



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTO DE LA CALIDAD DE LA RELACIÓN HUMANO-ANIMAL
SOBRE LA RESPUESTA DE ESTRÉS CRÓNICO Y PARÁMETROS
PRODUCTIVOS EN CERDOS DE RECRÍA**

CATALINA PAZ ARAYA IBACACHE

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico
Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción animal

PROFESORA GUÍA: Dra. DANIELA LUNA FERNÁNDEZ

PROFESORA Co-GUÍA: Dra. DANIELA SIEL SIEL

FONDECYT N° 11220280

SANTIAGO, CHILE

2023



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTO DE LA CALIDAD DE LA RELACIÓN HUMANO-ANIMAL
SOBRE LA RESPUESTA DE ESTRÉS CRÓNICO Y PARÁMETROS
PRODUCTIVOS EN CERDOS DE RECRÍA**

CATALINA PAZ ARAYA IBACACHE

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico
Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción animal

NOTA FINAL:

Firma

Profesora Guía:	Daniela Luna Fernández
Profesor Corrector:	Sergio Guzmán Pino
Profesor Corrector:	Daniel Cartes Lillo

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mis abuelos, por guiarme a lo largo de la vida, enseñarme valores y convertirme en la persona que soy.

A mis padres y sus parejas, mis hermanos, tíos y primas por amarme incondicionalmente y creer en mí siempre.

A mis amigas y amigos, por estar presentes cada vez que los necesité, aportando su granito de arena en este proceso.

A Diego, por ser mi fiel compañero, por amarme y mantenerse a mi lado en cada momento.

A Rafita, por convertirse en una nueva luz en mi vida.

A Jackcito, por hacer mi mundo bonito cada día.

A mi profesora Daniela y mi equipo, mi camada de tesistas, por ser mis guías, llenarme de sabiduría, cariño y contención.

A nuestras 36 cerditas, que las amé cada día.

A cada persona que ayudó a que este proceso fuera posible.

Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Relación humano-animal	3
Miedo y estrés	4
Respuesta neuroendocrina al estrés crónico: el rol del cortisol.....	5
Cortisol en pelo como método para la medición de estrés crónico: su incorporación a la fibra	6
Respuesta productiva en animales al estrés crónico desencadenada por el miedo hacia el humano.....	6
HIPÓTESIS	8
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Área de estudio	9
Animales, alojamiento y prácticas de manejo	9
Manejos	10
Obtención de muestras para la medición de cortisol.....	14
Extracción y análisis del cortisol	15
Medición de los índices productivos.....	18
Análisis estadístico	18
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIÓN.....	32
REFERENCIAS	33
ANEXOS.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura Nro. 1. Modelo de las interacciones humano-animal. Adaptado de Hemsworth y Barnett (2000).	3
Figura Nro. 2. Disposición de los corrales durante el periodo experimental.....	11
Figura Nro. 3. Diagrama que ilustra el manejo gentil realizado por la operaria encargada del manejo humano positivo de los animales.	12
Figura Nro. 4. Diagrama que ilustra el manejo aversivo realizado por la operaria encargada del manejo humano negativo de los animales.....	13
Figura Nro. 5. Referencia del área depilada para la obtención de muestras de pelo.	15
Figura Nro. 6. Kit ELISA Salimetrics Salivary Cortisol utilizado durante el experimento. .	16
Figura Nro. 7. Infografía de la metodología de extracción y análisis de cortisol presente en pelo.	17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nro. 1. Calendario del diseño experimental.	10
Tabla Nro. 2. Concentraciones de cortisol libre presentes en el pelo de cerdas de recría al finalizar el periodo experimental.	19
Tabla Nro. 3. Parámetros productivos de cerdos de recría sometidos a diferentes tipos de manejo humano..	22

RESUMEN EJECUTIVO

El estrés crónico desencadenado por una relación humano-animal negativa, representa una de las principales amenazas para el bienestar animal en aquellos animales destinados a la producción, dentro de los cuales se pueden mencionar los cerdos. Esto se debe a que la activación crónica del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), producto de situaciones de estrés mantenidas en el tiempo, produce un desequilibrio homeostático que trae consigo diversas consecuencias desfavorables para el animal. Dentro de estas consecuencias, se pueden encontrar cambios en la respuesta fisiológica del animal, los cuales pueden manifestarse a través de un aumento en la síntesis y liberación de glucocorticoides al sistema, como lo es el cortisol. Asimismo, otro de los efectos que puede tener el estrés crónico en los animales es la disminución de su rendimiento productivo. Estudios previos han demostrado que aquellos animales que sufren situaciones estresantes, mantenidas en el tiempo, presentan una tasa de crecimiento reducida. Es por esto, que el objetivo de esta Memoria de Título fue evaluar el efecto de la calidad de la relación humano-animal sobre la respuesta de estrés crónico y parámetros productivos de cerdos de recría. Para su desarrollo, 36 cerdas destetadas fueron sometidas a distintos tipos de manejo humano-animal durante 6 semanas consecutivas (6 semanas y 3 días). El manejo humano negativo (MHN), consistió en que el operario debió someter a los animales a distintos estresores de forma repentina, por otro lado, el manejo humano positivo (MHP) consistió en mantener un trato gentil con los animales, otorgándole contactos táctiles positivos diariamente. Por último, en los corrales pertenecientes al manejo humano mínimo (MHM), el operario solo ingresaba a los corrales para realizar la limpieza de éstos, evitando cualquier contacto físico o visual con los animales. Se realizaron mediciones fisiológicas a partir de las concentraciones de cortisol en pelo al finalizar la aplicación de los tratamientos, y se registraron mediciones productivas a partir del peso, ganancia de peso diaria, consumo diario de alimento y conversión alimentaria de los cerdos. Los resultados obtenidos muestran que aquellos cerdos que experimentaron un MHN por parte del operario, exhibieron mayores concentraciones de cortisol en pelo, en comparación a los grupos que recibieron un MHP y un MHM. Con relación a los parámetros productivos, se observó que las cerdas del grupo MHP consumieron más alimento durante las primeras dos semanas de manejos, sin embargo, durante las últimas dos semanas, éstas presentaron mayores ganancias de peso en comparación a los grupos MHN y MHM. En conclusión, un manejo aversivo de forma prolongada en los animales demostró aumentar las concentraciones de cortisol en pelo, junto con consolidar su utilidad como marcador de estrés crónico y que,

además, este tipo de manejo se relaciona con un deterioro de los índices productivos, cuya tendencia puede prolongarse a medida que éste se extienda en el tiempo.

Palabras clave: estrés crónico, cerdos, bienestar animal, relación humano-animal, cortisol, pelo, productividad.

ABSTRACT

Chronic stress triggered by a negative human-animal relationship represents one of the main threats to animal welfare in farm animals, including pigs. This is because the chronic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis due to prolonged stress situations leads to a homeostatic imbalance that brings various unfavorable consequences for the animal. These consequences include changes in the animal's physiological response, which can be expressed through increased synthesis and release of glucocorticoids into the system, such as cortisol. Likewise, another effect of chronic stress in animals is a decrease in their productive performance. Previous studies have shown that animals subjected to prolonged stressful situations exhibit reduced growth rates. Therefore, this thesis aims to evaluate the effect of the quality of the human-animal relationship on the response to chronic stress and productive parameters of nursery pigs. For the study, 36 weaned pigs were subjected to different human-animal interaction quality for six consecutive weeks (6 weeks and 3 days). Negative Human Handling (NHH) involves sudden exposure of animals to various stressors, while Positive Human Handling (PHH) involves gentle treatment with daily positive tactile contact. Lastly, in the Minimal Human Handling (MHH) group, the handler only entered the pens to clean them, avoiding any physical or visual contact with the animals. Physiological measurements were taken based on cortisol concentrations in the hair at the end of the treatment period, and productive measurements were recorded based on the pigs' weight, daily weight gain, daily food consumption, and feed conversion ratio. The results showed that pigs experiencing NHH exhibited higher cortisol concentrations in hair compared to the groups subjected to PHH and MHH. Regarding productive parameters, the PHH group consumed more food during the first two weeks of handling; however, during the last two weeks, they showed greater weight gains than the NHH and MHH groups. In conclusion, prolonged aversive handling of animals increased cortisol concentrations in hair and reinforced its utility as a marker of chronic stress. Additionally, this type of handling was associated with a decline in productivity indices, a trend that could extend as it persists over time.

Keywords: chronic stress, pigs, animal welfare, human-animal relationship, cortisol, hair, productivity.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas se ha acrecentado el interés por el bienestar animal dentro de los sistemas de producción intensiva, debido a que, además de ofrecer una evidente mejora en la calidad de vida de los animales, proporciona mejores resultados en los índices productivos del plantel (Mellor, 2016). A raíz de lo anterior, Mellor y Reid (1994) postularon el modelo de los cinco dominios del bienestar animal, el cual se presenta como una pauta que permite la evaluación sistemática y completa del bienestar animal, la cual incluye tanto dominios físicos funcionales (nutrición, entorno, salud y comportamiento) como mentales (estado mental). Desde entonces, el modelo ha experimentado constantes modificaciones con el objetivo de actualizar los conocimientos en esta materia. Un cambio reciente, ha sido la modificación del cuarto dominio (comportamiento) ahora llamado interacciones conductuales, el cual, a diferencia de sus versiones anteriores, adiciona específicamente la evaluación de la interacción entre humanos y animales (Mellor *et al.*, 2020).

Se ha documentado que la percepción de los animales frente a la presencia humana está fuertemente ligada a experiencias previas y al entorno social en el que se ven envueltas ambas especies, de manera tal que, tanto el comportamiento de un animal como su productividad y bienestar se encuentran influenciados por las intenciones y actitudes (previamente formadas) del operario (Munoz *et al.*, 2019). Según Waiblinger *et al.* (2006), la naturaleza de la interacción humano-animal (positiva, neutra o negativa) induce un cambio en la respuesta del animal frente al humano, dando resultado a una clasificación perceptiva por parte del animal, la cual se divide en tres categorías: respuesta negativa (reacciones de miedo, evasión y estrés en presencia del humano), respuesta neutral (ausencia de signos de miedo o emociones positivas), o una respuesta positiva hacia el humano (mayor afinidad hacia el humano, facilidad en el manejo y tranquilidad en situaciones aversivas).

Siguiendo esta línea, es posible afirmar que la calidad del manejo humano modula el comportamiento, el bienestar y la productividad de los animales domésticos, entre ellos los cerdos. En este sentido, numerosos estudios han demostrado que interacciones positivas con los cerdos, tales como el empleo de estímulos táctiles positivos, el uso de una voz gentil acompañada de movimientos calmos y tranquilos, inducen respuestas favorables en el comportamiento de los animales frente a los operarios, tal como, un aumento en el número de conductas de afinidad (Gonyou *et al.*, 1986; Mellor *et al.*, 2020). En cuanto a los efectos de un manejo positivo en la respuesta fisiológica de los animales se han encontrado, por

ejemplo, niveles de corticoesteroides inferiores, disminución en la frecuencia cardíaca y una mayor tasa de crecimiento, en comparación con aquellos animales tratados negativamente por el humano (Hemsworth y Coleman, 2011).

En relación con el manejo negativo que pueden experimentar los animales por parte del operario, se ha reportado que manejos aversivos, tales como bofetadas, golpes y empujones pueden ocasionar daños físicos y mentales que comprometen el bienestar del animal (Hemsworth y Barnett, 2000). Como muestra de esto, se ha evidenciado que frente a manejos aversivos aplicados de forma regular en el tiempo (ej. bofetadas), el animal responderá con una respuesta indicativa de estrés, la cual se puede manifestar desde el punto de vista conductual (ej. mayores reacciones de miedo y evasión frente al operario) y fisiológico (ej. aumento en la concentración de corticoesteroides) tanto en presencia como en ausencia del operario (Tallet *et al.*, 2018).

Numerosos investigadores han evaluado cómo los manejos negativos modulan la respuesta fisiológica del estrés, obteniendo resultados similares. En primera instancia, el estrés agudo puede manifestarse rápidamente luego de un evento angustiante, aumentando las concentraciones de corticoesteroides en el plasma, como por ejemplo el cortisol (Hemsworth *et al.*, 1981). Si el factor estresante perdura en el tiempo o el animal pierde la capacidad fisiológica de responder frente a él, se produce una respuesta de estrés a largo plazo que indica un estrés crónico (Hemsworth y Coleman, 2011), el cual puede medirse a través de la fracción libre de cortisol (presente en plasma, pelo, orina y saliva) (Maidana *et al.*, 2013). Diferentes estudios encontraron que animales que han sido expuestos a un manejo negativo regular en el tiempo, presentaron efectos desfavorables en la salud y productividad, tales como, un deterioro en la inmunidad y un aumento en el tamaño de las glándulas suprarrenales (Hemsworth y Coleman, 2011), junto con una menor tasa de crecimiento y un aumento en el número de lechones nacidos muertos (Tallet *et al.*, 2018).

Aunque existen varios estudios enfocados en evaluar el efecto de la calidad del manejo humano sobre la respuesta fisiológica de estrés en cerdos, las investigaciones en base a la medición del estrés crónico a través del pelo son a la fecha inexistentes. Es por ello que el objetivo del presente estudio es determinar el efecto de los distintos tipos de relación humano-animal sobre la respuesta de estrés crónico evaluada a través de la medición de cortisol en pelo (como una matriz potencial) y parámetros de productividad en cerdos durante la etapa de recría.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Relación humano-animal

La relación humano-animal puede ser entendida como un proceso dinámico que resulta de una historia de interacciones entre dos individuos de manera que ambos adquieren cierta familiaridad con el comportamiento del otro; lo cual les permite hacer predicciones sobre la naturaleza de futuras interacciones (Waiblinger *et al.* 2006). Para ello, se requieren instancias que permitan un contacto suficiente, a través de interacciones visuales, táctiles, olfativas y auditivas, para lograr así un reconocimiento individual mutuo.

De acuerdo con la Teoría del Comportamiento Planeado, propuesta por Ajzen (1991), el comportamiento del operario al momento de realizar cualquier tipo de manejo está modulado por la intención de llevar a cabo dicha conducta. Esta, a su vez, está determinada por un conjunto de actitudes basadas en sus experiencias previas con los animales, las que fueron establecidas de acuerdo con sus creencias en el ámbito conductual, normativo y de control (Munoz *et al.*, 2019). Según el tipo de comportamiento del operario con el animal, este último puede percibir una interacción como negativa, neutra o positiva (Waiblinger *et al.*, 2006). Una relación humano-animal de naturaleza negativa puede afectar el bienestar del animal debido a que éste responderá con niveles de miedo y estrés considerables, lo cual trae consigo consecuencias negativas en su bienestar y productividad (**Figura Nro. 1**) (Rault *et al.*, 2020). Por ejemplo, Brajon *et al.* (2015) expone que el uso de elementos de manejo aversivos en cerdos, tales como golpes o leves descargas eléctricas, inducen una respuesta de miedo exacerbada y una consiguiente respuesta de estrés fisiológico que repercute en su conducta, bienestar y productividad.



Figura Nro. 1. Modelo de las interacciones humano-animal. Adaptado de Hemsworth y Barnett (2000).

Miedo y estrés

Existe cierta controversia sobre la definición y medición del miedo en los animales, sin embargo, éste puede ser definido como un estado o emoción indeseable que aparece frente a estímulos específicos y que da lugar a conductas defensivas o de huida por parte del animal (Hemsworth y Barnett, 2000). Además, el miedo activa una respuesta fisiológica, la cual está dada por la activación de la rama simpática del sistema nervioso autónomo y el sistema neuroendocrino con el fin de permitirle al animal enfrentar los desafíos físicos y/o emocionales gatillados por el miedo (Hemsworth y Coleman, 2011).

