



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

**Estudio de la vitalidad de corderos de raza Rasa Aragonesa mediante
acelerómetros**

Study of the vitality of Rasa Aragonesa lambs by the use of accelerometers

Autor/es

Carlos Canudo Távara

Director/es

José Alfonso Abecia Martínez

Facultad de Veterinaria

2022

Índice

1. Resumen/Abstract.....	2
2. Introducción	3
2.1. Uso de la actigrafía	3
2.2. Actigrafía en la Ciencia Veterinaria	3
2.3. Objetivo	5
3. Material y Métodos.....	5
3.1. Animales.....	5
3.2. Actígrafos	6
3.3. Recopilación de datos de los acelerómetros	6
3.4. Análisis Estadístico	8
4. Resultados	9
4.1. Actividad.....	9
4.2. Ritmos Circadianos.....	13
4.3. Proximidad y Distancia	13
5. Discusión	21
6. Conclusión	25
Conclusion	25
7. Valoración personal.....	26
8. Bibliografía	27

1. Resumen/Abstract

Resumen

Se emplearon 22 corderos para estudiar, durante su primera y cuarta semana de lactación, el patrón de actividad, proximidad y distancia entre ellos a través de la actigrafía, mediante un acelerómetro con Bluetooth® acoplado a un collar. Los datos de actividad se descargaron en forma registros de actividad por minuto (Vector Magnitud, VM). Los dispositivos se programaron como receptores y emisores simultáneamente, para calcular la proximidad (min/h) y la distancia (m) entre corderos en función de si existía registro de señal o no y su fuerza (Received Signal Strength, RSSI). Se calculó el VM medio (\pm DS) en intervalos de una hora para cada semana. Se obtuvieron los ritmos circadianos del VM ajustando los datos obtenidos a una curva coseno con un ritmo de 24 horas de actividad. Con un Modelo Lineal General (GLM) se evaluaron los efectos de la semana, género, ser de parto simple o doble y el efecto día/noche sobre el VM, la proximidad y la distancia entre corderos, esto reflejó que los corderos tuvieron un VM significativamente mayor durante la primera semana comparada con la cuarta ($P<0,05$), y que las hembras fueron más activas ambas semanas ($P<0,01$). Los corderos de parto doble pasaron más tiempo junto a sus hermanos ($P<0,001$) que con cualquier otro cordero durante ambas semanas, y la proximidad de los corderos de parto doble con otros corderos fue superior a la que mostraron los de parto simple. Además se vio que los corderos solo siguieron un ritmo de actividad de 24 h durante la cuarta semana. En conclusión, con la actigrafía se ha visto que no existe un ritmo circadiano de actividad durante los primeros días de vida, y que los corderos de parto doble tienen una mayor interacción con los demás corderos, así como el fuerte vínculo establecido entre corderos hermanos.

Abstract

Twenty-two lambs were used to study their activity pattern during the first and fourth week of lactation, in addition to the measurement of proximity and distances among lambs, by the use of actigraphy. Lambs were fitted with an accelerometer with Bluetooth® on a neck collar, and the activity data recorded was downloaded as activity counts per one minute intervals (vector magnitude, VM). Sensors were simultaneously programmed as receivers and as beacons, in order to calculate proximity (min/h) or not to another lamb via signal presence with the Received Signal Strength (RSSI), and distance (m) between lambs was calculated from the RSSI values received by the sensors. For each week, mean (\pm S.E.) daily VM were calculated at hourly intervals. Circadian rhythms of VM were graphed by fitting the time series measurements of each lamb to the cosine curve of a 24h activity rhythm. The effects of week, lamb gender,

twinning, and day and night time on VM, proximity, and distance among lambs were evaluated by GLM. There were significant effects of week and lamb gender on VM ($P<0.05$). Lambs had a significantly higher VM during the first week compared with the fourth week ($P<0.05$), and female lambs were more active than males ($P<0.01$) in both weeks. Twin lambs spent more time close to its siblings ($P<0.001$) than to another lamb in both weeks under study, and proximity of twins to other lambs was higher than the proximity presented by singletons in both weeks. Lambs only followed a 24h rhythmicity during the fourth week. In conclusion, actigraphy has revealed that circadian rhythms of activity are not instituted during the first days of life, and twin-born lambs had stronger associations with their littermates, showing the strong bond that is established between twin lambs.

2. Introducción

2.1. Uso de la actigrafía

Según la literatura médica, la actigrafía se define como “el uso de un actígrafo para registrar el nivel de actividad del cuerpo, especialmente para medir la cantidad y calidad del sueño” (Merriam-Webster Medical Dictionary, 2022), así como el estudio de desórdenes del ritmo circadiano. Un actígrafo está compuesto por un acelerómetro y una unidad de memoria, y se emplean para recoger datos, generalmente durante varios días, midiendo el movimiento físico del cuerpo. El acelerómetro es un dispositivo electromecánico que mide fuerzas de aceleración. La aceleración es un vector que define un cambio de velocidad en un cuerpo.

Un actígrafo es capaz de medir y registrar los cambios en la aceleración experimentada por un individuo gracias a que el movimiento da lugar a que unos pequeños cristales alojados en el interior del dispositivo creen un cierto voltaje. Un sensor interpreta la cantidad de voltaje generado, de modo que es capaz de determinar la velocidad y orientación del movimiento. En un acelerómetro tri-axial, se colocan tres sensores de aceleración dispuestos ortogonalmente y se acumula la información de los tres ejes (Benjamin y Yik, 2019). Así pues, en humanos los acelerómetros son ampliamente empleados para medir el tiempo de sedentarismo, la actividad física, el gasto de energía de la actividad física y comportamientos relacionados con el sueño, siendo ActiGraph el usado más frecuentemente por los investigadores (Migueles, *et al.* 2017).

2.2. Actigrafía en la Ciencia Veterinaria

Por tanto, la acelerometría representa actualmente el mejor método objetivo para medir la actividad física, y es ampliamente usada en estudios clínicos o epidemiológicos (Vanhelst, 2019). Es capaz de proporcionar información sobre la cantidad, frecuencia y duración

de la actividad, y los datos que se recogen ofrecen información sobre los patrones de actividad diaria y nocturna, así como de su intensidad. Además, los avances desarrollados en acelerómetros tri-axiales ofrecen una forma no invasiva de medir la mayoría de pequeños movimientos de un cuerpo, por lo que su uso en el campo de la veterinaria está aumentando; tal y como indica Chapa *et al.* (2020), el número de publicaciones sobre el uso de sistemas acelerométricos en ganado vacuno se ha incrementado en los últimos diez años de 6 en 2010 a 46 en 2019, de un total de 216 publicaciones. En los últimos años ha habido una “explosión” de publicaciones acerca de la monitorización del comportamiento animal empleando sensores de aceleración, que han superado los límites de los antiguos estudios observacionales (Brown *et al.* 2013).

Entre los beneficios potenciales de la acelerometría en la ciencia veterinaria, encontramos una mayor objetividad, así como una clara simplificación del desarrollo de estudios sobre el comportamiento animal, si se compara con la forma tradicional de medir la actividad en animales de compañía o abasto.

La interacción entre corderos de parto simple y de parto doble ha sido objeto de estudio por parte de varios grupos de investigación, y el desarrollo de estos trabajos ha supuesto una gran cantidad de tiempo y de observaciones de campo. En un estudio de Shillito Walser *et al.* (1981), trataron de determinar si la relación entre corderos hermanos de diferentes razas, procedentes de transferencia de embriones, estaba afectada por el hecho de que la madre fuese de una raza distinta. Para ello estudiaron la posición de los corderos y las madres cada 15 min, esto que se tradujo en 10,25h invertidas a lo largo de la primera semana del estudio y 10,5 h en la segunda. Porter *et al.* (1997) estudiaron de qué estímulos se sirven los corderos para reconocer a sus hermanos entre otros corderos, para ello seleccionaron un grupo de doce corderos de dos a tres semanas de vida y los observaron en sesiones de 5 min a lo largo de tres estudios diferentes, de tal modo que la mitad de los corderos primero se estudiaron en solitario y más tarde en parejas, la otra mitad de los corderos se estudiaron primero acompañados y después ellos solos. Porter y Ligout (2002) estudiaron la capacidad de 24 corderos para reconocer a otros con los que habían sido estabulados pero sin tener parentesco, para ello diseñaron un experimento desarrollado de tal forma que cada cordero era observado dos veces, una por la mañana y otra por la tarde del mismo día, con un intervalo mínimo de 2,5 h.

Como se puede ver, la forma tradicional de realizar este tipo de estudios resulta muy costosa tanto en tiempo como en recursos humanos, además de que resulta complicado obtener registros continuos a lo largo del desarrollo de los trabajos.

En este contexto, la irrupción de los acelerómetros supone una notable reducción del esfuerzo dedicado, así como un gran avance en la gestión y análisis de los datos, proporcionando mayor objetividad, sensibilidad y un registro de datos de mayor frecuencia que las observaciones de campo. Además, permiten monitorizar el comportamiento animal sin el potencial impacto de la presencia de observadores humanos (Brown *et al.* 2013).

Gladden *et al.* (2020) describen detalladamente las ventajas derivadas del uso de acelerómetros en estudios sobre el comportamiento animal, dado que la actividad se puede monitorizar a lo largo de períodos de tiempo superiores y los datos obtenidos se pueden descargar para realizar un análisis detallado en el momento en que se requiera, supone un gran avance tanto sobre la observación visual directa de los animales como sobre las grabaciones de vídeo.

2.3. Objetivo

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar los patrones de actividad de corderos a lo largo del periodo de lactación, empleando la actigrafía para comparar la influencia del sexo del cordero, el tipo de parto (simple o doble) sobre la actividad, así como las relaciones establecidas por los corderos, midiendo la distancia y proximidad entre ellos empleando tecnología Bluetooth®.

