “per cápita” (kg.) (MAPA. 2020)

Cabe destacar que la producción de carne está amparada en denominaciones de calidad (como por ejemplo Indicaciones Geográficas Protegidas “IGP”) y en certificaciones ecológicas que dan un valor añadido. Como por ejemplo, la IGP “Ternasco de Aragón” es la de mayor producción, con el 41,1% de la carne IGP, seguida de la IGP “Lechazo de Castilla y León” con el 25,6% y “Cordero de Extremadura” con el 16,7% (MAPA, 2020).

Debido al empleo de razas rústicas adaptadas al medio y la complementariedad de la ganadería ovina con la agricultura extensiva, la producción se centra en Extremadura (24%), Castilla y León (17%), Castilla - La Mancha (15%), Andalucía (14%) y Aragón (11%).

En cuanto al censo de ganado ovino, descendió constantemente hasta llegar a los 15,4 millones de animales en 2014, manteniéndose estable desde entonces. Mientras que el número de explotaciones, en 2019 se contabilizaron 113.779

De estas explotaciones, el 79% (90.281 explotaciones) son clasificadas para producción cárnica y el 9% para reproducción.

Respecto a la PFG, en el 2019, las producciones de ovino-caprino de carne ocuparon el quinto lugar, abarcando un 5,5% (Figura 7).



Figura 7. Valor de la Producción Final Ganadera en el año 2019 (MAPA, 2020)

### 1.3 Bienestar animal

Según las normas internacionales de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), el bienestar animal designa “el estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en las que vive y muere” (MAPA, 2021).

Las directrices que guían a la OIE para cumplir el bienestar de los animales incluyen las «cinco libertades», enunciadas en 1965 por Brambell y universalmente reconocidas, estas son:

- Libre de hambre, de sed y de desnutrición.
- Libre de temor y de angustia.
- Libre de molestias físicas y térmicas.
- Libre de dolor, de lesión y de enfermedad.
- Libre de manifestar un comportamiento natural.

En el caso de la Medicina Veterinaria, la utilización de animales de experimentación implica que se garanticen las 5 libertades mediante Comités de Ética de Experimentación Animal (CEEA). Estos comités deben velar porque se cumpla el Real Decreto 53/2013 (MAPA, 2021).

El Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, establece las normas básicas aplicables para la protección de los animales usados, criados o suministrados para experimentación y docencia y regula:

- a) Reemplazo y reducción, en el caso que sea posible, del uso de animales en los experimentos y el refinamiento de las acciones y condiciones de vida.
- b) El origen, la cría, el uso, alojamiento y eutanasia.
- c) La evaluación y autorización de las investigaciones donde se usen.



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

- d) Asesoramiento sobre adopción o reubicación de los animales.
- e) Asesoramiento al personal sobre los puntos nombrados anteriormente.

En particular asegura que:

- a) Se disminuya al mínimo el número de animales usados.
- b) No haya dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero.
- c) Evitar duplicación inútil de procedimientos.
- d) Atención adecuada.

Para llevar a cabo los proyectos, el CEEA responsable, debe presentar una solicitud de autorización al órgano competente encargado, ubicado en el ámbito territorial (GVA, 2013).

### **1.4 Estrés en animales de ganadería**

Como se ha comentado en el punto anterior, los animales destinados a producción ganadera deben seguir un protocolo de bienestar animal para su manejo.

Para ello, existe normativa en bienestar animal desde el año 1974. Donde se ha regulado el sacrificio, la estancia en la granja y el transporte de los mismos (MAPA, 2021).

A parte de las 5 libertades nombradas anteriormente, en ganadería se requiere: (Chapter 7.1. Introduction to the recommendations for animal welfare, 2019)

- a) La prevención de enfermedades infecciosas y parasitarias.
- b) Cuidados veterinarios y tratamientos necesarios preventivos y curativos.
- c) Instalaciones adecuadas que permitan cobijo especialmente frente a condiciones climáticas adversas, calidad del aire, la temperatura y la humedad.
- d) Manejo y nutrición adecuada.
- e) Sacrificio o matanza humanitaria, así como evitar procedimientos dolorosos.

Si se consigue satisfacer sus requerimientos biológicos y fisiológicos correspondientes a su edad, estado nutricional, etapa productiva y condición fisiológica de salud se aumentará la productividad, disminuyendo la mortalidad y morbilidad y con ello los beneficios económicos.

Si no se cumplen los puntos citados anteriormente, pueden aparecer episodios de estrés.

El estrés es una respuesta del organismo que se desencadena cuando rompe la homeostasis. (Moberg, 2000).



El estrés puede ser un buen indicador de bienestar animal, puesto que si los animales presentan estrés es debido a que no se cumple alguna de las 5 libertades nombradas anteriormente.

