

# EVALUACIÓN DE INDICADORES DE BIENESTAR ANIMAL EN GUAJOLOTE MIXTO AUTÓCTONO (*M. gallopavo*) EN CONFINAMIENTO Y LIBERTAD EN VILLAFLORES CHIAPAS, MÉXICO

## EVALUATION OF ANIMAL WELFARE INDICATORS IN AUTOCHTHONOUS DOMESTIC TURKEY (*M. gallopavo*) IN CONFINEMENT AND FREE RANGE AT VILLAFLORES CHIAPAS, MEXICO

Francisco A. Cigarroa-V.<sup>1</sup>, José G. Herrera-Haro<sup>1\*</sup>, Benigno Ruiz-Sesma<sup>2</sup>,  
Ma. Esther Ortega-Cerrilla<sup>1</sup>, Juan M. Cuca-García<sup>1</sup>, José L. Campo-Chavarrí<sup>3</sup>,  
Reina I. Rojas-Martínez<sup>1</sup>, Clemente Lemus-Flores<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados. 56230. Carretera México-Texcoco, Km. 36.5, Montecillo, Estado de México, México. (haro@colpos.mx). <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Chiapas. 29000. Carretera Ejido Emiliano Zapata, Km. 8, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. <sup>3</sup>Departamento Mejora Genética Animal. Instituto Nacional Investigación Agraria y Alimentaria. 28040. Carretera de La Coruña, Km 7.5. Madrid, España. <sup>4</sup>Universidad Autónoma de Nayarit, Área de Ciencias Biológico Agropecuarias y Pesqueras. 63155. Carretera Tepic-Compostela, Km. 9. Tepic, Nayarit, México.

### RESUMEN

Los sistemas de producción avícola en pequeña escala propician un mejor bienestar animal, cuya evaluación puede realizarse usando índices de estrés como asimetría fluctuante (AF), inmovilidad muscular (IM) y el cociente entre heterófilos/linfocitos (H:L). La estabilidad en el desarrollo del animal es consecuencia de perturbaciones acumuladas durante su vida. El objetivo de esta investigación fue evaluar AF, IM y H:L como indicadores de bienestar del guajolote mixto autóctono (*M. gallopavo*) en un sistema de producción familiar en la región Fraylesca, Chiapas, México. La duración de la prueba fue 67 d, con 7 d de adaptación, y se usaron 39 guajolotes de 7 meses de edad con alojamiento tradicional (en libertad) o jaulas (confinamiento). El análisis estadístico se basó en un modelo de efectos fijos con dos criterios de clasificación e interacción (tipo de alojamiento y sexo), usando GLM de SAS. Los resultados mostraron diferencias en el índice AF ( $p \leq 0.05$ ) entre largo del ala, ancho y largo de tarso y fue mayor para las machos en jaulas; además, hubo diferencias ( $p \leq 0.05$ ) para el índice H:L. No se encontraron diferencias para IM ( $p > 0.05$ ). El manejo de los guajolotes mixtos en confinamiento produce mayor estrés, evaluado por su índice de asimetría fluctuante en comparación con aquellos en libertad.

### ABSTRACT

Small-scale poultry production systems promote higher animal welfare, which can be assessed using stress indexes such as the fluctuating asymmetry (FA), muscle immobility (MI), and heterophile/lymphocyte (H:L) ratios. The development stability in animals is due to accumulated disturbances during its life. The objective of this research was to evaluate FA, MI and H:L as well-being indicators in mixed native turkeys (*M. gallopavo*) on family production systems at the Fraylesca region, Chiapas, Mexico. The duration of the test was of 67 d, with 7 d adaptation, on 39 individuals of 7 months age, in traditional (free range) and cages (confinement) accommodation. Statistical analysis was based on a fixed effects model with two classification and an interaction criteria (accommodation type and gender), using the GLM of the SAS statistical software. Our results showed differences in the FA index ( $p \leq 0.05$ ) between the wing length, width and length of the tarsus, and were higher for caged males; in addition, there were differences ( $p \leq 0.05$ ) on the H:L index. No differences were found for the MI ( $p > 0.05$ ). The mixed turkey management in confinement produces greater stress, evidenced by their fluctuating asymmetry index compared to those in the free range system.

\*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: agosto, 2016. Aprobado: junio, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 51: 833-847. 2017.

**Keywords:** fluctuating asymmetry, animal welfare, autochthonous turkey.

**Palabras clave:** asimetría fluctuante, bienestar animal, guajolote autóctono.

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción avícola de carne y huevo son económicamente eficientes porque aumentan la población de aves por unidad de área y disminuyen el tiempo para enviarlos al mercado, lo cual propicia cuadros conductuales anormales caracterizados por crisis de pánico colectivo o histeria aviar y canibalismo (García-Belenguer y Mormede, 1993), debido al estrés físico causado por casetas con temperaturas ambientales inapropiadas, hambre, sed, daño o ruido y daño psicológico por sujeción y mal manejo. Sin embargo, hay un mercado nuevo de productos avícolas diferenciados en términos de bienestar animal, el cual crece a medida que aumenta la información, la conciencia y la percepción de la sociedad con relación a la producción animal (Raineri *et al.*, 2012).

El impacto del manejo de las aves, en términos de bienestar animal, se puede evaluar al conocer la estabilidad en el desarrollo (ED) de un organismo, porque refleja la habilidad de un individuo para producir en forma ideal bajo determinadas condiciones y evidencia sus capacidades intrínsecas para resistir accidentes y perturbaciones externas durante su crecimiento y desarrollo (Clarke, 1998; Benítez y Parra, 2011). Una herramienta para estimar la ED es evaluar estructuras morfológicas bilaterales mediante un índice de asimetría fluctuante, expresado como el valor absoluto de la diferencia entre los lados izquierdo y derecho (I-D) de los animales, cuyo valor cercano a cero indicaría una simetría perfecta, el cual en condiciones ideales evidenciaría que los lados serían idénticos (Klingenberg *et al.*, 2003; Van Dongen, 2006). Sin embargo, no existe semejanza absoluta porque las estructuras anatómicas bilaterales no son similares en tamaño y forma, siempre difieren entre sí originando AF, la cual es evaluada a través de sus diferencias mediante una distribución normal estándar (Cocilovo *et al.*, 2006). Otras formas, como la asimetría direccional (AD) y la antisimetría (AS) se evalúan mediante la distribución del carácter, porque cuando un lado es mayor que el otro la AD se distribuye normal con una media distinta de cero y AS como una distribución no-normal con media cero (Palmer, 1994; Auffray *et al.*

## INTRODUCTION

Poultry and egg production systems are economically efficient because they increase bird population per unit area and decrease the time to commercialization. These leads to abnormal behavioral patterns characterized by collective panic attacks or avian hysteria and cannibalism (García-Belenguer and Mormede, 1993), due to the physical stress caused by shelters with inappropriate environmental temperatures, hunger, thirst, damage or noise and psychological damage by mismanagement. However, there is a new market for poultry products, which is differentiate in terms of animal welfare, and grows as information, awareness and society's perception of animal production increase (Raineri *et al.*, 2012).

The bird management impact, in regard animal welfare, is evaluated by assessing the development stability (DE) of an organism, because it reflects the individual's ability to ideally produce under certain conditions and shows their intrinsic abilities to resist accidents and external disturbances during their growth and development (Clarke, 1998, Benítez and Parra, 2011). A tool to estimate DE is to evaluate the bilateral morphological structures by a fluctuating asymmetry index, expressed as the absolute value of the difference between the left and right (L-R) sides of the animals, whose value close to zero would indicate perfect symmetry, which would ideally shows that the sides are identical (Klingenberg *et al.*, 2003; Van Dongen, 2006). However, there is no absolute similarity because the bilateral anatomical structures are not similar in size and shape; they always differ from each other, giving rise to a FA evaluated through their differences by a standard normal distribution (Cocilovo *et al.*, 2006). Other tools, such as the directional asymmetry (DA) and antisymmetry (AS) are evaluated by character distribution. These because, when one side is larger than the other is, the DA has a normal distribution with a mean other than zero and the SA as a non-normal distribution with a mean of zero (Palmer, 1994; Auffray *et al.*, 2003; Knierim *et al.*, 2007). Genetic factors related to loss of genetic variability, homozygosity, directional selection, mutations, and hybridization, as well as environmental factors related to adverse temperatures, nutritional stress, and chemical factors or population density, generate

*al.*, 2003; Knierim *et al.*, 2007). Los factores genéticos relacionados con la pérdida de variabilidad genética, homocigosis, selección direccional, mutaciones e hibridación, así como los factores ambientales relacionados con temperaturas adversas, estrés nutricional y factores químicos o densidad poblacional, generan variaciones que se reflejan en asimetría fluctuante (Parsons, 1990; Campo *et al.*, 2007).

