UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria.

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MÉDICA VETERINARIA

Autora: Paspuezán Portilla Melany Anahí

Tutora: Dra. Labrada Ching Jaine. Mg.

Cevallos-Ecuador

2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del Trabajo de Titulación sobre el tema: **"Efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria."**, del alumno Paspuezán Portilla Melany Anahí, estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, expongo que dicho Trabajo de Titulación ha sido revisado en su totalidad, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento para la Titulación de Grado en la Universidad Técnica de Ambato.

Por lo tanto, autorizo la presentación del mismo ante el organismo pertinente para ser sometido a la evaluación de los profesores calificadores designados por Consejo Directivo de la Facultad.

Cevallos, junio 2026

.....

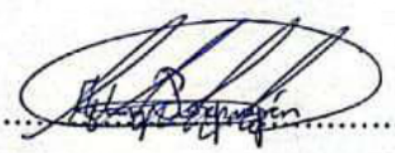
Dra. Labrada Ching Jaine. Mg.

TUTORA

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

El suscrito, **Paspuezán Portilla Melany Anahí**, portadora de la cédula de identidad número **1004516884**, libre y voluntariamente declaro que el informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **"Efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria."** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro el contenido es expresamente de mi responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.

Cevallos, junio 2026



Paspuezán Portilla Melany Anahí

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **"Efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria."** como uno de los requisitos para la obtención del Título de grado de Médica Veterinaria, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad. Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial. Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final o de parte de él.

Cevallos, junio 2026

.....

Paspuezán Portilla Melany Anahí

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el Trabajo de Titulación, **"Efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria."**, de Paspuezán Portilla Melany Anahí, estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de conformidad con el Reglamento para la Titulación de Grado para obtener el título terminal de Tercer Nivel de la Universidad Técnica de Ambato, una vez revisado y calificado

Cevallos, junio 2026

REVISADO POR

.....
Dra. Labrada Ching Jaine. Mg

TUTORA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACION

Para constancia firman

.....
Ing. Vásquez Freytez Carlos. PhD

PRESIDENTE

.....
Méd. Avilés Esquivel Diana Fernanda, PhD.
MIEMBRO TRIBUNAL DE GRADO

.....
Mvz. Becerra Becerra Veronica Alexandra, Mg.
MIEMBRO TRIBUNAL DE GRADO

DEDICATORIA

Dedico esta tesis principalmente a mi familia por todo el apoyo que me han brindado durante este proceso universitario. En especial a mi madre por todo el apoyo y amor incondicional que me ha brindado, a mi padre por todo el cariño y comprensión, a mis hermanos por todos sus buenos deseos y palabras de apoyo.

Finalmente dedico mi tesis a todas mis mascotas, ya que ellos fueron mi principal inspiración para seguir esta carrera, en especial a mi difunto perrito Jack que con su cariño logró que mi corazón se inclinara al cuidado de los animales, también a mi difunta gatita Sakura, la cual me enseñó que el amor puede venir de diferentes especies, y por último a mi querida gatita Lily, ya que en todo este proceso logró sacarme muchas sonrisas y darme compañía en los días difíciles.

Paspuezán Portilla Melany Anahí

AGRADECIMIENTO

Quiero empezar agradeciendo a todas las personas que han creído y confiado en mi durante todo este proceso de aprendizaje.

A mi madre por todo el apoyo que me supo dar en este tiempo, además de todas las noches en las que rezó por mi bienestar, por enseñarme que debo ser fuerte y valiente a pesar de lo difícil que se ponga el camino; por todas las palabras de aliento y los abrazos que fueron como un refugio.

A mi padre por todo el esfuerzo que ha hecho para sacar adelante a mi familia, además de siempre apoyar mis elecciones y brindarme cariño y palabras de aliento en mis días complicados.

A mis amigos del colegio, que a pesar de todo el tiempo que ha pasado, siempre han estado presentes, en especial a mi mejor amiga Doménica Espín, que me enseñó lo que es una amistad sincera. A mi querido amigo Santiago Antamba que siempre me recuerda los buenos momentos del colegio, a mis queridos amigos Samuel Guamán y Milton Fuel, que fueron las mejores amistades que tuve al cambiarme de colegio.

A mis queridas amigas de la universidad, que siempre lograron sacarme una sonrisa, en especial Yuli Vera, la cual siempre me ha apoyado y me ha hecho sentir querida, además de ser una de las personas que lograron darme paz durante mi proceso universitario.

Al Dr. Jorge Moposita, le expreso mi más sincero agradecimiento por todo el conocimiento que me ha brindado en el voluntariado del Hospital; por toda la paciencia que ha tenido durante mi proceso de aprendizaje y, sobre todo, por enseñarme que para enseñar no se necesita humillar al estudiante.

Al Dr. Juan Mira, le agradezco con todo mi corazón por toda la ayuda y conocimientos brindados, además de enseñarme la importancia de estar en constante actualización para un manejo adecuado y amigable para el paciente.

Paspuezán Portilla Melany Anahí

ÍNDICE GENERAL

PORTADA i

APROBACIÓN DEL TUTOR ii

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN iii

DERECHOS DE AUTOR iv

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO v

DEDICATORIA vi

AGRADECIMIENTO vii

ÍNDICE DE TABLAS xi

ÍNDICE DE FIGURAS xiii

ÍNDICE DE ANEXOS xiv

ABREVIATURAS xvii

RESUMEN xviii

ABSTRACT xix

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I 3

MARCO TEÓRICO 3

1.1 Antecedentes investigativos 3

1.1.1 *Antecedentes* 3

1.1.2 *Melissa officinalis* 8

1.1.3 *Comportamiento del canino* 11

1.1.4 *Estrés en animales* 11

1.2 Objetivos: 15

1.2.1 ***Objetivo general:*** 15

1.2.2 ***Objetivos específicos:*** 15

CAPÍTULO II 16

METODOLOGÍA 16

2.1 Materiales 17

2.1.1 ***Materiales y equipos:*** 17

2.2 Métodos: 17

2.2.1 ***Método de asignación de pacientes:*** 17

2.2.2 ***Criterios fundamentales para la experimentación:*** 17

2.2.3 ***Criterios de suspensión de los tratamientos:*** 17

2.2.4 ***Factores de estudio:*** 18

2.2.5 ***Criterios de inclusión y exclusión de pacientes:*** 19

2.2.6 ***Recolección de datos:*** 19

2.2.7 ***Tiempo estimado por tratamiento*** 22

2.2.8 ***Variables de respuesta*** 22

2.2.9 ***Tipo de investigación:*** 25

2.2.10 ***Hipótesis:*** 25

2.2.11 ***Diseño Experimental:*** 25

CAPÍTULO III 27

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27

3.1 Análisis y discusión de resultados 27

3.1.1 ***Análisis de los resultados en conducta de estrés en pre y post aromaterapia:*** 27

3.1.2 ***Análisis de los resultados en parámetros fisiológicos de estrés en pre y post aromaterapia:*** 45

3.1.3 ***Análisis de los resultados de biomarcadores de estrés en pre y post aromaterapia:*** 50

3.1.4 ***Análisis de Dosis- respuesta*** 57

3.2 Verificación de hipótesis 58

CAPÍTULO IV 59

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 59

4.1 Conclusiones 59

4.2 Recomendaciones 60

CAPÍTULO V 61

MATERIALES DE REFERENCIA 61

5.1 Referencias bibliográficas 61

5.2 Anexos 68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Características meteorológicas.* 16
Tabla 2. *Etograma adaptado con la descripción de las variables conductuales.* 22
Tabla 3. *Valores referenciales de Frecuencia cardíaca en perros.* 24
Tabla 4. *Valores referenciales de Frecuencia respiratoria en perros.* 24
Tabla 5. *Valores de referencia de Cortisol en perros.* 24
Tabla 6. *Valores referenciales de Glucosa en perros.* 25
Tabla 7. *Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura corporal en pre y post aromaterapia.* 28
Tabla 8. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura corporal con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 29
Tabla 9. *Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Vocalización en pre y post aromaterapia.* 31
Tabla 10. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Vocalización con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 32
Tabla 11. *Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura de Orejas en pre y post aromaterapia.* 33
Tabla 12. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura de orejas con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 35
Tabla 13. *Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura de Cola en pre y post aromaterapia.* 36
Tabla 14. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura de cola con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 38
Tabla 15. *Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Actividad Motora en pre y post aromaterapia.* 40
Tabla 16. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Actividad motora con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 41
Tabla 17. *Análisis estadístico de tablas cruzadas del Movimiento de Labios en pre y post aromaterapia.* 43
Tabla 18. *Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Movimiento de labios con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.* 44