Toda modificación en el equilibrio fisiológico es detectada inmediatamente por los órganos de los sentidos, iniciando reacciones nerviosas y hormonales que son emitidas por la glándula hipofisaria, con la pretensión de responder por una parte al estímulo que le dio origen y por otra a restaurar el estado fisiológico inicial (Sejian, Bahadur, Bharti y Srivastava, 2012).

Por ello, se producen una serie de modificaciones funcionales y estructurales debidas al estrés, entre las que cabe destacar, por un lado, la activación del sistema nervioso simpático y médula suprarrenal, que libera catecolaminas que preparan al animal para una respuesta activa, como puede ser la lucha o la huida; y por otro lado, la activación del sistema hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal, liberando glucocorticoides que prolongan las acciones metabólicas iniciadas por las catecolaminas previamente (Pévet, 2003).

En animales de producción, este estrés se puede desencadenar debido a interacciones entre animales, entre el hombre y animal y entre el animal y el entorno.

En el caso de la interacción entre animales, puede ser debido a una separación precoz entre la cría y su madre y/o separación con el resto del rebaño o grupo; restricción del espacio o aumento de la densidad llevándose a cabo agresiones entre ellos; cambios de comportamiento; alteraciones en el peso corporal; disminución de la fertilidad; aumento de la sensibilidad a las enfermedades, etc.

Las interacciones entre el hombre y el animal, dependen de las condiciones de cría en edades tempranas, sistemas de producción, manejo del ganadero, influencias genéticas, etc.

En las interacciones entre el animal y el entorno, pueden ser debidas a la presencia de enfermedades o trastornos patológicos de origen infeccioso o no infeccioso, así como factores climáticos o ambientales adversos. Un ejemplo sería un aumento de la temperatura, que desencadenaría el estrés por calor, que produce una disminución notable de las producciones (Moberg, 2000).



#### 1.4.1 Particularidades del estrés en ovino de carne

El ovino es un animal doméstico con instinto de alta vigilancia, comportamiento de fuga, gregario y sociable, además de poseer una vista aguda y excelente audición. Todas estas características se deben a que en el medio natural son presa fácil y deben huir de los depredadores (Guesdon et al., 2013).

Las condiciones de cría de los ovinos responden a la necesidad de una alimentación y de sistemas de nutrición apropiados a su estado productivo, de libertad de movimientos, de comodidad física, de comportamiento normal (levantarse, acostarse, descansar, dormir, acicalarse, comer, rumiar, beber, defecar y orinar). Además es importante un contacto social adecuado en el rebaño y la necesidad de protección frente a condiciones climáticas y ambientales adversas, ataques de los animales depredadores, heridas, parásitos y enfermedades o trastornos de comportamiento (Recomendación relativa al ganado ovino, 2021).

Los indicadores de bienestar específicos en ovino son (Ponce del Valle et al., 2015):

- En cuanto al aspecto individual; presencia de enfermedades tanto infecciosas, parasitarias y/o metabólicas, cese de la rumia, alteraciones en la respiración, presencia de suciedad, hambre, sed, miedo o dolor. Todo ello, se puede valorar mediante la observación del aspecto general, peso y condición corporal.
- Por otro lado, en el rebaño podemos observar la dinámica y distribución del mismo, la densidad en los parques debido a que una inadecuada o elevada densidad puede llevar a cabo peleas y agresiones por dominancia, alteraciones del comportamiento y estereotipias, inadecuado descanso y alimentación. En cuanto a los valores numéricos también proporcionan suficiente información para valorar el bienestar de los animales. Estos valores pueden ser la tasa de morbilidad y mortalidad, los indicadores productivos y reproductivos, como por ejemplo: el intervalo entre partos, la tasa de fertilidad, abortos, distocias, tamaño de la camada, ganancia media diaria, etc.

Si aparece cualquiera de los indicadores anteriores no se desarrollan las condiciones idóneas produciendo situaciones de estrés. Durante la vida productiva de un ovino de carne se producen momentos estresantes como son (Freitas-de-Melo y Ungerfeld, 2016):

- a) El momento del parto, ya que se producen cambios fisiológicos y hormonales en la madre.



- b) La separación madre-cría ya que supone un cambio de entorno, pasando de estar protegida por la madre a buscar alimento por ella misma.
- c) El manejo rutinario de los ovinos, como son la esquila, identificación de los animales, corte de cola, castración, reagrupamiento, transporte, operaciones de carga y descarga de los animales, administración de tratamientos preventivos o medicamentos.
- d) Las malas prácticas de manejo, instalaciones o condiciones ambientales inadecuadas.

En todos estos casos, la clave para minimizar el estrés y consecuentemente preservar el bienestar es realizar el manejo en el menor tiempo, con el menor contacto posible sin alteraciones y de manera paulatina (Ponce del Valle et al., 2015).

### **1.5 Uso de la melatonina en ganadería**

En diversas especies de ganadería es frecuente la estacionalidad reproductiva, de tal manera que los partos se producen al final del invierno y primavera asegurando la supervivencia de la cría y el mantenimiento de la lactación (Gündoğan, Baki y Yeni, 2003).