El miedo hacia el humano es uno de los principales estímulos negativos que desencadenan la respuesta de estrés en los animales. Según Moberg (2000), el estrés puede ser definido como la respuesta biológica que se produce cuando un individuo percibe una amenaza (estresor) a su homeostasis. Además, en el momento en que esta respuesta al estrés se convierte en una amenaza para el bienestar del animal, éste experimentará el fenómeno de diestrés. Numerosos estudios indican que cuando se aplican manejos aversivos de forma regular en el tiempo, tales como, golpes o leves descargas eléctricas, se produce una respuesta de miedo seguida por una respuesta de estrés, la cual conlleva a la activación de distintas respuestas biológicas de defensa por parte del animal (Hemsworth y Coleman, 2011). Frente a estas situaciones estresantes, los cerdos pueden responder tanto conductual (ej. conductas de evasión o huida frente al operario) como fisiológicamente (ej. aumento del ritmo cardíaco, presión arterial y temperatura corporal), y con respuestas a corto y a largo plazo (Spooler y Waiblinger, 2009). La respuesta al estrés a corto plazo (o estrés agudo) puede durar de minutos a horas y consiste principalmente en evitar el estímulo estresor, la cual muchas veces va acompañado de una activación del sistema nervioso simpático y un aumento en la secreción de corticoesteroides. La finalidad de esta respuesta es liberar la energía almacenada dentro del organismo para generar un aumento en el rendimiento metabólico y responder adecuadamente a la situación/amenaza que produce el miedo (Hemsworth y Coleman, 2011). Sin embargo, si esto es insuficiente para afrontar la respuesta de estrés, o el estresor se mantiene en el tiempo, los cerdos emplearán estrategias de afrontamiento a largo plazo (estrés crónico), las cuales pueden repercutir negativamente en su bienestar y rendimiento, debido al alto costo biológico que conlleva la activación crónica del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) (Spooler y Waiblinger, 2009). Existen numerosos autores que sugieren esto último, por ejemplo, Hemsworth y Coleman (2011) describen que cerdos que presentan una respuesta de estrés crónico pueden sufrir

efectos como una disminución en la capacidad reproductiva, un crecimiento reducido y un deterioro inmunológico. Estas afirmaciones coinciden con lo planteado por diversos autores en base a estudios realizados en humanos (Sapolsky, 2002; Romero y Butler, 2007).

Es importante mencionar que la exposición repetida a un manejo negativo durante el tiempo puede dar como resultado un aumento en las concentraciones de cortisol en presencia del ser humano, lo cual indica una clara respuesta de estrés agudo, mientras que, un aumento en las concentraciones de cortisol en ausencia del humano indica una respuesta de estrés crónico (Hemsworth y Coleman, 2011).

Respuesta neuroendocrina al estrés crónico: el rol del cortisol

Existen respuestas fisiológicas claves frente a estímulos o eventos estresantes, tales como la activación del eje simpático-adrenal-medular (SAM) y la activación del eje HHA. La activación del eje HHA se inicia cuando el sistema nervioso central percibe un factor estresante y como respuesta a este estímulo se produce la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) desde el hipotálamo (Merlot *et al.*, 2011). El efecto que produce la acción de la CRH en la adenohipófisis produce la liberación de la hormona adenocorticotrópica (ACTH), la cual es transportada a través de la sangre a la corteza suprarrenal donde finalmente se produce la síntesis y liberación de los glucocorticoides (principalmente cortisol en mamíferos, y corticosterona en roedores, aves y reptiles) (Hemsworth y Coleman, 2011).

En distintas especies se ha estudiado la relación entre el tipo de matriz y la concentración de los niveles de cortisol (como medida de estrés) en el tiempo (Russell *et al.*, 2012; Bacci *et al.*, 2014). Por ejemplo, se han empleado muestras a partir de sangre, saliva, orina y heces para establecer niveles de cortisol en un corto y mediano plazo, mientras que se han utilizado muestras a partir del pelo para medir niveles de cortisol frente a estresores que ejercen un efecto en un mediano y largo plazo (Tallo-Parra *et al.*, 2015).

Cabe destacar que los corticoesteroides circulan en tres fracciones en el organismo, la primera fracción está fuertemente unida a una globulina, la segunda esta débilmente unida a albúmina y la tercera circula como fracción libre (Hemsworth y Coleman, 2011). Las concentraciones de cortisol total son un indicador certero de la actividad biológica del animal durante las respuestas de estrés agudo, sin embargo, es la fracción libre la que refleja la actividad biológica durante las respuestas de estrés crónico (Hemsworth y Barnett, 2000). Sumado a las estimaciones anteriores y con el fin de cuantificar los niveles de cortisol mantenidos en el tiempo (debido al estrés crónico), numerosos estudios se han basado en

la extracción de cortisol desde las fibras de pelo como un método no invasivo para medir el estrés crónico en los animales (Hemsworth *et al.*, 1981; Davenport *et al.*, 2006; Heimbürge *et al.*, 2020). Para realizar estas mediciones, es importante considerar las tasas medias de crecimiento del pelo, la que en el caso de los cerdos es de 0,7 centímetros por mes (Bacci *et al.*, 2014). Este antecedente permite estimar el tiempo necesario entre una toma de muestras y la otra, ya que determina cuanto tarda en crecer una cantidad de pelo suficiente para obtener una muestra representativa.

Cortisol en pelo como método para la medición de estrés crónico: su incorporación a la fibra

A pesar de que los mecanismos precisos por los cuales el cortisol es depositado en el pelo no han sido completamente develados, se acepta que las concentraciones de cortisol en el pelo reflejan un índice de la actividad del eje HHA durante semanas a meses (Meyer y Novak, 2012). Según Burnard *et al.* (2017), existen 3 mecanismos principales que explicarían como el cortisol llega a depositarse en el pelo: (1) el cortisol circulante puede salir del plasma, cruzar el endotelio, entrar en el líquido extracelular que rodea el folículo y adentrarse en las células del bulbo; (2) el cortisol circulante puede salir de los vasos sanguíneos y ser atraído por la superficie de la cutícula (durante la fase de queratinización) para ingresar a la fibra (a un tercio de distancia desde el bulbo hasta la superficie de la piel); (3) el cortisol circulante es captado por células de la glándula sebácea (sebocitos) y secretado al interior de la fibra a través de los lípidos liberados por sebocitos maduros.

De esta manera, conociendo la tasa de crecimiento del pelo y el lugar de incorporación del cortisol, es posible predecir el tiempo que tardan en emerger las concentraciones de cortisol (unidas al pelo) por sobre la superficie de la piel y así extraer una muestra representativa que refleje la actividad crónica del eje HHA.

Respuesta productiva en animales al estrés crónico desencadenada por el miedo hacia el humano

La constante relación entre el miedo y la productividad en la industria cárnica ha estimulado diversas investigaciones, particularmente en cerdos (Hemsworth y Barnett, 2000). De hecho, se ha considerado que la respuesta de miedo es el principal factor asociado con la reducción de la producción comercial en cerdos y esto es debido a que este estado afectivo negativo y constante en el tiempo produce una respuesta de estrés crónico con efectos deletéreos sobre el bienestar animal (Hemsworth y Coleman, 2011).

Existe evidencia sustancial respecto a los efectos negativos que pueden tener las hormonas del estrés en el crecimiento y desempeño productivo de los cerdos. Por ejemplo, además de producir un aumento en el tamaño de las glándulas adrenales, la activación crónica del eje HHA inducida por interacciones humano-animales negativas, produce la supresión de la secreción de la hormona de crecimiento (GH) y al mismo tiempo, los corticoesteroides pueden provocar resistencia de los tejidos diana a los efectos de la GH (Hemsworth y Coleman, 2011). Por otro lado, se ha visto que los corticoesteroides también estimulan indirectamente la lipólisis y glucogenólisis a través del favorecimiento de la síntesis y acción de la adrenalina en los órganos diana (Hemsworth y Barnett, 2000). Adicionalmente, se determinó que la elevación crónica de los corticoesteroides puede desencadenar un balance nitrogenado alterado, por lo que el animal puede presentar una tasa de crecimiento reducida por la disminución en la incorporación de aminoácidos a la proteína (Hemsworth *et al.*, 1981). Al mismo tiempo, se ha reportado que una interacción humano-animal negativa tiene efectos deletéreos sobre los índices reproductivos, reduciendo la tasa de preñez en cerdas primerizas junto con aumentar los intervalos entre nacimiento entre lechones y su tasa de mortalidad durante el parto (Tallet *et al.*, 2018). En el caso de los machos, se ha reportado que los cerdos tratados con un manejo aversivo durante el tiempo presentaron una disminución en el tamaño testicular y una disminución en la coordinación de la conducta de apareamiento (Hemsworth *et al.*, 1986; Spooler y Waiblinger, 2009).

HIPÓTESIS

Cerdos en etapa de recría expuestos a una relación humano-animal negativa en el tiempo, presentarán un aumento en las concentraciones de cortisol libre en pelo y una repercusión negativa en los parámetros productivos, asociados a estrés crónico, en comparación a cerdos tratados positivamente.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la calidad de la relación humano-animal sobre la respuesta de estrés crónico y parámetros productivos de cerdos de recría.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de la calidad del manejo humano-animal sobre las concentraciones de cortisol libre presente en pelo en cerdos de recría.
2. Evaluar el efecto de la calidad del manejo humano-animal sobre los parámetros productivos en cerdos de recría.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la Unidad de Manejo Animal Porcina (UMA) ubicada en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (FAVET). Esta instalación experimental se encuentra ubicada en la comuna de La Pintana, provincia de Santiago, en la Región Metropolitana de Santiago.

Los protocolos experimentales fueron previamente aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile (22552-VET-UCH; **Anexo Nro. 1**).

Animales, alojamiento y prácticas de manejo

Para el experimento se utilizó un total de 36 cerdos de recría (hembras), los cuales, posterior a su destete (a los 21 días de edad) fueron transportados desde una granja porcina comercial (Empresa DINACAR S.A, Melipilla, Región Metropolitana de Santiago) hasta las instalaciones de la UMA en FAVET (Día 1; **Tabla Nro. 1**). El transporte se realizó bajo la normativa de transporte de ganado de la legislación chilena vigente (Decreto N° 30, Ley 20.380). Una vez que los animales llegaron hasta las instalaciones, fueron identificados y alojados aleatoriamente en 12 corrales de recría, en grupos de 3 cerdos por corral. Cada corral tenía un tamaño de 2,4 m² y cada animal poseía una superficie disponible para el movimiento de 0,8 m² dentro del corral. La superficie de concreto de cada corral fue recubierta con tapetes de goma antifatiga. La identificación de los animales fue realizada mediante el uso de crotales de plástico numerados y de diferentes colores. Durante las dos primeras semanas los cerdos estuvieron expuestos a un periodo de aclimatación a las instalaciones, condiciones de manejo y al personal que participó en el estudio.

En relación con las condiciones de alojamiento, la unidad en donde se alojaron los cerdos se encontraba equipada con 2 ventanas para intercambio pasivo de aire, 2 extractores de aire y 1 intractor de aire forzado. Se realizó un manejo lumínico de forma natural y artificial, con un fotoperiodo de 12 horas. En un principio, se mantuvo una temperatura de 27°C y luego ésta se disminuyó progresivamente hasta llegar a los 21°C.

Tabla Nro. 1. Calendario del diseño experimental.

Día del experimento	Edad de los cerdos (días)	Evento	Lugar	Medición
1	21	Destete	Granja comercial	-
1-14	21-34	Aclimatación	UMA-FAVET	-
16-61	36-81	Sesiones de manejo	UMA-FAVET	-
15, 64	35-84	Obtención de muestras de pelo	UMA-FAVET	Cortisol
1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71	21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91	Medición de los índices productivos	UMA-FAVET	Peso, CMD, GMD, CA

UMA: Unidad de Manejo Animal; CMD: Consumo Medio Diario de Alimento; GMD: Ganancia Media Diaria de peso; CA: Conversión Alimentaria.

Cada corral contó con un comedero, un bebedero y una lámpara de calor. Los cerdos tuvieron acceso a alimento y agua *ad libitum* durante todo el experimento. La alimentación fue en base a una dieta comercial estándar para lechones (CHAMPION S.A, Peñaflo, Región Metropolitana de Santiago), de acuerdo con los requerimientos sugeridos por el National Research Council (NRC, 2012). El etiquetado nutricional del alimento (**Anexo Nro. 2**), la tabla composicional completa del alimento (**Anexo Nro. 3**) y la información de los macro y micro ingredientes que contiene (**Anexo Nro. 4**) se presentan en la sección complementaria de Anexos. Esta dieta fue otorgada durante todo el período experimental. Concluido este periodo, los cerdos fueron enviados a una planta faenadora de animales (Faenadora y Frigorífico Cordillera S.A, Región Metropolitana de Santiago).

Manejos

Al finalizar el periodo de aclimatación, cada corral fue asignado aleatoriamente a uno de los siguientes tipos de manejo (4 corrales/tratamiento; 3 cerdos/corral; 12 cerdos/tratamiento), relativos a diferentes tipos de experiencia con el humano (**Figura Nro. 2**). Los manejos fueron aplicados durante aproximadamente 6 semanas consecutivas (6 semanas y 3 días; Días 16-61). Con el fin de obtener resultados que avalen una respuesta marcada en la variación en las respuestas de afinidad y miedo hacia el humano, los protocolos de manejo fueron diseñados en base a investigaciones previas (Hemsworth *et al.*, 1981; Tallet *et al.*, 2014; Brajon *et al.*, 2015).

Para prevenir el posible contagio emocional entre los animales de los distintos grupos de tratamiento, se limitó el contacto visual entre ellos mediante la instalación de paneles y cortinas negras entre los corrales. Además, con el fin de evitar que la realización de los manejos positivos, negativos y mínimos se ejecutaran de forma simultáneamente, se le asignó a cada grupo un horario definido dentro del día, el cual no coincidió sincrónicamente con los demás grupos.

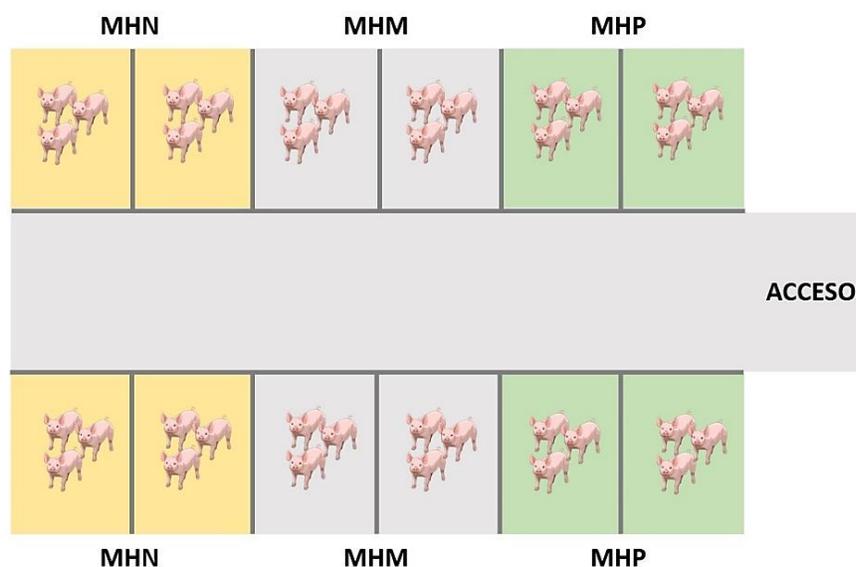


Figura Nro. 2. Disposición de los corrales durante el periodo experimental. MHN= Manejo Humano Negativo; MHM= Manejo Humano Mínimo; MHP= Manejo Humano Positivo.

- a) Manejo humano positivo (MHP, n= 12 cerdos): A partir de la segunda semana post destete, los cerdos de 4 corrales recibieron contactos táctiles positivos a largo plazo (6 semanas y 3 días). De lunes a viernes, cada uno de los 12 cerdos recibió individualmente un contacto suave y gentil durante dos minutos, dos veces al día (AM y PM).

El manejo en cada sesión se estandarizó conforme al protocolo utilizado por Tallet et al. (2014) el cual está descrito a continuación: (1) el operario debía ingresar al corral y permanecer inmóvil durante 30 segundos; (2) Posteriormente, se sentaba en una banqueta plástica y permanecía inmóvil durante 1 minuto; (3) Acabado el minuto, el operario debía extender su mano hacia el cerdo y si este no se movía, el operario intentaba tocarlo; (4) Si el animal aceptaba el contacto, el operario debía otorgar un contacto táctil suave a cada animal, el cual consistía en acariciarlo con la

palma de la mano, desde la cabeza hacia la espalda, con una frecuencia de 1 caricia cada 2 segundos durante 2 minutos; (5) Luego de cada sesión, el operario debía abandonar el corral (**Figura Nro. 3**).