Tabla 19. *Análisis de la Frecuencia cardíaca en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis.* *46*

Tabla 20. *Análisis de la Frecuencia cardíaca en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.* *46*

Tabla 21. *Análisis de la Frecuencia respiratoria en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis* *48*

Tabla 22*. Análisis de la Frecuencia respiratoria en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.* *49*

Tabla 23. *Análisis de las concentraciones de Cortisol en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis* *50*

Tabla 24. *Análisis de Cortisol en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.* *51*

Tabla 25. *Análisis de las concentraciones de Glucosa en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis* *54*

Tabla 26. *Análisis de Glucosa en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.* *55*

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Representación de la planta Melissa officinalis durante la floración.* 8
Figura 2. *Estructura del compuesto Citronelal* 9
Figura 3. *Estructura del compuesto Linalol* 10
Figura 4. *Respuesta neuroendocrina del estrés y sus respuestas de adaptación.* 13

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. *Escala de evaluación de estrés en caninos hospitalizados.* 68
Anexo 2. *Tabla de conducta con niveles de estrés.* 69
Anexo 3. *Etograma adaptado para la recolecta de datos* 71
Anexo 4. *Resultados de las pruebas de Cortisol (ug/dL) en el tratamiento control (T1)* 72
Anexo 5. *Resultados de la prueba de Cortisol (ug/dL) en el Tratamiento 2* 72
Anexo 6. *Resultados de la prueba de Cortisol (ug/dL) en el Tratamiento 3* 73
Anexo 7. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento control (T1)* 73
Anexo 8. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento 2* 74
Anexo 9. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento 3* 74
Anexo 10. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en el tratamiento control (T1)* 75
Anexo 11. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en Tratamiento 2* 75
Anexo 12. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en el tratamiento 3* 76
Anexo 13. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento control (T1)* 76
Anexo 14. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento 2* 77
Anexo 15. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento 3* 77
Anexo 16. *Prueba de Cortisol sérico de Vcheck* 78
Anexo 17. *Tubos tapa roja con muestra de sangre centrifugada* 78
Anexo 18. *Centrifugación de muestras de sangre para la prueba de cortisol.* 78
Anexo 19. *Analizador Vcheck* 79
Anexo 20. *Test de cortisol sérico.* 79
Anexo 21. *Resultados de la prueba de Cortisol Pre y Post con T1: Nico* 80
Anexo 22. *Resultados de la prueba de Cortisol Pre y Post con T2: Yuri* 80
Anexo 23. *Pruebas de Cortisol en Pre y Post con T3: Scooby* 81
Anexo 24. *Prueba rápida de Glucosa Pre y Post en T1: Cielo* 81

Anexo 25. *Prueba rápida de Glucosa en Pre y Post en T2: Merlina* 82
Anexo 26. *Prueba rápida de Glucosa Pre y Post en T3: Cobo* 82
Anexo 27. *Paciente del T3 en Pre y Post aromaterapia.* 83
Anexo 28. *Preparación de glucómetro veterinario y hoja de registro por paciente* 83
Anexo 29. *Prueba rápida de glucosa con glucómetro veterinario* 83
Anexo 30. *Prueba de Shapiro Wilks Cortisol y prueba de Tukey* 84
Anexo 31. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Cortisol* 85
Anexo 32. *Prueba de Shapiro Wilks - Frecuencia cardíaca* 85
Anexo 33. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Frecuencia cardíaca* 86
Anexo 34. *Prueba de Shapiro Wilks- Frecuencia respiratoria* 86
Anexo 35. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Frecuencia respiratoria* 87
Anexo 36. *Prueba de Shapiro Wilks- Glucosa* 87
Anexo 37. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Glucosa* 87
Anexo 38. *Tablas cruzadas en Postura Corporal* 88
Anexo 39. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura Corporal.* 89
Anexo 40. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Movimiento de labios* 89
Anexo 41. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Vocalización* 90
Anexo 42. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura de orejas* 90
Anexo 43. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura de cola* 91
Anexo 44. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Actividad Motora.* 91
Anexo 45. *Aceite esencial de Melissa officinalis* 92
Anexo 46. *Cronograma de actividades por tratamiento.* 92

Anexo 47. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 1 paciente Flor fase PRE.* 95
Anexo 48. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 1 paciente Flor fase POST.* 95
Anexo 49. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 2 paciente Parlanchina fase PRE.* 96
Anexo 50. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 2 paciente Parlanchina fase POST.* 96
Anexo 51. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 3 paciente Hunter fase PRE.* 97
Anexo 52. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 3 paciente Hunter fase POST.* 97
Anexo 53. *Medición del consultorio.* 98
Anexo 54. *Recolecta de agua destilada, obtenida del laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato.* 98
Anexo 55. *Consentimiento informado para la participación.* 99
Anexo 56. *Autorización del uso de las instalaciones del Hospital Docente Veterinario de la UTA.* 100

ABREVIATURAS

5-HT:	Serotonina (Receptores serotoninérgicos)
5-HT1A:	Subtipo 1A del receptor de serotonina
ELISA:	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)
FC:	Frecuencia Cardíaca
FR:	Frecuencia Respiratoria
$GABA_A$:	Receptor del ácido gamma-aminobutírico tipo A
HHA:	Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal
lpm:	Latidos por minuto
mg/kg:	Miligramos por kilogramo
mg/dL:	Miligramos por decilitro
ml:	Mililitros
MO:	*Melissa officinalis*
p:	Valor de significancia estadística (p-value)
pH:	Potencial de hidrógeno
rpm:	Respiraciones por minuto
SNC:	Sistema nervioso central
T1:	Tratamiento control (agua destilada)
T2:	Tratamiento 2 (aceite esencial de *M. officinalis* al 0,08%)
T3:	Tratamiento 3 (aceite esencial de *M. officinalis* al 0,25%)
TRP:	Receptores TRP (transient receptor potential)
ug/dL	Microgramos por decilitro

RESUMEN

El estrés durante la consulta veterinaria constituye un problema frecuente en caninos domésticos, ya que afecta su bienestar y compromete la calidad de la atención médica. En la actualidad, existe gran interés por el desarrollo de alternativas no farmacológicas que permitan reducir estas respuestas de estrés de manera segura, debido a la preocupación de los tutores por el bienestar de sus mascotas; entre estas alternativas se encuentra la aromaterapia con aceites esenciales. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre indicadores conductuales mediante etograma adaptado, parámetros fisiológicos y biomarcadores de estrés. El estudio se realizó en el Hospital Docente Veterinario de la Universidad Técnica de Ambato, en la provincia de Tungurahua, con una muestra establecida de 36 perros clínicamente sanos distribuidos en 3 grupos de 12 pacientes, instaurando un tratamiento control (T1), un tratamiento con aceite esencial de toronjil al 0,08% (T2) y un tratamiento con aceite esencial de toronjil al 0,25% (T3) con 2 fases pre y post aromaterapia con tiempo de difusión de aroma de 30 minutos. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la evaluación conductual, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y cortisol en sangre, donde T3 presenta un perfil más favorable y consistente; mientras que en el caso de la glucosa no hubo diferencias estadísticamente significativas en la fase post, pero si en diferencia de deltas. Concluyendo que el aceite esencial de toronjil en aromaterapia es efectivo en la reducción de manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y biomarcadores de estrés agudo en perros, mejorando su bienestar durante la consulta veterinaria.

Palabras claves: Aromaterapia, cortisol, evaluación conductual, estrés, *Melissa officinalis*.