En los mamíferos domésticos, la información fotoperiódica es percibida por la retina y transmitida por vía nerviosa a la glándula pineal, donde la principal hormona que se produce es la melatonina, que es la encargada, entre otras hormonas, de regular la reproducción (Tosini y Menaker, 1996).

La glándula pineal es una pequeña glándula endocrina, situada en la porción caudal del tercer ventrículo (Aleandri, Spina y Morini, 1996). Está compuesta por pinealocitos y células gliales. Los pinealocitos producen y secretan serotonina derivada de la melatonina, hormona que contribuye al desarrollo sexual, hibernación, metabolismo y a la cría estacional. Además, regula el ritmo circadiano o ritmo biológico mediante la secreción de melatonina en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo (Reiter, 1991).

En los mamíferos, la melatonina es metabolizada en 6-hidroxi-melatonina por el hígado y los riñones. Este metabolito es excretado en la orina bajo forma sulfatada o ácido glucurónico. La melatonina, también se metaboliza en el cerebro en forma de N-acetil-5-metoxikerunamina (Hirata, Hayaishi, Tokuyama y Senoh, 1974).

Se han recopilado datos que ilustran la participación de la glándula pineal en una variedad de procesos donde participa junto la glándula adrenal, tiroidea y sistema inmune (Sejian, Bahadur, Bharti y Srivastava, 2012).



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

La principal hormona que sintetiza y secreta la glándula pineal durante la noche es la melatonina, también conocida como N-acetil-5-metoxitriptamina, que es una pequeña indolamina lipofílica. Esta hormona se aisló por primera vez de la glándula pineal bovina a finales de la década de 1950 (García-Ispuerto, Abdelfatah, y López-Gatius, 2013). En los ovinos, las concentraciones plasmáticas diurnas son bajas (< 5 picogramos/mililitro), mientras que los niveles nocturnos son elevados y varían desde 50 hasta 1000 pg/ml. Este ritmo nictemeral de la secreción de melatonina es un ritmo endógeno (Rollag y Niswender, 1976).

La melatonina actúa a diferentes niveles del eje hipotálamo-hipofisario. Particularmente, el efecto más importante es la modificación de la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas desde el hipotálamo, lo que conlleva una modificación en la liberación de la hormona luteinizante y de la actividad de las gónadas (Pévet, 2003).

Otros efectos descritos de la melatonina es su función como regulador de funciones suprarrenales, sistema inmunitario, efectos a nivel neuroendocrino, inmunológico y cardiovascular, regula la preñez y el tiempo de parto, así como la función del cuerpo lúteo (Sejian, Bahadur, Bharti y Srivastava, 2012).

Estas relaciones con el sistema suprarrenal e inmune modulan el estrés y la inmunidad no específica para mejorar el bienestar de los animales, por lo que la glándula pineal y la melatonina tienen efectos antiestresógenos o tranquilizantes sobre los mamíferos y aves (Collier, Collier, Rhoads y Baumgard, 2008).

Comúnmente la melatonina se ha usado en ganadería para regular los cambios estacionales en la función reproductora a través de su actividad endocrina reduciendo así el anoestro estacionario debido al aumento de las horas de luz.

Su uso es mediante la inserción de implantes subcutáneos de melatonina para inducir el control artificial de la actividad estral en ovejas, principalmente (Zarazaga et al., 2009).

Tras la aplicación de estos implantes, se observó un aumento de la fertilidad, fecundidad, incrementó de la productividad, mejora de los parámetros reproductivos, elevación del número de corderos nacidos vivos por parto; además de una producción de corderos homogénea a lo largo del año (Abecia et al., 2007).



## 1.6 Test Novel Object

Para valorar el efecto antiestresógeno de la melatonina se debe someter a un animal a una situación de estrés para valorar su comportamiento y ver si se consigue el efecto esperado.

Para ello, se usan diferentes test como por ejemplo:

- En primer lugar, *Test Open Field* (OFT) consiste en aislar al animal en un recinto cerrado (rectangular, circular o cuadrado) y valorar una sucesión de parámetros (movimientos, localización, respuestas del sistema nervioso autónomo como orinar o defecar) durante un intervalo de entre 2 a 10 minutos. Es muy usado en animales pequeños como ratones (Gould, Dao y Kovacsics, 2009).
- En segundo lugar, *Test Novel Object* consiste en introducir un objeto extraño en el recinto donde previamente se ha aislado al animal y valorar unos parámetros comportamentales que indican el interés del animal al objeto y el estrés que ha causado el objeto durante 5 minutos (Forkman et al., 2007).