Otro estimador de bienestar animal es la relación entre heterófilos y linfocitos (H:L), el cual es un indicador de estrés agudo en las aves debido a la respuesta difásica en los organismos al enfrentarse a situaciones de tensión, propiciando cambios en los componentes celulares de la sangre, como heteropenia y linfopenia debido al incremento en los niveles de colesterol, pero la relación H:L no indica mayor o menor grado de susceptibilidad a enfermedades (Tejeda *et al.*, 1997) porque los heterófilos son los responsables de las defensas del organismo contra las bacterias, mientras que los linfocitos reconocen y destruyen una gran variedad de patógenos (Cambell, 1995; Davis *et al.*, 2008). Según Gross y Siegel (1993) hay tres valores característicos para la relación H:L: 0.2 para estrés bajo, 0.5 para estrés óptimo y 0.8 para estrés alto. La inmovilidad tónica o muscular (IM), también conocida como la hipnosis animal, es un buen indicador del bienestar psicológico asociado con el miedo en las aves (Gallup, 1979), la cual es una respuesta normal cuando se enfrentan a sus predadores, denominada muerte fingida. Este bajo nivel de reacción a un estímulo propicia que el animal cambie de postura y se considera también como un problema de comportamiento. Campo *et al.* (2002) mencionan que los factores que causan IM se relacionan con deficiencias en el manejo de las aves por un inadecuado transporte, movimientos forzados de las parvadas, manejo de animales atados, generación de dolor y persecución en sitios cerrados. Las características principales de IM son el estrés, ausencia de patologías físicas, movimientos de cabeza, ojos, orejas y patas, y sensibilidad eléctrica.

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del tipo de manejo (jaula y libertad) y el sexo (hembras y machos) en los indicadores de bienestar animal estimados mediante asimetría fluctuante, inmovilidad muscular y cociente de heterófilos/linfocitos en una población de guajolotes autóctonos en el municipio de Villaflores, Chiapas.

variations that the fluctuating asymmetry reflects (Parsons, 1990; Campo *et al.*, 2007).

Another animal welfare estimator is the relationship between heterophiles and lymphocytes (H:L). This is an indicator of acute stress in birds due to the diphasic response when faced to stressful situations, leading to changes in the blood cellular components, such as heteropenia and lymphopenia due to the increase in cholesterol levels. Still, the H:L ratio does not indicate a greater or lesser degree of disease susceptibility (Tejeda *et al.*, 1997) because heterophiles are responsible for the defenses of the organism against bacteria, while lymphocytes recognize and destroy a large variety of pathogens (Cambell, 1995; Davis *et al.*, 2008). According to Gross and Siegel (1993) there are three characteristic values for the H:L ratio: 0.2 for low stress, 0.5 for optimal stress and 0.8 for high stress. Tonic or muscular immobility (MI), also known as animal hypnosis, is a good indicator of the psychological well-being associated to fear in birds (Gallup, 1979), which is a normal response when faced with their predators, called fake death. This low level of reaction to a stimulus propitiates the animals to change posture, which is considered a behavioral problem. Campo *et al.* (2002) mentioned that the factors that cause MI are related to management deficiencies of the birds due to inadequate transport, forced movements of the flocks, tethered animals management, pain and persecution in enclosed areas. The main features of MI are stress, absence of physical pathologies, head, eyes, ears and legs movements, and electrical sensitivity.

The objective in this study was to determine the influence of the management (cage and freedom) and sex (females and males) on animal welfare indicators estimated by fluctuating asymmetry, muscle immobility and heterophile/lymphocyte ratio on a population of autochthonous domestic turkeys in the municipality of Villaflores, Chiapas.

## MATERIALS AND METHODS

We carried out the study at the town of Jesús María Garza in the Villaflores municipality, from August to October 2015 in order to assess the females' posture seasonality and the sexual maturity of the males during the summer and early fall season. We performed the study in two phases, one for adaptation, 7 d, and another 60 d of experimentation. The turkeys were

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la localidad Jesús María Garza del municipio de Villaflores, de agosto a octubre del 2015, para aprovechar la estacionalidad de la postura de las hembras y la madurez sexual de los machos en la estación de verano y principios del otoño. El estudio se realizó en dos fases, una de adaptación de 7 d, y otra experimental de 60 d. Los guajolotes se alojaron en jaulas individuales (1 m<sup>2</sup>), se identificaron con anillos metálicos y en cada uno se hicieron cuatro mediciones, la primera al inicio del experimento y las otras a intervalos de 20 d. Los guajolotes fueron 23 machos de 7 a 10 meses de edad y 14 hembras en etapa de postura, provenientes de unidades de producción familiar dentro del municipio de Villaflores. Las hembras se escogieron con una edad similar e iniciando la etapa de postura, para lo cual se realizó la palpación rectal mediante la introducción del dedo índice en la cloaca y verificación de la formación del huevo.

### Inmovilidad muscular

El guajolote se colocó en decúbito dorsal con la cabeza colgando en una cuna de madera con forma de U (Jones y Faure, 1981), se sujetó 10 s, y al retirar las manos se activó el cronómetro para registrar el tiempo que tardó en levantarse. Si lo hacía en menos de 10 s se consideraba que la IM no había sido inducida y se repetía la prueba hasta un máximo de tres veces, registrando el número de intentos. Al inducir la IM, si el ave no se levantaba se asignaba un valor máximo de 600 s. Para el análisis estadístico la IM se modificó usando la transformación logaritmo natural  $\log_n$  (Y).

### Relación de heterofilos:linfocitos

En cada guajolote se tomó una muestra de sangre de la vena braquial y se extendió en un portaobjetos. Las muestras se fijaron con metanol por 3 min, se tiñeron con tinción de May-Grünwald y Giemsa (Lucas y Jamroz, 1961). Se realizó un conteo de 100 leucocitos, granulares (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y no granulares (linfocitos y monocitos), y se calculó el cociente H:L. Los datos se transformaron a raíz cuadrada.

### Asimetría fluctuante

Con un vernier digital (Mitutoyo®) se midieron cinco caracteres bilaterales morfológicos: largo y ancho de tarso y metatarso medio y largo del ala. Los valores del lado derecho (D) e izquierdo (I) se tomaron en la misma sesión. Se calculó la FA, definida por el valor absoluto de la diferencia entre lados derecho

housed in individual cages (1 m<sup>2</sup>), identified with metal rings and on each one, four measurements were made. The first at the beginning of the experiment and others at 20 d intervals. The turkeys were 23 males from 7 to 10 months age and 14 females at laying stage. These were at family production units within the Villaflores municipality. Females at the beginning of the posture stage and similar age were chosen, for which rectal palpation was performed by inserting an index finger into the cloaca sewer and checking for egg formation.

### Muscle immobility

A turkey placed on its dorsal decubitus with its head hanging in a U-shaped wooden cradle (Jones and Faure, 1981) was held for 10 s and then timed; from the moment it was released to the moment it got up. If done in less than 10 s, we considered that MI had not been induced, and the test repeated for up to a maximum of three times, recording the number of attempts. When the MI was induced, if the bird did not rise, a maximum of 600 s were assigned to those cases. For the statistical analysis the MI was modified using the natural logarithm transformation  $\log_n$  (Y).

### Relation of heterofilos: lymphocytes

In each turkey a blood sample was taken from the brachial vein and spread on a slide. Samples were fixed using methanol for 3 min and then fixed with MayGrünwald and Giemsa staining (Lucas and Jamroz, 1961). We performed a count of 100 leukocytes, granular (heterophiles, eosinophils and basophils) and non-granular cells (lymphocytes and monocytes), and the H: L ratio calculated. The data were square root transformed.