ABSTRACT

Stress during veterinary visits is a common problem in domestic dogs, as it affects their well-being and compromises the quality of medical care. Currently, there is great interest in developing non-pharmacological alternatives that can safely reduce these stress responses, driven by pet owners' concern for their pets' well-being; among these alternatives is aromatherapy with essential oils. The objective of this study was to evaluate the effect of *Melissa officinalis* essential oil on behavioral indicators using an adapted ethogram, physiological parameters, and stress biomarkers. The study was conducted at the Veterinary Teaching Hospital of the Technical University of Ambato, in the province of Tungurahua, with a sample of 36 clinically healthy dogs divided into 3 groups of 12 patients. The study included a control group (T1), a treatment with 0.08% lemon balm essential oil (T2), and a treatment with 0.25% lemon balm essential oil (T3), each consisting of two phases pre- and post-aromatherapy with a 30-minute aroma diffusion period. The results showed statistically significant differences in behavioral assessment, heart rate, respiratory rate, and blood cortisol levels, with T3 exhibiting a more favorable and consistent profile; whereas for glucose, there were no statistically significant differences in the post-phase, but there were differences in the delta values. In conclusion, lemon balm essential oil used in aromatherapy is effective in reducing behavioral manifestations, physiological parameters, and biomarkers of acute stress in dogs, thereby improving their well-being during veterinary visits.

Keywords: Aromatherapy, cortisol, behavioral assessment, stress*, Melissa officinalis.*

INTRODUCCIÓN

El estrés constituye una respuesta adaptativa fundamental en los organismos vivos, permitiendo la activación de mecanismos fisiológicos y conductuales orientados a la supervivencia frente a estímulos percibidos como amenazantes. En los animales domésticos, particularmente en el caso del perro (*Canis lupus familiaris*), esta respuesta implica la activación coordinada del sistema nervioso autónomo y del eje hipotálamo–hipófisis–adrenal (HHA), que conduce a la liberación de catecolaminas y glucocorticoides, principalmente cortisol, lo cual facilita la movilización energética y prepara al organismo para afrontar situaciones de desafío. Sin embargo, cuando se activan en contextos no peligrosos o de forma repetida, puede generar efectos negativos sobre la salud, el comportamiento y el bienestar animal **(Domínguez et al., 2021; Salgirli Demirbas et al., 2023).**

En el ámbito de la medicina veterinaria, la consulta clínica representa uno de los escenarios más frecuentes de estrés en caninos, principalmente el estrés agudo, esto debido a que el entorno como tal se caracteriza por la presencia simultánea de múltiples estímulos que pueden generar desagrado o aversión, tales como la manipulación física, la restricción del movimiento, la exposición a olores desconocidos, ruidos, la interacción con personal extraño y, en muchos casos, la separación del propietario . Teniendo en cuenta ello, desde una perspectiva etológica, estos factores pueden desencadenar respuestas emocionales asociadas al miedo y la ansiedad, que se manifiestan mediante conductas como vocalización, jadeo, temblores, hipervigilancia, posturas defensivas o evitativas, e incluso agresividad, las cuales no solo dificultan el manejo clínico, sino que también pueden comprometer la seguridad del personal veterinario y alterar la calidad de la atención brindada **(Hekman et al., 2014; Siniscalchi et al., 2018)**

En respuesta a esta problemática, el manejo del estrés en la práctica veterinaria ha adquirido una relevancia creciente, si bien el uso de agentes farmacológicos ansiolíticos y sedantes ha demostrado ser eficaz en la reducción del estrés, su aplicación no siempre resulta ideal debido a la posibilidad de efectos adversos, contraindicaciones, alteración de parámetros fisiológicos y limitaciones en su uso

rutinario. En este contexto, ha surgido un interés sostenido por el desarrollo e implementación de estrategias no farmacológicas que permitan modular la respuesta al estrés de manera segura, efectiva y mínimamente invasiva, además de brindar mayor seguridad o confiabilidad al tutor de la mascota, lo cual, en estudios anteriores, nos ha demostrado la predisposición del tutor a la elección de alternativas naturales para el manejo **(Riemer et al., 2021).**

Entre las diferentes estrategias, la aromaterapia ha cobrado relevancia como una intervención complementaria basada en la estimulación del sistema olfativo. Este sistema posee conexiones anatómicas directas con estructuras del sistema límbico. A través de esta vía, los compuestos volátiles presentes en los aceites esenciales pueden ejercer efectos neuromoduladores, influyendo sobre la actividad de neurotransmisores implicados en la ansiedad y el comportamiento **(Pasyar et al., 2025).**

Dentro de este grupo, existen diversas alternativas de aceites esenciales o incluso fragancias que tienen cierto impacto en el contexto de relajación o disminución de estrés, entre ellas el aceite esencial de *Melissa officinalis* (toronjil) el cual destaca por su potencial terapéutico. Esta planta contiene una variedad de compuestos bioactivos, principalmente monoterpenos, con efectos ansiolíticos, sedantes y moduladores del sistema nervioso central, contribuyendo a la disminución de la excitabilidad neuronal y a la regulación de estados emocionales **(Stojanović et al., 2023)**

No obstante, a pesar de estos avances, la aplicación de *Melissa officinalis* mediante exposición inhalatoria en caninos, durante la consulta veterinaria no ha sido suficientemente investigada. En este contexto, la presente investigación plantea evaluar de manera integral el efecto de la aromaterapia con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre la respuesta al estrés en caninos durante la consulta veterinaria, considerando indicadores conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol como biomarcador.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 *Antecedentes*

Diversos estudios científicos han evaluado los efectos ansiolíticos, sedantes y moduladores del sistema nervioso asociados a *Melissa officinalis* mediante diferentes vías de administración y en distintas especies, incluyendo perros, humanos y roedores.

En un estudio reciente realizado por **Roy et al., (2025)** el cual tuvo como objetivo evaluar el efecto de un extracto hidroalcohólico de *Melissa officinalis* y el ácido rosmarínico como principal componente, sobre el comportamiento y el metaboloma de los perros. El ensayo incluyó 20 perros beagles divididos en 4 grupos experimentales que recibieron diferentes suplementaciones dietéticas. El protocolo tuvo una duración de cuatro semanas y se midieron tanto variables conductuales como metabólicas. Los resultados mostraron que los perros suplementados con *M. officinalis* presentaron mejoras conductuales compatibles con disminución del estrés y mayor calma, comparados con el grupo control. Además, el análisis metabolómico reveló cambios en rutas metabólicas relacionadas con neurotransmisores, particularmente disminución de GHB, un metabolito vinculado con la vía GABA. Estos hallazgos constituyen evidencia directa en caninos del posible efecto ansiolítico y modulador del SNC asociado a esta planta**.**

Por otra parte, en un estudio realizado por **Pasyar et al., (2025)**, que tuvo como objetivo determinar la efectividad de la inhalación del aceite esencial de *Melissa officinalis* en la ansiedad y en los síntomas en personas sometidas a hemodiálisis. Se presenta un ensayo clínico aleatorizado con diseño pretest-postest, donde se evaluaron a 68 pacientes quienes frecuentemente experimentaban ansiedad elevada. Los participantes inhalaron el aceite esencial tres veces por semana durante un mes, mientras que el grupo control inhaló aceite de almendra dulce. El estudio reportó que los pacientes expuestos al aceite esencial de *Melissa officinalis* presentaron reducción significativa de la ansiedad, acompañada de disminución en síntomas asociados a la

hemodiálisis como insomnio, nerviosismo, náuseas y síntomas digestivos. Estos resultados indican que la vía inhalatoria del aceite esencial de *Melissa officinalis* puede inducir efectos ansiolíticos en humanos, apoyando la relevancia de la exposición olfativa controlada en otras especies.