3. Material y Métodos

El estudio tuvo lugar en el Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza (Zaragoza, latitud 41°41'N) empleando un protocolo aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Zaragoza, siguiendo los requisitos de la Unión Europea.

3.1. Animales

En el presente trabajo fueron objeto de estudio un total de veintidós corderos de raza Rasa Aragonesa nacidos a finales del mes de octubre de 2021 con una diferencia máxima de cinco días. De los veintidós corderos, ocho fueron machos y catorce hembras, siendo ocho corderos nacidos de parto simple y catorce de parto doble. La media (\pm DS) de peso vivo al nacimiento fue de $3,92 \pm 0,88$ kilogramos.

Tras cada parto, la madre junto el(s) cordero(s) eran alojados en boxes individuales de $4m^2$ donde permanecieron las primeras 48 h de vida del cordero. Pasadas esas primeras horas, los animales se trasladaron a un recinto colectivo de 6 m de largo por 7 m de ancho que acogería al conjunto de los animales del estudio. Aquí las ovejas eran alimentadas a base de paja de cebada *ad libitum*, 1kg de heno de alfalfa que contenía 2,15 Mcal de energía metabolizable (EM)

y un 15% de proteína bruta (PB), y medio kilogramo de concentrado al día por oveja adulta, dicho concentrado se administraba una vez al día a las 08:00 horas y proporcionaba 2,2 Mcal de EM, siendo un 12% de su composición PB. Todos los animales tenían acceso a agua *ad libitum*.

3.2. Actígrafos

Los actígrafos empleados son dispositivos del modelo wGT3X-BT de ActiGraph, estos tienen sensores capaces de medir y registrar las aceleraciones sufridas por el cuerpo al que se acoplan a alta frecuencia y guardar en la memoria los datos obtenidos. Miden 46x33x15 mm y pesan 19 g (ActiGraph wGT3X-BT, ActiGraph FL, U.S.A.) Estos dispositivos se acoplaron a un collar de nylon de longitud regulable para poder ser colocados alrededor del cuello de los corderos.



Figura 1. Cordero de Rasa Aragonesa con actígrafo wGT3X-BT de ActiGraph y madre al fondo

Se les colocaron a los corderos los collares junto con los actígrafos el segundo día de vida, en el momento de entrar al recinto colectivo, y permanecieron puestos hasta el octavo día de vida (primera semana). Una vez transcurrido este primer periodo se retiraron para descargar los datos recogidos. En la cuarta semana de lactación se volvieron a colocar los dispositivos de igual forma, permaneciendo desde el día 28 hasta el 34º día de vida (cuarta semana).

3.3. Recopilación de datos de los acelerómetros

Los actígrafos wGT3X-BT de ActiGraph son capaces de detectar el movimiento de los corderos a través de las aceleraciones que estos experimentan, y a partir de la amplitud (g) y la frecuencia (Hz) de los movimientos del individuo a lo largo de 3 ejes (x antero-posterior, y

izquierda-derecha, z de arriba a abajo), se puede medir la actividad de los corderos. Los dispositivos se programaron de modo que registraran los datos de aceleración a una frecuencia de 30 Hz, lo que equivale a 30 registros por segundo.

Por otro lado, los actígrafos son capaces de registrar la distancia entre ellos usando señales Bluetooth®, de modo que se pudo obtener información acerca de la proximidad entre los corderos y los movimientos espacio-temporales entre ellos. Todos los dispositivos se programaron de tal forma que actuaran como emisores y receptores de señal al mismo tiempo, así cada uno de ellos emitía señales de información con su número de serie y su etiqueta a una frecuencia de 4 Hz y recogía los datos de los otros dispositivos, así como la fuerza de la señal registrada.

Para descargar la información recogida se empleó el software ActiLife (ActiGraph LLC, Pensacola, FL U.S.A.). Los datos de actividad guardados en los dispositivos se descargaron como recuento de aceleraciones en intervalos de 1 minuto en cada uno de los 3 ejes x, y, z. Esos datos de cada uno de los ejes se combinaron para obtener el vector magnitud (VM) en cada minuto, que representa el valor del vector resultante al combinar las aceleraciones registradas en los tres planos simultáneamente. El VM se calcula con la siguiente fórmula:

$$VM = \sqrt{(x_{axe})^2 + (y_{axe})^2 + (z_{axe})^2}$$

Los datos de proximidad entre corderos, obtenidos a través de señales Bluetooth® de los dispositivos, se descargaron empleando el mismo *software*. Una vez hecho esto, también se pudo calcular las distancias entre los corderos empleando una ecuación polinomial en la que se utiliza la *Received Signal Strength Indicator* (RSSI), que expresa la potencia de las señales recibidas, para obtener la distancia entre los dispositivos. Dicha ecuación es descrita por Ortmeyer *et al.* (2018), los cuales para calcular la distancia entre dos actígrafos, colocaron dos dispositivos ActiGraph sobre una superficie plana, uno de ellos permaneció siempre en el mismo sitio, mientras que iban alejando el otro 0,1 m en intervalos de tiempo regulares hasta que la distancia total entre ambos fue de 2 m. Se fijó 2 m como distancia máxima ya que la distancia relativa entre dispositivos es indistinguible a partir de este valor. Finalmente, tomaron los datos del RSSI obtenidos en cada distancia y la separación real entre dispositivos en cada intervalo de tiempo para generar una ecuación de segundo grado, que sirve para convertir las lecturas del RSSI de los dispositivos en distancia. La ecuación resultante es la siguiente:

$$Distancia (m) = (0,0012 * RSSI^2) + (0,0936 * RSSI) + 1,9262$$

La proximidad es la cantidad de tiempo que un cordero pasa junto a otro. Para poder determinarla, se examinaron los valores registrados del RSSI en cada minuto. Si el valor se encontraba entre -34 y -91 se le asignaba como valor 1 y se tomaba el dato como de proximidad, mientras que si no existía registro de RSSI en un minuto se asumía como no proximidad en ese periodo y se le asignaba como valor 0 (Clark *et al.* 2018). Finalmente se hizo un recuento de los minutos por hora en los que había un registro de RSSI para calcular la proximidad.

3.4. Análisis Estadístico

Una vez se hubo calculado el valor medio (\pm DS) del Vector Magnitud (VM) en cada intervalo de una hora de todos los días que los corderos llevaron los actígrafos acoplados, se trazó una gráfica que muestra la distribución media del VM a lo largo del día, la cual presenta dos picos principales de actividad. Se calculó tanto el valor medio de los picos de actividad como la distribución de estos a lo largo del día, el intervalo temporal entre ellos y la actividad en el periodo de día (08:00-18:59 h) y noche (19:00-07:59 h), además de la proporción de intervalos horarios con un VM registrado de 0, lo que indica ausencia de actividad en dicho intervalo.

Para comprobar la proximidad mantenida entre los corderos, tanto entre hermanos (corderos de parto doble) como con el resto, se contabilizaron la cantidad de minutos en los que existían registros de señal Bluetooth® por hora, con estos datos se pudieron calcular las proximidades medias (\pm DS) a lo largo de todos los días que los corderos llevaron puestos los dispositivos. También se calcularon las distancias medias (\pm DS) que hubo entre los corderos a lo largo de todo el periodo estudiado empleando los valores medios (\pm DS) que hubo en cada intervalo de una hora.

Las proximidades mantenidas entre hermanos (corderos de parto doble) y con el resto de corderos (tanto de parto doble como de parto simple), se calcularon como el número de minutos con señales Bluetooth registradas en cada intervalo horario. Los datos de proximidad media (\pm DS) se calcularon haciendo la media del valor de cada uno de los días bajo estudio. Para calcular la distancia media (\pm DS) entre un cordero y el resto también se emplearon los valores medios de cada intervalo horario de los días bajo estudio.

Para estudiar los ritmos circadianos de los corderos se introdujeron los datos de VM registrados por los actígrafos en la plataforma *cosinor.online* (Molcan, 2019), dando como resultado una gráfica, además del MESOR, la amplitud y la acrofase. Esta plataforma sigue el método cosinor, que es un procedimiento matemático basado en el ajuste por mínimos cuadrados de unos datos originales a una función seno. Los principales parámetros que se definen son: MESOR (*Midline Estimating Statistic of Rhythm*), amplitud y acrofase. Puesto que

se puede aplicar a datos no equidistantes, el MESOR, o valor medio del ritmo ajustado a la curva, no siempre coincide con la media aritmética de los datos. La amplitud es a diferencia entre el MESOR y el valor máximo o mínimo de la función coseno. La acrofase se corresponde con el momento en el que se produce el valor máximo de la función (Madrid y Rol, 2015).

Para saber si el comportamiento de los corderos estaba en consonancia con los parámetros de ritmidad circadiana, se compararon los modelos no rítmicos con el modelo del coseno reparametrizado empleando un test-F. Un valor de $P<0,05$ indica que los datos se ajustan a un ritmo circadiano de 24 h. Tras ello los datos se agruparon los datos y se calculó la curva *cosinor* de 24 h media para cada uno de los tres parámetros. Los valores de gemelos vs. simples y machos vs. hembras se compararon por ANOVA. Para comparar entre las dos semanas de estudio se aplicó un test t-Student para muestras relacionadas.