### Fluctuating asymmetry

With a digital vernier (Mitutoyo®) five bilateral morphological characters were measured: long and wide of tarsus and middle and long metatarsal of the wings. The right (R) and left (L) values were taken in the same session. We calculated the FA, defined as the absolute value of the difference between right and left sides of the bird  $[|R-L|]$ , the antisymmetry presence, based on a non-normal distribution with a zero mean, and directional asymmetry based on a normal distribution with a mean different from zero; the difference (R-L) was also calculated, and the shape of their distribution analyzed (Palmer and Strobeck, 1992; Klingenberg *et al.*, 2003; Knierim *et al.*, 2007). The relative asymmetry was obtained by dividing the absolute value of the difference (R-L) between the mean of

e izquierdo del ave  $[|D-I|]$ , la presentación de antisimetría, basada en una distribución no normal con una media cero y asimetría direccional basada en una distribución normal con una media diferente de cero; además, se calculó la diferencia  $(D-I)$  y se analizó su forma de distribución (Palmer y Strobeck., 1992; Klingenberg *et al.*, 2003; Knierim *et al.*, 2007). La asimetría relativa se obtuvo dividiendo el valor absoluto de la diferencia  $(D-I)$  entre la media del carácter  $[2|D-I|/(D+I)]$ . Para identificar la FA se siguió el protocolo experimental indicado por Palmer y Strobeck (1986).

### Análisis estadísticos

El análisis de los datos comprendió el cálculo de estadísticos descriptivos, medidas de tendencia central y de variación e histogramas para las características bilaterales de los guajolotes. La información se estandarizó y se corroboró la suposición de normalidad, según el tipo de asimetría, mediante una inspección visual de los histogramas, corroborados con la prueba de Kolmogorov-Smirnov (Massey, 1951) usando el procedimiento UNIVARIATE de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008). Debido a que la asimetría relativa e inmovilidad muscular no cumplían con la suposición de homocedasticidad, éstas se transformaron aplicando la función Arco Seno  $\sqrt{X}$ , con el mismo programa.

### Estimación de repetibilidad

La correlación intraclass entre las medidas repetidas en la vida de un mismo animal permite obtener una mayor precisión en la estimación de las características que definen la asimetría fluctuante. Para ello se obtuvieron los componentes de varianza usando la opción MIVQUE (0) del PROC VARCOMP de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008).

### Metodología experimental

Para probar el efecto del sistema de manejo y del sexo en los indicadores de estrés, los guajolotes se asignaron aleatoriamente a cuatro tratamientos, resultantes de la combinación factorial de dos tipos de manejo ( $a_1$ : libertad,  $a_2$ : confinamiento) y dos sexos ( $b_1$ : machos,  $b_2$ : hembras), con diferente número de repeticiones. La distribución de los guajolotes a los tratamientos fue:  $T_1$ : 11 machos en jaula,  $T_2$ : 12 machos en libertad,  $T_3$ : 7 hembras en jaulas y,  $T_4$ : 7 hembras en libertad. Para el análisis de los datos se utilizó el siguiente modelo de efectos fijos con dos criterios de clasificación e interacción:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + s_j + \tau s_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

the character  $[2|D-I|/(D+I)]$ . To identify FA, we followed the experimental protocol proposed by Palmer and Strobeck (1986).

### Statistical analysis

Data analysis included the calculation of descriptive statistics, central tendency measures and variation, and histograms for the turkey's bilateral characteristics. The information was standardized and the normality assumption tested, depending on the type of asymmetry, via visual inspection of the histograms, corroborated with the Kolmogorov-Smirnov test (Massey, 1951) using the UNIVARIATE procedure in the SAS statistical software (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008). Because the relative asymmetry and muscular immobility did not comply with the homoscedasticity assumption, they were transformed by applying the Arcsine  $\sqrt{X}$  function, using the same program.

### Repeatability estimation

The intraclass correlation between repeated measures in the life of the same animal allows obtaining a greater precision in the estimation of the characteristics that define the fluctuating asymmetry. For this, the components of variance using the MIVQUE (0) option of the SAS VARCOMP PROC (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008).

### Experimental methodology

To test the effect of the management system and sex on stress indicators, turkeys were randomly assigned to four treatments, resulting from the factorial combination of two types of management ( $a_1$ : free range,  $a_2$ : confinement) and two sexes ( $b_1$ : males,  $b_2$ : females), with different number of repetitions. The distribution of the turkeys to the treatments was:  $T_1$ : 11 males in cage,  $T_2$ : 12 males in free range,  $T_3$ : 7 females in cages and,  $T_4$ : 7 females in free range. We used, for the data analysis the following fixed effects model with two classification and interaction criteria:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + s_j + \tau s_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

where:  $y_{ij}$ =response variable (AF, IM, H:L),  $\mu$ =general mean,  $\tau_i$ =management effect (type of housing) ( $i=1,2$ ),  $s_j$ =sex effect ( $j=1, 2$ ),  $\tau s_{ij}$ =management×sex effect interaction,  $\varepsilon_{ijk}$ =experimental error.

For this analysis the GLM procedure of the SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008) was used.

donde:  $y_{ij}$ =variable respuesta (AF, IM, H:L),  $\mu$ =media general,  $\tau_i$ =efecto del manejo (tipo de alojamiento) ( $i=1,2$ ),  $s_j$ =efecto del sexo ( $j=1,2$ ),  $\tau s_{ij}$ =efecto de la interacción de manejo  $\times$  sexo,  $\varepsilon_{ijk}$ =error experimental.

Para este análisis se usó el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, 2008).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción manejo  $\times$  sexo no fue significativa ( $p > 0.05$ ) en el carácter bilateral largo del ala en guajolotes, en los indicadores de asimetría estudiados (Cuadro 1). La comparación entre sexos fue diferente ( $p \leq 0.01$ ) para los índices bilaterales:  $(D+I)/2$ ,  $|D-I|$  y Asimetría Fluctuante Relativa (AFR). Además, el

### RESULTS AND DISCUSSION

The interaction management  $\times$  sex was not significant ( $p > 0.05$ ) on the bilateral wing length character, in the asymmetry indicators (Table 1). The between sexes comparison was different ( $p \leq 0.01$ ) for the bilateral indexes:  $(R+L)/2$ ,  $|R-L|$  and Relative Fluctuating Asymmetry (RFA). In addition, the average RFA=2.84 for caged turkeys was higher ( $p \leq 0.01$ ) than those managed in free range (RFA=1.10), that is, females had a higher RFA than males ( $p \leq 0.01$ ). These results indicate that stress levels are caused by cage management. This causes a change in their natural behavior, due to the reduction of the housing area, blocking the possibility of turkey to flap, move, dig, and take sand

**Cuadro 1. Medias y errores estándar (EEM) de asimetría  $\dagger$  en cinco caracteres bilaterales en guajolote autóctono en Villaflores, Chiapas.**  
**Table 1. Mean and standard errors (EEM) of the asymmetry  $\dagger$  of five bilateral characters in autochthonous domestic turkeys (guajolote) at Villaflores, Chiapas.**