En relación con los protocolos de alimentación, limpieza y control de salud, estos fueron realizados de acuerdo con las prácticas diarias realizadas en los planteles comerciales. En cada uno de los manejos, se realizó la alimentación desde fuera de los corrales vaciando el contenido directamente al comedero. Por otro lado, la limpieza fue realizada desde dentro de los corrales, lo cual dio la posibilidad de interactuar a los cerdos con su respectiva operaria.

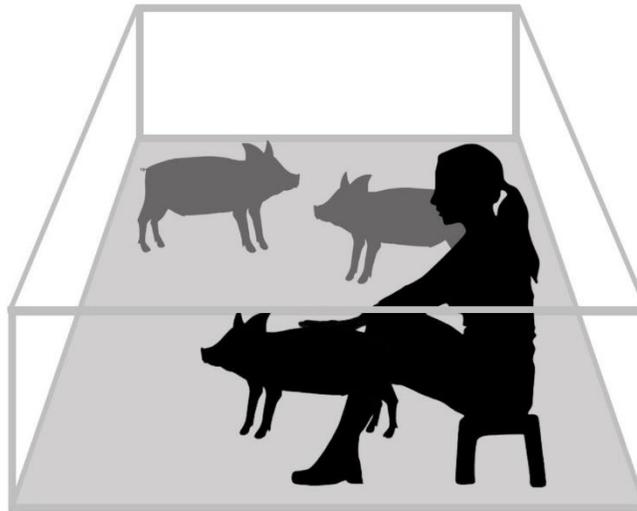


Figura Nro. 3. Diagrama que ilustra el manejo gentil realizado por la operaria encargada del manejo humano positivo de los animales.

- b) Manejo humano negativo (MHN, n= 12 cerdos): Un total de 12 animales fueron sometidos a un estrés crónico de carácter intermitente y a largo plazo (6 semanas y 3 días). Éstos fueron expuestos repetida e impredeciblemente a distintos estresores (de manejo humano) de carácter agudo, los cuales, a pesar de ser considerados reforzamientos negativos, no alcanzaron a ser dolorosos para los animales (Hemsworth *et al.*, 1981; Brajon *et al.*, 2015). Durante cada semana, (lunes a viernes), cada uno de los 12 cerdos recibió un manejo negativo durante dos minutos dos veces al día (AM y PM).

La estandarización del manejo consistió en que el operario debía ingresar al corral de recría y realizar aleatoria y combinadamente los siguientes manejos no placenteros para los animales, de esta manera el operario: (1) perseguía, capturaba y levantaba brevemente a cada cerdo con movimientos repentinos y rápidos (Brajon *et al.*, 2015) (**Figura Nro. 4**); (2) intentaba colocar una soga alrededor del hocico de cada cerdo (Hemsworth *et al.*, 1981); (3) intentaba colocar una bozal alrededor del hocico de cada cerdo; (4) con una pistola de resorte, disparaba una bola de plástico expansible (goma eva) de 6 mm en el tronco de cada cerdo. Luego de esto, si un cerdo ingresaba a un área cercana al operario, éste debía dispararle al cerdo en el tronco y simultáneamente agitar sus brazos en dirección al cerdo (Brajon *et al.*, 2015); (5) con una pistola de agua, disparaba un chorro de agua en el tronco de cada cerdo; (6) ahuyentaba al cerdo con la ayuda de un cascabel; (7) aplicaba un breve shock eléctrico con la ayuda de una picana eléctrica en caso de que el cerdo se acerque al área alrededor de la operaria (realizado únicamente en los últimos días de manejo).

En relación con los protocolos de alimentación, limpieza y control de salud, estos fueron realizados de acuerdo con las prácticas diarias realizadas en los planteles comerciales.

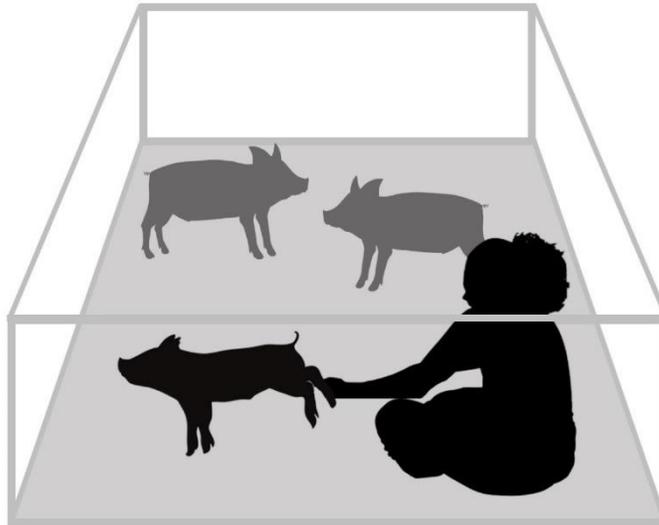


Figura Nro. 4. Diagrama que ilustra el manejo aversivo realizado por la operaria encargada del manejo humano negativo de los animales.

- c) Manejo humano mínimo (MHM, n= 12 cerdos): Los animales pertenecientes al grupo control recibieron un contacto humano mínimo, limitado solo a las prácticas diarias realizadas en planteles comerciales de cerdos (alimentación, limpieza y control de salud) (Luna *et al.*, 2021).

Durante el periodo experimental, el manejo de los animales estuvo a cargo de tres operarias (previamente capacitadas). Una de ellas estuvo a cargo del grupo MHN (la cual vistió un overol naranja), otra estuvo a cargo de los grupos MHP (la cual vistió un overol gris), y la tercera estuvo a cargo del MHM (la cual vistió un overol azul).

Obtención de muestras para la medición de cortisol

Se recolectaron muestras de pelo de todos los animales en dos periodos de tiempo (Día 15 y 64) para evaluar los niveles de cortisol (fracción libre) en respuesta al estrés crónico en ausencia del operario. Este procedimiento estuvo a cargo de tres operarias y fue realizado dentro de la sala de obtención de muestras ubicada en un área aledaña a los corrales. La recolección comenzó por el MHN, seguido por el MHM y finalmente el MHP. La zona de recolección de muestras correspondió a la región dorsolumbar, debido a que diversos estudios han evidenciado que en esta área existen mayores concentraciones de cortisol en comparación a otras zonas, como por ejemplo en la región de los flancos (Casal *et al.*, 2017a; Heimbürge *et al.*, 2020). Para ello, en cada animal se delimitó un área rectangular de 10 x 15 cm en la región dorsolumbar (tomando como referencia la base de la cola), en la cual se recolectaron las muestras de pelo con la utilización de una máquina eléctrica de cortar pelo (**Figura Nro. 5**). La máquina de cortar pelo se desinfectó debidamente con un cepillo y alcohol desnaturalizado al 70° entre cada animal. Por cada animal, se depiló una cantidad de pelo suficiente para recolectar 250 mg de pelo durante el procedimiento posterior. De esta manera, el área de cada animal se depiló el día 15 (para obtener una muestra de cortisol basal; t0) y luego fue nuevamente depilada el día 64 (al finalizar el periodo de tratamiento; t1).

Las muestras recolectadas fueron congeladas a -20°C dentro de bolsas de plástico herméticas, evitando la exposición a la luz hasta ser procesadas.



Figura Nro. 5. Referencia del área depilada para la obtención de muestras de pelo.

Extracción y análisis del cortisol

Para la extracción del cortisol del pelo, se utilizaron los protocolos descritos por Olvera-Maneu et al. (2021) y Roelofs et al. (2019) con algunas modificaciones. De cada muestra, se recolectaron 250 mg de pelo y se coloraron en un tubo Falcon de 15 ml. Cada muestra se lavó 3 veces con 5 ml de isopropanol (COPROLAN®) y se agitó en un vórtex a 3000 rpm durante 2,5 minutos para eliminar las fuentes externas de esteroides. Luego, el sobrenadante se separó por decantación. Para ello, las muestras de pelo se dejaron secar a temperatura ambiente por 5 días consecutivos dentro de una campana de flujo laminar vertical (BIOBASE®). Después del secado, las muestras fueron almacenadas a -80°C hasta su posterior trituración. Para continuar con la extracción, las muestras de pelo fueron cortadas en pequeños tamaños con la ayuda de un bisturí, recolectándose 40 mg de pelo por cada muestra las que posteriormente fueron almacenadas en tubos Eppendorf de 2 ml. A cada tubo se le añadieron 4 esferas de zirconio de 2mm y se introdujeron a un homogenizador (Tissuelyser II, QIAGEN®) por 2 ciclos de 15 min a 30 Hz. Una vez concluido el proceso, a cada muestra se le añadió 1 ml de metanol (COPROLAN®). Las muestras se dejaron incubar a 100 rpm a 36°C por 24 hr para la extracción de corticoesteroides. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 9500 rpm x 5 min y se transfirió 0,6 ml de sobrenadante a un nuevo tubo Eppendorf de 2 ml. Las muestras de dejaron secar por 24 hr dentro de la campana de flujo de aire hasta la evaporación completa. Una vez finalizado el proceso, las muestras se reconstituyeron con 0,250 ml de tampón fosfato salino (Thermo Fisher Scientific®), se agitaron en un vórtex a 1200 rpm x 30 seg y

se almacenaron a -20°C hasta su análisis con el kit ELISA Salimetrics Salivary Cortisol (Salimetrics, State College, Pensilvania, EE. UU) (**Figura Nro. 6**). Las muestras de ELISA fueron leídas con un lector de microplacas (EPOCH, BioTek®) (**Figura Nro. 7**).



Figura Nro. 6. Kit ELISA Salimetrics Salivary Cortisol utilizado durante el experimento.

Para convertir los resultados del ensayo desde microgramos por decilitro ($\mu\text{g}/\text{dL}$) a picogramos por miligramos (pg/mg) se utilizó la fórmula utilizada por Meyer et al. (2014):

$$(A/B) * (C/D) * E * 10,000 = F$$

En donde:

A = resultado en $\mu\text{g}/\text{dl}$

B = peso (en miligramos) de pelo sometido a la extracción

C = volumen (en mililitros) de metanol añadido al cabello triturado

D = volumen (en mililitros) de metanol recuperado del extracto y posteriormente secado

E = volumen (en mililitros) de tampón de ensayo utilizado para reconstituir el extracto seco

F = valor final de la concentración de cortisol en el cabello en picogramos por miligramos (pg/mg)



Figura Nro. 7. Infografía de la metodología de extracción y análisis de cortisol presente en pelo.

Medición de los índices productivos

Los días lunes de cada semana se pesaron los animales individualmente, anotando su peso en kg en conjunto con el registro diario de ingreso de alimento (en gramos) en cada corral dependiendo de los requerimientos de los animales (**Tabla Nro. 1**). Adicionalmente, se registró semanalmente el alimento sobrante para determinar el consumo diario por corral y por cerdo. Lo anterior fue realizado con el objetivo de estimar el consumo medio diario de alimento (CMD). Además, con los parámetros mencionados se calculó el cociente entre la ganancia de peso semanal y los días de la semana para obtener la ganancia media diaria de peso (GMD) y se estimó la cantidad de kg de peso que aumentaba el animal por cada kg de alimento consumido para determinar la conversión alimentaria (CA) de los cerdos durante el periodo productivo.

Análisis estadístico

Cortisol en pelo

Los datos asociados a la concentración de cortisol en el pelo luego de 6 semanas y 3 días de manejos fueron analizados mediante una prueba de ANOVA utilizando un Modelo Lineal General a través del programa SPSS versión 22.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA). Se consideró el tratamiento (MHP, MHM y MHN) como efecto fijo. El cerdo fue considerado la unidad experimental (N=36). Los residuos en el modelo fueron examinados para verificar la normalidad y homocedasticidad de la varianza. Los resultados serán presentados como medias marginales estimadas y error estándar de la media. La significancia de los efectos será probada con la prueba de ajuste *post hoc* de Tukey. Se consideró un nivel de significación de 0,05, y valores entre $0,05 < P < 0,1$ se consideraron como tendencia a la significación.

Datos productivos

Los datos productivos recopilados tales como el peso vivo, la ganancia diaria de peso (GDP), el consumo diario de alimento (CMD) y la conversión alimentaria (CA), fueron analizados como medidas repetidas a través del procedimiento MIXED de SAS (versión 9.0, SAS Institute; Cary, EE. UU.). Se utilizó al cerdo como unidad experimental (N=36) para la medición de los parámetros productivos como peso y GDP, y el corral como unidad experimental (n=12) para la estimación del CMD y CA. Se consideraron como efectos fijos el tratamiento (MHP, MHN, MMH), el periodo (periodo 1: semana 3 a la 5; periodo 2: semana 5 a la 7; periodo 3: semana 7 a la 10; periodo 4: semana 3 a la 10) y su interacción. Los

valores promedios fueron comparados por medio de LSMeans. Diferencias significativas entre medias fueron determinadas a través de una prueba de *t* de Student. Se consideró un nivel de significación de 0,05, y valores entre $0,05 < P < 0,1$ se consideraron como tendencia a la significación.

RESULTADOS

Obj. esp. 1: Evaluar el efecto de la calidad del manejo humano-animal sobre las concentraciones de cortisol libre presente en pelo en cerdos de recría.

Los resultados de las concentraciones de cortisol presentes en el pelo de los cerdos al día 64 del periodo experimental se observan en la **Tabla Nro. 2**. Estos resultados reflejan las concentraciones de cortisol acumuladas durante todo el periodo experimental (Días 16-64).

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{2/33} = 4,698$, $p = 0,016$), observando que los cerdos del grupo MHN presentaron concentraciones más elevadas en comparación al grupo MHP ($p = 0,013$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre el grupo MHM respecto al grupo MHP ($p = 0,481$) y MHN ($p = 0,163$).

Tabla Nro. 2. Concentraciones de cortisol libre presentes en el pelo de cerdas de recría al finalizar el periodo experimental. Los resultados son expresados en términos de medias marginales estimadas y error estándar de la media.

	MHP	MHM	MHN	Valor- <i>p</i>
Concentraciones de cortisol en pelo (pg/mg)	8,646 ± 0,013 ^a	10,938 ± 0,013 ^{ab}	14,147 ± 0,013 ^b	0,013

Valores con letras diferentes difieren significativamente ($a, b = p < 0,05$). MHP= Manejo Humano Positivo; MHM= Manejo Humano Mínimo; MHN=; Manejo Humano Negativo; pg= picogramo; mg= miligramo.

Obj. esp. 2: Evaluar el efecto de la calidad del manejo humano-animal sobre los parámetros productivos en cerdos de recría.

Los resultados del peso vivo, la ganancia diaria de peso, el consumo medio diario de alimento y la conversión alimentaria de los tres grupos experimentales se observan en la **Tabla Nro. 3**. Estos resultados se evaluaron a partir de la división de las semanas del experimento en subperiodos dentro de los cuales se consideró un periodo inicial desde la semana 3 a la 5 de las sesiones de manejo, un periodo intermedio desde la semana 5 a la 7, un periodo final desde la semana 7 a la 10, y un periodo general desde la semana 3 a la

10, el cual abarcó todo el proceso experimental. Desde una perspectiva general, se observó que, para el parámetro del peso vivo no hubo un efecto del tratamiento ($F_{2/33} = 0,87$, $p = 0,42$) pero si hubo un efecto del periodo ($F_{3/33} = 340,42$, $p < 0,001$) y de la interacción entre ambos factores ($F_{6/33} = 3,72$, $p = 0,006$). Con respecto al parámetro del consumo medio diario, se observó que no hubo un efecto del tratamiento ($F_{2/9} = 0,99$, $p = 0,40$) pero si hubo un efecto del periodo ($F_{3/9} = 97,31$, $p < 0,001$) y una tendencia a la significación en la interacción entre ambos factores ($F_{6/9} = 2,67$, $p = 0,08$). En relación con el parámetro de la ganancia diaria de peso, no hubo un efecto del tratamiento ($F_{2/33} = 1,03$, $p = 0,36$) pero si hubo un efecto del periodo ($F_{3/33} = 130,99$, $p < 0,001$) y de la interacción entre ambos factores ($F_{6/33} = 4,29$, $p = 0,002$). Por último, se observó que, para el parámetro de la conversión alimentaria tampoco se encontró un efecto del tratamiento ($F_{2/9} = 1,01$, $p = 0,40$). Sin embargo, si se encontró un efecto del periodo ($F_{3/27} = 11,90$, $p < 0,001$) y de la interacción entre ambos factores ($F_{6/27} = 2,98$, $p = 0,02$).