Estos parámetros pueden ser (Verbeek, Ferguson, Monjour, y Lee, 2012):

- a) Frecuencia y duración de contacto
- b) Duración del acercamiento
- c) Número de zonas cruzadas
- d) Distancia al nuevo objeto
- e) Exploración olfatoria y/o visual
- f) Balidos
- g) Postura corporal
- h) Movimientos
- i) Micciones y defecaciones
- j) Número de saltos o escapes

En este test, se permite observar el desarrollo del miedo a un objeto extraño nuevo (*Novel Object*) y el comportamiento innato exploratorio del animal (Boissy y Bouissou, 1995).

Dado que se ha demostrado que el test *Novel Object* es efectivo a la hora de valorar el estrés en roedores, es posible que su utilización permita valorar, del mismo modo, efectos estresantes en ovino y determinar el efecto ansiolítico de la melatonina.



¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

## 2 OBJETIVOS

La melatonina, a pesar que se conoce sus efectos a nivel reproductivo, apenas hay bibliografía en cuanto a su efecto ansiolítico durante periodos de estrés, como el destete o manejo rutinario.

Por tanto, el principal objetivo de esta investigación fue valorar si la administración de implantes de melatonina tuvo efectos ansiolíticos en el ganado ovino. La valoración de este posible efecto se realizó mediante la metodología de *Novel Object*.



### 3 MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento ha sido aprobado por el Comité de Ética en Experimentación Animal de la Universidad Católica de Valencia "San Vicente Mártir" (UCV), con referencia CEEAUCV2012.

#### 3.1 Animales

El estudio se llevó a cabo durante el mes de julio en la granja de la UCV (REGA: ES46165000003), ubicada en Massanassa dentro del Parque Natural de la Albufera, cuyas coordenadas GPS son Latitud: 39.395430 (39° 23' 43.55" N) y Longitud: -0.364260 (0° 21' 51.34" W).

Se muestreó una población de estudio de 30 individuos de la especie ovina en el mismo estado fisiológico (vacías) confirmado por ecografía (Ecógrafo modelo IMAGO, Humeco, Huesca, España). La condición corporal se encontraba entre 2,5 - 3,5 (Romero, 2015), del tronco entrefino, edad entre 1 a 6 años, alimentadas con la misma dieta y con agua *ad libitum*.

Previo al estudio se verificó el estado general de los animales mediante un examen físico llevado a cabo por veterinarios, descartando aquellos animales que presentaran algún problema sanitario (mal aspecto de la lana, tos, secreciones, inadecuada condición corporal, cojeras, etc.).

La población de estudio se dividió en tres grupos de 10 individuos por grupo, cuya elección fue al azar:

- a) Grupo 0 (G0): fueron aquellos animales a los cuales no se les aplicó ningún tratamiento.
- b) Grupo Melatonina (GM): animales a los que se les puso un implante de melatonina con el fin de comprobar su efecto.
- c) Grupo Control (GC): animales tratados con diazepam, el cual se conoce su efecto ansiolítico.



### 3.2 Diseño experimental

Se realizó un protocolo de sincronización mediante esponjas de progesterona con el fin de evitar variaciones en las concentraciones de estrógenos y progesterona. El tratamiento consistió en la colocación de esponjas impregnadas con progestágenos (Chronogest® 20mg, Intervet, Igoville, Francia) 5 días antes de la primera evaluación, junto con la aplicación de dos dosis de análogos de PGF2 $\alpha$  (Estrumate®, Alcantarilla, Murcia, España), la primera dosis cuando se coloca la esponja y la segunda 2 días antes de la prueba.

Al GM se colocó un implante subcutáneo de melatonina de liberación prolongada (Melovine® 18 mg, Barcelona, España) en la base de la oreja cinco 5 días antes del inicio de la prueba.

Al GC, en el inicio de la prueba, se le inyectó 0.1 mg/kg de diazepam por vía intravenosa. A las ovejas GM y G0 se les aplicó suero fisiológico salino vía intravenosa con el fin de que todos los animales del estudio, independientemente del grupo al que pertenecieran, tuviesen las mismas condiciones de manejo (Figura 8).

Así mismo, en todos los animales se evaluó la frecuencia respiratoria (FR) y la frecuencia cardíaca (FC) mediante fonendoscopio (Littmann classic II). Además, se midió la temperatura, tanto rectal (termómetro digital) como por termografía infrarroja en la oreja, hocico, ojo y vulva (Bosch GTC 400 C, BOSCH, Stuttgart, Germany). También se colocó un pulsómetro (POLAR V800 equine, Polar Electro Oy, Keempele, Finlandia) en el tórax del animal para la medición de la FC durante todo el proceso experimental.

El *Open Field* se construyó con unas dimensiones de 16 m<sup>2</sup> con paredes opacas de dos metros de altura. El suelo se dividió en dieciséis cuadrantes (1 m x 1 m) numerados de forma consecutiva (de los cuales los cuadrados centrales eran 6, 7, 10 y 11; y los cuadrantes periféricos 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 12, 13, 14, 15 y 16) (Forkman et al., 2007). El diseño se puede observar en la Figura 9.