También se analizaron los efectos que tuvieron la semana de lactación, el género del cordero, ser de parto doble o simple y el efecto día (08:00-18:59) o noche (19:00-07:59), sobre la actividad (VM), proximidad y distancia entre los corderos, empleando el método de mínimos cuadrados del procedimiento GLM del programa SPSS (IBM Corp. Released, 2013), el cual se basa en un modelo multifactorial en el que el género, número de corderos por parto, y día/noche son elementos fijos. A continuación, se compararon los efectos fijos mediante el Análisis de la Varianza (ANOVA). Una representación general del modelo es: $y = xb + e$, donde y es el $N \times 1$ vector de registros, b denota los efectos fijos del modelo dentro de la matriz de asociación x , y e es el vector de efectos residuales.

4. Resultados

4.1. Actividad

Las figuras 2 y 3 son un ejemplo de la evolución semanal del VM de un cordero a lo largo de las semanas 1 y 4 de lactación respectivamente. Las figuras 4 y 5 muestran las curvas de actividad media a lo largo del día de cada cordero durante las semanas de lactación 1 y 4 respectivamente. Las curvas de actividad diaria media a lo largo de las semanas 1 y 4 se muestran en la figura 6. Se observó que tanto la semana de lactación como el género tuvieron efectos significativos en el VM registrado ($P<0,05$).

Por un lado, las hembras tuvieron una actividad superior a la de los machos ($P<0,01$) en ambas semanas, y sus picos de actividad fueron también superiores tanto durante el día como durante la noche (Tabla 2), aunque no hubo diferencia en el momento de presentación de los picos de actividad entre corderos machos y hembras. Por el otro lado, las hembras tuvieron una

proporción mayor de inactividad ($P<0,05$) a lo largo de la semana 1 en comparación con los machos. (Tabla 1).

Los corderos tuvieron un VM significativamente mayor durante la primera semana en comparación con la cuarta ($P<0,05$) (Tabla 1). La mayoría tuvieron el mismo patrón de actividad, con dos picos de actividad a lo largo del día que se corresponden con el amanecer y atardecer, y valores bajos durante la noche (Figura 6). El primer pico ocurría siempre entorno a las 07:30 a.m. en ambas semanas, mientras que el segundo se dio más tarde en la semana 1 que en la semana 4 ($P<0,001$) (Tabla 1). El primer pico de actividad fue mayor que el segundo ($P<0,05$) en ambas semanas bajo estudio, mientras que la actividad nocturna fue superior en la primera semana respecto a la cuarta ($P<0,001$). De media, los corderos pasaron el 50% del tiempo en reposo, pero la proporción del tiempo que los corderos pasaron sin que hubiese registros de actividad fue significativamente mayor en la semana 4 ($P<0,05$) (Tabla 1).

No se encontraron diferencias significativas en los registros de los corderos de parto doble en comparación con los de parto simple (Tabla 3), con la excepción de que los corderos de parto doble registraron un VM mayor ($P<0,001$) durante las horas del día.

Tabla 1. Variables medias (\pm DS) de actividad de los corderos durante la primera y cuarta semana de vida medidas con actigraffía, y sus ritmos circadianos (a,b: $P<0,05$) (día: 08:00 – 18:59; noche: 19:00 – 07:59)

	Semana 1	Semana 4
VM (cuentas/min)	154 \pm 13 ^a	117 \pm 4 ^b
Primer pico (cuentas/min)	270 \pm 20 ^a	234 \pm 10 ^b
Momento primer pico	7:35 \pm 0.13	7:30 \pm 0.10
Segundo pico (cuentas/min)	267 \pm 25 ^a	214 \pm 11 ^b
Momento segundo pico	19:00 \pm 0.30 ^a	16:38 \pm 0.16 ^b
Intervalo entre picos (h)	11.4 \pm 0.3	9.1 \pm 0.1
Día (cuentas/min)	168 \pm 13	159 \pm 6
Noche (cuentas/min)	142 \pm 13 ^a	82 \pm 4 ^b
No actividad (%)	49 \pm 2 ^a	52 \pm 1 ^b
% corderos circadianos	9/22 (41%) ^a	20/22 (91%) ^b
Circadianidad (valor P)	0.143	0.003
MESOR (cuentas/min)	--	109 \pm 6
Amplitud (cuentas/min)	--	44 \pm 4
Acrofase (momento)	--	13:00 \pm 0.22

Tabla 2. Variables medias (\pm DS) de actividad de corderos machos y hembras durante la primera y cuarta semana de vida medidas con actigrafía, y sus ritmos circadianos (a,b: P<0,05) (día: 08:00 – 18:59; noche: 19:00 – 07:59)

	Machos	Hembras
VM general (cuentas/min)	113 \pm 10 ^a	148 \pm 7 ^b
Semana 1	114\pm19^a	177\pm14^b
Primer pico (cuentas/min)	210 \pm 22 ^a	304 \pm 25 ^b
Momento primer pico	7:23 \pm 0.18	7:42 \pm 0.16
Segundo pico (cuentas/min)	199 \pm 46 ^a	306 \pm 24 ^b
Momento segundo pico	19:15 \pm 0.45	18:51 \pm 0.34
Intervalo entre picos (h)	11.9 \pm 0.6	11.1 \pm 0.4
Día (cuentas/min)	125 \pm 17 ^a	192 \pm 15 ^b
Noche (cuentas/min)	105 \pm 22 ^a	163 \pm 14 ^b
No actividad (%)	53 \pm 2 ^a	46 \pm 2 ^b
% cordeos circadianos	4/8 (50%)	5/14 (36%)
Circadianidad (valor P)	0.305	0.09
Semana 4	112\pm6^a	120\pm6^b
Primer pico (cuentas/min)	218 \pm 6 ^a	242 \pm 15 ^b
Momento primer pico	7:22 \pm 0.18	7:34 \pm 0.14
Segundo pico (cuentas/min)	194 \pm 13	225 \pm 15
Momento segundo pico	16:23 \pm 0.18	16:47 \pm 0.21
Intervalo entre picos (h)	9.0 \pm 0.0	9.21 \pm 0.1
Día (cuentas/min)	144 \pm 6	167 \pm 9
Noche (cuentas/min)	85 \pm 7	81 \pm 4
No actividad (%)	53 \pm 1	52 \pm 1
% cordeos circadianos	6/8 (75%)	14/14 (100%)
Circadianidad (valor P)	0.018	0.009
MESOR (cuentas/min)	111 \pm 6	120 \pm 6
Amplitud (cuentas/min)	46 \pm 4	53 \pm 3
Acrofase (momento)	12:45 \pm 0.3	12:53 \pm 0.1

Tabla 3. Variables medias (\pm DS) de actividad de corderos de parto simple y parto doble durante la primera y cuarta semana de vida medidas con actigrafía, y sus ritmos circadianos (a,b: P<0,05) (día: 08:00 – 18:59; noche: 19:00 – 07:59)

	Simples	Dobles
VM General (counts/min)	131 \pm 12	138 \pm 9
Semana 1	143\pm24	160\pm16
Primer pico (cuentas/min)	260 \pm 38	276 \pm 24
Momento primer pico	7:44 \pm 0.18	7:34 \pm 0.17
Segundo pico (cuentas/min)	260 \pm 49	271 \pm 29
Momento segundo pico	19:23 \pm 0.53	18:47 \pm 0.30
Intervalo entre picos (h)	11.8 \pm 0.6	11.2 \pm 0.4
Día (cuentas/min)	125 \pm 17 ^a	192 \pm 15 ^b
No actividad (%)	50 \pm 3	48 \pm 2
Noche (cuentas/min)	158 \pm 25	173 \pm 16
% corderos circadianos	2/8 (25%)	7/14 (50%)
Circadianidad (valor P)	0.423	0.10
Semana 4	119\pm6	116\pm5
Primer pico (cuentas/min)	221 \pm 12	241 \pm 14
Momento primer pico	7:08 \pm 0.13	7:43 \pm 0.13
Segundo pico (cuentas/min)	232 \pm 15	203 \pm 14
Momento segundo pico	16:08 \pm 0.13	16:56 \pm 0.20
Intervalo entre picos (h)	9.0 \pm 0.0	9.21 \pm 0.1
Día (cuentas/min)	153 \pm 9	162 \pm 8
Noche (cuentas/min)	91 \pm 7	78 \pm 4
No actividad (%)	51 \pm 1	53 \pm 1
% corderos circadianos	6/8 (75%)	14/14 (100%)
Circadianidad (valor P)	0.012	0.012
MESOR (cuentas/min)	119 \pm 8	116 \pm 5
Amplitud (cuentas/min)	40 \pm 2	52 \pm 3
Acrofase (momento)	13:10 \pm 0.1	12:41 \pm 0.1

4.2. Ritmos Circadianos

El estudio de la distribución temporal de la actividad de los corderos con el método cosinor, reveló que durante la primera semana de lactación el ritmo de los corderos no era circadiano, es decir, que su actividad no se ajustaba a un ritmo de 24 h ($P=0,143$). Sin embargo, los datos analizados de la semana 4 sí muestran un ritmo circadiano de 24 h en los corderos ($P=0,0029$). De hecho, la proporción de corderos con ritmos circadianos aumentó notablemente en la cuarta semana (Tabla 1), momento en que la mayoría de corderos seguían ritmos circadianos en sus VM, y cuya acrofase media se producía alrededor de las 13:00 h.

No hubo diferencias en cuanto a la ritmidad circadiana al comparar machos con hembras, o corderos de parto simple con corderos de parto doble durante la primera semana (Tablas 2 y 3), mientras que en la cuarta semana, tanto machos como hembras y tanto corderos de parto doble como de parto simple mostraban signos de circadianidad, sin diferencias entre ellos en el MESOR, amplitud o acrofase (Tablas 2 y 3).