En el primer periodo registrado, desde la semana 3 a la semana 5 de las sesiones de manejo, se observó una tendencia a la significación entre los tres grupos tratamientos para el consumo diario de alimento ($F_{6/9} = 2,67$, $p = 0,08$). Sin embargo, luego de realizar comparaciones entre pares en el periodo de interés, se observó que los cerdos del grupo MHP presentaron un mayor consumo diario en comparación a los cerdos del grupo MHM [$t = -2,32$, $df = 9$, $p = 0,04$], y una tendencia a la significación respecto a los cerdos del grupo MHN [$t = -2,03$, $df = 9$, $p = 0,07$]. No se encontraron diferencias en el consumo diario para los grupos MHM y MHN [$t = -0,29$, $df = 9$, $p = 0,77$]. Paralelamente, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para la conversión alimentaria ($F_{6/27} = 2,98$, $p = 0,02$). Luego de la comparación entre pares se observó que los animales del grupo MHP presentaron una menor conversión en comparación con el grupo MHM [$t = 3,54$, $df = 27$, $p < 0,001$] y el grupo MHN [$t = 3,72$, $df = 27$, $p < 0,001$], no observándose diferencias entre los grupos MHM y MHN [$t = -0,18$, $df = 27$, $p = 0,85$]. Para el periodo de interés, no se observaron diferencias en relación con el peso inicial ni ganancia diaria de peso luego de la comparación entre pares ($p > 0,05$) (**Anexo Nro. 5**).

En el segundo periodo analizado, desde la semana 5 a la semana 7 de las sesiones de manejo, se observaron diferencias significativas entre los tres grupos tratamientos para el peso inicial ($F_{6/33} = 3,72$, $p = 0,006$), la ganancia diaria de peso ($F_{6/33} = 4,29$, $p = 0,002$) y la conversión alimentaria ($F_{6/27} = 2,98$, $p = 0,02$) y una tendencia a la significación en el consumo medio diario ($F_{6/9} = 2,67$, $p = 0,08$). Sin embargo, luego de la comparación entre

pares, no se observaron diferencias entre tratamientos en ninguno de los parámetros del periodo seleccionado ($p > 0,05$) **(Anexo Nro. 5)**.

En relación con el tercer periodo registrado, desde la semana 7 a la 10, se observaron diferencias significativas entre los tres grupos tratamiento para la ganancia diaria de peso ($F_{6/33} = 4,29$, $p = 0,002$). Se observó que el grupo MHP presentó una mayor ganancia de peso en comparación con los grupos MHN [$t = -2,21$, $df = 33$, $p = 0,03$] y MHM [$t = -2,64$, $df = 33$, $p = 0,01$], no observándose diferencias entre los grupos MHM y MHN [$t = -0,42$, $df = 33$, $p = 0,67$]. Respecto a las otras variables productivas, se encontraron diferencias en el peso vivo ($F_{6/33} = 3,72$, $p = 0,006$), y la conversión alimentaria ($F_{6/27} = 2,98$, $p = 0,02$) y una tendencia a la significación en el consumo medio diario ($F_{6/9} = 2,67$, $p = 0,08$) entre los grupos de tratamiento. Sin embargo, luego de la comparación entre pares, no se observaron diferencias entre tratamientos en ninguno de los parámetros del periodo seleccionado ($p > 0,05$) **(Anexo Nro. 5)**.

En cuanto al periodo general analizado, desde la semana 3 a la 10, se observaron diferencias significativas entre los tres grupos tratamientos para el peso inicial ($F_{6/33} = 3,72$, $p = 0,006$), la ganancia diaria de peso ($F_{6/33} = 4,29$, $p = 0,002$) y la conversión alimentaria ($F_{6/27} = 2,98$, $p = 0,02$) y una tendencia a la significación en el consumo medio diario ($F_{6/9} = 2,67$, $p = 0,08$). Sin embargo, luego de la comparación entre pares, no se observaron diferencias entre tratamientos en ninguno de los parámetros del periodo seleccionado ($p > 0,05$) **(Anexo Nro. 5)**.

Tabla Nro. 3. Parámetros productivos de cerdos de recría sometidos a diferentes tipos de manejo humano. Peso vivo, consumo medio diario de alimento (CMD), ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimentaria (CA), según tratamiento para cada uno de los periodos analizados.

Periodo	MHP	MHM	MHN	EEM	Valor-p
Semana 3-5					
Peso Inicial (g)	9.086	8.872	8.526	271,48	0,15
CMD (g/d)	648,52 ^a	442,90 ^b	468,60 ^b	62,68	0,04
GDP (g/d)	267,23	252,48	259,91	17,97	0,56
CA	0,42 ^a	0,57 ^b	0,58 ^b	0,02	< 0,001
Semana 5-7					
Peso (g)	12.827	12.406	12.165	478,69	0,33
CMD (g/d)	704,12	650,80	665,43	73,80	0,62
GDP (g/d)	303,41	318,79	303,30	21,42	0,61
CA	0,44	0,49	0,46	0,02	0,26
Semana 7-10					
Peso (g)	17.075	16.869	16.411	675,38	0,49
CMD (g/d)	955,85	831,12	855,65	74,82	0,26
GDP (g/d)	552,32 ^a	449,95 ^b	466,43 ^b	27,43	0,01
CA	0,58	0,55	0,56	0,02	0,47
Semana 3-10					
Peso final (g)	28.674	26.318	26.206	1.146	0,13
CMD (g/d)	905,53	795,07	817,65	71,58	0,3
GDP (g/d)	399,74	356,04	360,82	20,47	0,14
CA	0,56	0,54	0,54	0,02	0,67

Valores dentro de una fila con letras diferentes difieren significativamente (a, b: p < 0,05). MHP: Manejo Humano Positivo; MHM: Manejo Humano Mínimo; MHN: Manejo Humano Negativo; EEM: Error Estándar de la media; g: gramos; g/d: gramos por día.

DISCUSIÓN

El efecto del estrés crónico en el bienestar y la productividad de los animales ha sido un tema de gran relevancia en cerdos mantenidos bajo sistemas de producción intensiva. Este tipo de estrés puede ser desencadenado por diversas prácticas de manejo, tales como el empleo de la restricción física de los animales de manera sostenida en el tiempo (por ejemplo, mediante el uso de jaulas parideras), la privación de las necesidades ambientales (por ejemplo, la ausencia de elementos de enriquecimiento ambiental), o la exposición a entornos desfavorables (por ejemplo, una elevada densidad animal), entre otros. Un manejo de naturaleza negativa aplicado de forma regular en el tiempo puede generar respuestas afectivas y fisiológicas perjudiciales en los animales, como puede ser la presentación de frustración y la activación continua del eje HHA, respectivamente. La activación sostenida de este eje repercutirá negativamente en la mantención de la homeostasis del animal, a través de la modulación del sistema neuroendocrino, el cual es el encargado de producir y liberar hormonas importantes durante situaciones de estrés. Una de estas hormonas es el cortisol, el cual es liberado al torrente sanguíneo, pudiendo ser depositado en distintos sitios del organismo. A pesar de que no en todas las matrices es posible medir concentraciones de cortisol bajo condiciones de estrés crónico, es posible evaluarlo a través de un aumento en las concentraciones de cortisol presente en el pelo de los animales.

Otro de los efectos que puede generar el estrés crónico en los animales, es la disminución de la eficiencia productiva, la cual es desencadenada por distintas alteraciones en el metabolismo del animal, tales como el aumento de la lipólisis, la glucogenólisis o un balance nitrogenado alterado (Hemsworth *et al.*, 1981; Hemsworth y Barnett, 2000). Esta disminución en el rendimiento productivo puede ser evaluada a través del consumo diario de alimento de los animales, su ganancia diaria de peso y la conversión alimentaria. A continuación, se examinará como el estrés crónico interactúa con las variables señaladas en este estudio y como éstas se relacionan en función de la metodología y resultados con los hallazgos existentes en estudios anteriores.

Estrés crónico y su medición a través del cortisol en el pelo

El primer objetivo de la presente Memoria de Título fue evaluar el efecto de la calidad del manejo humano-animal sobre las concentraciones de cortisol libre presentes en el pelo de cerdos de recría. Los resultados obtenidos muestran claras diferencias en las concentraciones de cortisol presentes en el pelo entre los animales expuestos a un manejo humano positivo y negativo. En concreto, se observó que aquellos animales que recibieron

un manejo negativo por parte de su operaria mostraron, consecuentemente, mayores concentraciones de cortisol que los animales expuestos a manejos positivos. Estos resultados contrastan con lo reportado por Carreras et al. (2017), quienes no encontraron ningún efecto del manejo humano negativo (inmovilización, restricción, presión de aire y agua hacia los animales y exposición a ruidos fuertes con una bocina de bicicleta) sobre las concentraciones de cortisol en pelo en cerdos de engorda, en comparación a los animales tratados positivamente (caricias) (20,8 pg/mg vs 17,6 pg/mg respectivamente). Estas diferencias con nuestros resultados pueden ser explicadas debido al tiempo de exposición de los animales a los manejos negativos. En el estudio de Carreras et al. (2017), cada animal fue sometido durante 8 semanas a un manejo negativo aplicado diariamente durante 20 (inmovilización, presión de aire y agua, ruidos fuertes) y 40 (restricción) segundos respectivamente; en nuestro estudio, en cambio, cada animal recibió un manejo negativo durante 2 minutos, siendo más extensos que los realizados por Carreras et al. (2017). La duración del estímulo es un factor importante por considerar, puesto que el manejo aplicado por Carreras et al. (2017) pudo no ser lo suficientemente intenso o prolongado para lograr alterar la respuesta neuroendocrina de los animales.

Respecto al estudio del estrés crónico y su relación con las concentraciones de cortisol en pelo, este se ha replicado en cerdos sometidos a diferentes estímulos o manejos estresantes, con resultados significativos. Por ejemplo, en los resultados del presente estudio pueden encontrarse similitudes con los ya obtenidos en el estudio de Prims et al. (2019). En dicho estudio, lechones de 7 días sometidos durante 3 semanas a situaciones estresantes, tales como hacinamiento, privación de enriquecimiento ambiental y la mezcla con lechones desconocidos, presentaron niveles de cortisol en pelo mayores, en comparación a los cerdos del grupo control (densidad adecuada, grupos sociales estables y uso de enriquecimiento ambiental) (87,29 pg/mg vs 75,60 pg/mg respectivamente). Asimismo, los hallazgos obtenidos en el presente estudio son consistentes con los reportados por Casal et al. (2017b), donde cerdos de engorda alojados en corrales grupales sin enriquecimiento ambiental (cada corral contó solo con un bebedero y dos tolvas de alimentación) durante 8 semanas, presentaron concentraciones de cortisol en pelo más elevadas en comparación con cerdos alojados en corrales con enriquecimiento ambiental (aserrín, cuerdas de cáñamo natural y pelotas de goma) (7,58 pg/mg vs 3,72 pg/mg respectivamente).

Respecto al estrés crónico desencadenado por la falta de libertad de movimiento del animal, Morgan et al. (2021) demostró que hubo un efecto significativo del número días en que las cerdas se mantenían restringidas en una jaula de lactancia sobre las concentraciones de cortisol presentes en el pelo de ellas y sus lechones. En concreto, se reportó que por cada día adicional que una cerda era mantenida en una jaula de lactancia, aumentaban los niveles de cortisol en el pelo de éstas (0,5 pg/mg por día) y sus lechones (0,36 pg/mg por cada unidad adicional de cortisol en el pelo de las cerdas). Desde el punto de vista de la privación de movimiento, estos resultados se podrían relacionar con la restricción de movimiento a la cual fueron sometidos los cerdos pertenecientes al grupo MHN del presente estudio, lo cual podría indicar que la restricción física del animal ya sea por manejo humano o ambiental, puede ser desencadenante de una condición de estrés crónico en los animales reflejada en una elevada concentración de cortisol presentes en pelo.

Por su parte, Carlitz et al. (2014) realizó un estudio en base a la información proporcionada por los cuidadores de orangutanes pertenecientes a distintos zoológicos, y demostró que los orangutanes que habían sido sometidos a situaciones estresantes de manera prolongada tales como conflictos intragrupal, traslados y enfermedades graves/crónicas (según información proporcionada por sus cuidadores) presentaron mayores niveles de cortisol en pelo, en comparación a orangutanes que no habían sufrido episodios de estrés (43,6 pg/mg vs 19,3 pg/mg respectivamente).

Respecto a estudios que evalúen el estrés crónico experimentado por los animales producto del manejo o la manipulación humana, Maas (2000) reportó que aquellos osos de granja que eran sometidos a la extracción de bilis experimentaban sufrimiento físico y mental a lo largo de sus vidas debido a los múltiples estímulos dolorosos aplicados en los animales. Cabe destacar que las granjas de bilis han sido utilizadas históricamente por algunas tradiciones de la medicina asiática, sin embargo, el bienestar de los osos se ve comprometido por la exposición constante a traumatismos quirúrgicos a través de cánulas implantadas directamente en la vesícula biliar, por la restricción de movimiento debido a su alojamiento en jaulas pequeñas o por la ausencia de enriquecimiento ambiental (Narayan et al., 2018). Estos estudios arrojan resultados que subrayan las conclusiones obtenidas por Malcolm et al. (2013), el cual demostró que la reubicación de osos provenientes de granjas de bilis a un centro de rescate y rehabilitación fue acompañada por una disminución en los niveles de cortisol en el pelo en comparación con los animales ubicados en las granjas de bilis (10,60 ng/g vs 17,29 ng/g). Los resultados de este autor junto con el

presente estudio proporcionan soporte concluyente de que el estrés inducido por la interacción humano-animal a través de procedimientos dolorosos o estresantes para los animales puede tener efectos cuantificables en el bienestar animal a través de la determinación de las concentraciones de cortisol presentes en el pelo.

Un hallazgo inesperado en este estudio fue que los cerdos pertenecientes al grupo MHM no presentaran valores significativamente diferentes de los grupos MHP y MHN (a pesar de presentar valores numéricamente intermedios entre estos grupos), puesto que fueron animales a los que no se les presentó ningún tipo de estímulo de carácter estresante o placentero. Se prevé que con el desarrollo de un estudio que utilice un tamaño muestral más alto, se intensifiquen y consoliden las diferencias entre los tres grupos sometidos a los distintos tipos de manejo humano.

Es importante destacar que las concentraciones de cortisol presentes en el pelo reflejan una mirada retrospectiva del estrés crónico experimentado por animales y humanos en diferentes etapas de sus vidas, lo cual es debido a la naturaleza de crecimiento del folículo piloso (Heimbürge *et al.*, 2020). De esta manera, al medir concentraciones de cortisol en una matriz como el pelo, se obtendrán resultados indicativos de una acumulación de cortisol en un lapso de semanas a meses. Los resultados de investigaciones recientes en animales de granja, cautiverio y compañía han demostrado que la medición de cortisol en pelo es una matriz útil para medir el efecto de situaciones que inducen estrés crónico tales como el estrés social (**monos**: Qin *et al.*, 2013; Yamanashi *et al.*, 2016; Yamanashi *et al.*, 2018), ambiental (**cerdas**: Bacci *et al.*, 2014; **perros**: Roth *et al.*, 2016), condiciones de vida (**osos**: Maas, 2000) y alojamiento (**cerdos**: Casal *et al.*, 2017a; Casal *et al.*, 2017b; **conejos**: Peric *et al.*, 2017). Por otro lado, existen estudios que no encontraron diferencias en las concentraciones de cortisol en el pelo de animales sometidos a situaciones estresantes, incluido cerdos (Carreras *et al.*, 2017; Wiechers *et al.*, 2021; Baqueiro-Espinosa *et al.*, 2023); esta falta de diferencias significativas resulta un aspecto interesante y relevante para investigar. Por ejemplo, Wiechers *et al.* (2021) no encontró diferencias en las concentraciones de cortisol capilar entre cerdas lactantes alojadas individualmente en jaulas de parto en comparación a las cerdas alojadas individualmente en un sistema sin jaulas (permitiendo el libre desplazamiento de la cerda) (2,13 pg/mg vs 1,85 pg/mg). Sin embargo, los autores establecen que la falta de diferencias en su estudio pudo deberse a que los estímulos pudieron no ser lo suficientemente estresantes para causar un aumento en las concentraciones de cortisol en el pelo y que, además, los resultados pudieron verse

afectados por las bajas concentraciones de cortisol producidas por una baja regulación de eje HHA debido a situaciones de estrés crónico (Cyr y Romero 2009).