Rasgos	Manejo			Sexo			P>F		
	Jaula	Libertad	EEM	Machos	Hembras	EEM	M	S	S*M
<b>Largo del ala (mm)</b>									
$(D+I)/2$	140.89 <sup>a</sup>	140.20 <sup>a</sup>	0.67	150.56 <sup>a</sup>	124.84 <sup>b</sup>	0.69	0.75	0.01	0.10
D-I <sup>§</sup>	-0.45 <sup>a</sup> AF	0.07 <sup>a</sup> AF <sup>§</sup>	0.32	-0.21 <sup>a</sup> AD	-0.15 <sup>a</sup> AF	0.33	0.31	0.88	0.67
$ D-I $	2.04 <sup>a</sup>	1.82 <sup>a</sup>	0.22	1.48 <sup>a</sup>	2.64 <sup>a</sup>	0.22	0.47	0.01	0.80
AFR <sup>§</sup>	2.84 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	0.17	0.98 <sup>b</sup>	2.12 <sup>a</sup>	0.17	0.56	0.01	0.76
<b>Largo de tarso (mm)</b>									
$(D+I)/2$	150.86 <sup>a</sup>	148.37 <sup>a</sup>	0.90	161.97 <sup>a</sup>	130.21 <sup>b</sup>	0.92	0.23	0.01	0.01
D-I	0.42 <sup>a</sup> AF	-0.50 <sup>a</sup> AD	0.61	0.20 <sup>a</sup> AF	0.44 <sup>a</sup> AF	0.63	0.14	0.46	0.05
$ D-I $	1.55 <sup>a</sup>	2.57 <sup>a</sup>	0.56	1.55 <sup>a</sup>	2.86 <sup>a</sup>	0.57	0.11	0.11	0.14
AFR	2.67 <sup>a</sup>	1.18 <sup>b</sup>	0.18	1.87 <sup>a</sup>	2.41 <sup>a</sup>	0.19	0.06	0.01	0.14
<b>Ancho de tarso (mm)</b>									
$(D+I)/2$	10.60 <sup>a</sup>	10.34 <sup>b</sup>	0.08	11.09 <sup>a</sup>	9.62 <sup>b</sup>	0.09	0.04	0.01	0.71
D-I	-0.05 <sup>a</sup> AS	0.02 <sup>a</sup> AF	0.06	-0.05 <sup>a</sup> AF	0.01 <sup>a</sup> AF	0.06	0.98	0.83	0.26
$ D-I $	0.37 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.04	0.41 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.04	0.71	0.01	0.33
AFR	3.48 <sup>a</sup>	3.39 <sup>a</sup>	0.39	3.66 <sup>a</sup>	3.07 <sup>a</sup>	0.40	0.36	0.36	0.22
<b>Largo del dedo angular (mm)</b>									
$(D+I)/2$	58.71 <sup>a</sup>	58.16 <sup>a</sup>	0.41	62.81 <sup>a</sup>	51.57 <sup>b</sup>	0.42	0.21	0.01	0.12
D-I	-1.79 <sup>a</sup> AF	-1.92 <sup>a</sup> AF	0.32	-1.52 <sup>a</sup> AS	-2.07 <sup>a</sup> AF	0.32	0.80	0.24	0.91
$ D-I $	2.69 <sup>a</sup>	2.72 <sup>a</sup>	0.22	2.58 <sup>a</sup>	2.91 <sup>a</sup>	0.22	0.96	0.30	0.90
AFR	5.18 <sup>a</sup>	2.99 <sup>b</sup>	0.30	4.15 <sup>a</sup>	4.05 <sup>a</sup>	0.30	0.59	0.03	0.01
<b>Ancho del dedo angular (mm)</b>									
$(D+I)/2$	9.01 <sup>a</sup>	8.63 <sup>b</sup>	0.10	9.21 <sup>a</sup>	8.21 <sup>b</sup>	0.11	0.03	0.01	0.20
D-I	0.05 <sup>a</sup> AF	-0.12 <sup>a</sup> AD	0.07	0.05 <sup>a</sup> AF	-0.19 <sup>a</sup> AD	0.07	0.17	0.02	0.29
$ D-I $	0.51 <sup>a</sup>	0.44 <sup>a</sup>	0.05	0.51 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	0.05	0.44	0.44	0.43
AFR	6.45 <sup>a</sup>	2.44 <sup>b</sup>	0.19	5.15 <sup>a</sup>	3.34 <sup>b</sup>	0.21	0.75	0.06	0.53

<sup>a,b</sup>, Medias en hilera con distinto superíndice indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).  $\dagger$ Asimetría fluctuante relativa expresada:  $|D-I|/(D+I)$ . <sup>§</sup>D: Lado derecho; I: Lado izquierdo. <sup>§</sup>AF: asimetría fluctuante; AS: antisimetría; AD: asimetría direccional.  $\ast$  <sup>a, b</sup>, Mean in a row with different superscript indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ).  $\dagger$ Relative fluctuating asymmetry expressed:  $|R-L|/(R+L)$ . <sup>§</sup>R: Right side; L: Left side. <sup>§</sup>FA: fluctuating asymmetry; AS: antisymmetry; AD: directional asymmetry.

AFR=2.84 promedio para guajolotes en jaula fue mayor ( $p \leq 0.01$ ) respecto a los manejados en libertad (AFR=1.10), es decir, las hembras presentan un AFR mayor que los machos ( $p \leq 0.01$ ). Estos resultados indican que posiblemente los niveles de estrés son propiciados por un manejo en jaulas que provoca un cambio en su comportamiento natural, debido a la reducción del área de alojamiento bloqueando la posibilidad del guajolote para aletear, moverse, escarbar, tomar baños de arena y picotear, lo cual provoca inestabilidad en su desarrollo en este rasgo (Parsons, 1992; Watson y Thornhill, 1994).

El análisis de la longitud del tarso mostró interacción entre el tipo de manejo y el sexo ( $p \leq 0.01$ ) para el índice de asimetría  $(D+I)/2$ , la media de este carácter fue diferente ( $p \leq 0.01$ ) entre sexos. Los machos en jaula presentaron valores superiores a las hembras, lo cual se modificó al cambiar de un manejo en jaula a manejo en libertad; además, las hembras no presentaron diferencias al cambiar el tipo de manejo. La interacción fue significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre el tipo de manejo y el sexo para el índice  $(D-I)$  y estas diferencias en el largo y ancho del tarso podrían atribuirse a diferencias genéticas de los guajolotes y a diferencias ambientales debidas a un mayor ejercicio de los machos en libertad, al caminar más o buscar su alimento, o al estrés que provoca un comportamiento agresivo entre ellos debido a la competencia por las hembras en la época de apareamiento, y se manifiesta en peleas, picoteos y agresividad sexual, que propicia un mayor desarrollo de los tarsos. Ello no ocurre con las hembras en etapa de reproducción, las cuales durante la incubación de los polluelos restringen sus movimientos, tienen un gasto bajo de energía y un desarrollo menor de sus tarsos en comparación con los machos en ambos tipos de manejo (Millman *et al.*, 2000).

Las diferencias en los caracteres mencionados no indican problemas en el funcionamiento de sus extremidades, pero el desarrollo de los caracteres bilaterales de los guajolotes es afectado por el nivel de actividad, principalmente con la locomoción, propiciando un crecimiento asimétrico del tamaño de las extremidades (Alados *et al.*, 1993; Palmer, 1996). En el desarrollo del guajolote es común pequeñas perturbaciones en sus caracteres bilaterales causadas por diferencias ambientales permanentes, producto de la competencia de los animales por las hembras, por el alimento, alojamientos o defensa de predadores, que

baths and pecking. All these cause turkeys instability in its development regard this trait (Parsons, 1992; Watson and Thornhill, 1994).

The analysis of the tarsus length showed interaction between the management and sex ( $p \leq 0.01$ ) for the index of asymmetry  $(R+L)/2$ , the mean of this character was different ( $p \leq 0.01$ ) between genders. The caged males showed superior values to those of the females, which were modified when changing from a cage management to free range management. Also, the females did not present differences when changing the management. The interaction was significant ( $p \leq 0.05$ ) between the management type and the sex for the index  $(R-L)$ . These differences in the length and width of the tarsus could be due to genetic differences in the turkeys, and to environmental differences because of greater exercise in the males in free range, due to more walking to look for their food. Besides, the stress that causes an aggressive behavior among them due to the competition by females during the mating season, which manifests itself in fights, pickings and sexual aggressiveness that leads to greater tarsus development. This does not occur with breeding females, which during chicks incubation restrict their movements, thus have lower energy expenditure and a smaller development of their tarsus compared to males in both management types (Millman *et al.*, 2000).