4.3. Proximidad y Distancia

La proximidad media que hubo entre los corderos a lo largo del estudio fue de $22,54\pm0,27$ min/hora, y la distancia media fue de $2,07\pm0,01$ m, aunque hubo diferencias significativas entre las dos semanas bajo estudio en lo referente a la proximidad (semana 1: $19,64\pm0,37$ min/hora; semana 4: $33,20\pm0,35$ min/hora; $P<0,05$), no así en lo relativo a la distancia (semana 1: $2,07\pm0,01$ m; semana 4: $2,00\pm0,01$ m). La distribución media de la proximidad y de la distancia a lo largo del día se muestra en la figura 7. Las proximidades y distancias medias tanto diurnas como nocturnas fueron similares durante la primera semana, pero en la cuarta la proximidad media nocturna fue superior y la distancia menor en comparación con los datos diurnos ($P<0,001$) (Tabla 4).

Tabla 4. Proximidad media (\pm DS) (calculada en función de la presencia o ausencia de señal Bluetooth[®]) y distancia (calculada en base a RSSI) entre corderos durante la primera y cuarta semana de vida durante el día (08:00 – 18:59) y noche (19:00 – 07:59), medidas con actigrafía.

	Proximidad (min/h)		Distancia (m)	
	Semana 1	Semana 4	Semana 1	Semana 4
Día	19.75 ± 0.49	31.84 ± 0.45^a	2.14 ± 0.01	1.94 ± 0.01^a
Noche	19.50 ± 0.60	34.79 ± 0.51^b	2.14 ± 0.01	2.09 ± 0.01^b

Tabla 5. Proximidad media (\pm DS) (calculada en función de la presencia o ausencia de señal Bluetooth®) y distancia (calculada en base a RSSI) entre corderos de parto doble con sus hermanos y con el resto de corderos, durante la primera y cuarta semana de vida, medidas con actigraffía

		Semana 1		Semana 4	
		Proximidad (min/h)			
		Con hermano	Con resto	Con hermano	Con resto
		corderos		corderos	
Simples			17.15 \pm 0.39 ^x		29.22 \pm 0.62 ^y
Dobles	24.70 \pm 0.56 ^{ax}	14.59 \pm 0.32 ^{by}	41.16 \pm 0.50 ^{ax}	25.22 \pm 0.45 ^{by}	
Distancia (m)					
		Con hermano	Con resto	Con hermano	Con resto
		corderos		corderos	
Simples			2.46 \pm 0.11		2.39 \pm 0.02
Dobles	1.81 \pm 0.02 ^a	2.47 \pm 0.01 ^b	1.56 \pm 0.02 ^a	2.46 \pm 0.01 ^b	

La tabla 5 resume las relaciones de los corderos de parto doble con sus hermanos y con el resto de corderos mostrando tanto proximidades como distancias. El tiempo de proximidad entre los corderos de parto simple con otros corderos fue menor durante la primera semana en comparación con la cuarta, y no hubo diferencias en cuanto a la distancia al comparar los datos de corderos de parto simple a lo largo de las dos semanas. Sin embargo, los corderos hermanos pasaron más tiempo juntos ($P<0,001$) entre ellos que con el resto de corderos durante las dos semanas; también la proximidad de los corderos de parto doble con otros corderos fue superior que la que hubo entre corderos de parto simple con el resto en ambas semanas. Es más, durante la cuarta semana los corderos de parto doble estuvieron más cerca de sus hermanos especialmente durante la noche (Figuras 8 y 9), ya que sí que hubo diferencias significativas tanto en la proximidad como en la distancia durante la cuarta semana al comparar los corderos de parto simple y parto doble.

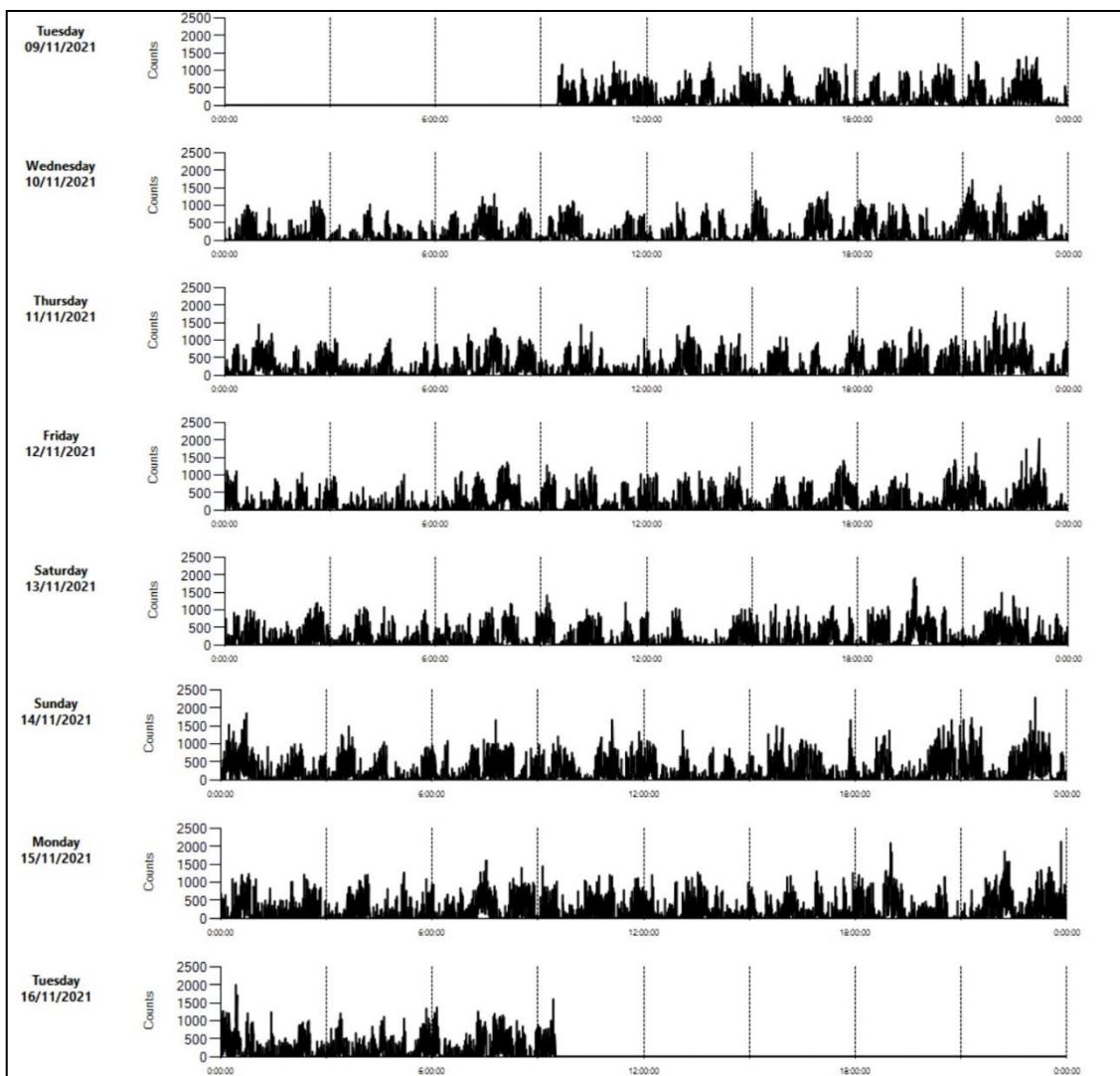


Figura 2: Ejemplo de un actograma de un cordero durante su primera semana de vida, representado por el software ActiLife (ActiGraph, LLC) (cuentas de actividad/min)