Figura 9. Imagen del recinto donde se realizaron los test *Open Field* y *Novel Object*

El traslado del animal al *Open Field* se realizó de forma individual y por sus propios medios. Allí permaneció durante 10 minutos aislado del resto del rebaño y nos permitió analizar su comportamiento mediante una grabación. A los cinco minutos de empezar la prueba se introdujo un objeto extraño o *Novel Object* (en este caso, una pelota) para observar posibles variaciones en los parámetros analizados referentes al comportamiento general (el número de olfateos, paradas, desplazamientos, intentos de escape, balidos, correr, tumbarse, micción y/o defecación) y específicos con el *Novel Object* (cantidad de olfateos a la pelota, acercamientos, acercamientos a 1 metro, tiempo y número de veces que mira y/o toca la pelota y agresividad hacia ella).

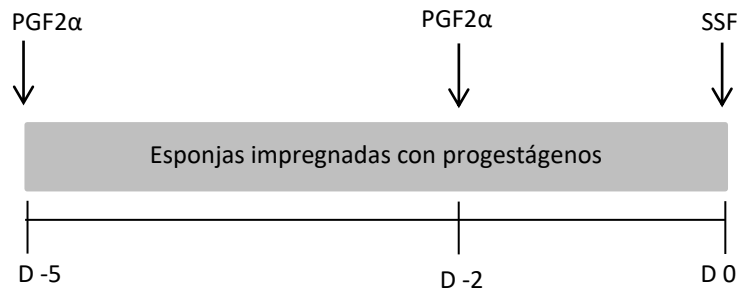
En el caso de los desplazamientos se determinó el número de líneas divisorias cruzadas, cuadrados centrales y periféricos.

Una vez terminado cada periodo de grabación, el animal fue devuelto al corral con el resto del rebaño por la misma manga de manejo. Al finalizar de cada prueba se limpió el suelo con hipoclorito sódico diluido para eliminar el olor del animal testeado anteriormente.

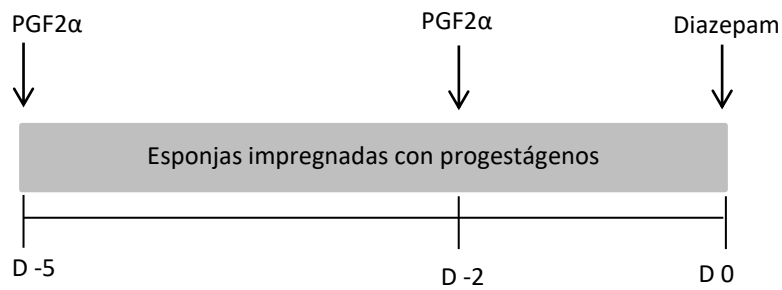


¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

- **Grupo 0**



- **Grupo Control**



- **Grupo Melatonina**

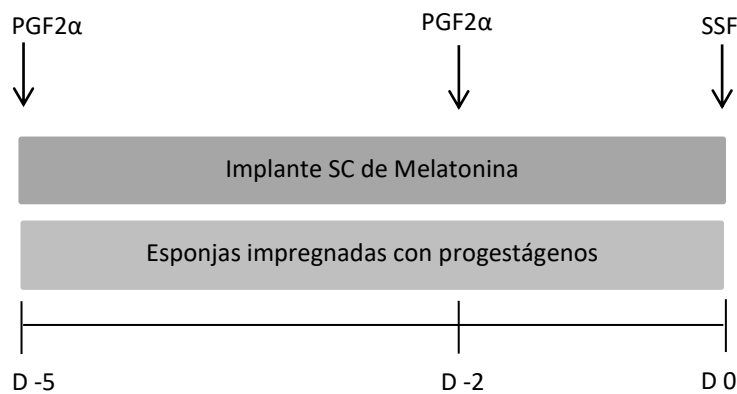


Figura 8. Diagrama esquemático del diseño experimental para evaluar el efecto ansiolítico de la melatonina en ovino de carne. D 0= día del inicio de la prueba; Implante Subcutáneo de Melatonina= Melovine® 18 mg; Diazepam= 0.1 mg/kg por vía intravenosa; SSF= suero fisiológico salino.



### 3.3 Análisis estadístico

Se hizo un estudio de las variables estudiadas para determinar si se distribuían de forma normal o no mediante el test de Shapiro (Shapiro y Wilk, 1972).

Posteriormente, para las variables que se distribuían de forma Normal se realizó un test Anova y para las variables que no se distribuían de forma Normal se efectuó un test Kruskal-Wallis (K-W). En ambos test se valoraba si los datos eran significativos, tomando como referencia un  $p$ -value  $< 0.05$ . Se realizó el análisis mediante el software R-project (R Core Team, 2020).



¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

#### 4 RESULTADOS

Ninguna de las variables estudiadas resultó significativa para el contraste entre grupos experimentales (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Tabla resumen de los resultados observados para las diferentes variables según el método realizado (Kruskal-Wallis (K-W) o Anova) y el *p-value* obtenido.