La literatura existente acerca de la influencia del manejo humano-animal sobre las concentraciones de cortisol en pelo sigue siendo escasa a la fecha, encontrándose un estudio de Baqueiro-Espinosa et al. (2023), cuyo objetivo fue evaluar si la implementación de enriquecimiento (incluidas las caricias) tenía un efecto en la reducción de los niveles de estrés crónico medidos en las concentraciones de cortisol en el pelo en perras de reproducción en confinamiento (perreras). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de cortisol presentes en el pelo de perras que recibieron distintos tipos de enriquecimiento, en comparación con aquellas que no recibieron ningún tipo de enriquecimiento luego de 4 semanas de tratamientos. Según lo señalado por los autores, uno de los motivos de la falta de diferencias significativas pudo ser que la duración del tiempo de enriquecimiento (tres días a la semana durante cuatro semanas) pudo ser insuficiente para ejercer un efecto en las concentraciones de cortisol en el pelo. A la fecha, no se han realizado estudios que evalúen las diferencias en las concentraciones de cortisol en pelo en el contexto de una relación humano-animal positiva, neutra y aversiva en cerdos de recría, siendo este el primer estudio en adentrarse y explorar los resultados que derivan de los indicadores y manejos mencionados anteriormente.

Estrés crónico y su implicancia en los parámetros productivos

Durante las dos primeras semanas de manejos, se pudo observar que los cerdos que recibieron caricias presentaron un mayor consumo de alimento en comparación a los otros dos grupos, sin embargo, este aumento no se vio reflejado en las otras variables productivas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en un estudio previo de Day et al. (2002), el cual consistió en someter a cerdos de engorda durante 9 semanas (1 vez al día) a distintos tipos de manejo: los cerdos pertenecientes al manejo agradable recibieron caricias cada vez que contactaron al operario, mientras que los cerdos pertenecientes al manejo mínimo mantuvieron el menor contacto posible con el operario, este último no hizo ingreso a los corrales de no ser estrictamente necesario. De forma similar a nuestro estudio, estos autores observaron que dentro de las primeras 5 semanas de manejos, los cerdos pertenecientes al grupo de manejo agradable consumieron mayor cantidad de alimento en comparación a los cerdos del grupo de manejo mínimo, sin embargo, este mayor consumo no se vio reflejado en la ganancia diaria de peso o en la tasa de conversión de alimento. En su estudio, Day et al. (2002) propuso que este mayor consumo de alimento por parte de los

cerdos tratados positivamente podría deberse a que la interacción con el alimento puede haber reflejado alguna búsqueda de estimulación con el humano o que en efecto, este contacto con el humano pudo reducir el impacto del estrés en el apetito de los animales, aminorando la interrupción del consumo de alimento que comúnmente ocurre debido al estrés por el cambio de alojamiento. Otra posible explicación sobre el mayor consumo de alimento en los cerdos tratados positivamente podría explicarse por lo propuesto por Macht (1999), el cual expone que los humanos que experimentan emociones de valencia positiva relacionadas con la alegría vinculan esta emoción con un aumento en el apetito de forma hedónica. En un estudio realizado por Macht et al. (2002), se le pidió a un grupo de hombres que observaran diferentes fragmentos de películas que estimulaban distintas emociones, tales como ira, miedo, tristeza y alegría y se demostró que luego de que los hombres fueran sometidos a un fragmento de película que evocaba alegría, éstos presentaron una mayor tendencia y motivación a comer chocolate, mientras que, un fragmento triste se relacionó con una disminución del apetito. Por su parte, Geliebter y Aversa (2003) al comparar personas con peso normal y obesidad encontraron que las personas obesas comían en exceso durante estados emocionales negativos, mientras que las personas con peso normal lo hacían mayormente frente a estados emocionales positivos. Sin embargo, resulta interesante mencionar que los estudios sobre el aumento del consumo de alimento vinculado a un estado emocional positivo siguen siendo escasos. Al mismo tiempo, este aumento en el consumo de alimento durante las primeras dos semanas de nuestro estudio, pudo no verse reflejado en una ganancia de peso mayor debido a que se ha reportado que los cerdos acariciados desde una edad temprana (desde los 5 hasta los 35 días) por el humano exhiben mayores conductas de juegos y una mayor actividad locomotora en ausencia del humano en comparación a los animales no acariciados (Zupan *et al.*, 2016), lo cual podría asociarse a un mayor gasto calórico por parte de los animales. Al igual que el estudio de Zupan et al. (2016) realizado con lechones, sería interesante evaluar en estudios futuros cómo el manejo gentil influye en la conducta de juego en cerdos en etapa de recría.

Durante las tres últimas semanas de manejo, los cerdos pertenecientes al grupo manejo humano positivo obtuvieron una ganancia de peso significativamente mayor, en comparación a los grupos del manejo humano mínimo y negativo. Estos resultados son concordantes con los reportados por Hemsworth et al. (1981), donde cerdas expuestas a un manejo placentero aplicado durante 11 semanas (desde las 11 a las 22 semanas de edad) presentaron una ganancia diaria de peso mayor, en comparación a las cerdas

expuestas a un manejo negativo, no encontrándose diferencias significativas en el consumo total de alimento o en la conversión alimentaria. Por su parte, Hemsworth y Barnett (1991) encontraron que las cerdas manejadas placenteramente (el experimentador se mantuvo en cuclillas y cada vez que una cerda se le acercaba, este le otorgaba una caricia) presentaron mayores ganancias de peso durante las primeras 5 semanas de tratamiento (desde las 8 a las 12 semanas de edad) en comparación a las cerdas tratadas negativamente, sin embargo, al analizar la ganancia de peso de las cerdas durante todo el periodo experimental, estos investigadores no encontraron diferencias significativas entre los grupos. Al comparar estos estudios con el presente, considerando la edad de las cerdas al momento de los manejos, resulta interesante mencionar que durante el periodo 3 de nuestro experimento (semana 7 a la 10), las cerdas tenían entre 9-12 semanas de edad lo cual coincide parcialmente con los trabajos ya mencionados. Por otro lado, un estudio de Lürzel et al. (2015) realizado con terneros, demostró que aquellos animales que recibieron interacciones gentiles (caricias, hablarles con voz gentil) durante los primeros 14 días de vida, presentaron una ganancia de peso mayor a las 12 semanas de vida en comparación al grupo que no recibió dichas interacciones. Las investigaciones en torno a la ganancia diaria de peso influenciada por el tipo de manejo humano y a una edad específica es interesante puesto que implica entender el cómo la interacción humano-animal puede tener un impacto significativo en el desarrollo de los cerdos en una etapa crucial de sus vidas. El entender que existen etapas más sensibles al entorno y desarrollo social que otras, podría ayudar a proporcionar pautas que impliquen un manejo óptimo en las etapas críticas del crecimiento de los animales y de esta manera, mejorar la eficiencia productiva de los animales manteniendo el foco en el bienestar animal. Estos antecedentes abren interesantes líneas investigativas por lo que podría ser explorado con más detalle en futuros estudios que evalúen esta interacción.

Luego de casi siete semanas (semana 3 a la 10) de manejo positivo, neutro y negativo, los parámetros de peso vivo, consumo medio diario, ganancia diaria de peso y conversión alimentaria de los cerdos del MHP, MHM y MHN fueron numéricamente diferentes, sin embargo, las diferencias no fueron significativas. El hecho de que el manejo positivo no haya arrojado diferencias significativas en este estudio está en concordancia con el estudio de Wang et al. (2020), donde, de forma similar a nuestro estudio, distintos cerdos de recría fueron sometidos a un grupo de manejo gentil (el cual consistió en hablarle a los cerdos y rascarles su cabeza, cuello y espalda durante más de 1 minuto, dos veces al día) o grupo control (el cual consistió en realizar únicamente la rutina de limpieza dentro del corral,

evitando el contacto visual o físico con los animales). Se observó que luego de 6 semanas de manejos, no existieron diferencias significativas en los parámetros productivos estudiados (ganancia diaria de peso, ingesta diaria de alimento e índice de conversión de alimento) entre los grupos pertenecientes al manejo gentil y control (Wang *et al.*, 2020). En su análisis, este autor propuso que una de las razones por la cual no obtuvo diferencias entre los manejos positivos y mínimos fue que, a pesar de que el manejo positivo pudo afectar positivamente el rendimiento productivo, éste lo hace solo en un periodo breve de tiempo y que estos efectos pueden desaparecer a medida que los cerdos se adaptan a la manipulación positiva. Sin embargo, esta tendencia planteada por Wang *et al.* (2020) no se condice con nuestros resultados, ya que, aunque no se observaron diferencias significativas al analizar la totalidad del periodo experimental, durante las últimas dos semanas de tratamiento, el MHP mostró valores significativamente más altos en comparación al MHM y MHN, y se prevé que estos efectos se hubiesen mantenido en el tiempo. Se propone que estudios futuros evalúen las consecuencias productivas de un manejo humano positivo en cerdos durante un periodo más prolongado. De esta manera, se podría analizar si el efecto beneficioso persiste o se atenúa a medida que el animal se familiariza con el manejo positivo.

De igual modo, los resultados de nuestro estudio están en concordancia con los obtenidos por Paterson y Pearce (1992) en donde se observó que el tipo de manejo (placentero, mínimo y aversivo) aplicado a cerdos de engorda de 12 semanas de edad, no ejerció un efecto significativo en los parámetros productivos luego de 8 semanas de tratamiento. Además, los autores describieron que a pesar de que los animales manejados placenteramente tuvieron un tiempo de aproximación al operario menor en comparación al grupo manejado de forma aversiva, éste no se consideró un factor que contribuyese a un aumento en la tasa de crecimiento de los animales. Un resultado interesante, en esta misma línea, fue reportado por Oliveira *et al.* (2015) en su estudio, donde se sometió a lechones de 5-35 días de edad a distintos tipos de manejos: en el primer grupo todos los lechones recibieron caricias (A), en el segundo grupo ningún lechón recibió caricias (NA), en el tercer grupo solo la mitad de los lechones recibieron caricias (50/50A) y en el cuarto grupo la mitad de la camada no recibió caricias, pero si experimentó la presencia diaria de un humano en el corral para realizar un trato suave a sus compañeros (50/50NA). En las mediciones de peso vivo a las 5 y 9 semanas de edad, se observó que los lechones del grupo A no presentaron una tasa de crecimiento mayor en comparación a los grupos NH, 50/50A y 50/50NA. Adicionalmente, estos autores reportaron que en la medición de peso vivo a las

12 semanas de edad (cuando los cerdos se encontraban en fase de engorda), el grupo 50/50NA fue el que presentó pesos vivos más altos en comparación al grupo 50/50A, por lo cual este autor plantea que la sola exposición a un humano (sin manipulación) puede optimizar el desarrollo físico de los animales.

Al evaluar el periodo experimental completo, los resultados productivos obtenidos en esta Memoria de Título pueden resultar contradictorios en relación con la literatura existente, donde se documenta que un MHN prolongado en el tiempo, produce que variables productivas tales como el peso vivo (Gonyou *et al.*, 1986; Hemsworth *et al.*, 1987) y conversión alimentaria (Gonyou *et al.*, 1986) sean significativamente más deficientes en comparación al MHP al analizar el periodo experimental completo. Sin embargo, es de suma importancia considerar diversas explicaciones para estos hallazgos puesto que, se podría atribuir la falta de diferencias significativas al diseño experimental, por ejemplo, tamaño de la muestra, edad de los cerdos, tipos de manejos o la intensidad de éstos. Por ejemplo, un factor interesante a considerar es la maduración del sistema gastrointestinal de los cerdos, cuyo proceso concluye naturalmente entre las 12 y 14 semanas de edad (Moeser *et al.*, 2017). En nuestro experimento los cerdos aún no contaban con una barrera gastrointestinal totalmente desarrollada, por lo que es un factor que puede haber influido en la ganancia diaria de peso y conversión alimentaria de los cerdos. Otro aspecto por considerar es el fenómeno de habituación que puede estar cursando un animal estresado crónicamente, puesto que los animales del grupo MHN pudieron haberse familiarizado con los estresores a tal punto que no los percibieron como un estímulo dañino (Cyr y Romero, 2009). Es por ello que, resultaría interesante determinar si la falta de diferencias significativas en algunos parámetros entre los animales pertenecientes al grupo negativo y control se debe a que los manejos negativos no fueron lo suficientemente estresantes para producir una desmejora de las variables productivas. Por otro lado, se espera que, al aumentar la cantidad de animales en el diseño experimental, las diferencias entre los tres grupos de tratamiento se consoliden de forma más pronunciada, obteniendo diferencias significativas entre ellos.

CONCLUSIÓN

El estrés crónico puede generar un impacto negativo en el bienestar y desempeño de los animales de granja. Estímulos estresantes aplicados de forma regular en el tiempo, como la restricción física de los animales, puede desencadenar la liberación de hormonas del estrés como el cortisol, repercutiendo negativamente en la salud y el crecimiento de los animales.

En primer lugar, se evidenció que el manejo aversivo de los animales produjo un aumento en las concentraciones de cortisol presentes en el pelo, en comparación con los animales tratados gentilmente. Lo anterior, permite aseverar que un manejo aversivo mantenido en el tiempo induce a que los animales experimenten un estrés crónico a lo largo de sus etapas productivas. Asimismo, la medición de cortisol presente en el pelo demostró ser un biomarcador útil para detectar situaciones de estrés crónico en los cerdos. Además, es importante destacar que es una técnica no invasiva la cual puede ser aplicada en animales de producción como indicador de bienestar animal. En segundo lugar, se puede concluir que el tipo de manejo humano—animal (positivo, mínimo o negativo) utilizado en este estudio, generó diferencias significativas entre los grupos, otorgando un mejor rendimiento productivo al grupo manejo humano positivo durante las últimas semanas del experimento. A pesar de que el grupo manejado positivamente no reflejó una mejor conversión alimenticia, pese a su mayor consumo de alimento durante las primeras dos semanas de manejo, fue el grupo que presentó una mayor ganancia de peso durante las últimas dos semanas de manejo.

Estos resultados enmarcan la importancia de adoptar prácticas de manejo respetuosas y gentiles con los animales, lo cual se ve reforzado por la creciente demanda de productos que promueven el bienestar animal. La relación entre el bienestar animal y la relación humano-animal es de vital importancia en los sistemas productivos ya que, cuando un animal se siente seguro en su entorno, experimenta un menor número de episodios estresantes y en consecuencia una mejor calidad de vida. Hoy en día, es necesario el desarrollo de sistemas productivos sostenibles y éticos, que mantengan buenas prácticas y aboguen por el bienestar físico, emocional y comportamental de los animales debido a que, además de la posibilidad de lograr una mejora productiva, garantiza menores niveles de estrés en los animales.