Differences in the mentioned characters do not indicate problems in the functioning of their extremities, but the development of the bilateral characters of the turkeys affected by the activity level, mainly by locomotion, favoring an asymmetric growth of the extremities size (Alados *et al.*, 1993; Palmer, 1996). In the development of the turkeys, small disturbances in their bilateral characteristics caused by environmental differences, as a result of the competition of the animals by the females, by the food, lodgings or defense from predators, are common, which can cause instability in their development. These disturbances occur in a small part of the organism, so the effects are expected to accumulate on the left or right side (Polak and Starmer 2001; Klingenberg, 2003). According to Yang *et al.* (1997), Yang and Siegel (1998) and Campo *et al.* (2000), not all bilateral asymmetries in domestic poultry can be related to FA. Therefore, some indicators of asymmetry evaluated in this study,

pueden provocar inestabilidad en su desarrollo; estas perturbaciones se producen en una parte pequeña del organismo, por lo cual se espera que los efectos se acumulen en el lado izquierdo o derecho (Polak y Starmer, 2001; Klingenberg, 2003). Según Yang *et al.* (1997), Yang y Siegel (1998) y Campo *et al.* (2000), no todas las asimetrías bilaterales observadas en aves domésticas se pueden relacionar con AF y por ello, algunos indicadores de asimetría evaluados en este estudio, como (D-I), no fueron consistentes al relacionarlos con AF, más bien se pueden considerar como indicadores de asimetría direccional.

El dedo angular en los guajolotes es su principal apoyo para el equilibrio, locomoción o vuelo y un desarrollo deficiente de este dedo modifica su actividad, los pone en desventaja con respecto a los otros guajolotes y causa situaciones de estrés. Este estudio evidenció interacciones ( $p \leq 0.01$ ) manejo  $\times$  sexo en la AFR, para el largo del dedo angular, pero no para la anchura ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los indicadores. Hubo diferencias ( $p \leq 0.01$ ) con respecto al sexo para la media del largo y ancho del dedo medio angular, en AFR para el largo ( $p \leq 0.03$ ) y ancho ( $p \leq 0.06$ ) de este carácter, y también ( $p \leq 0.02$ ) en el indicador D-I, y los valores fueron mayores para los machos, respecto a las hembras. Hubo una ligera diferencia ( $p \leq 0.03$ ) para el ancho de este mismo carácter en el manejo, favoreciendo a los guajolotes en jaula.

Con respecto a los tipos de asimetría para estimar la variación dentro del individuo como una medida de inestabilidad en el desarrollo, se requiere una corrección para el grado medio de asimetría direccional o antisimetría (Van Dongen, 2006). Hay indicios de que las tres formas diferentes de asimetría están interrelacionadas y serían transiciones de uno a otro (Graham *et al.*, 1993). Sin embargo, falta investigación en el guajolote y es necesario realizar estudios que relacionen las diferentes formas de asimetría con aplicaciones prácticas (Lens y Van Dongen, 2000). Nuestro estudio mostró evidencias de asimetría fluctuante (AF), estimada por la diferencia de D-I, en el carácter largo del ala y conformación del dedo angular, en los dos tipos de manejo. En guajolotes manejados en libertad, se presentó asimetría direccional (AD) para largo de tarso y ancho del dedo angular, mostrando que el lado izquierdo era más pequeño que el derecho, diferencias con una distribución normal con media diferente de cero. En los guajolotes en jaula, se encontró antisimetría (AS) en el ancho

such as R-L were not consistent when related to the FA, as directional asymmetry indicators.

The angular finger in turkeys is their main support for balance, locomotion or flight and a poor development of this finger modifies their activity, puts them at disadvantage compared to other turkeys and causes stress situations. This study showed interactions ( $p \leq 0.01$ ) management  $\times$  sex with RFA, for the length of the coronal finger, but not for the width ( $p > 0.05$ ) in any of the indicators. There were differences ( $p \leq 0.01$ ) with respect to sex for the mean length and width of the middle finger, in RFA for the length ( $p \leq 0.03$ ) and width ( $p \leq 0.06$ ) of this character, but also in the R-L indicator ( $p \leq 0.02$ ). Values were higher for males, compared to females. There was a slight difference ( $p \leq 0.03$ ) for the width of this same character in the handling, favoring the caged turkeys.

Regarding types of asymmetry to estimate variation within the individual as a measurement of developmental instability, a correction is required for the average degree of directional asymmetry or antisymmetry (Van Dongen, 2006). There are indications that the three different forms of asymmetry are interrelated and would be transitions from one to other (Graham *et al.*, 1993). However, there is a lack of research on turkeys and it is necessary to conduct studies that relate the different forms of asymmetry with practical applications (Lens and Van Dongen, 2000). Our study showed fluctuating asymmetry (FA), estimated by the R-L difference, in the wing length character and angular finger conformation, in the both management types. In free range handled turkeys, there was a directional asymmetry (DA) for the tarsus length and finger width, showing that the left side was smaller than the right. These differences had a normal distribution with a mean different from zero. In caged turkeys, antisymmetry (AS) was found in the tarsus width and length of the toe in males, and directional asymmetry in the wing length in males and the width of the toe in females.

When analyzing turkey's behavior respect to their stress levels, we observed that the high levels relate to an increase of the FA with a reduction of their growth rate and reproduction in the turkey populations (Koehn and Bayne, 1989; Sommer, 1996). FA could provide advantages over other stress bioindicators, because of its easy, inexpensiveness and rapid application (Clarke, 1998). In addition,



de tarso y largo del dedo angular en los machos, y asimetría direccional en largo del ala en machos y en el ancho del dedo angular en hembras.

Al analizar el comportamiento de los guajolotes con respecto a sus niveles de estrés, se observó que los niveles altos se relacionan con un incremento de la AF con una reducción de su tasa de crecimiento y reproducción de las poblaciones de guajolotes (Sommer, 1996; Koehn y Bayne, 1989). La AF podría proporcionar ventajas sobre otros bioindicadores de estrés, por su fácil, barata y rápida aplicación (Clarke, 1998). Además, la AF se relaciona con la aptitud biológica de la hembra en la selección sexual (Moller, 1990), por lo tanto, un cambio en la AF debe ser biológicamente relevante (Sommer, 1996).

Para obtener una mayor precisión en la medición de un carácter, es necesario estimar el índice de repetibilidad o constancia de la AF, señalado por Palmer y Strobeck (1986) como un indicador de estrés en aves. En el Cuadro 2 se muestran los índices de repetibilidad o correlación intraclass para guajolote doméstico en este estudio. Como se puede observar el largo del ala y la conformación del tarso en los machos presentó valores superiores de repetibilidad en comparación con las hembras, independientemente del sistema de manejo.

Van Dongen (2006) menciona que es necesario hacer el análisis de repetibilidad de los caracteres para que las diferencias observadas entre D-I se reflejen entre individuos y no se atribuyan a un posible error de muestreo. El valor mayor de repetibilidad lo obtuvieron los machos, para cada uno de sus lados, sin embargo, cuando se analizó la diferencia de sus lados, este indicador disminuyó. Según Van Dongen (1998), la estimación de la repetibilidad es

FA is related to the biological fitness of the females in sexual selection (Moller, 1990), therefore, a change in FA must be biologically relevant (Sommer, 1996).

To obtain greater precision in the character measurement, it is necessary to estimate the repeatability rate or the FA constancy, indicated by Palmer and Strobeck (1986) as a stress indicator in birds. Table 2 shows the rates of intraclass correlation or repeatability for domestic turkeys in this study. The wing length and the tarsus conformation in the males had superior repeatability values compared to females, regardless of the management system.

Van Dongen (2006) mentioned that it is necessary to perform character repeatability analysis so that the observed differences between R-L reflect differences between individuals and not attributed to a possible sampling error. The highest repeatability value was obtained in males, for each of its sides. However, when analyzed, their side's difference indicator decreased. According to Van Dongen (1998), the repeatability estimation is a statistical measure of the consistency between repeated measures of the same character in the same individual, allowing biases correction in such a way that the observed patterns for the FA allow to make inferences on the alleged instability in the turkey development. The FA interactions found in all characters in this study were significant ( $p \leq 0.05$ ). Balmford *et al.* (1993) in an avian asymmetry study obtained repeatability values of 0.77 ( $p \leq 0.001$ ), evidence of the natural selection of tails and symmetrical wings in birds.