VARIABLES	Método	<i>p-value</i>
Número (n.º) de balidos	K-W	0.0965
N.º de escapes	K-W	0.88
N.º de defecaciones	K-W	0.763
N.º de olfateos	K-W	0.064
N.º de veces que ha corrido	K-W	0.237
N.º de miradas a la pelota	K-W	0.5536
N.º de acercamientos a la pelota	K-W	0.640
N.º de acercamientos a 1 metro de la pelota mirándola	K-W	0.108
N.º de veces que toca la pelota	K-W	0.698
N.º de veces que olfatea la pelota	K-W	0.3356
N.º de líneas cruzadas	K-W	0.7146
N.º de paradas	Anova	0.478

Pese a no encontrarse diferencias significativas, si se apreció una tendencia de las variables: balidos, olfateos y olfateos a la pelota con menor número para el GD.



## 5 DISCUSIÓN

En general, los animales suelen prestar mayor atención hacia los estímulos amenazantes cuando se encuentran en mayor estado de ansiedad (Lee, Verbeek, Doyle, y Bateson, 2016).

Durante el estudio, los animales tratados con diazepam (GC) deberían haber permanecido más tranquilos o menos atentos ante la presencia de un *Novel Object* que los animales no tratados (G0) o los tratados con melatonina (GM), puesto que se conoce el efecto ansiolítico del diazepam (Destrez et al., 2012). En cuanto a la melatonina, pese que hay estudios que muestran el efecto ansiolítico en mamíferos como roedores o ratas (Guesdon, Bahadur, Bharti y Srivastava, 2013), en nuestro estudio, no se ha demostrado.

Golombek, Martini y Cardinali (1993) indicaron que el efecto ansiolítico de la melatonina es mayor durante la noche. En cambio, nuestro estudio se llevó a cabo por el día durante los meses de máxima luz, por lo que podría haber influido en los resultados.

Con respecto al diazepam, en los estudios realizados por Lee, Verbeek, Doyle, y Bateson (2016) y Monk et al. (2019) se comprobó la eficacia de diferentes tratamientos (meta-clorfenilpiperazina, diazepam y morfina) mediante el comportamiento ante un sesgo de atención. En ese caso, el sesgo de atención fue la fotografía de una oveja en una de las paredes del recinto y en la pared opuesta se colocó una ventana donde detrás había un perro. En sus trabajos, se observó que en las ovejas con diazepam, el tiempo de mirar hacia la amenaza fue más reducido, disminuyendo la vigilancia. Por lo tanto, el grupo diazepam estuvo menos alerta ante el estímulo, viéndose reducida la ansiedad durante el desarrollo de la prueba. Ambos estudios contaron con una muestra superior (60-80 animales, respectivamente) lo que podría explicar las diferencias encontradas.

Sin embargo, también podemos encontrar experimentos con conclusiones similares a las nuestras donde el uso del diazepam como ansiolítico no resultó efectivo en ovejas y bovino de carne (Doyle, Lee, McGill y Mendl, 2015; Lee et al., 2017, respectivamente).

Además, en ovejas, se ha demostrado que la experiencia previa con humanos, podría alterar la percepción del miedo (Viérin y Bouissou, 2002). Puesto que se trata de una granja experimental y educativa, estos animales están en contacto continuo con estudiantes y, por tanto, es posible que hayan desarrollado una asociación con el manejo, lo que puede influir en sus respuestas durante las pruebas.



## ¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina? Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

Así mismo, la falta de respuesta podría ser debido a que los fármacos o las dosis empleadas en el estudio fuesen inapropiadas para modificar los comportamientos o no indujeron los comportamientos esperados. Por otro lado, la eficacia del test *Novel Object* quizás no sería adecuada para medir el estrés en ovino de carne. Para poder contrastar esta hipótesis, sería necesario correlacionar nuestros resultados con un análisis de cortisol (Destrez et al., 2012).

Por lo tanto, se requieren de más estudios para validar el uso de melatonina como tratamiento ansiolítico en animales de ganadería.



## 6 CONCLUSIONES

Al evaluar el comportamiento animal mediante test *Novel Object* no se obtuvieron diferencias significativas para los diferentes tratamientos estudiados.

En todo caso, sería aconsejable realizar más estudios y con una muestra mayor para certificar el efecto ansiolítico de la melatonina y la eficacia del test *Novel Object* en ovejas.



## 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abecia, J. A., Valares, J. A., Forcada, F., Palacin, I., Martin, S. y Martino, A. (2007). The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain. *Small Ruminant Research*, 69(1-3), 10-16.

Aleandri, V., Spina, V. y Morini, A. (1996). The pineal gland and reproduction. *Human reproduction update*, 2(3), 225-235.