El estudio realizado por **Stojanović et al., (2023)** que tuvo como objetivo evaluar la actividad ansiolítica del aceite esencial de *Melissa officinalis* y su componente principal la citronela, analizó el efecto del aceite esencial administrado en dosis de 12.5 a 100 mg/kg en ratones. Se comparó además el efecto de citronelal aislado. Se evaluaron comportamientos ansiosos mediante las pruebas light/dark, hole-board y marble-burying. El aceite esencial produjo una disminución significativa de parámetros de ansiedad y una mejora en el comportamiento exploratorio. En cambio, el citronelal aislado mostró un resultado más ambiguo, sugiriendo que los efectos ansiolíticos del aceite esencial son resultado de una sinergia entre varios componentes, entre ellos otros monoterpenos, por lo tanto, su efecto no es atribuible a un solo componente**.**

Senu et al., (2025) en su investigación tuvieron como objetivo determinar el efecto de la aromaterapia inhalada con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre el estrés percibido en mujeres con infertilidad sometidas a tratamiento de fertilización in vitro. Para ello, desarrollaron un ensayo clínico aleatorizado con diseño pretest-postest, conformado por 86 mujeres atendidas en el Centro de Infertilidad Milad del Hospital Imam Reza, en Irán. Las participantes fueron distribuidas aleatoriamente en un grupo experimental y un grupo control. La intervención consistió en la inhalación de 5 a 7 gotas de aceite esencial de toronjil, administradas dos veces al día durante dos semanas, mientras que el grupo control recibió un placebo. La recolección de datos se realizó mediante un cuestionario sociodemográfico y el instrumento Fertility Problem Inventory (FPI), aplicado antes y después de la intervención. Los resultados evidenciaron que, previo al tratamiento, no existían diferencias significativas entre los grupos; sin embargo, tras la intervención, el grupo que recibió aromaterapia presentó una disminución significativa en los niveles de estrés percibido en comparación con el grupo control. Los autores concluyeron que la aromaterapia inhalada con aceite esencial de toronjil constituye una alternativa complementaria eficaz para reducir el estrés en mujeres sometidas a procesos de fertilización asistida. Este estudio aporta a

la presente investigación evidencia científica sobre el potencial antiestrés de *Melissa officinalis* administrada por inhalación, respaldando su posible utilización para disminuir las respuestas conductuales y fisiológicas asociadas al estrés en la consulta veterinaria en caninos.

Sinaei et al., (2024), en el estudio tuvieron como objetivo evaluar el efecto de la aromaterapia inhalada con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre la calidad del sueño en madres de recién nacidos prematuros hospitalizados en unidades de cuidados intensivos neonatales. La investigación correspondió a un ensayo clínico aleatorizado con dos grupos, conformado por 50 madres distribuidas en un grupo intervención y un grupo control. La intervención consistió en la inhalación de 5 a 7 gotas de aceite esencial de toronjil aplicadas en una mascarilla, dos veces al día durante dos semanas. Para la recolección de datos se utilizó el Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), aplicado antes y después del tratamiento. Los resultados mostraron una mejora significativa en la calidad del sueño del grupo intervenido en comparación con el grupo control. En este estudio los autores concluyeron que la aromaterapia inhalada con *Melissa officinalis* constituye una estrategia complementaria eficaz para mejorar el bienestar en situaciones de estrés. Este hallazgo aporta evidencia sobre los efectos relajantes del toronjil, respaldando su potencial aplicación en caninos.

Ahsan et al., (2024), en la investigación tuvieron como objetivo evaluar el efecto de diferentes aceites esenciales sobre las conductas asociadas al estrés y los niveles de cortisol en carnívoros mantenidos en cautiverio. El estudio presentó un diseño experimental desarrollado en tres fases: preenriquecimiento, enriquecimiento y postenriquecimiento. La muestra estuvo conformada por cinco carnívoros cautivos (lobo asiático, gato de la jungla, leopardo, león asiático y hiena rayada). Durante la fase de enriquecimiento se aplicaron aceites esenciales de lavanda, eucalipto, limón y menta mediante pulverización sobre troncos ubicados en los recintos. Las conductas fueron registradas mediante observación focal y los niveles de cortisol se determinaron a partir de muestras fecales analizadas mediante ELISA. Los resultados evidenciaron una disminución de comportamientos relacionados con el estrés y una reducción de las concentraciones de cortisol durante la aromaterapia. Los autores concluyeron que la aromaterapia constituye una herramienta eficaz de enriquecimiento sensorial para reducir el estrés a corto plazo. Este estudio aporta evidencia sobre la utilidad de los

aceites esenciales para modificar respuestas conductuales y fisiológicas asociadas al estrés animal, variables que se evaluarán en la presente investigación.

Wang et al., (2022), en el estudio tuvieron como objetivo evaluar la capacidad del aceite esencial de *Melissa officinalis* (Toronjil) para reducir las respuestas fisiológicas al estrés durante el transporte prolongado de lubina. La investigación presentó un diseño experimental con 180 peces distribuidos en seis grupos, incluyendo diferentes concentraciones de aceite esencial de toronjil (10, 20 y 40 mg/L), además de grupos tratados con eugenol, MS-222 y un control. Los animales fueron sometidos a un transporte simulado de 72 horas y se analizaron parámetros fisiológicos mediante pruebas bioquímicas y ensayos ELISA para determinar cortisol y proteínas de choque térmico. Los resultados mostraron que los peces tratados con toronjil presentaron menores niveles de cortisol, glucosa, ácido láctico y marcadores de estrés fisiológico en comparación con el grupo control, siendo la concentración de 40 mg/L la más efectiva. Los autores concluyeron que el aceite esencial de *Melissa officinalis* posee propiedades sedantes y antiestrés que favorecen la adaptación fisiológica frente a situaciones estresantes. Este estudio aporta evidencia sobre la capacidad del toronjil para modular biomarcadores de estrés, especialmente el cortisol, variable fundamental en la presente investigación.

Fernandes et al., (2026), en la investigación tuvieron como objetivo evaluar la influencia de una formulación tópica de aceite esencial de lavanda sobre el estrés de los perros durante exámenes clínicos veterinarios. Se desarrolló un estudio experimental controlado con diseño factorial 2×2 de medidas repetidas, utilizando una muestra de 12 perros Beagle distribuidos en grupos tratados con formulaciones al 15 % y 30 %, además de un control placebo. La formulación se aplicó en el pabellón auricular 20 minutos antes del examen clínico, evaluándose parámetros fisiológicos, niveles de cortisol salival y conductas asociadas al estrés mediante observación directa y formularios establecidos por los autores. Los resultados mostraron que la concentración al 30 % redujo significativamente las conductas relacionadas con estrés, miedo y ansiedad, además de disminuir los niveles de cortisol salival. Los autores concluyeron que el aceite esencial de lavanda constituye una estrategia viable para mejorar el bienestar canino durante la consulta veterinaria. Este estudio aporta evidencia sobre el uso de aceites esenciales como alternativa para disminuir

manifestaciones conductuales y fisiológicas asociadas al estrés en perros durante la consulta veterinaria.

Guevara, (2023), en la tesis tuvo como objetivo analizar el efecto relajante de este aceite esencial en felinos durante la atención veterinaria. La investigación presentó un diseño experimental completamente al azar con evaluación pre y post tratamiento, utilizando una muestra de 45 gatos domésticos distribuidos en tres grupos de 15 animales, expuestos a concentraciones de 5 %, 10 % y 15 % de aceite esencial de té verde mediante difusión ambiental. La medición se realizó mediante observación directa, utilizando un etograma adaptado, métodos semiológicos y registros conductuales realizados durante 15 minutos. Los resultados evidenciaron diferencias significativas entre el pre y post tratamiento, observándose una disminución de signos de estrés relacionados con ventilación, posición de orejas, vocalizaciones, actividad y expresión ocular. La autora concluyó que el aceite esencial de té verde posee un efecto relajante en gatos. Este estudio aporta evidencia sobre la utilidad de la aromaterapia como estrategia no farmacológica para reducir manifestaciones conductuales asociadas al estrés durante la consulta veterinaria.