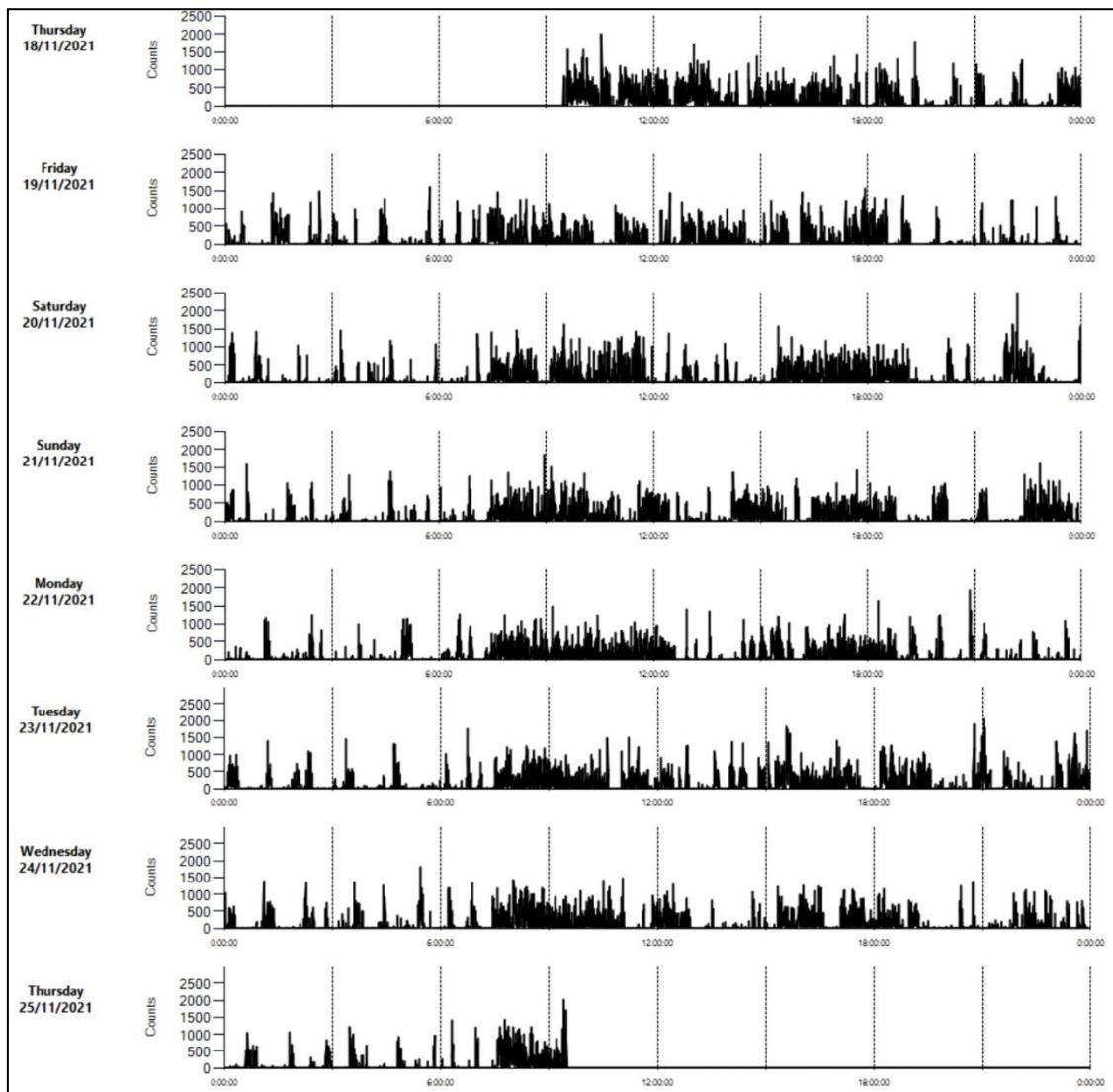


Figura 3: Ejemplo de un actograma de un cordero durante su cuarta semana de vida, representado por el software ActiLife (ActiGraph, LLC) (cuentas de actividad/min)

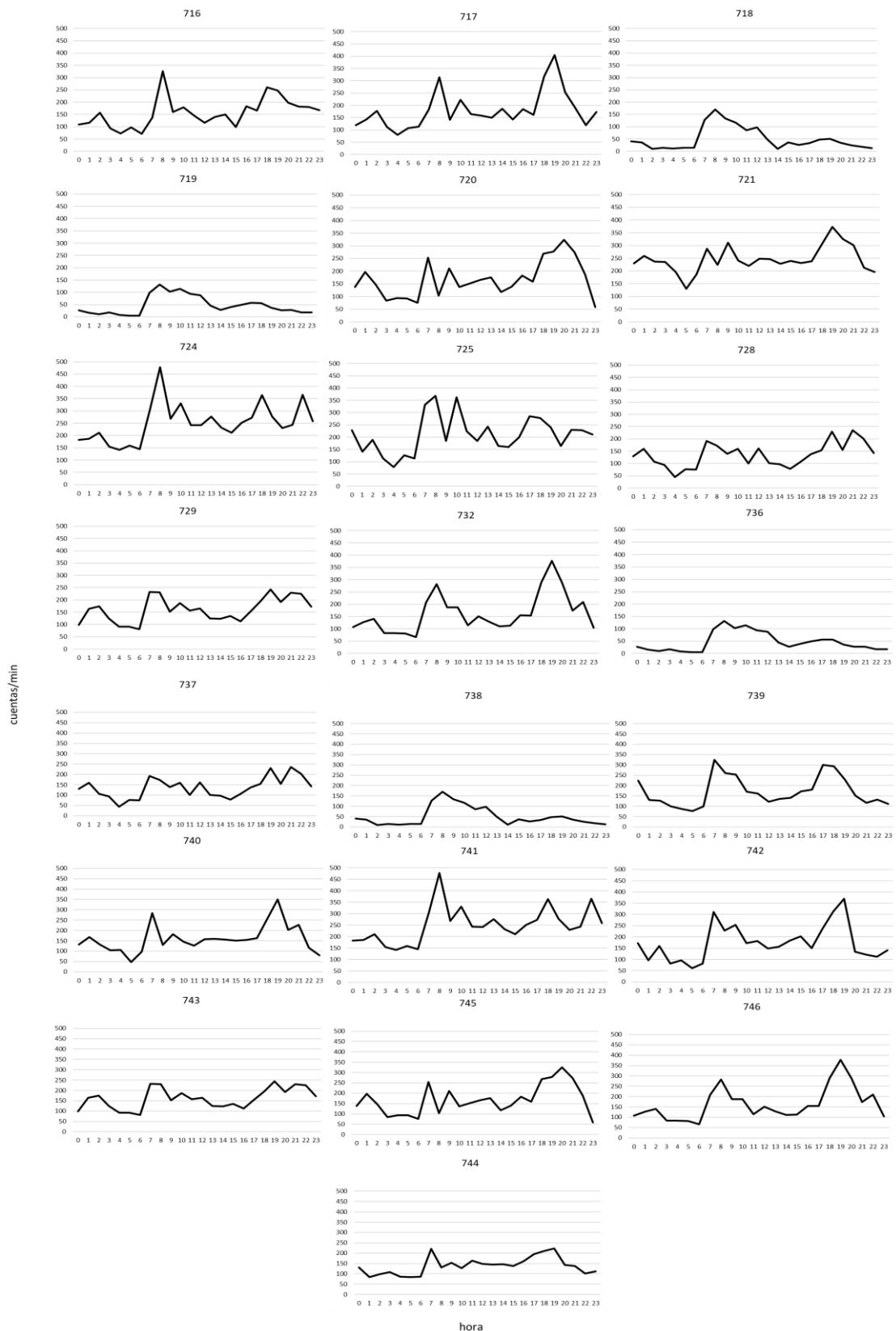


Figura 4: Curvas individuales de actividad diaria durante la primera semana de vida de cada uno de los corderos estudiados (cuentas de actividad por minuto por hora), medidas con actigrafía.
Representado por el software ActiLife (ActiGraph, LLC)

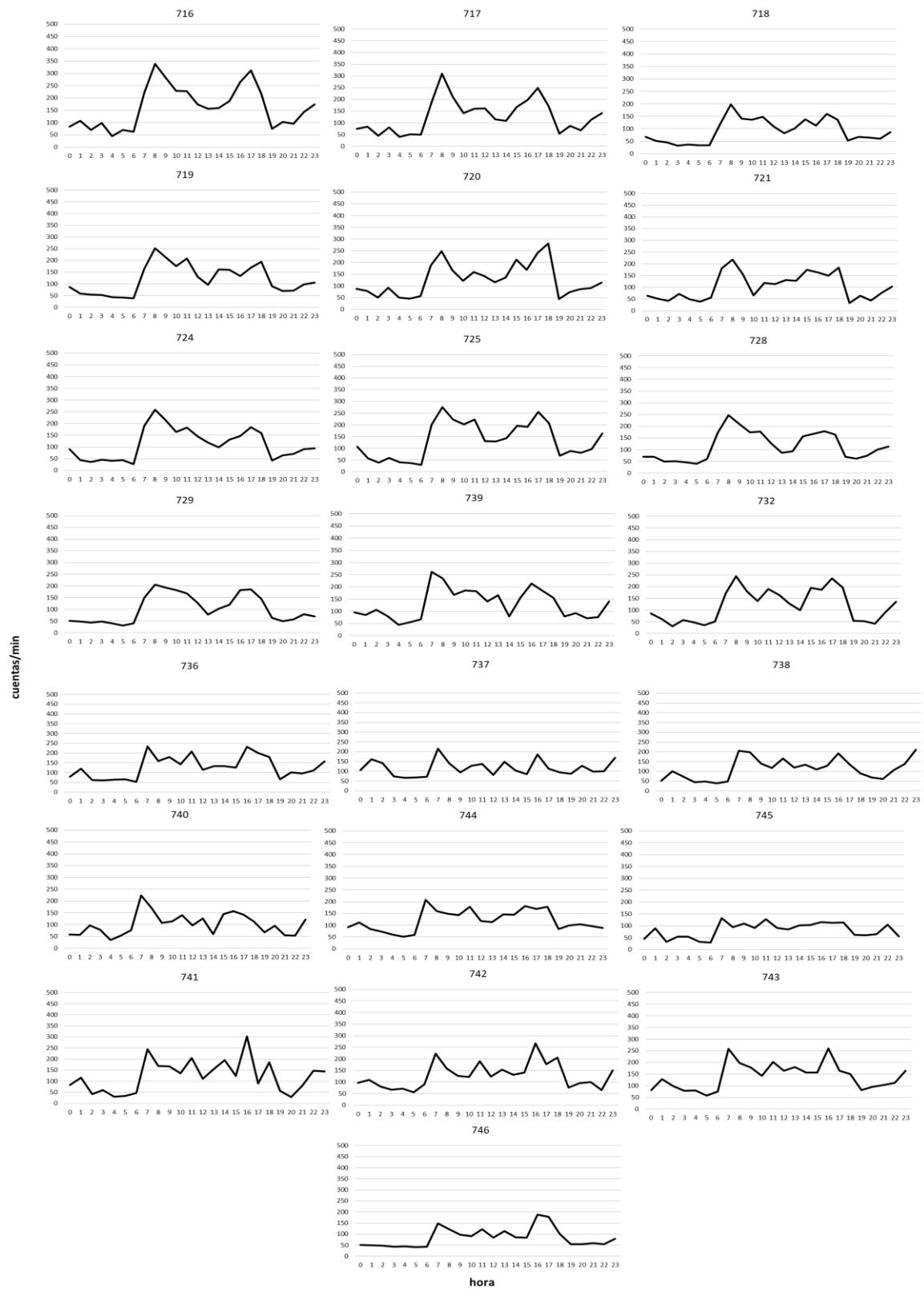


Figura 5: Curvas individuales de actividad diaria durante la cuarta semana de vida de cada uno de los corderos estudiados (cuentas de actividad por minuto por hora), medidas con actigrafía. Representado por el software ActiLife (ActiGraph, LLC)