*Análisis de la evolución del sector ovino español. Impacto de los regímenes de ayudas y estrategias a impulsar (2006-2012)*. (s.f.). MAPA. Recuperado el 4 de mayo de 2021, de MAPA: [https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/An%C3%A1lisis%20de%20la%20evoluci%C3%B3n%20del%20sector%20ovino%20espa%C3%B1ol\\_tcm30-58889.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/An%C3%A1lisis%20de%20la%20evoluci%C3%B3n%20del%20sector%20ovino%20espa%C3%B1ol_tcm30-58889.pdf)

Boissy, A. y Bouissou, M. F. (1995). Assessment of individual differences in behavioural reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. *Applied animal behaviour science*, 46(1-2), 17-31.

Brambell, Committee. (1965). Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems. Report Nº: 2836.

Chapter 7.1. Introduction to the recommendations for animal welfare (2019). Recuperado el 24 de abril de 2021, de [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahc/current/chapitre\\_aw\\_introduction.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_introduction.pdf)

Collier, R. J., Collier, J. L., Rhoads, R. P. y Baumgard, L. H. (2008). Invited review: genes involved in the bovine heat stress response. *Journal of dairy science*, 91(2), 445-454.

Destrez, A., Deiss, V., Belzung, C., Lee, C. y Boissy, A. (2012). Does reduction of fearfulness tend to reduce pessimistic-like judgment in lambs? *Applied Animal Behaviour Science*, 139(3-4), 233-241.

Doyle, R. E., Lee, C., McGill, D. M. y Mendl, M. (2015). Evaluating pharmacological models of high and low anxiety in sheep. *PeerJ*, 3, e1510.



European-Commission (2018). Informe sobre la situación actual y perspectivas de futuro de los sectores ovino y caprino en la Unión. Recuperado el 24 de Abril de 2021, de [https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0064\\_ES.html](https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2018-0064_ES.html)

FAOSTAT. (9 de Febrero de 2021). Recuperado el 8 de mayo de 2021, de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize>

FAOSTAT. (18 de marzo de 2021). Recuperado el 7 de mayo de 2021, de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA/visualize>

FAOSTAT. (2021). Recuperado el 5 de junio de 2021, de <http://www.fao.org/faostat/es/#compare>

Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M. C., Canali, E. y Jones, R. B. (2007). A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior*, 92(3), 340-374.

Freitas-de-Melo, A. y Ungerfeld, R. (2016). Artificial weaning in sheep: stress response and animal welfare. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 7(3), 361-375.

*Ganado ovino*. (2021). MAPA. Recuperado 10 de mayo de 2021, de <https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/plataforma-de-conocimiento-para-el-medio-rural-y-pesquero/observatorio-de-tecnologias-probadas/sistemas-prodnut-animal/ganado-ovino.aspx>

García-Ispuerto, I., Abdelfatah, A. y López-Gatius, F. (2013). Melatonin treatment at dry-off improves reproductive performance postpartum in high-producing dairy cows under heat stress conditions. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(4), 577-583.

Garnier, J. P. (2010). Análisis del mercado mundial de la carne de ovino. *Eurocarne*, 184, 115-122.

Gaspar, P., Escribano, M., Mesías, F. J., De Ledesma, A. R. y Pulido, F. (2008). Sheep farms in the Spanish rangelands (dehesas): Typologies according to livestock management and economic indicators. *Small Ruminant Research*, 74(1-3), 52-63.

Golombek, D. A., Martini, M. y Cardinali, D. P. (1993). Melatonin as an anxiolytic in rats: time dependence and interaction with the central GABAergic system. *European journal of pharmacology*, 237(2-3), 231-236.



¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

Gould, T. D., Dao, D. T. y Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. *Mood and anxiety related phenotypes in mice*, 1-20.

Guesdon, V., Malpoux, B., Delagrangre, P., Spedding, M., Cornilleau, F., Chesneau, D. y Chaillou, E. (2013). Rapid effects of melatonin on hormonal and behavioral stressful responses in ewes. *Psychoneuroendocrinology*, 38(8), 1426-1434.

Gündoğan, M., Baki, D. y Yeni, D. (2003). Reproductive seasonality in sheep. *Acta Agric Scand (A)*, 53(4), 175-179.

GVA.ES: TEGG - Solicitud de autorización de procedimientos a realizar por centros de animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. (2013).GVA. [https://www.gva.es/es/inicio/procedimientos?id\\_proc=3183&version=red](https://www.gva.es/es/inicio/procedimientos?id_proc=3183&version=red)

Haenlein, G. F. W. (2007). About the evolution of goat and sheep milk production. *Small ruminant research*, 68(1-2), 3-6.

Hirata, F., Hayaishi, O., Tokuyama, T. y Senoh, S. (1974). In vitro and in vivo formation of two new metabolites of melatonin. *Journal of Biological Chemistry*, 249(4), 1311-1313.

Lee, C., Cafe, L. M., Robinson, S. L., Doyle, R. E., Lea, J. M., Small, A. H. y Colditz, I. G. (2017). Anxiety influences attention bias but not flight speed and crush score in beef cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 205, 210-215.