Por último, en la tesis realizada por **Gavilánez, (2024)**, tuvo como objetivo evaluar el efecto de este aceite esencial sobre el estrés en perros durante la atención veterinaria. Para ello, desarrolló una investigación experimental con una muestra de 33 caninos clínicamente sanos, distribuidos en tres grupos de 11 individuos: un grupo control placebo, un grupo tratado con aceite esencial de valeriana al 2 % y otro con una concentración del 4 %, administrados mediante aromaterapia con difusor ambiental. La recolección de datos se realizó antes y después de la intervención mediante una etograma para valorar postura, orejas, labios, respiración, actividad y vocalización, además de análisis sanguíneos para determinar los niveles de cortisol. Los resultados evidenciaron diferencias significativas en varios indicadores conductuales de estrés y una reducción significativa del cortisol, especialmente con la concentración del 4 %. La autora concluyó que la aromaterapia con aceite esencial de valeriana es efectiva para disminuir el estrés y mejorar el bienestar de los perros durante la consulta veterinaria. Este trabajo aporta evidencia metodológica y científica para sustentar la evaluación de aceites esenciales como alternativa para reducir las manifestaciones conductuales y fisiológicas asociadas al estrés en caninos.

Estos antecedentes aportan principalmente una visión más amplia del uso de aceites esenciales, en especial del aceite esencial de *Melissa officinalis*, además de aportar con evidencia científica y metodológica para la presente investigación.

1.1.2 *Melissa officinalis*

1.1.2.1 Descripción botánica:

Melissa officinalis es una planta herbácea perenne que puede alcanzar aproximadamente 80 cm de altura. La cual presenta tallos rectos, angulosos y vellosos, y hojas grandes, verdes, pecioladas y con forma de corazón. Las flores son pequeñas, de color blanco, blanquecino, amarillo pálido o rosado, agrupadas en racimos de 4 a 12 unidades, esta planta está presente en suelos arenosos y fértiles, con un pH de 5 a 7, y crece tanto a pleno sol como en sombra parcial **(Ruiz et al., 2017).**

Todas esas características las podemos apreciar de mejor manera en la Figura 1.

Figura 1.

Representación de la planta Melissa officinalis durante la floración.



Fuente: (Świder et al., 2019)

1.1.2.2 Composición química del aceite esencial:

Está constituido principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos, siendo los monoterpenos el grupo mayoritario (80%) y los sesquiterpenos el restante (20%). En el aceite esencial, los compuestos predominantes son el decadienal (28,04%) y el geraniol (24,97%), acompañados de óxido de cariofileno, cariofileno E, geranilo,

carvacrol, acetato de geranilo, acetato de nerilo y linalol. Después de la floración, el perfil químico se reduce a 16 componentes, destacándose el carvacrol (37,62%) y el citronelato de metilo (32,34%), junto con acetato de geranilo, cariofileno, geraniol, hepteno, transpulegol y linalol **(Ruiz et al., 2017).**

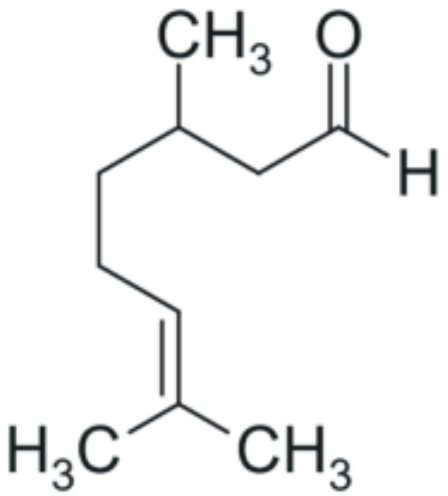
1.1.2.3 Mecanismo de acción:

Principales compuestos y acción:

- Citronelal: Se ha mencionado que tiene afinidad energética por α-sinucleína, receptores de adenosina, MAO y receptores dopaminérgicos D1. Esto sitúa su acción en el sistema nervioso central (SNC). Estos efectos neuromoduladores se vinculan con reducción de calambres, distensión muscular y síntomas motores, y también con la disminución de ansiedad y mejora del sueño descrita en el estudio **(Pasyar et al., 2025).**

Figura 2.

Estructura del compuesto Citronelal



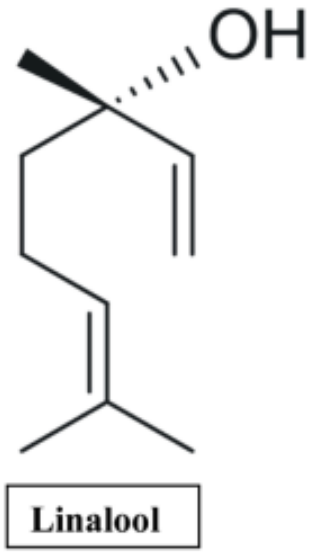
Citronellal

Fuente: (Sharma et al., 2026)

- Linalol: Compuesto con afinidad a los receptores serotoninérgicos (5-HT) y receptores dopaminérgicos D1, también se une a subunidades del receptor GABA_A. Esta interacción contribuye a efectos calmantes, anticonvulsivantes, sedantes, ansiolíticos y con el apoyo a la mejora de la calidad del sueño **(Pasyar et al., 2025)**.

Figura 3.

Estructura del compuesto Linalol



Fuente: (Sharma et al., 2026)

1.1.2.4 Seguridad del uso de aceites esenciales en caninos:

La aplicación de aceites esenciales en perros requiere una atención especial debido a las particularidades anatómicas y funcionales de su sistema olfativo. Los perros cuentan con aproximadamente entre 220 y 300 millones de receptores olfativos, lo que es una cantidad considerablemente mayor en comparación con los humanos, permitiéndoles percibir concentraciones muy bajas de compuestos volátiles en su entorno. Esta alta sensibilidad significa que estímulos aromáticos que sean sutiles para las personas podrían provocar reacciones sensoriales mucho más intensas en los perros, por lo que se aconseja usar concentraciones menores, limitar el tiempo de exposición y asegurar una ventilación adecuada **(Sisubalan et al., 2023; Štrabac et al., 2021)**

Teniendo en cuenta ello, la selección de las concentraciones (0,08% y 0,25%) para este estudio, que corresponden a 1 y 3 gotas, se fundamentó en el principio de mínima exposición efectiva, la cual establece que los animales deben exponerse inicialmente a dosis reducidas debido a su elevada capacidad de detección olfativa **(Enviroliteracy, 2025).** Lo cual también se puede fundamentar en un estudio realizado por **Goodwin y Reynolds, (2018)** en el cual se utilizó concentraciones bajas, como 3 gotas de aceite esencial de lavanda diluidos en 30 ml de agua, obteniendo efectos favorables con respecto a la disminución de ansiedad.

1.1.3 *Comportamiento del canino*

1.1.3.1 Temperamento:

Se estima que cerca del 40% de sus rasgos tienen un origen hereditario, mientras que entre el 50% y el 60% están determinados por el entorno. Por ello, un mismo perro evaluado a temprana edad y nuevamente en la adultez puede conservar el mismo perfil temperamental, aunque su expresión conductual puede variar con el tiempo. El temperamento no se clasifica como positivo o negativo; se mantiene relativamente estable, pero su manifestación puede cambiar entre individuos y etapas de vida. Este componente influye directamente en la conformación de la personalidad y de sus rasgos **(Karpiński et al., 2022).**

1.1.3.2 Comunicación:

La comunicación en los perros incluye las señales verbales y no verbales que utilizan para transmitir información a otros perros y a los humanos, expresando emociones y necesidades mediante lenguaje corporal, vocalizaciones, olores e interacción social. En si estos poseen un amplio conjunto de señales visuales, táctiles, auditivas y olfativas **(Siniscalchi et al., 2018).**

1.1.4 *Estrés en animales*

1.1.4.1 Concepto de estrés:

El estrés en perros se define como un conjunto de respuestas fisiológicas y conductuales que el animal activa para adaptarse a un estímulo percibido como amenazante o desafiante. Estas respuestas involucran la activación del eje hipotálamo–hipófisis–suprarrenal y del sistema nervioso simpático, lo que puede manifestarse en cambios como aumento de frecuencia cardíaca, hipervigilancia, jadeo, temblores y

modificaciones en la conducta **(Domínguez et al., 2021; Salgirli Demirbas et al., 2023).**