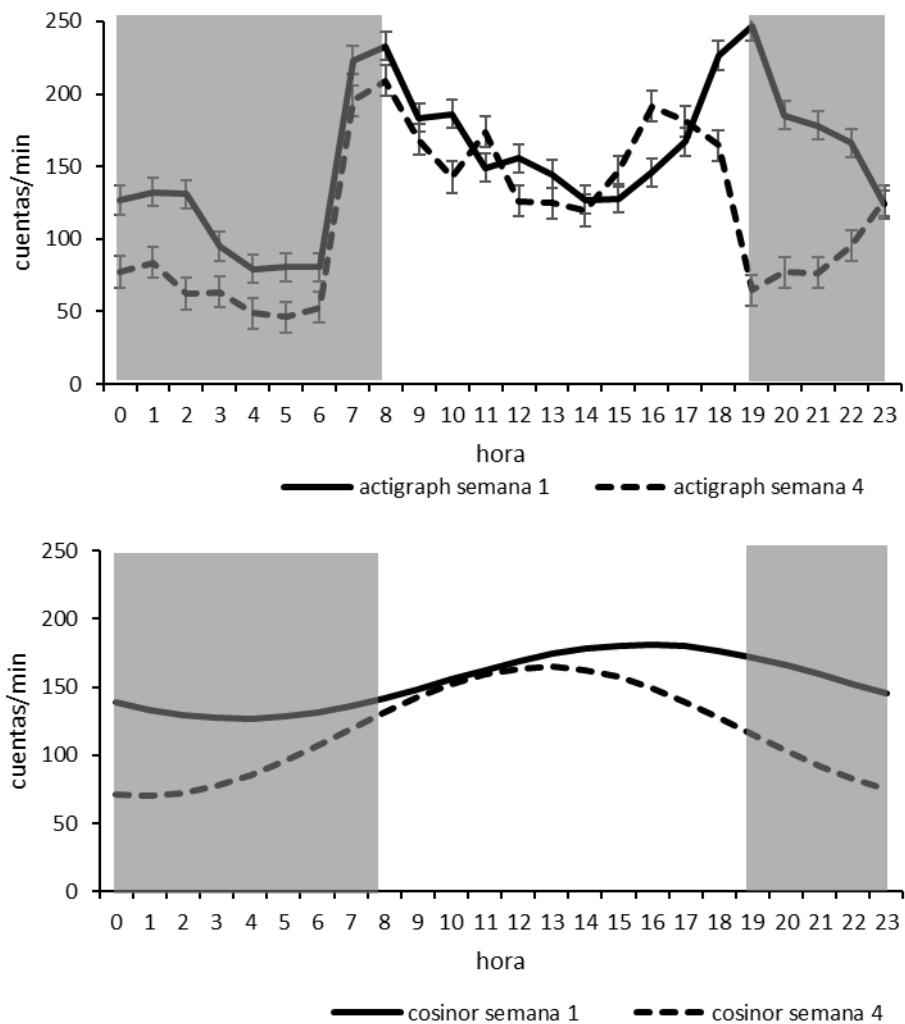


Figura 6: Actividad media ($\pm DS$) (cuentas/min) de los corderos durante la primera y cuarta semana de vida, medida con actigrafía, y su correspondiente curva cosinor de 24 h de ritmo de actividad (las áreas oscurecidas representan el tiempo de noche)

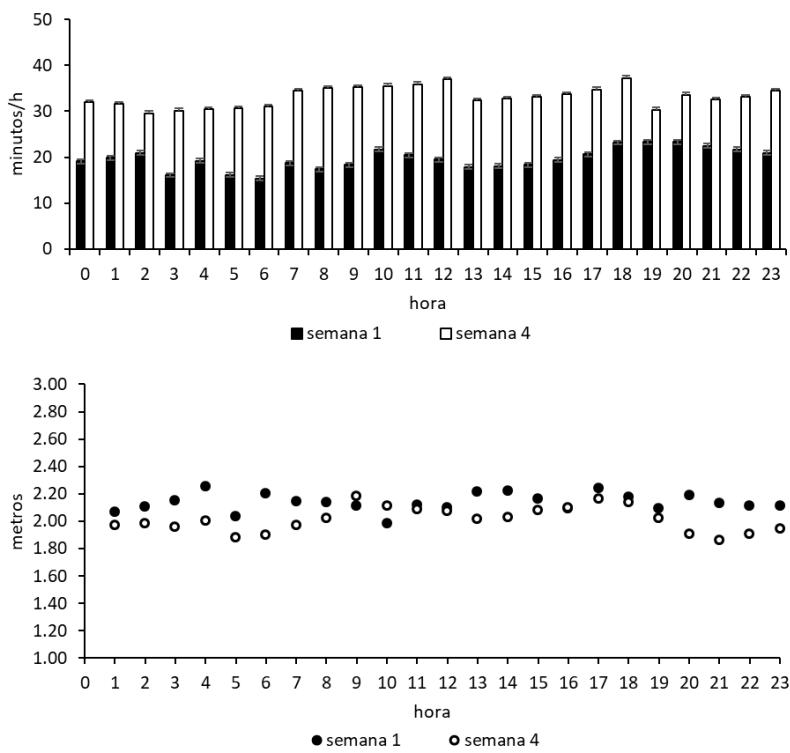


Figura 7. Proximidad media ($\pm DS$) diaria (min/h) (calculada mediante ausencia o presencia de señal Bluetooth®) y distancia media ($\pm DS$) diaria (calculada a partir del RSSI), durante la primera y cuarta semana de vida

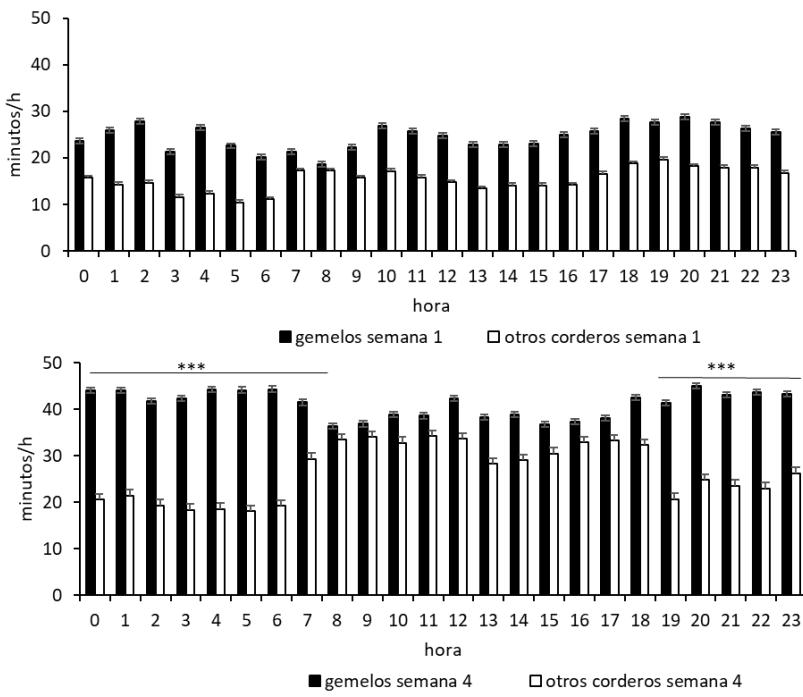


Figura 8. Proximidad media ($\pm DS$) diaria (min/h) (calculada mediante ausencia o presencia de señal Bluetooth®) entre los corderos hermanos y con el resto de corderos, durante la primera y cuarta semana de vida

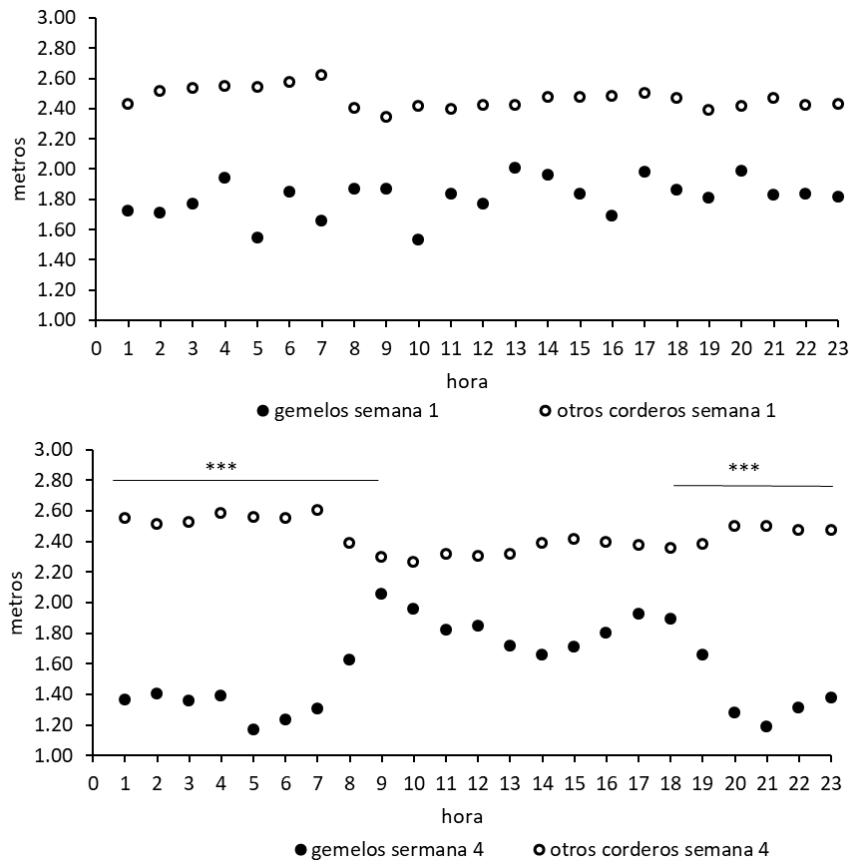


Figura 9. Distancia media (\pm DS) diaria (calculada a partir del RSSI) entre los corderos hermanos y con el resto de corderos, durante la primera y cuarta semana de vida, durante la primera y cuarta semana de vida