REFERENCIAS

- AJZEN, I.** 1991. The theory of planned behavior. *Organ. Behav. Hum. Decis. Process.* 50(2): 179-211.
- BACCI, M.; NANNONI, E.; GOVONI, N.; SCORRANO, F.; ZANNONI, A.; FORNI, M.; MARTELLI, G.; SARDI, L.** 2014. Hair cortisol determination in sows in two consecutive reproductive cycles. *Reprod. Biol.* 14(3): 218-223.
- BAQUEIRO-ESPINOSA, U.; LO, T.; HUNTER, R.; DONNELLY, P.; MCEVOY, V.; CRUMP, A.; ARNOTT, G.** 2023. Positive human interaction improves welfare in commercial breeding dogs: Evidence from attention bias and human sociability tests. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 262: 105904.
- BRAJON, S.; LAFOREST, J.; BERGERON, R.; TALLET, C.; HÖTZEL, M.; DEVILLERS, N.** 2015. Persistency of the piglet's reactivity to the handler following a previous positive or negative experience. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 162: 9-19.
- BURNARD, C.; RALPH, C.; HYND, P.; EDWARDS, J.; TILBROOK, A.** 2017. Hair cortisol and its potential value as a physiological measure of stress response in human and non-human animals. *Anim. Prod. Sci.* 57(3): 401-414.
- CARLITZ, E.; KIRSCHBAUM, C.; STALDER, T.; VAN SCHAİK, C.** 2014. Hair as a long-term retrospective cortisol calendar in orang-utans (*Pongo spp.*): new perspectives for stress monitoring in captive management and conservation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 195: 151-156.
- CARRERAS, R.; ARROYO, L.; MAINAU, E.; VALENT, D.; BASSOLS, A.; DALMAU, A.; FAUCITANO, L.; MANTECA, X.; VELARDE, A.** 2017. Can the way pigs are handled alter behavioural and physiological measures of affective state?. *Behav. Processes.* 142: 91-98.
- CASAL, N.; MANTECA, X.; PEÑA, R.; BASSOLS, A.; FÀBREGA, E.** 2017a. Analysis of cortisol in hair samples as an indicator of stress in pigs. *J. Vet. Behav.* 19: 1-6.
- CASAL, N.; MANTECA, X.; ESCRIBANO, D.; CERÓN, J.; FÀBREGA, E.** 2017b. Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor- α) in growing pigs. *Animal.* 11(7): 1228-1236.
- CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA.** 2013. Decreto N° 30 Reglamento de Protección del Ganado durante el Transporte. 16 mayo 2013.

CYR, N.; ROMERO, L. 2009. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 161(3): 295-303.

DAY, J.; SPOOLDER, H.; BURFOOT, A.; CHAMBERLAIN, H.; EDWARDS, S. 2002. The separate and interactive effects of handling and environmental enrichment on the behaviour and welfare of growing pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 75(3): 177-192.

DAVENPORT, M.; TIEFENBACHER, S.; LUTZ, C.; NOVAK, M.; MEYER, J. 2006. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *Gen Comp Endocrinol.* 147(3): 255-261.

DE OLIVEIRA, D.; DA COSTA, M.; ZUPAN, M.; REHN, T.; KEELING, L. 2015. Early human handling in non-weaned piglets: Effects on behaviour and body weight. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 164: 56-63.

GELIEBTER, A., AVERSA, A. 2003. Emotional eating in overweight, normal weight, and underweight individuals. *Eat. Behav.* 3(4): 341–347.

GONYOU, H.; HEMSWORTH, P.; BARNETT, J. 1986. Effects of frequent interactions with humans on growing pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16(3): 269-278.

HEIMBÜRGE, S.; KANITZ, E.; TUCHSCHERER, A.; OTTEN, W. 2020. Within a hair's breadth—Factors influencing hair cortisol levels in pigs and cattle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 288: 113359.

HEMSWORTH, P.; BARNETT, J.; HANSEN, C. 1981. The influence of handling by humans on the behavior, growth, and corticosteroids in the juvenile female pig. *Horm. Behav.* 15(4): 396-403.

HEMSWORTH, P.; BARNETT, J.; HANSEN, C. 1986. The influence of handling by humans on the behaviour, reproduction and corticosteroids of male and female pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 15(4): 303-314.

HEMSWORTH, P.; BARNETT, J.; HANSEN, C. 1987. The influence of inconsistent handling by humans on the behaviour, growth and corticosteroids of young pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 17(3-4): 245-252.

HEMSWORTH, P.; BARNETT, J. 1991. The effects of aversively handling pigs, either individually or in groups, on their behaviour, growth and corticosteroids. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 30(1-2): 61-72.

HEMSWORTH, P.; BARNETT, J. 2000. Human–Animal Interactions and Animal Stress. In: G.P. Moberg, G.; Mench, J. (Eds.). The biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare. CABI Pub. Wallingford, UK. pp. 309-335.

HEMSWORTH, P.; COLEMAN, G. 2011. Human-animal interactions and animal productivity and welfare. In: Human-livestock interactions: The stockperson and the productivity and welfare of intensively farmed animals. 2^a ed. CABI. Wallingford, UK. pp. 47-83.

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. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 172: 9-16.

LUNA, D.; GONZÁLEZ, C.; BYRD, C.; PALOMO, R.; HUENUL, E.; FIGUEROA, J. 2021. Do domestic pigs acquire a positive perception of humans through observational social learning?. *Animals.* 11(1): 127.

MAAS, B. 2000. The veterinary, behavioural and welfare implications of bear farming in Asia. World Society for the Protection of Animals. London, United Kingdom. 73 p.

MACHT, M. 1999. Characteristics of eating in anger, fear, sadness and joy. *Appetite.* 33(1): 129-139.

MACHT, M.; ROTH, S.; ELLGRING, H. 2002. Chocolate eating in healthy men during experimentally induced sadness and joy. *Appetite.* 39(2): 147–158.

MAIDANA, P.; BRUNO, O.; MESCH, V. 2013. Medición de cortisol y sus fracciones: Una puesta al día. *Medicina.* 73(6): 579-584.

MALCOLM, K.; MCSHEA, W.; VAN DEELEN, T.; BACON, H.; LIU, F.; PUTMAN, S.; ZHU, X.; BROWN, J. 2013. Analyses of fecal and hair glucocorticoids to evaluate short-and long-term stress and recovery of Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*) removed from bile farms in China. *Gen. Comp. Endocrinol.* 185: 97-106.

MELLOR, D.; REID, C. 1994. Concepts of animal well-being and predicting the impact of procedures on experimental animals. In: Improving the well-being of animals in the research environment. Glen Osmond, Australia. Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching (ANZCCART). pp. 3-18.

- MELLOR, D.** 2016. Updating animal welfare thinking: Moving beyond the “Five Freedoms” towards “a Life Worth Living”. *Animals*. 6(3): 21.
- MELLOR, D.; BEAUSOLEIL, N.; LITTLEWOOD, K.; MCLEAN, A.; MCGREEVY, P.; JONES, B.; WILKINS, C.** 2020. The 2020 Five Domains Model: Including Human–Animal Interactions in Assessments of Animal Welfare. *Animals*. 10(10): 1870.
- MERLOT, E.; MOUNIER, A.; PRUNIER, A.** 2011. Endocrine response of gilts to various common stressors: a comparison of indicators and methods of analysis. *Physiol. Behav.* 102(3-4): 259-265.
- MEYER, J.; NOVAK, M.** 2012. Minireview: hair cortisol: a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity. *Endocrinology*. 153(9): 4120-4127.
- MEYER, J.; NOVAK, M.; HAMEL, A.; ROSENBERG, K.** 2014. Extraction and analysis of cortisol from human and monkey hair. *J. Vis. Exp.* (83): e50882.
- MOBERG, G.** 2000. Biological Response to Stress: Implications for Animal Welfare. **In:** The biology of animal stress: Basic principles and implications for animal welfare. CABI Pub. Wallingford, UK. pp. 1-22.
- MOESER, A.; POHL, C.; RAJPUT, M.** 2017. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs. *Anim. Nutr.* 3(4): 313-321.
- MORGAN, L.; MEYER, J.; NOVAK, S.; YOUNIS, A.; AHMAD, W.; RAZ, T.** 2021. Shortening sow restraint period during lactation improves production and decreases hair cortisol concentrations in sows and their piglets. *Animal*. 15(2):100082.
- MUNOZ, C.; COLEMAN, G.; HEMSWORTH, P.; CAMPBELL, A.; DOYLE R.** 2019. Positive attitudes, positive outcomes: The relationship between farmer attitudes, management behaviour and sheep welfare. *PLoS One*. 14(7): e0220455.
- NARAYAN, E.; WILLIS, A.; THOMPSON, R.; HUNTER-ISHIKAWA, M.; BENDIXSEN, T.** 2018. Evaluating physiological stress in Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*) rescued from bile farms in Vietnam. *Anim Welf.* 27(4): 295-303.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC).** 2012. Nutrient requirements of swine: Eleventh revised edition. 11th ed. The National Academy Press. Washington DC, USA. 420 p.
- OLVERA-MANEU, S.; CARBAJAL, A.; GARDELA, J.; LOPEZ-BEJAR, M.** 2021. Hair Cortisol, testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate and their ratios in stallions as a

retrospective measure of hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes activity: Exploring the influence of seasonality. *Animals*. 11(8): 2202.

PATERSON, A.; PEARCE, G. 1992. Growth, response to humans and corticosteroids in male pigs housed individually and subjected to pleasant, unpleasant or minimal handling during rearing. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 34(4): 315-328.

PERIC, T.; COMIN, A.; CORAZZIN, M.; MONTILLO, M.; CANAVESE, F.; STEBEL, M.; PRANDI, A. 2017. Relocation and hair cortisol concentrations in New Zealand white rabbits. *J. Appl. Anim. Welf. Sc.* 20(1): 1-8.

PRIMS, S.; HOLE, C.; VAN CRUCHTEN, S.; VAN GINNEKEN, C.; VAN OSTADE, X.; CASTELEYN, C. 2019. Hair or salivary cortisol analysis to identify chronic stress in piglets?. *Vet. J.* 252: 105357.

QIN, D. D.; RIZAK, J. D.; FENG, X. L.; CHU, X.; YANG, S.; LI, C.; LV, L.; MA, Y.; HU, X. 2013. Social rank and cortisol among female rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Zool. Res.* 34(E2): 42-49.

RAULT, J.; WAIBLINGER, S.; BOIVIN, X.; HEMSWORTH, P. 2020. The power of a positive human–animal relationship for animal welfare. *Front. Vet. Sci.* 7: 857.

ROELOFS, S.; GODDING, L.; DE HAAN, J.; VAN DER STAAY, F.; NORDQUIST, R. 2019. Effects of parity and litter size on cortisol measures in commercially housed sows and their offspring. *Physiol. Behav.* 201: 83-90.

ROMERO, L.; BUTLER, L. 2007. Endocrinology of Stress. *Int. J. Comp. Psychol.* 20(2): 89-95.

ROTH, L. S.; FARESJÖ, Å.; THEODORSSON, E.; JENSEN, P. 2016. Hair cortisol varies with season and lifestyle and relates to human interactions in German shepherd dogs. *Sci. Rep.* 6(1): 19631.

RUSSELL, E.; KOREN, G.; RIEDER, M.; VAN UUM, S. 2012. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology.* 37(5): 589-601.

SAPOLSKY, R. 2002. Endocrinology of the Stress-Response. **In:** Becker, S.; Breedlove, M.; Crews, D.; McCarty, M. (Eds). *Behavioral Endocrinology*. 2^a ed. Mit Press. London, England. pp. 409-450.

- SPOOLDER, H.; WAIBLINGER, S.** 2009. Pigs and Humans. In: Marchant-Forde, J. (Ed.). *The Welfare of Pigs*. Springer. Dordrecht, Netherlands. pp 211–236.
- TALLET, C.; SY, K.; PRUNIER, A.; NOWAK, R.; BOISSY, A.; BOIVIN, X.** 2014. Behavioural and physiological reactions of piglets to gentle tactile interactions vary according to their previous experience with humans. *Livest. Sci.* 167: 331-341.
- TALLET, C.; BRAJON, S.; DEVILLERS, N.; LENSINK, J.** 2018. Pig–human interactions: Creating a positive perception of humans to ensure pig welfare. In: Špinka, M. (Ed.). *Advances in Pig Welfare*. Woodhead Publishing. Duxford, UK. pp. 381-398.
- TALLO-PARRA, O.; MANTECA, X.; SABES-ALSINA, M.; CARBAJAL, A.; LOPEZ-BEJAR, M.** 2015. Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA: protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites. *Animal*. 9(6): 1059-1064.
- WAIBLINGER, S.; BOIVIN, X.; PEDERSEN, V.; TOSI, M.; JANCZAK, A.; VISSER, K.; JONES, B.** 2006. Assessing the human-animal relationship in farmed species: A critical review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 101(3-4): 185-242.
- WANG, C.; CHEN, Y.; BI, Y.; ZHAO, P.; SUN, H.; LI, J.; LIU, H.; ZHANG, R.; LI, X.; BAO, J.** 2020. Effects of long-term gentle handling on behavioral responses, production performance, and meat quality of pigs. *Animals*. 10(2): 330.
- WIECHERS, D.; BRUNNER, S.; HERBRANDT, S.; KEMPER, N.; FELLS, M.** 2021. Analysis of hair cortisol as an indicator of chronic stress in pigs in two different farrowing systems. *Front. Vet. Sci.* 8: 605078.
- YAMANASHI, Y.; TERAMOTO, M.; MORIMURA, N.; HIRATA, S.; INOUE-MURAYAMA, M.; IDANI, G.** 2016. Effects of relocation and individual and environmental factors on the long-term stress levels in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*): monitoring hair cortisol and behaviors. *PLoS One*, 11(7): e0160029.
- YAMANASHI, Y.; TERAMOTO, M.; MORIMURA, N.; NOGAMI, E.; HIRATA, S.** 2018. Social relationship and hair cortisol level in captive male chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Primates*. 59: 145-152.
- ZUPAN, M.; REHN, T.; DE OLIVEIRA, D.; KEELING, L.** 2016. Promoting positive states: the effect of early human handling on play and exploratory behavior in pigs. *Animal*. 10(1):135-141.

ANEXOS

Anexo Nro. 1. Certificación CICUA para la aprobación del protocolo del Proyecto de Investigación.



Santiago, 27 de abril de 2022
Certificado N°: 22552 – VET – UCH

CERTIFICADO

El Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile, certifica que en el Protocolo **06-2022** del Proyecto de Investigación titulado **"El eje microbiota-intestino-cerebro como una nueva vía biológica modulada por interacciones humano-animal: alteraciones en la microbiota y su influencia en el comportamiento y bienestar de cerdos"**, de la investigadora **Dra. Daniela Luna** y del académico patrocinante, **Dr. Patricio Pérez**, ambos del Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, no se plantean acciones en sus procedimientos que contravengan las normas bioéticas de manejo y cuidado de animales. Así mismo, la metodología experimental planteada satisface lo estipulado en el Programa Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile.

Los investigadores se han comprometido a la ejecución de este proyecto dentro de las especificaciones señaladas en el protocolo revisado y autorizado por el CICUA, a mantener los procedimientos experimentales planteados y a no realizar ninguna modificación sin previa aprobación por parte de este Comité.

Se otorga la presente certificación para el uso de **72 cerdos**, especie *Sus scrofa domestica*, genética *Landrace*, provenientes de la granja comercial de cerdos **DINACAR S.A.**, Región Metropolitana, desde el **1 de agosto del 2022 hasta el 31 de octubre del 2023**, tiempo estimado de ejecución del estudio, el cual será financiado por el proyecto **FONDECYT de Iniciación N° 11220280**.

El CICUA de la Universidad de Chile, forma parte de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, y está constituido por 53 miembros: 5 médicos veterinarios, 39 académicos (12 de ellos médicos veterinarios), y 9 miembros no asociados a la academia o investigación, y que cuentan con experiencia en bioética relacionada a mantención y uso de animales. El certificado que emite el Comité procede de la aprobación del "Protocolo de Manejo y Cuidado de Animales" después de un estudio acucioso y de la acogida de los investigadores de las observaciones exigidas por el Comité.


Claudia Delgado Acevedo
Directora Ejecutiva
CICUA – VID
Universidad de Chile




Dr. Emilio Herrera Videla
Presidente
CICUA - VID
Universidad de Chile

Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA)
Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) – Universidad de Chile
<http://www.uchile.cl/portal/investigacion/152120/comite-institucional-de-cuidado-y-uso-de-animales-cicua>
email: coordinador.cicua@uchile.cl

Anexo Nro. 2. Etiquetado nutricional del alimento suministrado a los cerdos durante la fase experimental.