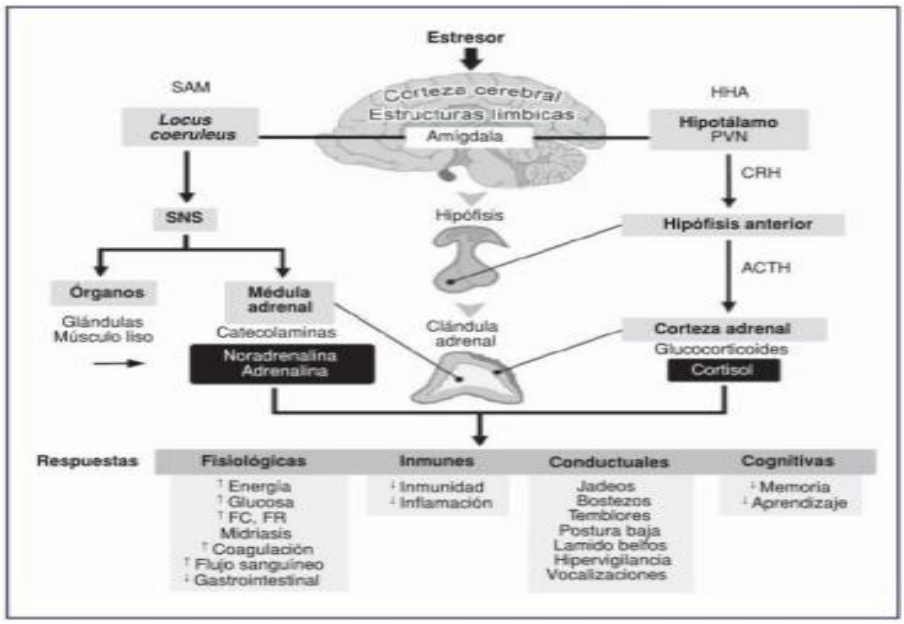
1.1.4.2 Estrés agudo:

El estrés agudo actúa como un mecanismo de defensa y adaptación a un factor que involucre peligro u estrés, ya que pone en marcha respuestas neuroendocrinas, autónomas y características de cada especie que ayudan al organismo a afrontar el estímulo estresante. La activación del eje simpático adrenomedular se evidencia en respuestas autonómicas como el incremento de la frecuencia cardíaca y respiratoria **(Salgirli Demirbas et al., 2023).**

1.1.4.3 Respuesta fisiológica al estrés:

La reacción frente al estrés implica mecanismos fisiológicos complejos que se explican principalmente mediante dos sistemas: la activación del sistema adrenomedular (SAM) y la del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales (HHA). El SAM constituye la respuesta inmediata de "lucha o huida", mientras que el HHA representa una adaptación más prolongada al estresor. Frente a un estímulo estresante, el organismo activa inicialmente el SAM, que depende del sistema nervioso simpático y de la médula adrenal. Esto provoca la liberación de noradrenalina en diversos tejidos y la secreción adicional de adrenalina y noradrenalina por las células cromafines. Estas hormonas actúan de manera conjunta para preparar al cuerpo para una acción física rápida, produciendo aumento del ritmo cardíaco, mayor frecuencia respiratoria, broncodilatación, elevación de la presión arterial y un incremento de la glucosa en sangre **(Domínguez et al., 2021).**

Figura 4. *Respuesta neuroendocrina del estrés y sus respuestas de adaptación.*



Fuente: (Domínguez et al., 2021)

1.1.4.4 Estrés en consulta veterinaria:

La consulta veterinaria es uno de los eventos potencialmente más estresantes para muchos perros, incluso en animales clínicamente sanos. La exposición a un ambiente desconocido, la presencia de nuevos olores, el contacto con personas extrañas, la separación del tutor, la manipulación física y la realización de procedimientos clínicos pueden ser percibidos como estímulos amenazantes o estresantes, desencadenando respuestas de miedo, ansiedad y estrés. La intensidad de esta respuesta depende de factores individuales como la edad, el temperamento, las experiencias previas y el grado de socialización del paciente, por lo que algunos perros presentan una mayor susceptibilidad durante la atención clínica **(Csoltova et al., 2017)**

1.1.4.5 Alteraciones conductuales derivadas del estrés en caninos:

La respuesta de un animal ante un estresor varía según factores como su historial clínico, la intensidad y duración del estímulo, las experiencias previas y su capacidad para anticipar o controlar la situación. En los perros, el estrés puede evidenciarse mediante jadeo o respiración acelerada, mirada fija, lamidos repetitivos, pupilas dilatadas, temblores o rigidez, postura encogida con orejas y cabeza hacia atrás, bostezos continuos y un incremento general de la actividad **(Domínguez et al., 2021; Hekman et al., 2014).**

1.1.4.6 Cortisol como biomarcador de estrés:

Las concentraciones de cortisol pueden evaluarse mediante distintas matrices, entre ellas saliva y sangre, dado que ambas reflejan la actividad del eje HPA frente a estresores agudos. El cortisol salival muestra una fuerte correlación con el valor de cortisol en suero y sigue los mismos ritmos diarios, representando alrededor del 10% del cortisol sérico, lo que lo convierte en un buen estimador del cortisol libre. No obstante, tanto el cortisol salival como el cortisol en suero, pueden verse influenciados por variaciones genéticas, condiciones ambientales, estado sanitario y factores sociales que modulan la respuesta final **(Kaszycka et al., 2025).**

1.1.4.7 Glucosa como biomarcador indirecto del estrés:

Las concentraciones de glucosa, no es un indicador directo de estrés, sin embargo puede verse afectado por diversas razones, entre ellas el estado del estrés o situaciones estresantes, donde dichos valores incrementan por la activación del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo–hipófisis–adrenal, lo cual provoca la liberación de diversas hormonas que estimulan procesos metabólicos como la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepática, aumentando la disponibilidad de glucosa en sangre para cubrir las demandas energéticas del organismo durante la respuesta al estrés **(Al-Hassani et al., 2024; Marik & Bellomo, 2013).**

1.1.4.8 Low Stress Handling:

El término Low Stress Handling se refiere a un conjunto de métodos de manejo que tienen como objetivo disminuir el miedo, la ansiedad y el estrés durante la interacción entre el paciente y el equipo veterinario. Este enfoque se centra en utilizar una manipulación delicada, observar continuamente el lenguaje corporal del animal y reducir al mínimo los procedimientos que puedan provocar reacciones negativas. Su finalidad es mejorar el bienestar del paciente y crear una experiencia clínica más gratificante, reduciendo la necesidad de inmovilizaciones innecesarias **(Squair et al., 2023)**. Varios estudios han indicado que los perros que son manejados con técnicas de bajo estrés muestran respuestas fisiológicas y conductuales menores en comparación con aquellos que son tratados con métodos convencionales. **Scalia et al., (2017)** encontraron que la aplicación de estas estrategias ayudó a disminuir los signos de estrés durante la consulta clínica, respaldando su uso como una herramienta para optimizar el bienestar animal.

1.1.4.9 Aromaterapia inhalatoria:

La inhalación de aromaterapia es una forma de medicina complementaria que se basa en la exposición controlada a compuestos volátiles que se encuentran en los aceites esenciales. Estos compuestos pueden provocar respuestas fisiológicas y de comportamiento mediante la estimulación del sistema olfativo. Al inhalar, las moléculas de aroma interactúan con receptores específicos situados en el epitelio olfativo, generando impulsos nerviosos que se envían al bulbo olfatorio y luego a diversas estructuras del sistema límbico, como la amígdala, el hipocampo y el hipotálamo, áreas que desempeñan un papel en la regulación emocional y en la respuesta neuroendocrina al estrés. Debido a esta conexión anatómica y funcional, se han investigado diferentes aceites esenciales por su capacidad para influir en estados de ansiedad, miedo y estrés, tanto en seres humanos como en animales **(Hedigan et al., 2023; Ruan et al., 2026).**

1.2 Objetivos:

1.2.1 *Objetivo general:*

- Evaluar el efecto del aceite esencial de toronjil *(Melissa officinalis)* sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria.