5. Discusión

Los resultados de este experimento han demostrado que los corderos tienen un patrón de actividad similar durante la primera y cuarta semana de lactación, aunque conforme se van desarrollando va disminuyendo su nivel de actividad. El primer pico de actividad siempre se daba a las 08:00 h, momento que coincide con la hora a la que se alimentaba concentrado a las ovejas. Pese a que las madres no se han monitorizado en este trabajo, otras ovejas con registradores de datos subcutáneos alojadas en el mismo redil y con un manejo muy similar al que tuvieron los animales de este estudio, tenían un pico de actividad inmediatamente después de ser alimentadas (Abecia *et al.*, 2021). Por tanto, es probable que el primer pico de actividad de los corderos esté relacionado con el hecho de que las madres van a comer, tal y como indican Sachs y Harris (1978), en el momento en que las ovejas iban a comer los corderos empezaban a correr

de un lado a otro al unísono y a gran velocidad, y conforme las carreras disminuían pasaban a predominar otras actividades de interés. En cuanto al segundo pico de actividad de los corderos durante la tarde, probablemente esté relacionado también con la alimentación de las madres ya que seguramente en ese momento estuviessen alimentándose de paja, de la cual disponen *ad libitum*, o rumiando, ya que son actividades que normalmente realizan las ovejas al inicio y al final del día (Dulphy y Faverdin, 1987).

Las gráficas de actividad de cada cordero, obtenidas gracias al software de ActiGraph, muestran que hay un ciclo continuo de actividad-descanso, que se da con mayor o menor intensidad. Esto va en concordancia con las afirmaciones de Rurak *et al.* (2008), en las que describen que tanto corderos como ovejas con acelerómetros acoplados presentaban episodios de actividad de entre 2 y 60 min de duración separados por períodos de inactividad de duración similar. En este trabajo la proporción de corderos cuya actividad seguía un ritmo circadiano fue baja en la primera semana, pero aumentó hasta casi el 100% de corderos con ritmos circadianos en la cuarta semana. Al igual que en este estudio, Rurak *et al.*, (2008) observaron que tan solo eran circadianos los ritmos de actividad de 3 de 12 corderos durante los primeros días de vida, lo que concuerda también con otros estudios que demuestran que hasta la tercera o cuarta semana de vida no hay un ritmo claramente cíclico de melatonina en sangre (Norwak *et al.*, 1990). Sin embargo, Gianetto *et al.*, (2017) señalaron que en cabritos y corderos recién nacidos el sistema circadiano está prácticamente desarrollado por completo en las primeras horas de vida.

El hecho de que la actividad registrada por corderos de parto doble durante las horas de luz sea mayor en la primera semana de lactación en comparación con los de parto simple, podría ser consecuencia de la actividad de la madre; ya que, aunque se ha visto que comportamientos como estar de pie, tumbarse o alimentarse siguen patrones circadianos similares entre ovejas que amamantan corderos de parto simple o doble (Schmitt *et al.*, 2014), las que crían dos corderos comen más frecuentemente durante las horas diurnas, lo que sugiere que la mayor demanda metabólica se suple aumentando la ingesta, especialmente durante las dos primeras semanas de lactación.

En general, los corderos pasaron más tiempo junto a otros corderos y a distancias inferiores durante la cuarta semana en comparación con la primera. Parece ser que el interés de la madre por su cordero es mayor inmediatamente después del parto y va disminuyendo conforme el cordero va creciendo, mientras que el interés del cordero en la madre tiene un desarrollo contrario (Maldonado *et al.*, 2015), así que parece probable que los corderos

interactuaran más con otros corderos a medida que fuesen creciendo y el vínculo con la madre se fuera debilitando. La información recogida a través de las señales Bluetooth® de los actígrafos, muestra que los corderos de parto doble pasan más tiempo (proximidad) cerca de sus hermanos y a distancias menores que con el resto de corderos, lo que concuerda con estudios previos sobre las relaciones entre corderos hermanos llevados a cabo empleando la observación directa. En esta misma dirección, Shillito Walser *et al.* (1981) señalaron que los corderos pasaban más del doble de tiempo cerca de su hermano que con cualquier otro cordero (54% y 25% respectivamente); y utilizando transferencia de embriones procedentes de distintas razas ovinas, concluyeron que el vínculo entre corderos nacidos de la misma oveja es el resultado del propio parto y desarrollo juntos, no debido a la herencia genética. En cabras, es común ver a cabritos hermanos moviéndose juntos en pareja (Alley *et al.*, 1995), y cada uno de los hermanos se encontraba a una distancia similar de la madre el 84% del tiempo durante los tres primeros meses de vida.



Figura 10. Interacción entre corderos, a la izquierda cordero con actígrafo.

Las observaciones de este trabajo arrojan datos similares a los de Ozella *et al.*, (2022), en los que se refleja que aunque tanto los corderos de parto simple como los de parto doble interactúan en gran cantidad con sus madres, los de parto doble se asocian más fuertemente con sus hermanos que con sus madres. El modo en que un cordero es capaz de diferenciar a su hermano de otro cordero ha sido estudiado por diferentes autores. Nowak (1990) determinó que los corderos son capaces de reconocer a la madre a distancia a los tres días de vida, pero la capacidad para reconocer a sus hermanos tarda más en desarrollarse, aunque está presente a los 7 días de vida. Porter *et al.* (1997) llevaron a cabo un experimento en el que vieron que no es necesario que haya contacto físico completo, vocalizaciones, ni patrón de comportamiento

normal para que un cordero sea capaz de reconocer a su hermano, lo que querría decir la capacidad de reconocer a otros corderos probablemente se base en señales visuales y olfatorias. Sin embargo, en otro experimento realizado por Ligout *et al.* (2004), comprobaron que los corderos son capaces de diferenciar entre su hermano, un cordero conocido y un cordero desconocido incluso padeciendo un deterioro en la capacidad olfativa (anosmia transitoria), por lo que llegaron a la conclusión de que la capacidad de discriminación social en corderos es un mecanismo multisensorial y no es necesario que se den simultáneamente estímulos visuales, auditivos y olfatorios, sino que es suficiente con al menos dos opciones. De hecho, los corderos de parte doble de este estudio, cuando más cerca estuvieron de sus hermanos fue durante las noches de la cuarta semana, lo que indica que su capacidad de reconocimiento es flexible y capaz de adaptarse a la ausencia de algunos estímulos, como por ejemplo la capacidad de reconocimiento del hermano en ausencia de señales visuales durante la noche.

Parece ser que la madre guía el desarrollo de las relaciones sociales de sus crías con sus propios hermanos y con otros compañeros de parición (Ligout and Porter, 2004), lo que provoca que los corderos criados con sus madres muestren una clara preferencia por sus gemelos en comparación con otros corderos, ya que esto no sucede en corderos criados en lactancia artificial. En el primer caso, el efecto de la madre es evidente incluso aunque no esté presente en los encuentros sociales de sus corderos. Este papel destacado de la madre en el desarrollo social de sus corderos no es sorprendente, ya que el vínculo entre la madre y el cordero es, probablemente, el suceso social más importante de la vida de un cordero (Veissier *et al.*, 1998).



Figura 11. Interacción entre madre y cordero con actígrafo.

En el presente trabajo, las hembras tuvieron un mayor grado de actividad que los machos. Rurak *et al.* (2008) encontraron diferencias entre la movilidad postnatal de corderos machos y hembras, aunque la actividad de los machos aumentaba a los 4-5 días de vida. Sachs y Harris, (1978) describieron diferencias en cuanto a la proporción de corderos de distinto sexo que observaron montándose, embistiendo o brincando; describen que las hembras tienden más a saltar que los machos. Teniendo en cuenta que brincar es el comportamiento más habitual en corderos, esto podría ser la causa de que los actígrafos registren una mayor actividad por parte de las hembras. May *et al.*, (2008) también encontraron diferencias en la actividad de corderos de distinto sexo durante las primeras semanas de vida, aunque no observaron diferencias en la distancia que mantenían los corderos con la madre o la actividad locomotora, sí describen que las hembras presentaban un comportamiento más sincronizado con el de la madre en comparación con los machos, lo que al final terminaba resultando en que las hembras mantenían una distancia menor con la madre. Estas diferencias en el comportamiento específicas de cada sexo afectan a las relaciones sociales y espaciales entre la madre y los corderos, y probablemente vayan aumentando con la edad, teniendo como resultado la segregación sexual.

6. Conclusión

En resumen, la actigrafía es un método útil y valioso para monitorizar la actividad de corderos durante las primeras semanas de vida, y muestra que los ritmos circadianos de actividad no están presentes los primeros días de vida. Los corderos de parto doble pasaron más tiempo junto a sus hermanos en comparación con el resto de corderos, manteniendo una distancia menor, especialmente durante la noche, lo que muestra el fuerte vínculo que se crea entre estos animales.

Conclusion

In conclusion, actigraphy is a useful and valuable method to monitor the activity of lambs during their first weeks of life, and has revealed that circadian rhythms of activity are not instituted during their first days of life. Twin lambs spent more time with their siblings than with the rest of the lambs and at shorter distance, particularly during the night, showing the strong bond that is established between twin lambs.