Ingredientes	Análisis Garantizado	BMS
Maíz, Harina de soya, Harina de trigo, Melaza, Conchuela, Cloruro de sodio, Fitasa, Aglomerante, Antioxidantes	Proteína % Min.	21,0 %
Vitaminas y minerales Vit. A, Vit. D3, Vit. K, Vit. B2, Ácido pantoténico, Niacina, Cloruro de colina, Vit. B12, Selenito de sodio, Sulfato de cobre, Óxido de zinc, Sulfato de manganeso, Yodato de potasio, Sulfato ferroso, Carbonato de calcio	Extracto Etéreo % Min.	4,60 %
	Fibra Cruda % Máx.	4,65 %
	Humedad % Máx.	13,0 %

Anexo Nro. 3. Tabla composicional del alimento suministrado a los cerdos durante la fase experimental.

Descripción	Unidad	Uso
Ácido Linoleico	%	1,7739
Grasa Cruda Total	%	4,0797
Extractos No Nitrogenados	%	55,7321
Almidón	%	39,8643
Azúcares	%	4,1036
Energía Metabolizable	Kcal/k	3254,1556
Energía Metabolizable	Kcal/k	3361,9356
Energía Neta Porcino	Kcal/k	2256,5720
Energía Neta Cerdas	Kcal/k	1955,9695
Fibra Cruda	%	4,3072
Humedad	%	12,2851
Minerales Totales	%	6,4207
Calcio	%	1,5035
Fósforo Total	%	1,4802
Fósforo Disponible	%	0,1734
Magnesio	%	0,2067
Sodio	%	0,8468
Cloro	%	0,9708
Potasio	%	0,9062
Hierro	mg/kg	143,9062
Cobalto	mg/kg	0,1150
Cobre	mg/kg	11,0909
Manganeso	mg/kg	38,4197
Selenio	mg/kg	0,2352
Yodo	mg/kg	2,3063
Zinc	mg/kg	90,4747
Balance electrolítico	mEq/kg	230,3209
Proteína Cruda	%	18,2202
Proteína Digestible	%	14,2196
Lisina	%	0,8549
Treonina	%	0,6732
Metionina	%	0,2924
Metionina + Cistina	%	0,5930
Triptófano	%	0,9214
Isoleucina	%	0,7477
Valina	%	0,8627
Leucina	%	1,6062

Fenilalanina	%	0,5243
Fenilalanina + Tirosina	%	0,9460
Histidina	%	0,5155
Arginina	%	1,1907
Lisina Dig. Cerdos	%	0,7942
Treonina Dig. Cerdos	%	0,6594
Metionina Dig. Cerdos	%	0,2535
Metionina + Cistina Dig. Cerdos	%	0,5646
Triptófano Dig. Cerdos	%	0,2140
Isoleucina Dig. Cerdos	%	0,7164
Valina Dig. Cerdos	%	0,8086
Leucina Dig. Cerdos	%	1,5036
Fenilalanina Dig. Cerdos	%	0,7019
Fenilalanina + Tirosina Dig. Cerdos	%	1,2258
Histidina Dig. Cerdos	%	0,3992
Arginina Dig. Cerdos	%	0,9846
Biotina	mg/kg	0,1496
Colina	mg/kg	1551,1515
Ácido Fólico	mg/kg	0,5612
Niacina	mg/kg	62,0748
Ac. Pantoténico	mg/kg	20,1256
Riboflavina	mg/kg	4,8723
Tiamina	mg/kg	4,3866
Vit. B6	mg/kg	5,9282
Vit. B12	mg/kg	0,0060
Vit. E	UI/kg	20,0464
Vit. A	UI/kg	4004,2874
Vit. D	UI/kg	400,0000
Vit. K	mg/kg	0,8371
Vit. C	mg/kg	
MIX	%	100,0000
Treonina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		0,8303
Metionina + Cistina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		0,7109
Triptófano Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		0,2694
Isoleucina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		0,9021
Valina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		1,0182
Leucina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		1,8932
Fenilalanina + Tirosina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		1,5434
Histidina Dig. Cerdos / Lisina Dig. Cerdos		0,5026

%; porcentaje; Kcal/k: kilocalorías por kelvin; mg/kg: miligramos por kilogramo; mEq/kg: miliequivalentes por kilogramo; UI/kg: Unidades Internacionales por kilogramo.

Anexo Nro. 4. Tabla del tipo y proporción de los macro y micro ingredientes incluidos en la dieta comercial suministrada a los cerdos durante la fase experimental.

	Cantidad (%)	Cantidad (kg)	Acumulado (kg)
Macro ingredientes			
Grano de Maíz	55,4	554	554
Afrecho Soya	19,8	198	752
Afrechillo de Trigo	18,4	184	936
Melaza	2,0	20	956
Micro ingredientes			
Conchuela fina	1,9	19	975
Sal	1,5	15	990
Axtra Phy Premix Cerdos	0,5	5	995
Aglomerante Melbond	0,3	3	998
Núcleo PLIN 110	0,2	2	1000
Totales		1000	

%. porcentaje; Kg: kilogramo.

Anexo Nro. 5. Outputs del peso vivo, consumo diario de alimento, ganancia de peso y conversión alimentaria analizados a través de comparaciones entre pares de los grupos. Extraído de SAS.

Peso vivo

Differences of Least Squares Means									
Effect	Treatment	Day	Standard		Estimate	Error	DF	t Value	Pr > t
			_Treatment	_Day					
Treatment	MHM		MHN		289.48	856.65	33	0.34	0.7376
Treatment	MHM		MHP		-799.37	856.65	33	-0.93	0.3575
Treatment	MHN		MHP		-1088.85	856.65	33	-1.27	0.2126
Day	1		2		-3638.19	145.28	33	-25.04	<.0001
Day	1		3		-7957.08	285.47	33	-27.87	<.0001
Day	1		4		-18238	579.23	33	-31.49	<.0001
Day	2		3		-4318.89	173.14	33	-24.95	<.0001
Day	2		4		-14600	475.28	33	-30.72	<.0001
Day	3		4		-10281	332.59	33	-30.91	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHM	2	-3534.58	251.64	33	-14.05	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHM	3	-7997.50	494.44	33	-16.17	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHM	4	-17446	1003.26	33	-17.39	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHN	1	345.83	383.93	33	0.90	0.3742
Treatment*Day	MHM	1	MHN	2	-3292.92	550.32	33	-5.98	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHN	3	-7539.17	727.90	33	-10.36	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHN	4	-17334	1177.23	33	-14.72	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHP	1	-214.58	383.93	33	-0.56	0.5800
Treatment*Day	MHM	1	MHP	2	-3955.83	550.32	33	-7.19	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHP	3	-8203.33	727.90	33	-11.27	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHP	4	-19802	1177.23	33	-16.82	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHM	3	-4462.92	299.88	33	-14.88	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHM	4	-13912	823.21	33	-16.90	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHN	1	3880.42	550.32	33	7.05	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHN	2	241.67	676.97	33	0.36	0.7234
Treatment*Day	MHM	2	MHN	3	-4004.58	827.82	33	-4.84	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHN	4	-13800	1241.50	33	-11.12	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHP	1	3320.00	550.32	33	6.03	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHP	2	-421.25	676.97	33	-0.62	0.5381
Treatment*Day	MHM	2	MHP	3	-4668.75	827.82	33	-5.64	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHP	4	-16267	1241.50	33	-13.10	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHM	4	-9448.75	576.06	33	-16.40	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHN	1	8343.33	727.90	33	11.46	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHN	2	4704.58	827.82	33	5.68	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHN	3	458.33	955.13	33	0.48	0.6345
Treatment*Day	MHM	3	MHN	4	-9336.67	1329.77	33	-7.02	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHP	1	7782.92	727.90	33	10.69	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHP	2	4041.67	827.82	33	4.88	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHP	3	-205.83	955.13	33	-0.22	0.8307
Treatment*Day	MHM	3	MHP	4	-11805	1329.77	33	-8.88	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHN	1	17792	1177.23	33	15.11	<.0001

Effect	Treatment	Day	_Treatment	Standard		DF	t Value	Pr > t	
				_Day	Estimate				
Treatment*Day	MHM	4	MHN	2	14153	1241.50	33	11.40	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHN	3	9907.08	1329.77	33	7.45	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHN	4	112.08	1619.98	33	0.07	0.9453
Treatment*Day	MHM	4	MHP	1	17232	1177.23	33	14.64	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHP	2	13490	1241.50	33	10.87	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHP	3	9242.92	1329.77	33	6.95	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHP	4	-2355.83	1619.98	33	-1.45	0.1553
Treatment*Day	MHN	1	MHN	2	-3638.75	251.64	33	-14.46	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHN	3	-7885.00	494.44	33	-15.95	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHN	4	-17680	1003.26	33	-17.62	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHP	1	-560.42	383.93	33	-1.46	0.1538
Treatment*Day	MHN	1	MHP	2	-4301.67	550.32	33	-7.82	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHP	3	-8549.17	727.90	33	-11.75	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHP	4	-20148	1177.23	33	-17.11	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHN	3	-4246.25	299.88	33	-14.16	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHN	4	-14041	823.21	33	-17.06	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHP	1	3078.33	550.32	33	5.59	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHP	2	-662.92	676.97	33	-0.98	0.3346
Treatment*Day	MHN	2	MHP	3	-4910.42	827.82	33	-5.93	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHP	4	-16509	1241.50	33	-13.30	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHN	4	-9795.00	576.06	33	-17.00	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	1	7324.58	727.90	33	10.06	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	2	3583.33	827.82	33	4.33	0.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	3	-664.17	955.13	33	-0.70	0.4917
Treatment*Day	MHN	3	MHP	4	-12263	1329.77	33	-9.22	<.0001
Treatment*Day	MHN	4	MHP	1	17120	1177.23	33	14.54	<.0001
Treatment*Day	MHN	4	MHP	2	13378	1241.50	33	10.78	<.0001
Treatment*Day	MHN	4	MHP	3	9130.83	1329.77	33	6.87	<.0001
Treatment*Day	MHN	4	MHP	4	-2467.92	1619.98	33	-1.52	0.1372
Treatment*Day	MHP	1	MHP	2	-3741.25	251.64	33	-14.87	<.0001
Treatment*Day	MHP	1	MHP	3	-7988.75	494.44	33	-16.16	<.0001
Treatment*Day	MHP	1	MHP	4	-19587	1003.26	33	-19.52	<.0001
Treatment*Day	MHP	2	MHP	3	-4247.50	299.88	33	-14.16	<.0001
Treatment*Day	MHP	2	MHP	4	-15846	823.21	33	-19.25	<.0001
Treatment*Day	MHP	3	MHP	4	-11599	576.06	33	-20.13	<.0001

Consumo diario de alimento

Differences of Least Squares Means

Effect	Treatment	Period	_Treatment	Standard		Error	DF	t Value	Pr > t
				_Period	Estimate				
Treatment	MHM		MHN		-21.8563	93.8506	9	-0.23	0.8211
Treatment	MHM		MHP		-123.53	93.8506	9	-1.32	0.2206
Treatment	MHN		MHP		-101.68	93.8506	9	-1.08	0.3068
Period		1		2	-153.44	22.3658	9	-6.86	<.0001
Period		2		4	-165.97	24.2880	9	-6.83	<.0001
Period		3		4	41.4583	6.0733	9	6.83	<.0001
Treatment*Period	MHM	1	MHM	2	-207.90	38.7387	9	-5.37	0.0005
Treatment*Period	MHM	1	MHM	3	-388.22	46.7008	9	-8.31	<.0001
Treatment*Period	MHM	1	MHM	4	-352.17	40.0248	9	-8.80	<.0001
Treatment*Period	MHM	1	MHN	1	-25.7000	88.6432	9	-0.29	0.7784
Treatment*Period	MHM	1	MHN	2	-222.53	96.8269	9	-2.30	0.0471
Treatment*Period	MHM	1	MHN	3	-412.75	97.6059	9	-4.23	0.0022
Treatment*Period	MHM	1	MHN	4	-374.75	95.1499	9	-3.94	0.0034
Treatment*Period	MHM	1	MHP	1	-205.62	88.6432	9	-2.32	0.0455
Treatment*Period	MHM	1	MHP	2	-261.22	96.8269	9	-2.70	0.0245
Treatment*Period	MHM	1	MHP	3	-512.95	97.6059	9	-5.26	0.0005
Treatment*Period	MHM	1	MHP	4	-462.63	95.1499	9	-4.86	0.0009
Treatment*Period	MHM	2	MHM	3	-180.32	52.5872	9	-3.43	0.0075
Treatment*Period	MHM	2	MHM	4	-144.27	42.0680	9	-3.43	0.0075
Treatment*Period	MHM	2	MHN	1	182.20	96.8269	9	1.88	0.0926
Treatment*Period	MHM	2	MHN	2	-14.6250	104.37	9	-0.14	0.8916
Treatment*Period	MHM	2	MHN	3	-204.85	105.09	9	-1.95	0.0831
Treatment*Period	MHM	2	MHN	4	-166.85	102.82	9	-1.62	0.1391
Treatment*Period	MHM	2	MHP	1	2.2750	96.8269	9	0.02	0.9818
Treatment*Period	MHM	2	MHP	2	-53.3250	104.37	9	-0.51	0.6217
Treatment*Period	MHM	2	MHP	3	-305.05	105.09	9	-2.90	0.0175
Treatment*Period	MHM	2	MHP	4	-254.72	102.82	9	-2.48	0.0351
Treatment*Period	MHM	3	MHM	4	36.0500	10.5192	9	3.43	0.0075
Treatment*Period	MHM	3	MHN	1	362.52	97.6059	9	3.71	0.0048
Treatment*Period	MHM	3	MHN	2	165.70	105.09	9	1.58	0.1493
Treatment*Period	MHM	3	MHN	3	-24.5250	105.81	9	-0.23	0.8219
Treatment*Period	MHM	3	MHN	4	13.4750	103.55	9	0.13	0.8993
Treatment*Period	MHM	3	MHP	1	182.60	97.6059	9	1.87	0.0942
Treatment*Period	MHM	3	MHP	2	127.00	105.09	9	1.21	0.2577
Treatment*Period	MHM	3	MHP	3	-124.73	105.81	9	-1.18	0.2687
Treatment*Period	MHM	3	MHP	4	-74.4000	103.55	9	-0.72	0.4907
Treatment*Period	MHM	4	MHN	1	326.47	95.1499	9	3.43	0.0075

Treatment*Period	MHM	4	MHN	2	129.65	102.82	9	1.26	0.2390
Treatment*Period	MHM	4	MHN	3	-60.5750	103.55	9	-0.58	0.5729
Treatment*Period	MHM	4	MHN	4	-22.5750	101.24	9	-0.22	0.8285
Treatment*Period	MHM	4	MHP	1	146.55	95.1499	9	1.54	0.1579
Treatment*Period	MHM	4	MHP	2	90.9500	102.82	9	0.88	0.3994
Treatment*Period	MHM	4	MHP	3	-160.78	103.55	9	-1.55	0.1549
Treatment*Period	MHM	4	MHP	4	-110.45	101.24	9	-1.09	0.3036
Treatment*Period	MHN	1	MHN	2	-196.83	38.7387	9	-5.08	0.0007
Treatment*Period	MHN	1	MHN	3	-387.05	46.7008	9	-8.29	<.0001
Treatment*Period	MHN	1	MHN	4	-349.05	40.0248	9	-8.72	<.0001
Treatment*Period	MHN	1	MHP	1	-179.92	88.6432	9	-2.03	0.0730
Treatment*Period	MHN	1	MHP	2	-235.52	96.8269	9	-2.43	0.0378
Treatment*Period	MHN	1	MHP	3	-487.25	97.6059	9	-4.99	0.0007
Treatment*Period	MHN	1	MHP	4	-436.93	95.1499	9	-4.59	0.0013
Treatment*Period	MHN	2	MHN	3	-190.22	52.5872	9	-3.62	0.0056
Treatment*Period	MHN	2	MHN	4	-152.22	42.0680	9	-3.62	0.0056
Treatment*Period	MHN	2	MHP	1	16.9000	96.8269	9	0.17	0.8653
Treatment*Period	MHN	2	MHP	2	-38.7000	104.37	9	-0.37	0.7194
Treatment*Period	MHN	2	MHP	3	-290.43	105.09	9	-2.76	0.0220
Treatment*Period	MHN	2	MHP	4	-240.10	102.82	9	-2.34	0.0444
Treatment*Period	MHN	3	MHN	4	38.0000	10.5192	9	3.61	0.0056
Treatment*Period	MHN	3	MHP	1	207.12	97.6059	9	2.12	0.0628
Treatment*Period	MHN	3	MHP	2	151.52	105.09	9	1.44	0.1832
Treatment*Period	MHN	3	MHP	3	-100.20	105.81	9	-0.95	0.3684
Treatment*Period	MHN	3	MHP	4	-49.8750	103.55	9	-0.48	0.6416
Treatment*Period	MHN	4	MHP	1	169.12	95.1499	9	1.78	0.1092
Treatment*Period	MHN	4	MHP	2	113.53	102.82	9	1.10	0.2982
Treatment*Period	MHN	4	MHP	3	-138.20	103.55	9	-1.33	0.2148
Treatment*Period	MHN	4	MHP	4	-87.8750	101.24	9	-0.87	0.4079
Treatment*Period	MHP	1	MHP	2	-55.6000	38.7387	9	-1.44	0.1850
Treatment*Period	MHP	1	MHP	3	-307.33	46.7008	9	-6.58	0.0001
Treatment*Period	MHP	1	MHP	4	-257.00	40.0248	9	-6.42	0.0001
Treatment*Period	MHP	2	MHP	3	-251.73	52.5872	9	-4.79	0.0010
Treatment*Period	MHP	2	MHP	4	-201.40	42.0680	9	-4.79	0.0010
Treatment*Period	MHP	3	MHP	4	50.3250	10.5192	9	4.78	0.0010