1.2.2 *Objetivos específicos:*

- Evaluar el efecto de aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre los cambios conductuales asociados al estrés mediante etograma (postura corporal, vocalización, postura de orejas, postura de cola, actividad motora, movimiento de labios).
- Determinar el efecto de aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre los parámetros fisiológicos relacionados con el estrés, a través de la medición pre y post terapia.
- Analizar el efecto de aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre biomarcadores de estrés agudo, cortisol y glucosa sanguínea, mediante la comparación de sus concentraciones antes y después del tratamiento.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

Lugar de estudio: El estudio se llevó a cabo en el Hospital Docente Veterinario de la Universidad Técnica de Ambato, que está ubicada en la provincia de Tungurahua del cantón Cevallos, kilómetro 2 vía Quero, sector Querochaca.

Tabla 1.

Características meteorológicas.

INDICADORES	**PARÁMETROS**
Clima	Clima templado
Temperatura	14,6°C
Altitud	2986 msnm
Superficie	18,78 km^2

Fuente: (GAD Cevallos, 2026).

Sala de consulta o consultorio: Cuarto de 5m x 2m, en un ambiente cerrado, con ventilación adecuada y mínima exposición a estímulos externos para evitar la generación de estrés adicional.

Población: 36 caninos domésticos, de edades comprendidas entre 1 a 6 años, clínicamente sanos, seleccionados a través de la evaluación de las condiciones corporales de los mismos.

Ayudantes: Se contó con una ayudante fija para la intervención de cada uno de los pacientes seleccionados para la experimentación, misma que evaluaba la conducta del paciente, cabe recalcar que la ayudante no tenía conocimiento de qué tenía cada tratamiento y lo esperado de cada uno. Por otra parte, la ayudante se encontró en el sitio antes, durante y después de cada tratamiento.

2.1 Materiales

2.1.1 *Materiales y equipos:*

- **Equipos:** Estetoscopio, difusor ultrasónico, glucómetro veterinario.
- **Materiales de laboratorio:** Guantes de latex, tubo de tapa roja de 0.5 ml.
- **Materiales de campo o clínica:** Mesa de consulta, guantes de exploración, filipino, historias clínicas, balanza, jeringas de 3ml, jeringas de 1ml, jeringas de 5ml, jeringas de 60ml, torundas de algodón.
- **Reactivos:** Agua destilada, aceite esencial de toronjil, alcohol.

2.2 Métodos:

2.2.1 *Método de asignación de pacientes:*

Se utilizó el método de asignación simple para cada tratamiento.

2.2.2 *Criterios fundamentales para la experimentación:*

- Horario de inicio y fin de recolección de datos para la experimentación: (9:00 am- 12:00 pm).
- El tutor y paciente deben llegar 10 minutos antes según el cupo designado (9:00am, 10:00 am, 11:00 am).
- Pacientes con ayuno de 8 horas.
- El tutor debe permanecer fuera del consultorio durante la experimentación.
- El tutor debe estar de acuerdo con la experimentación (consentimiento informado).

2.2.3 *Criterios de suspensión de los tratamientos:*

- Se suspenderá de manera inmediata el tratamiento si se observa reacciones adversar como: salivación, estornudos, inquietud marcada, náuseas, irritación ocular o el rechazo al aroma.
- Se suspenderá de manera inmediata el tratamiento si existen ruidos intensos fuera del consultorio.
- Se suspenderá de manera inmediata el tratamiento si existe salida y entrada de los participantes durante el tratamiento.

2.2.4 *Factores de estudio:*

Grupo experimental:

- Tratamiento 1: Agua destilada (tratamiento placebo).
- Tratamiento 2: Aceite esencial de *Melissa officinalis* al 0.08%
- Tratamiento 3: Aceite esencial de *Melissa officinalis* al 0.25%

Para determinar las concentraciones de aceite esencial de *Melissa officinalis (MO)*, se realizó una regla de 3, teniendo en cuenta los siguientes datos:

1ml= 20 gotas y **60ml=** 1200 gotas

Para la experimentación se utilizó 60ml (1200 gotas) de agua destilada en cada tratamiento, en el tratamiento 2 y el tratamiento 3 se utilizó 60 ml de agua destilada para diluir las gotas a utilizarse de aceite esencial de *Melissa officinalis*, es decir:

- **Tratamiento 2:** 1 gota de aceite esencial de *MO* diluida en 60 ml (100%).

$$Concentración = \frac{1 \times 100\%}{1200} = 0{,}083\%$$

- **Tratamiento 3:** 3 gotas de aceite esencial de *MO* diluida en 60 ml (100%).

$$Concentración = \frac{3 \times 100\%}{1200} = 0{,}25\%$$

Etograma:

Descripción detallada acerca de las variables a medir, tales como: Postura corporal, vocalización, postura de orejas, postura de cola, actividad motora y movimiento de labios.

Medición de frecuencia cardíaca:

Frecuencia cardíaca medida manualmente.

Medición de frecuencia respiratoria:

Frecuencia respiratoria medida manualmente.

Prueba de cortisol:

Cortisol medido en sangre (ug/dL)

Prueba rápida de glucosa:

Glucosa medida en sangre con glucómetro veterinario (mg/dL)

2.2.5 *Criterios de inclusión y exclusión de pacientes:*

Criterios de inclusión:

- Animales adultos comprendidos en edades de 1 a 6 años.
- Animales de cualquier raza y sexo.
- Animales clínicamente sanos.
- Animales con peso de 10-25 kg, con BCS 4-5/9.

Criterios de exclusión:

- Animales con tratamiento farmacológico (dicha interacción podría generar efectos adversos).
- Animales citados para procedimientos quirúrgicos o para asistencia de emergencia.
- Animales extremadamente agresivos.
- Animales cachorros y geriátricos.
- Perras hembras en período de celo y gestación.
- Animales con enfermedades endócrinas previamente diagnosticadas.

2.2.6 *Recolección de datos:*

1. **Evaluación conductual (Etograma)**

Cada perro será expuesto individualmente a su tratamiento mediante un difusor ultrasónico de 500 ml, colocado en el suelo. El procedimiento experimental seguirá una secuencia temporal estandarizada para garantizar la consistencia entre tratamientos.

Inicialmente se realizará una evaluación conductual basal durante 2 minutos, en ausencia del aroma, con el objetivo de registrar el comportamiento previo a la exposición, recolecta de parámetros fisiológicos y muestras de sangre para las pruebas

de biomarcadores. Posteriormente se iniciará la difusión del aceite esencial correspondiente al tratamiento asignado, el cual se mantendrá durante 30 minutos.

Durante este periodo se observará continuamente la conducta del animal; sin embargo, el registro formal de los datos conductuales se realizará culminando los 30 minutos de la exposición, lo cual se estima en 2 minutos, con el fin de evaluar el efecto del estímulo olfativo una vez alcanzado el periodo de difusión establecido.

Durante todo el procedimiento se simulará una consulta veterinaria rutinaria con manipulación mínima (auscultación, observación y palpación ligera), de modo que las condiciones experimentales se asemejen a una situación clínica real.

El comportamiento será evaluado mediante las variables seleccionadas de etograma:

- Postura corporal.
- Vocalización.
- Postura de orejas.
- Postura de cola.
- Actividad motora.
- Movimientos de labios.

2. Parámetros fisiológicos

Para la evaluación de los parámetros fisiológicos se registrarán frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria en dos momentos: pre y post exposición a la aromaterapia.

El paciente será colocado en una posición cómoda y se procederá a la colocación de la campana del estetoscopio. La primera medición se realizará antes del inicio de la aromaterapia, inmediatamente después de la evaluación conductual basal, estimándose un tiempo aproximado de 1 minuto para el registro de los parámetros, tanto frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria tendrá un tiempo de medición de 15 segundos cada una, una vez obtenidos los latidos o respiraciones en 15 segundos, estás serán multiplicadas por 4, para obtener el valor en un minuto, después de ello se toman las muestras de sangre para realizar las pruebas de biomarcadores.

Posteriormente se iniciará la difusión del aceite esencial correspondiente al tratamiento asignado mediante difusor ultrasónico durante 30 minutos.

Finalizado este periodo de exposición, se realizará la segunda medición de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria, proceso que se estima en 1 minuto, utilizando el mismo método del inicio, en el cual se obtiene latidos y respiraciones en 15 segundos para después multiplicarlos por 4, para así tener valores en 1 minuto.