There were no significant correlation ( $p > 0.05$ ) between the absolute value of the asymmetry and the

**Cuadro 2. Valores de repetibilidad de cinco caracteres bilaterales en hembras y machos de guajolote doméstico.**

**Table 2. Repeatability values of five bilateral characters in females and males of autochthonous domestic turkey.**

Carácter	Lado derecho (D)		Lado izquierdo (I)		D-I	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Largo del Ala	0.75	0.38	0.72	0.29	0.12	0.17
Largo de Tarso	0.50	0.26	0.46	0.36	0.26	0.27
Ancho de Tarso	0.69	0.14	0.50	0.16	0.31	0.23
Longitud dedo	0.30	0.21	0.26	0.20	0.21	0.19
Ancho dedo	0.44	0.31	0.42	0.29	0.22	0.17

una medida estadística de la consistencia entre medidas repetidas de un mismo carácter en un mismo individuo, permitiendo la corrección de sesgos de tal manera que los patrones observados para la AF puedan permitir hacer inferencias sobre la presunta inestabilidad del desarrollo de los guajolotes. Las interacciones en AF encontradas en todos los caracteres en este estudio fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ). Balmford *et al.*, (1993) en un estudio de asimetría aviar, como evidencia de la selección natural de las colas y las alas simétricas en las aves, obtuvo valores de repetibilidad de 0.77 ( $p \leq 0.001$ ).

No se encontraron coeficientes de correlación significativos ( $p > 0.05$ ) entre el valor absoluto de la asimetría y el tamaño de los caracteres bilaterales (Cuadro 3). Hubo una correlación alta en guajolotes manejados en libertad con los rasgos, largo de tarso en hembras y ancho de tarso en machos. Leung y Forbes (2000) mencionan que si hay un componente de la estabilidad del desarrollo que afecta a todo el organismo, se esperaría una correlación baja entre los valores de FA de los caracteres, aunque normalmente no significativa.

**Relación de heterófilos:  
linfocitos e inmovilidad muscular**

Las diferencias entre tipos de manejo fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ), pues los guajolotes en jaulas individuales, tuvieron una relación de H:L más alta (0.55), que los mantenidos en libertad (0.46), pero no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) entre sexos (Cuadro 4).

size of the bilateral characters (Table 3). There was a high correlation in turkeys managed in free range regard the tarsus length in females and tarsus width in male's traits. Leung and Forbes (2000) mention that if there is a developmental stability component that affects the whole organism, a low correlation between the FA values of the characters would be expected, but usually not significant.

**Heterophiles relationship:  
lymphocytes and muscle immobility**

There were significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between the management types. Turkeys in individual cages had a higher H: L ratio (0.55) than those maintained at free range (0.46), but there were no differences ( $p > 0.05$ ) between sexes (Table 4).

To judge the observed values we can consider the Gross and Siegel proposal (1983), that the H/L ratio will be higher as stress intensity increases, and the H/L values of 0.2, 0.5 and 0.8 can be considered as low, optimum and high stress, each. The relationship obtained in our study was moderate or optimal, and there is heteropenia. However, this indicator of leukocyte stress can be used for parameter prediction, since a high ratio of H:L in birds is associated with infections susceptibility (Al-Murrani *et al.*, 2002), slow growth rate (Moreno *et al.*, 2002) and bird's survival to the next breeding season (Lobato *et al.*, 2005; Kilgas *et al.*, 2006).

No differences were found between treatments in muscle immobility ( $p > 0.05$ ), but high test

**Cuadro 3. Coeficiente de correlación de la asimetría fluctuante<sup>†</sup> con el valor absoluto<sup>‡</sup> de la diferencia de los lados de cinco caracteres bilaterales con dos tipos de manejo de guajolote autóctono.**

**Table 3. Correlation coefficient of the fluctuating asymmetry<sup>†</sup> with the absolute value<sup>‡</sup> of the difference of the sides of five bilateral characters, with two types of autochthonous domestic turkey management.**

Carácter	Machos ♂		Hembras ♀	
	Jaula	Libertad	Jaula	Libertad
Largo del ala	0.04	-0.08	0.01	-0.18
Largo de tarso	-0.01	-0.11	0.24	-0.76***
Ancho de tarso	0.02	0.43***	0.35*	-0.14
Longitud dedo	-0.04	-0.11	0.24	-0.08
Ancho dedo	0.14	0.14	0.19	0.53***

<sup>†</sup>[(D+R)/2]; <sup>‡</sup> [|D-I|]; \*  $p \leq 0.05$ ; \*\*\*  $p \leq 0.001$ .

**Cuadro 4. Medias y error estándar (EEM) de dos indicadores de bienestar animal, coeficiente de heterofilos:linfocitos (H:L) e inmovilidad muscular (IM) en guajolote doméstico en Chiapas.**  
**Table 4. Mean and standard error (MEE) of two animal welfare indicators, coefficient of heterophiles: lymphocytes (H:L) and muscle immobility (MI) in autochthonous domestic turkey at Chiapas, Mexico.**

Indicador	Manejo			Sexo			p>F		
	Jaula	Libertad	EEM	Machos	Hembras	EEM	M	S	M*S
H:L	0.55 <sup>a</sup>	0.46 <sup>b</sup>	0.01	0.55 <sup>a</sup>	0.48 <sup>b</sup>	0.01	0.005	0.02	0.45
IM (s)	422 <sup>a</sup>	429 <sup>a</sup>	17.5	417 <sup>a</sup>	449 <sup>a</sup>	19.7	0.57	0.27	0.52

<sup>a,b</sup>, Medias de las columnas con superíndice diferente indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). <sup>a, b</sup>, Averages from columns with different superscript indicate significant differences ( $p \leq 0.05$ ).

Para juzgar los valores observados se puede considerar la propuesta de Gross y Siegel, (1983) de que la relación H/L será mayor a medida que se eleve la intensidad del estrés, y los valores de H/L de 0.2, 0.5 y 0.8, pueden considerarse como estrés bajo, óptimo y alto, respectivamente. La relación obtenida en nuestro estudio se puede considerar como moderada u óptima y hay heteropenia. Sin embargo, este indicador de la tensión de leucocitos se puede usar para predicción de parámetros, ya que una alta relación de H:L en aves se asocia con susceptibilidad a infecciones (Al-Murrani *et al.*, 2002), tasa de crecimiento lento (Moreno *et al.*, 2002) y de supervivencia de las aves a la próxima temporada de cría (Lobato *et al.*, 2005; Kilgas *et al.*, 2006).

No se encontraron diferencias entre tratamientos en inmovilidad muscular ( $p > 0.05$ ), pero se obtuvieron medias altas de tiempos en reacción de la prueba, lo cual indica una tendencia del guajolote autóctono a presentar un reflejo notable de muerte fingida (Fraser, 1960). Los valores medios para duración de la inmovilidad muscular y heterófilos a linfocitos están de acuerdo con los reportados por Campo y Redondo (1996) y Campo *et al.* (2002). Campo *et al.* (2000) registraron un cociente de H:L significativamente menor en gallinas capturadas en un baño de arena en comparación con las del grupo testigo, sin embargo la inmovilidad muscular era similar en ambos grupos. Además, Campo *et al.* (2001) mencionan que las gallinas mal emplumadas tenían duración de inmovilidad más corta y cociente de leucocitos más alto que las gallinas bien emplumadas.

En la mayoría de los caracteres bilaterales (ala, tarso y dedo) no se encontró correlación en asimetría

mean times were obtained, indicating a tendency of native turkeys for a notable death feigned reflex (Fraser, 1960). Mean values for muscle immobility duration and heterophils to lymphocytes agree with those reported by Campo and Redondo (1996) and Campo *et al.* (2002). Campo *et al.* (2000) reported a significantly lower H:L ratio in hens caught in a sand bath compared to a control group, however, muscle immobility was similar in both groups. In addition, Campo *et al.* (2001) report that poorly feathered hens had a shorter duration of immobility and a higher leucocyte quotient than well-feathered hens.

In most bilateral characters (wing, tarsus and finger) no correlation was found in the relative asymmetry  $[2|L-R|/(L+R)*100]$  between muscle immobility and the heterophiles: lymphocyte ratio (Table 5).