Lee, C., Verbeek, E., Doyle, R. y Bateson, M. (2016). Attention bias to threat indicates anxiety differences in sheep. *Biology Letters*, 12(6), 20150977.

MAPA (2021). *Bienestar Animal*. Recuperado 10 de junio de 2021, de <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/bienestanimal/aspectos-generales/Default.aspx>

MAPA (2021). *Bienestar de los animales usados en investigación*. Recuperado el 10 de mayo de <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/bienestanimal/en-la-investigacion/default.aspx>

MAPA (2020). Caracterización del sector ovino y caprino en España Año 2019. Recuperado el 24 de abril, de [https://www.mapa.gob.es/ca/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizacionovinoycaprinodatos2019\\_tcm34-559655.pdf](https://www.mapa.gob.es/ca/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizacionovinoycaprinodatos2019_tcm34-559655.pdf)



Marsal Amenós, F., Morral Romeu, E. y Palet Alsina, D. (2009). Puesta en valor de lanas y pieles de producción nacional. *Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Dirección General de Recursos Agrícolas y Ganaderos. Subdirección General de productos Ganaderos, Madrid.*

Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1, 21

Monk, J. E., Lee, C., Belson, S., Colditz, I. G. y Campbell, D. L. (2019). The influence of pharmacologically-induced affective states on attention bias in sheep. *PeerJ*, 7, e7033.

Pévet, P. (2003). *Melatonin in animal models*. *Chronobiology and Mood Disorders*, 5(4), 343–352. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22033558/>

Ponce del Valle, M., Vicari, C., Florencia Faravelli, M., Glauber, C. y Winter, N. (2015). Manual de Bienestar animal. Recuperado el 24 de abril de 2021, de [http://www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL\\_SENASA/ANIMAL/BOVINOS\\_BUBALINOS/INDUSTRIA/ESTABL\\_IND/BIENESTAR/manual\\_de\\_bienestar\\_animal\\_especies\\_domesticas\\_-\\_senasa\\_-\\_version\\_1-2015.pdf](http://www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/INDUSTRIA/ESTABL_IND/BIENESTAR/manual_de_bienestar_animal_especies_domesticas_-_senasa_-_version_1-2015.pdf)

Recomendación relativa al ganado ovino. (2021). Recuperado el 24 de abril de 2021, de [https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/Recomendaci%C3%B3n%20ovino\\_tcm30-104668.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/Recomendaci%C3%B3n%20ovino_tcm30-104668.pdf)

*Red meat*. (2009). Recuperado el 7 de mayo de 2021 de <http://www.fao.org/3/al178e/al178e.pdf>

Reiter, R. J. (1991). Neuroendocrine effects of light. *International journal of biometeorology*, 35(3), 169-175.

Rollag, M. D. y Niswender, G. D. (1976). Radioimmunoassay of serum concentrations of melatonin in sheep exposed to different lighting regimens. *Endocrinology*, 98(2), 482-489.

Romero, O. (2015). Evaluación de la condición corporal y edad de los ovinos. *Informativo INIA Carillanca*.

Sejian, V., Bahadur, S., Bharti, V. K. y Srivastava, R. S. (2012). Role of pineal gland in relieving environmental stress. In *Environmental stress and amelioration in livestock production* (pp. 219-241). Springer, Berlin, Heidelberg.



¿Dejará de ser “oveja negra” si administramos melatonina?  
Uso de melatonina como ansiolítico en ovino.

Shapiro, S. S. y Wilk, M. B. (1972). An analysis of variance test for the exponential distribution (complete samples). *Technometrics*, 14(2), 355-370.

Sierra, I., GIL, J. y PÉREZ, P. (2002). Evolución y cambios socioeconómicos del sector ovino-caprino en España durante la última década. *Secretaría General de Agricultura y Alimentación, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Madrid, Spain.*

Starrs, P. F. (2018). Transhumance as antidote for modern sedentary stock raising. *Rangeland Ecology & Management*, 71(5), 592-602.

Team, R. C. (2020). R: A Language and Environment for Statistical Computing R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; (2017).

Tosini, G. y Menaker, M. (1996). Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science*, 272(5260), 419-421.

Verbeek, E., Ferguson, D., de Monjour, P. Q. y Lee, C. (2012). Opioid control of behaviour in sheep: effects of morphine and naloxone on food intake, activity and the affective state. *Applied Animal Behaviour Science*, 142(1-2), 18-29.

Viérin, M. y Bouissou, M. F. (2002). Influence of maternal experience on fear reactions in ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 75(4), 307-315.

Zarazaga, L. A., Gatica, M. C., Celi, I., Guzmán, J. L. y Malpoux, B. (2009). Effect of melatonin implants on sexual activity in Mediterranean goat females without separation from males. *Theriogenology*, 72(7), 910-918.