Ganancia diaria de peso

Differences of Least Squares Means

Effect	Treatment	Day	Standard		Estimate	Error	DF	t Value	Pr > t
			_Treatment	_Day					
Treatment	MHM		MHN		-3.3000	28.0301	33	-0.12	0.9070
Treatment	MHM		MHP		-36.3625	28.0301	33	-1.30	0.2035
Treatment	MHN		MHP		-33.0625	28.0301	33	-1.18	0.2466
Day	1		2		-48.6278	10.2716	33	-4.73	<.0001
Day	1		3		-229.70	12.6851	33	-18.11	<.0001
Day	1		4		-112.33	7.5401	33	-14.90	<.0001
Day	2		3		-181.07	10.6599	33	-16.99	<.0001
Day	2		4		-63.7000	6.0538	33	-10.52	<.0001
Day	3		4		117.37	6.0170	33	19.51	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHM	2	-66.3167	17.7910	33	-3.73	0.0007
Treatment*Day	MHM	1	MHM	3	-197.48	21.9712	33	-8.99	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHM	4	-103.57	13.0598	33	-7.93	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHN	1	-7.4333	25.4196	33	-0.29	0.7718
Treatment*Day	MHM	1	MHN	2	-50.8250	27.9630	33	-1.82	0.0782
Treatment*Day	MHM	1	MHN	3	-213.96	32.7963	33	-6.52	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHN	4	-108.34	27.2455	33	-3.98	0.0004
Treatment*Day	MHM	1	MHP	1	-14.7583	25.4196	33	-0.58	0.5655
Treatment*Day	MHM	1	MHP	2	-50.9333	27.9630	33	-1.82	0.0776
Treatment*Day	MHM	1	MHP	3	-299.85	32.7963	33	-9.14	<.0001
Treatment*Day	MHM	1	MHP	4	-147.27	27.2455	33	-5.41	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHM	3	-131.16	18.4635	33	-7.10	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHM	4	-37.2500	10.4855	33	-3.55	0.0012
Treatment*Day	MHM	2	MHN	1	58.8833	27.9630	33	2.11	0.0429
Treatment*Day	MHM	2	MHN	2	15.4917	30.2937	33	0.51	0.6125
Treatment*Day	MHM	2	MHN	3	-147.64	34.8048	33	-4.24	0.0002
Treatment*Day	MHM	2	MHN	4	-42.0250	29.6326	33	-1.42	0.1655
Treatment*Day	MHM	2	MHP	1	51.5583	27.9630	33	1.84	0.0742
Treatment*Day	MHM	2	MHP	2	15.3833	30.2937	33	0.51	0.6150
Treatment*Day	MHM	2	MHP	3	-233.53	34.8048	33	-6.71	<.0001
Treatment*Day	MHM	2	MHP	4	-80.9500	29.6326	33	-2.73	0.0100
Treatment*Day	MHM	3	MHM	4	93.9083	10.4217	33	9.01	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHN	1	190.04	32.7963	33	5.79	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHN	2	146.65	34.8048	33	4.21	0.0002
Treatment*Day	MHM	3	MHN	3	-16.4833	38.7949	33	-0.42	0.6737
Treatment*Day	MHM	3	MHN	4	89.1333	34.2310	33	2.60	0.0137
Treatment*Day	MHM	3	MHP	1	182.72	32.7963	33	5.57	<.0001
Treatment*Day	MHM	3	MHP	2	146.54	34.8048	33	4.21	0.0002
Treatment*Day	MHM	3	MHP	3	-102.37	38.7949	33	-2.64	0.0126
Treatment*Day	MHM	3	MHP	4	50.2083	34.2310	33	1.47	0.1519
Treatment*Day	MHM	4	MHN	1	96.1333	27.2455	33	3.53	0.0013

Treatment*Day	MHM	4	MHN	2	52.7417	29.6326	33	1.78	0.0843
Treatment*Day	MHM	4	MHN	3	-110.39	34.2310	33	-3.22	0.0028
Treatment*Day	MHM	4	MHN	4	-4.7750	28.9564	33	-0.16	0.8700
Treatment*Day	MHM	4	MHP	1	88.8083	27.2455	33	3.26	0.0026
Treatment*Day	MHM	4	MHP	2	52.6333	29.6326	33	1.78	0.0849
Treatment*Day	MHM	4	MHP	3	-196.28	34.2310	33	-5.73	<.0001
Treatment*Day	MHM	4	MHP	4	-43.7000	28.9564	33	-1.51	0.1408
Treatment*Day	MHN	1	MHN	2	-43.3917	17.7910	33	-2.44	0.0203
Treatment*Day	MHN	1	MHN	3	-206.53	21.9712	33	-9.40	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHN	4	-100.91	13.0598	33	-7.73	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHP	1	-7.3250	25.4196	33	-0.29	0.7750
Treatment*Day	MHN	1	MHP	2	-43.5000	27.9630	33	-1.56	0.1293
Treatment*Day	MHN	1	MHP	3	-292.42	32.7963	33	-8.92	<.0001
Treatment*Day	MHN	1	MHP	4	-139.83	27.2455	33	-5.13	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHN	3	-163.13	18.4635	33	-8.84	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHN	4	-57.5167	10.4855	33	-5.49	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHP	1	36.0667	27.9630	33	1.29	0.2061
Treatment*Day	MHN	2	MHP	2	-0.1083	30.2937	33	-0.00	0.9972
Treatment*Day	MHN	2	MHP	3	-249.02	34.8048	33	-7.15	<.0001
Treatment*Day	MHN	2	MHP	4	-96.4417	29.6326	33	-3.25	0.0026
Treatment*Day	MHN	3	MHN	4	105.62	10.4217	33	10.13	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	1	199.20	32.7963	33	6.07	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	2	163.03	34.8048	33	4.68	<.0001
Treatment*Day	MHN	3	MHP	3	-85.8917	38.7949	33	-2.21	0.0338
Treatment*Day	MHN	3	MHP	4	66.6917	34.2310	33	1.95	0.0599
Treatment*Day	MHN	4	MHP	1	93.5833	27.2455	33	3.43	0.0016
Treatment*Day	MHN	4	MHP	2	57.4083	29.6326	33	1.94	0.0613
Treatment*Day	MHN	4	MHP	3	-191.51	34.2310	33	-5.59	<.0001
Treatment*Day	MHN	4	MHP	4	-38.9250	28.9564	33	-1.34	0.1880
Treatment*Day	MHP	1	MHP	2	-36.1750	17.7910	33	-2.03	0.0501
Treatment*Day	MHP	1	MHP	3	-285.09	21.9712	33	-12.98	<.0001
Treatment*Day	MHP	1	MHP	4	-132.51	13.0598	33	-10.15	<.0001
Treatment*Day	MHP	2	MHP	3	-248.92	18.4635	33	-13.48	<.0001
Treatment*Day	MHP	2	MHP	4	-96.3333	10.4855	33	-9.19	<.0001
Treatment*Day	MHP	3	MHP	4	152.58	10.4217	33	14.64	<.0001

Conversión alimentaria

Differences of Least Squares Means

Effect	Treatment	Period	_Treatment	_Period	Standard		DF	t Value	Pr > t
					Estimate	Error			
Treatment	MHM		MHN		0.003125	0.02884	9	0.11	0.9161
Treatment	MHM		MHP		0.03688	0.02884	9	1.28	0.2331
Treatment	MHN		MHP		0.03375	0.02884	9	1.17	0.2720
Period	1		2		0.05917	0.01786	27	3.31	0.0026
Period	1		3		-0.04250	0.02149	27	-1.98	0.0583
Period	1		4		-0.02250	0.02293	27	-0.98	0.3353
Period	2		3		-0.1017	0.01786	27	-5.69	<.0001
Period	2		4		-0.08167	0.02149	27	-3.80	0.0007
Period	3		4		0.02000	0.01786	27	1.12	0.2726
Treatment*Period	MHM	1	MHM	2	0.08250	0.03093	27	2.67	0.0128
Treatment*Period	MHM	1	MHM	3	0.01500	0.03722	27	0.40	0.6901
Treatment*Period	MHM	1	MHM	4	0.03000	0.03972	27	0.76	0.4566
Treatment*Period	MHM	1	MHN	1	-0.00750	0.04164	27	-0.18	0.8584
Treatment*Period	MHM	1	MHN	2	0.1050	0.04164	27	2.52	0.0179
Treatment*Period	MHM	1	MHN	3	0.01250	0.04164	27	0.30	0.7664
Treatment*Period	MHM	1	MHN	4	0.03000	0.04164	27	0.72	0.4775
Treatment*Period	MHM	1	MHP	1	0.1475	0.04164	27	3.54	0.0015
Treatment*Period	MHM	1	MHP	2	0.1300	0.04164	27	3.12	0.0043
Treatment*Period	MHM	1	MHP	3	-0.01500	0.04164	27	-0.36	0.7215
Treatment*Period	MHM	1	MHP	4	0.01250	0.04164	27	0.30	0.7664
Treatment*Period	MHM	2	MHM	3	-0.06750	0.03093	27	-2.18	0.0380
Treatment*Period	MHM	2	MHM	4	-0.05250	0.03722	27	-1.41	0.1698
Treatment*Period	MHM	2	MHN	1	-0.09000	0.04164	27	-2.16	0.0397
Treatment*Period	MHM	2	MHN	2	0.02250	0.04164	27	0.54	0.5934
Treatment*Period	MHM	2	MHN	3	-0.07000	0.04164	27	-1.68	0.1043
Treatment*Period	MHM	2	MHN	4	-0.05250	0.04164	27	-1.26	0.2182
Treatment*Period	MHM	2	MHP	1	0.06500	0.04164	27	1.56	0.1302
Treatment*Period	MHM	2	MHP	2	0.04750	0.04164	27	1.14	0.2640
Treatment*Period	MHM	2	MHP	3	-0.09750	0.04164	27	-2.34	0.0268
Treatment*Period	MHM	2	MHP	4	-0.07000	0.04164	27	-1.68	0.1043
Treatment*Period	MHM	3	MHM	4	0.01500	0.03093	27	0.48	0.6316
Treatment*Period	MHM	3	MHN	1	-0.02250	0.04164	27	-0.54	0.5934
Treatment*Period	MHM	3	MHN	2	0.09000	0.04164	27	2.16	0.0397
Treatment*Period	MHM	3	MHN	3	-0.00250	0.04164	27	-0.06	0.9526
Treatment*Period	MHM	3	MHN	4	0.01500	0.04164	27	0.36	0.7215
Treatment*Period	MHM	3	MHP	1	0.1325	0.04164	27	3.18	0.0037
Treatment*Period	MHM	3	MHP	2	0.1150	0.04164	27	2.76	0.0102
Treatment*Period	MHM	3	MHP	3	-0.03000	0.04164	27	-0.72	0.4775
Treatment*Period	MHM	3	MHP	4	-0.00250	0.04164	27	-0.06	0.9526
Treatment*Period	MHM	4	MHN	1	-0.03750	0.04164	27	-0.90	0.3758
Treatment*Period	MHM	4	MHN	2	0.07500	0.04164	27	1.80	0.0829
Treatment*Period	MHM	4	MHN	3	-0.01750	0.04164	27	-0.42	0.6776
Treatment*Period	MHM	4	MHN	4	1.87E-16	0.04164	27	0.00	1.0000
Treatment*Period	MHM	4	MHP	1	0.1175	0.04164	27	2.82	0.0089
Treatment*Period	MHM	4	MHP	2	0.1000	0.04164	27	2.40	0.0235
Treatment*Period	MHM	4	MHP	3	-0.04500	0.04164	27	-1.08	0.2894
Treatment*Period	MHM	4	MHP	4	-0.01750	0.04164	27	-0.42	0.6776
Treatment*Period	MHN	1	MHN	2	0.1125	0.03093	27	3.64	0.0011
Treatment*Period	MHN	1	MHN	3	0.02000	0.03722	27	0.54	0.5955
Treatment*Period	MHN	1	MHN	4	0.03750	0.03972	27	0.94	0.3535
Treatment*Period	MHN	1	MHP	1	0.1550	0.04164	27	3.72	0.0009
Treatment*Period	MHN	1	MHP	2	0.1375	0.04164	27	3.30	0.0027
Treatment*Period	MHN	1	MHP	3	-0.00750	0.04164	27	-0.18	0.8584
Treatment*Period	MHN	1	MHP	4	0.02000	0.04164	27	0.48	0.6349
Treatment*Period	MHN	2	MHN	3	-0.09250	0.03093	27	-2.99	0.0059

Treatment*Period	MHN	2	MHN	4	-0.07500	0.03722	27	-2.01	0.0540
Treatment*Period	MHN	2	MHP	1	0.04250	0.04164	27	1.02	0.3165
Treatment*Period	MHN	2	MHP	2	0.02500	0.04164	27	0.60	0.5533
Treatment*Period	MHN	2	MHP	3	-0.1200	0.04164	27	-2.88	0.0077
Treatment*Period	MHN	2	MHP	4	-0.09250	0.04164	27	-2.22	0.0349
Treatment*Period	MHN	3	MHN	4	0.01750	0.03093	27	0.57	0.5762
Treatment*Period	MHN	3	MHP	1	0.1350	0.04164	27	3.24	0.0032
Treatment*Period	MHN	3	MHP	2	0.1175	0.04164	27	2.82	0.0089
Treatment*Period	MHN	3	MHP	3	-0.02750	0.04164	27	-0.66	0.5146
Treatment*Period	MHN	3	MHP	4	1.26E-15	0.04164	27	0.00	1.0000
Treatment*Period	MHN	4	MHP	1	0.1175	0.04164	27	2.82	0.0089
Treatment*Period	MHN	4	MHP	2	0.1000	0.04164	27	2.40	0.0235
Treatment*Period	MHN	4	MHP	3	-0.04500	0.04164	27	-1.08	0.2894
Treatment*Period	MHN	4	MHP	4	-0.01750	0.04164	27	-0.42	0.6776
Treatment*Period	MHP	1	MHP	2	-0.01750	0.03093	27	-0.57	0.5762
Treatment*Period	MHP	1	MHP	3	-0.1625	0.03722	27	-4.37	0.0002
Treatment*Period	MHP	1	MHP	4	-0.1350	0.03972	27	-3.40	0.0021
Treatment*Period	MHP	2	MHP	3	-0.1450	0.03093	27	-4.69	<.0001
Treatment*Period	MHP	2	MHP	4	-0.1175	0.03722	27	-3.16	0.0039
Treatment*Period	MHP	3	MHP	4	0.02750	0.03093	27	0.89	0.3818