The correlation for muscle immobility with the middle finger length in caged males was positive ( $r=21\%$ ), which can be attributed to male turkeys being stressed, manifesting great fear when induced during the test. Nestor *et al.* (1996) found a negative association between muscle immobility and growth and between animal welfare and quality indicators in turkeys selected by weight, where the heaviest were more fearful in the test. Also, in a study with roosters from the Villafrankina breed, Campo *et al.* (2000) reported a negative correlation ( $p \leq 0.05$ ) between the wing length and the duration of muscle immobility. Besides, there are records of a highly significant relationship ( $r=52\%$ ) for finger width with the heterophile/lymphocyte ratio of the females that were released.

Most of the bilateral characters with two animal welfare indicators (Table 6) showed no significant

relativa  $[2|L-R|/(L+R)*100]$  entre inmovilidad muscular y la relación heterófilos:linfocitos (Cuadro 5).

La correlación entre la inmovilidad muscular y longitud del dedo medio fue positiva ( $r=21\%$ ) en los machos en jaula, lo cual se puede atribuir a que los guajolotes machos se estresaban, y se manifestaba en un gran temor cuando se inducían a la prueba. Nestor *et al.*, (1996), encontraron asociación negativa entre la inmovilidad muscular y el crecimiento y entre los indicadores de bienestar animal y calidad, en pavos seleccionados por peso, donde los más pesados registraron mayor miedo en la prueba. Además, en un estudio con gallos de la raza Villafrancuina, reportado por Campo *et al.*, (2000), se encontró una correlación negativa ( $p \leq 0.05$ ) entre el largo del ala con la duración de la inmovilidad muscular. También se reporta un relación altamente significativa ( $r=52\%$ ) para el carácter ancho del dedo con la relación de Heterófilos/Linfocitos de las hembras que se encontraban en libertad.

correlations, but the wing length in the females in free range had a positive correlation ( $r=30\%$ ) with the muscular immobility. This indicates a reflex of fake death in these females. For this same character, there was a negative correlation ( $r=-0.35$ ) with the relation of heterophiles and lymphocytes, of caged females. Moller *et al.* (1999) and Campo *et al.* (2001) found a positive and significant relationship in the relative asymmetry of different characters and muscular immobility in hens of the Villafrancine breed. A similar value was found in roosters of the Basque breed between relative asymmetry for leg length and muscle immobility duration (Campo *et al.*, 2000).

### CONCLUSIONS

The breeding of autochthonous domestic “guajolote” turkeys in family production units, with a traditional management in free range, generates a well-being environment for this species, compared to management in confinement, since every time there

**Cuadro 5. Coeficientes de correlación de asimetría relativa<sup>†</sup> entre cinco caracteres bilaterales (ala, tarso y dedo) y duración de la inmovilidad muscular (IM) y la relación Heterófilos:Linfocitos (H:L) y por la combinación sexo por manejo en guajolote autóctono en Chiapas.**

**Table 5. Relative asymmetric correlation coefficients<sup>†</sup> between five bilateral characters (wing, tarsus and finger) and muscle immobility (MI) duration and the relationship between Heterophiles:Lymphocytes (H: L) and the combination of gender by management in autochthonous domestic turkeys in Chiapas, México.**

Carácter	Machos ♂		Hembras ♀	
	Jaula	Libertad	Jaula	Libertad
Largo del ala				
IM	-0.06	-0.09	-0.22	-0.07
H:L	0.04	-0.01	-0.14	-0.18
Largo de tarso				
IM	-0.08	-0.03	0.15	-0.18
H:L	0.06	0.14	-0.06	0.03
Ancho de tarso				
IM	0.13	-0.15	-0.08	0.22
H:L	-0.07	0.04	-0.13	-0.14
Largo dedo				
IM	0.21*	-0.09	-0.11	-0.07
H:L	0.011	-0.05	0.014	0.14
Ancho dedo				
IM	0.17	-0.03	-0.16	-0.27
H:L	0.054	0.13	0.002	0.52***

<sup>†</sup>  $[2|L-R|/(L+R)*100]$ ; \*\*\* $p \leq 0.001$ ; \*  $p \leq 0.05$ .

La mayoría de los caracteres bilaterales con dos indicadores de bienestar animal (Cuadro 6) no mostraron correlaciones, pero el largo del ala en las hembras en libertad tuvo una correlación positiva ( $r=30\%$ ) con la inmovilidad muscular, lo cual indica un reflejo de muerte fingida en estas hembras. Para este mismo carácter hubo una correlación negativa ( $r=-0.35$ ) con la relación de heterófilos y linfocitos, de las hembras en jaula. Moller *et al.* (1999) y Campo *et al.* (2001) encontraron relación positiva y significativa en la asimetría relativa de diferentes caracteres y la inmovilidad muscular en gallinas de la raza villafranquina. Un valor similar se encontró en gallos de la raza vasca entre la asimetría relativa para la longitud de patas y la duración de la inmovilidad muscular (Campo *et al.*, 2000).

## CONCLUSIONES

La crianza del guajolote autóctono en unidades de producción familiar con un manejo tradicional en libertad, genera un ambiente de bienestar para esta especie, en comparación con un manejo de confina-

is a reduction in its “comfort” space by handling they exhibit states of stress in their behavior. This relates to the reproduction, at the time of the sexual selection. Besides, turkeys present heteropenia and a tendency to display a remarkable feigned death by fear reflex.

—End of the English version—



miento, ya que cada vez que existe una reducción en el espacio de “confort” por manejo, presentan estados de estrés en el comportamiento. Esto se relaciona con la reproducción, al momento de la selección sexual. Además, los guajoltes presentan heteropenia y una tendencia a presentar un reflejo notable de muerte fingida por miedo.

## LITERATURA CITADA

Alados, C. L, J. Escos, and J. M. Emlen. 1993. Developmental instability as an indicator of environmental stress in the Pacific hake (*Merluccius productus*). *Fishery Bull.* 91: 587-593.

**Cuadro 6. Coeficientes de correlación entre cinco caracteres bilaterales<sup>†</sup>, con la duración de la inmovilidad muscular y la relación de heterófilos:linfocitos para la combinación sexo por manejo en guajolote autóctono en Chiapas.**

**Table 6. Correlation coefficients between five bilateral characters<sup>†</sup>, with the duration of muscle immobility and the ratio of heterophiles:lymphocytes for the combination of sex by management in autochthonous domestic turkey in Chiapas.**

Carácter	Machos ♂		Hembras ♀	
	Jaula	Libertad	Jaula	Libertad
Largo del ala				
IM	0.017	-0.03	0.23	0.30**
H:L	0.046	-0.01	-0.35**	0.18
Largo de tarso				
IM	-0.14	0.10	0.20	0.19
H:L	0.046	-0.16	-0.02	-0.26
Ancho de tarso				
IM	-0.035	-0.05	0.12	0.10
H:L	-0.05	-0.06	-0.33**	0.01
Largo dedo				
IM	-0.05	-0.09	0.21	-0.01
H:L	-0.05	-0.11	0.26	-0.08
Ancho dedo				
IM	-0.009	-0.11	-0.16	-0.04
H:L	0.003	0.15	-0.260	0.18

<sup>†</sup> [(I+D)/2]; \*\* $p \leq 0.01$ .