7. Valoración personal

Desde un inicio, para mí era importante que mi trabajo de fin de grado me permitiera involucrarme de forma práctica en el desarrollo del mismo, por lo que este trabajo ha sido fantástico, realmente he disfrutado mucho con los animales y las personas que han estado a mi alrededor en este proceso.

La realización de este trabajo me ha permitido aprender muchas cosas y muy distintas entre sí, desde el manejo de los animales, nuevas tecnologías con un potencial enorme dentro de la veterinaria como la actigrafía, a adaptarse a las circunstancias que van sucediendo a lo largo del desarrollo del experimento, mejorar la búsqueda de bibliografía, la importancia de la estadística, también he podido afianzar conocimientos teóricos adquiridos durante el grado, ver la importancia del inglés en la literatura científica...

Los estudios de este tipo, en mi opinión, son relevantes en la medida en que proporcionan conocimiento sobre el comportamiento animal en estabulación. Esto en una sociedad que valora cada vez más el bienestar animal y es más crítica en sus hábitos de consumo realmente cobra importancia.

Finalmente, me gustaría agradecer a José Alfonso Abecia Martínez, director de este trabajo, su enorme ayuda, su apoyo y su cercanía; así como a Francisco Canto, su tiempo, sus consejos y su paciencia. Desde luego que ellos han hecho posible este trabajo. También me gustaría agradecer a los trabajadores del S.A.E.A. su labor, fundamental en la investigación animal en esta facultad.

8. Bibliografía

- Abecia, J. A., Riocerezo, C., Luis, S. y Bjarnason, A. (2021). "A preliminary study of changes in circadian rhythmicity of sheep around lambing."
- ActiGraph (2022). ActiGraph wGT3X-BT. Disponible en: <https://actigraphcorp.com/actigraph-wgt3x-bt/> (Consultado el 16/04/2022)
- ActiGraph (2022). ActiLife. Disponible en: <https://actigraphcorp.com/actilife/> (Consultado el 16/04/2022)
- Alley, J. C., Fordham, R. A., y Minot, E. O. (1995). "Mother-offspring interactions in feral goats—a behavioural perspective of maternal investment." *New Zealand Journal of Zoology*, 22(1), 17-23.
- Benjamin, M., & Yik, S. (2019). "Precision Livestock Farming in Swine Welfare: A Review for Swine Practitioners". *Animals: an open access journal from MDPI*, 9(4), 133. DOI: 10.3390/ani9040133
- Bouten, C.V.C., Koekkoek, K.T.M., Verduin, M., Kodde, R. Janssen, J.D. (1997). "A triaxial accelerometer and portable data processing unit for the assessment of daily physical activity." 44(3), 136–147. DOI: 10.1109/10.554760
- Brown, D.D., Kays, R., Wikelski M., Wilson R. y Klimley A.P. (2013) "Observing the unwatchable through acceleration logging of animal behavior." *Animal Biotelemetry* 1(1), 1-16, 20. DOI: 10.1186/2050-3385-1-20
- Chapa, J.M., Maschat, K., Iwersen, M., Baumgartner, J. y Drillich, M. (2020). "Accelerometer systems as tools for health and welfare assessment in cattle and pigs – A review." *Behavioural Processes*. DOI:181. 10.1016/j.beproc.2020.104262
- Clark, B. K., Winkler, E. A., Brakenridge, C. L., Trost, S. G., & Healy, G. N. (2018). "Using Bluetooth proximity sensing to determine where office workers spend time at work". *PLoS one*, 13(3), e0193971. DOI:10.1371/journal.pone.0193971
- Dulphy, J. P. y Faverdin, P. (1987). "L'ingestion alimentaire chez les ruminants: modalités et phénomènes associés." *Reproduction Nutrition Développement*, 27(1B), 129-155.
- Giannetto, C., Arfuso, F., Fazio, F., Giudice, E., Panzera, M., y Piccione, G. (2017). "Rhythmic function of body temperature, breathing and heart rates in newborn goats and sheep during the first hours of life." *Journal of Veterinary Behavior*, 18, 29-36.
- Gladden, N., Cuthbert, E., Ellis, K. y McKeegan, D. (2020). "Use of a Tri-Axial Accelerometer Can Reliably Detect Play Behaviour in Newborn Calves." *Animals*, 10(7), 1137 DOI:10.3390/ani10071137
- IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Ligout, S. y Porter, R. (2004). "Effect of maternal presence on the development of social relationships among lambs." *Applied Animal Behaviour Science*. 88. DOI:10.1016/j.applanim.2004.03.010

Madrid, J.A. y Rol, M.A. (2015) "Ritmos, relojes y relojeros. Una introducción a la Cronobiología." *Revista Eubacteria. Especial de Cronobiología*, 33. Disponible en: https://www.um.es/eubacteria/cronobiologia_introduccion.pdf (Consultado en 06/06/2022)

Maldonado, A., Orihuela, A., Aguirre, V., Vázquez, R., y Flores-Pérez, I. (2015). "Changes in mother-offspring relationships with the increasing age of the lamb in hair sheep (Ovis aries)." *Journal of Veterinary Behavior*, 10(2), 166-170.

Mathie, M. J., Coster, A. C., Lovell, N. H., y Celler, B. G. (2004). "Accelerometry: providing an integrated, practical method for long-term, ambulatory monitoring of human movement." *Physiological measurement*, 25(2), R1–R20. DOI: 10.1088/0967-3334/25/2/r01

May, R., van Dijk, J., Forland, J.M., Andersen, R., y Landa, A. (2008). "Behavioural patterns in ewe-lamb pairs and vulnerability to predation by wolverines." *Applied Animal Behaviour Science*, 112(1-2), 58-67.

Merriam-Webster. (n.d.). Actigraphy. In Merriam-Webster.com medical dictionary. Disponible en: <https://www.merriam-webster.com/medical/actigraphy> (Consultado el 14/04/2022)

Miguel, J.H., Cadenas-Sánchez, C., Ekelund, U., Delisle Nyström, C., Mora-Gonzalez, J., Löf, M., Labayen, I., Ruiz, J.R., y Ortega, F. B. (2017). "Accelerometer Data Collection and Processing Criteria to Assess Physical Activity and Other Outcomes: A Systematic Review and Practical Considerations." *Sports medicine*, 47(9), 1821–1845. DOI: 10.1007/s40279-017-0716-0

Molcan, Lubos. (2019). "Time distributed data analysis by Cosinor.Online application." DOI: 10.1101/805960

Nowak, R. (1990). "Mother and sibling discrimination at a distance by three-to seven-day-old lambs." *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 23(3), 285-295.

Nowak, R., Young, I. R., y McMillen, I. C. (1990). "Emergence of the diurnal rhythm in plasma melatonin concentrations in newborn lambs delivered to intact or pinealectomized ewes." *Journal of Endocrinology* 125, 1, 97-102 DOI: 10.1677/joe.0.1250097

Ortmeyer, H., Robey, L. y McDonald, T. (2018). "Combining Actigraph Link and PetPace Collar Data to Measure Activity, Proximity, and Physiological Responses in Freely Moving Dogs in a Natural Environment." *Animals*. 8. 230. DOI: 10.3390/ani8120230.

Ozella, L., Price, E., Langford, J., Lewis, K.E., Cattuto, C., y Croft, D.P. (2022). "Association networks and social temporal dynamics in ewes and lambs." *Applied Animal Behaviour Science*, 246, 105515.

Porter, R.H., Nowak R., Orgeur P., Lévy, F., y Schaal, B. (1997). "Twin/Non-Twin Discrimination by Lambs: An Investigation of Salient Stimulus Characteristics." *Behaviour*, 134(5/6), 463–475.

Porter, R., y Ligout, S. (2004). "The Role of Visual Cues in Lambs' Discrimination Between Individual Agemates," *Behaviour*, 141(5), 617-632. DOI: 10.1163/1568539041166744

Rurak D.W., Fay S. y Gruber N.C. (2008) "Measurement of rest and activity in newborn lambs using actigraphy: studies in term and preterm lambs." *Reproduction, Fertility and Development* 20, 418-430. DOI: 10.1071/RD07149

Sachs, B. y Harris, V. (1978). "Sex Differences and Developmental Changes in Selected Juvenile Activities (Play) of Domestic Lambs." *Animal Behaviour*. 26. 678-684. DOI: 10.1016/0003-3472(78)90134-3

Schmitt, B., Povinelli, L., Crodian, J., Casey, T., y Plaut, K. (2014). "Circadian rhythms of ewes suckling singletons versus twins during the second week of lactation." *Bios*, 85(4), 207-217.

Shillito Walser, E., Willadsen, S. y Hague, P., (1981). "Pair association between lambs of different breeds born to Jacob and Dalesbred ewes after embryo transplantation." *Appl. Anim. Ethol.*, 7: 351-358.

Vanhelst J. (2019). "Quantification de l'activité physique par l'accélérométrie [Physical activity assessment using accelerometry]." *Revue d'épidémiologie et de santé publique*, 67(2), 126–134. DOI: 10.1016/j.respe.2018.10.010

Veissier, I., Boissy, A., Nowak, R., Orgeur, P., y Poindron, P. (1998). "Ontogeny of social awareness in domestic herbivores." *Applied Animal Behaviour Science*, 57(3-4), 233-245.

Wernimont, S.M., Thompson, R.J., Mickelsen, S.L., Smith, S.C., Alvarenga, I.C., y Gross, K.L. (2018). "Use of Accelerometer Activity Monitors to Detect Changes in Pruritic Behaviors: Interim Clinical Data on 6 Dogs." *Sensors*, 18(1), 249. DOI: 10.3390/s18010249