- Al-Murrani, W. K., I. K. Al-Rawi, and N. M. Raof. 2002. Genetic resistance to *Salmonella typhimurium* in two lines of chickens selected as resistant and sensitive on the basis of heterophil/lymphocyte ratio. *Br. Poultry Sci.* 43: 501-507.
- Auffray, J. C., V. Debat, and P. Alibert. 1999. Shape asymmetry and developmental stability. *On Growth and Form: Spatio-Temporal Pattern Formation in Biology*. John Wiley & Sons, pp: 309-324.
- Balmford, A.; I. L. Jones, and A. L. Thomas. 1993. On avian asymmetry: evidence of natural selection for symmetrical tails and wings in birds. *Proc. Royal Soc. London B: Biol. Sci.* 252: 245-251.
- Benítez, H. A., and L. E. Parra. 2011. Asimetría fluctuante: una herramienta morfo-funcional para medir estabilidad del desarrollo. *Int. J. Morphol.* 29: 1459-1469.
- Campbell, T. W. 1995. *Avian Hematology and Cytology*. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 18: 349-364.
- Campo, J. L., and S. Dávila. 2002. Changes in heterophil to lymphocyte ratios of heat-stressed chickens in response to dietary supplementation of several related stress agents. *Arch. Geflügel* 66: 80-84.
- Campo, J. L., M. G. Gil, S. G. Davila, and I. Munoz. 2006. The genetics of three welfare indicators: tonic immobility duration, heterophil to lymphocyte ratio, and fluctuating asymmetry. *Worlds Poultry Sci. J.* 62: 606-607.
- Campo, J. L., M. G. Gil, I. Munoz, and M. Alonso. 2000. Relationships between bilateral asymmetry and tonic immobility reaction or heterophil to lymphocyte ratio in five breeds of chickens. *Poultry Sci.* 79: 453-459.
- Campo, J. L., M. G. Gil, O. Torres, and S. G. Davila. 2001. Association between plumage condition and fear and stress levels in five breeds of chickens. *Poultry Sci.* 80: 549-552.
- Campo, J. L., and A. Redondo. 1996. Tonic immobility reaction and heterophil to lymphocyte ratio in hens from three Spanish breeds laying pink eggshells. *Poultry Sci.* 75: 155-159.
- Campo, J. L., M. G. Gil, y S. G. Dávila, 2002. El bienestar de los animales domésticos. XI Reunión de mejora genética, Madrid, España.
- Cary, N. C. 2002. SAS Institute Inc. USA, SAS for Windows Release, 8.
- Clarke, G. M. 1998. The genetic basis of developmental stability. V. Inter-and intra-individual character variation. *J. Hered.* 80: 562-567.
- Cocilovo, J. A., H. H. Varela, y S. Quevedo. 2006. La asimetría bilateral y la inestabilidad del desarrollo. *Rev. Arg. Antrop. Biol.* pp. 8.
- Davis, A. K., D. L. Mane, and J.C. Maerz. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Funct. Ecol.* 22: 760-772.
- Fraser, A. F. 1960. Spontaneously occurring forms of "tonic immobility" in farm animals. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 24: 330.
- Gallup, G. G. 1979. Tonic immobility as a measure of fear in domestic fowl. *Anim. Behav.* 27: 316-317.
- García-Belenguer, S., and P. Mormbde. 1993. Nuevo concepto de estres en ganadería: psicobiología y neuroendocrinología de la adaptación. *Invest. Agrar. Prod. Sanid. Anim.* 8: 100.
- Graham J. H., D. C. Freeman, and J. M. Emlen. 1993. Antisymmetry, directional asymmetry, and chaotic morphogenesis. *Genetica*; 89: 121-37.
- Gross, W. B., and H. S. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Dis.* 27: 972-979.
- Jones, R. B., and J. M. Faure. 1981. Tonic immobility ("righting time") in laying hens housed in cages and pens. *Appl. Ani. Ethol.* 7: 369-372.
- Kilgas, P., V. Tilgar, and R. Mänd. 2006. Hematological health state indices predict local survival in a small passerine bird, the great tit (*Parus major*). *Physiol Biochem Zool.* 79: 565-572.
- Klingenberg, C. P., K. Mebus, and J. C. Auffray. 2003. Developmental integration in a complex morphological structure: how distinct are the modules in the mouse mandible?. *Evol. & Dev.* 5: 522-531.
- Klingenberg, C. P., A. V. Badyaev, S. M. Sowry, and N. J. Beckwith. 2001. Inferring developmental modularity from morphological integration: Analysis of individual variation and asymmetry in bumblebee wings. *Am. Nat.* 157: 11-23.
- Knierim, U., S. Van Dongen, B. Forkman, F. A. Tuytens, M. Špinká, J. L. Campo, and G. E. Weissengruber. 2007. Fluctuating asymmetry as an animal welfare indicator. A review of methodology and validity. *Physiol. & Behav.* 92: 398-421.
- Koehn R. K., and B. L. Bayne. 1989. Towards a physiological and genetical understanding of the energetics of the stress response. *Biol. J. Linn Soc. Lond.* 37: 157-171.
- Lens L., and Van Dongen S. 2000. Fluctuating and directional asymmetry in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance, as revealed by mixture analysis. *Ecol Lett.* 3:516-22.
- Leung, B., M. R. Forbes, and D. Houle. 2000. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *Am. Nat.* 155: 101-115.
- Lobato, E., J. Moreno, S. Merino, J. J. Sanz, and E. Arriero. 2005. Haematological variables are good predictors of recruitment in nestling pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*). *Ecoscience* 12: 27-34.
- Alfred, M. L., and J. Casimir. 1961. Atlas of avian hematology. *Agri. Monogr.* 25.
- Massey, F. J. 1951. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit. *J. Amer. Statist. Assoc.* 46: 68-78.
- Millman, S. T., I. J. Duncan, and T. M. Widowski. 2000. Male broiler breeder fowl display high levels of aggression toward females. *Poultry Sci.* 79: 1233-1241.
- Moller, A. P. 1999. Developmental stability is related to fitness. *Am. Nat.* 153:556-560.
- Møller, A. P. 1990. Fluctuating asymmetry in male sexual ornaments may reliably reveal male quality. *Anim. Behav.* 40: 1185-7.
- Moreno, J., S. Merino, J. Martinez, J. J. Sanz, and E. Arriero. 2002. Heterophil/lymphocyte ratios and heat-shock protein levels are related to growth in nestling birds. *Ecoscience* 9: 434-439.
- Nestor, K. E., D. O. Noble, J. Zhu, and Y. Moritsu. 1996. Direct and correlated responses to long-term selection for increased body weight and egg production in turkeys. *Poultry Sci.* 75: 1180-1191.
- Palmer, A. R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a Primer. *In: Markow T. A. Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Springer Netherlands. pp: 335-364

- Palmer, A. R. 1996. Waltzing with asymmetry. *BioScience*. 46: 518-532.
- Palmer, A. R., and C. Strobeck. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of development stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zool Fenn*. 191: 57-72.
- Palmer, A. R. and C. Strobeck. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 17: 391-421.
- Parsons, P. A. 1992. Fluctuating asymmetry. A biological monitor of environmental and genomic stress. *J. Hered.* 68: 361-364.
- Parsons, P. A. 1990. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 65: 131-145.
- Polak, M., and W. T. Starmer. 2001. The quantitative genetics of fluctuating asymmetry. *J. Evol.* 55: 498-511.
- Prieto, M. T., and J. L. Campo. 2010. Effect of heat and several additives related to stress levels on fluctuating asymmetry, heterophil: lymphocyte ratio, and tonic immobility duration in White Leghorn chicks. *Poultry Sci.* 89: 2071-2077.
- Raineri, C., R. Antonelli, N. Prosdocimi, C. Simionato de Barros, A. M. Tarazona, and A. H. Gameiro. 2012. Contribution to economic evaluation of systems that value animal welfare at farm. *Rev. Colomb. Cienc. Pec.* 25: 123-134.
- Sommer C. 1996. Ecotoxicology and developmental stability as an in situ monitor of adaptation. *Ambio.* 25: 374-376.
- Tejeda P. A, I. G. Téllez, F. Galindo. 1997. Técnicas de medición de estrés en aves. *Vet. Méx.* 28: 345-351.
- Van Dongen, S. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future. *J. Evol. Biol.* 19: 1727-43.
- Van Dongen, S. 1998. How repeatable is the estimation of developmental stability by fluctuating asymmetry? *P. Roy Soc. Lond. B Bio.* 265: 1423-27.
- Watson, P. J., and R. Thornhill. 1994. Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Trends Ecol. & Evol.* 9: 21-25.
- Yang, A., E. A. Dunnington, and P. B Siegel. 1997. Developmental stability in stocks of White Leghorn chickens. *Poultry Sci.* 76: 1632-1636.
- Yang, A., and P. B. Siegel. 1998. Asymmetries and heterosis of bilateral traits in parental lines of chickens and their F1 crosses. *J. Anim. Breed. Genet.* 115: 105-111.