3. Cortisol y glucosa

Para la medición de los biomarcadores se realizarán dos tomas sanguíneas por cada paciente, una antes y otra después de la exposición a la aromaterapia.

La primera muestra sanguínea se obtendrá después de la evaluación conductual basal y toma de parámetros fisiológicos, datos que se estiman en 3 minutos, previo al inicio de la aromaterapia. Para ello se realizará el rasurado de la zona seleccionada (vena cefálica), seguido de la desinfección con algodón y alcohol. Posteriormente se colocará un torniquete proximal y se procederá a la extracción de sangre utilizando una jeringa estéril de 3 ml, obteniendo aproximadamente 1,5 ml de sangre, procedimiento de venopunción que se estima en 2 minutos.

La muestra se depositará en un tubo de tapa roja previamente rotulado con el código del paciente, posteriormente se espera 10 minutos para que se coagule y seguido de ello se coloca la muestra a la mini centrifugadora por 15 minutos a 2500 revoluciones por minuto para así separar el suero, el mismo será guardado en una caja de refrigeración con la temperatura de 2-8°C para el posterior análisis.

De forma paralela, para la determinación de glucosa se utilizará un glucómetro veterinario, donde se tomará 2 a 3 gotas de sangre obtenidas en la venopunción que será colocada en la tira reactiva correspondiente para la lectura inmediata de la glicemia, los resultados se marcarán a los 5 segundos de haberse colocado las 2-3 gotas de sangre.

Una vez finalizado el periodo de difusión de 30 minutos y haber evaluado las variables conductuales y parámetros fisiológicos que se estima en 3 minutos, se realizará la segunda toma sanguínea (post exposición) siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente, tanto para el análisis de cortisol y glucosa, lo cual se estima en 2 minutos.

2.2.7 *Tiempo estimado por tratamiento*

Se destinan 55 minutos por cada tratamiento, desde el ingreso al Hospital Docente Veterinario de la UTA hasta la entrega y salida del tutor y paciente de las instalaciones. El cronograma de actividades y tiempo se especifican mejor en el Anexo 46.

2.2.8 *Variables de respuesta*

2.2.8.1 Variables etológicas:

- Postura corporal
- Vocalización
- Postura de orejas
- Postura de cola
- Actividad motora
- Movimiento de labios

Tabla 2.

Etograma adaptado con la descripción de las variables conductuales.

Variable	Conducta	Clave	Descripción
Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	R	Cuerpo suelto, sin tensión evidente.
	Tenso, con aceptación de manipulación	T	Cuerpo tenso, pero sin dificultad para la examinación.
	Rígido, difícil manipulación.	RDM	Cuerpo tenso, con dificultad para la examinación.
	Encorvado con postura baja	EPB	Encogido, difícil de examinar y con el cuerpo pegado hacia la mesa de examinación.
	Enroscado	E	Completamente retraído, acostado con patas dobladas en forma de bola.
	Ausente	A	No emite sonidos.
	Llora o aúlla	Ll	Presenta quejidos por intervalos.

Vocalización	Llora, gime.	LlG	Presenta quejidos continuos.
	Gruñe, intenta morder.	G	Emite un sonido de alerta mientras enseña los dientes.
	Muerde	M	Intento de ataque con los dientes.
Postura de orejas	Normal.	N	Elevadas o caídas, esto dependiente de la raza.
	Movimiento hacia atrás.	MA	Movimientos hacia atrás por intervalos.
	Totalmente hacia atrás.	TA	Hacia atrás sin intervalos.
	Ligeramente caídas.	LC	Aplanadas con las puntas caídas por intervalos
	Aplanadas.	A	Aplanadas con las puntas constantemente caídas.
Postura de cola	En reposo o relajada.	R	Posición natural.
	Ligeramente hacia abajo.	LHA	Se mantiene ligeramente más abajo que la posición natural.
	Baja.	B	Baja con la punta a la dirección del suelo.
	Entre las patas.	EP	Entre los miembros posteriores, pero sin pegarse al vientre.
	Enroscada.	E	Posición enroscada, pegada al vientre.
Actividad motora	Flexible.	F	Movimiento hacia los alrededores con facilidad.
	Inactivo.	I	Se mantiene en un sitio fijo.
	Patas flexionadas.	PF	Reposo sobre sus patas con temblores o movimientos ligeros.
	Temblor parcial.	TP	Movimientos periódicos.
	Temblor continuo.	TC	Movimientos constantes.
Movimiento de labios	Relajados.	R	Boca abierta, es posible ver la lengua.
	Firmes.	F	Labios apretados.
	Lamido de belfos.	LB	La lengua pasa por sus labios.

	Bostezo, se lame los belfos.	BLB Abre la boca, pero tiene lamido de los labios continuamente.

Nota: Adaptado de *Escala de evaluación de estrés en caninos en ambiente hospitalario o en el cuarto de exploración*, de Domínguez, 2021.

2.2.8.2 Parámetros fisiológicos y biomarcadores:

Frecuencia cardíaca:

Tabla 3.

Valores referenciales de Frecuencia cardíaca en perros.

	Valores en reposo	**Valores de referencia**
Frecuencia cardíaca (lpm)	70-120 lpm	110-130 lpm

Frecuencia respiratoria:

Tabla 4.

Valores referenciales de Frecuencia respiratoria en perros.

	Valores en reposo	**Valores de referencia**
Frecuencia respiratoria (rpm)	10-30 rpm	15-40 rpm

Cortisol:

Tabla 5.

Valores de referencia de Cortisol en perros.

Analito	**Rango de medición**	**Valores de referencia**
Cortisol (ug/dL)	1-30 ug/dL	1-4 ug/dL

Glucosa:

Tabla 6

Valores referenciales de Glucosa en perros.

	Valores en reposo	**Valores de referencia**
Glucosa (mg/dL)	70-120 mg/dL	120-200 mg/dL

Limitaciones del estudio:

- Efecto de la venopunción como estresor adicional.
- Falta de seguimiento post- tratamiento.
- Falta de diferenciación de animales con y sin experiencias previas en consulta veterinaria.

2.2.9 *Tipo de investigación:*

Se trata de una investigación experimental, longitudinal prospectiva.

2.2.10 *Hipótesis:*

Hipótesis nula ($\mathbf{H_0}$): El uso del aceite esencial de *Melissa officinalis* no produce cambios en las manifestaciones conductuales, los parámetros fisiológicos y los niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria, en comparación con los grupos control.

Hipótesis alternativa ($\mathbf{H_1}$): El uso del aceite esencial de *Melissa officinalis* produce cambios en las manifestaciones conductuales, los parámetros fisiológicos y los niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria, en comparación con los grupos control.

2.2.11 *Diseño Experimental:*

El estudio seguirá un diseño completamente al azar con tres tratamientos y doce repeticiones por grupo (n = 36 perros). Cada animal será asignado mediante asignación simple a cada uno de los siguientes tratamientos:

- Tratamiento 1: Agua destilada (tratamiento placebo).

- Tratamiento 2: Aceite esencial de *Melissa officinalis* al 0.08%
- Tratamiento 3: Aceite esencial de *Melissa officinalis* al 0.25%

Cada perro será evaluado individualmente, lo que incluye: medición conductual basal pre y post, toma de frecuencia cardíaca pre y post exposición, toma de frecuencia respiratoria pre y post exposición, toma de muestra para glucosa pre y post exposición, toma de muestra para análisis de cortisol sanguíneo pre y post exposición, exposición olfativa de 30 minutos.

Análisis estadístico

- **Datos conductuales:** Los comportamientos serán categorizados según el etograma y analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con la prueba post hoc de Dunn con ajustes de Bonferroni y tablas cruzadas, con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre tratamientos respecto a los patrones conductuales.

- **Parámetros fisiológicos y biomarcadores:** Los valores de frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, cortisol y glucosa obtenidos antes y después del tratamiento serán registrados en una tabla en Excel, posteriormente se sacará las Deltas de cada uno y finalmente serán comparados mediante un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis con la prueba post hoc Dunn con ajustes de Bonferroni, con el objetivo de evaluar si hubo diferencias significativas entre los tratamientos.

Software: Para el análisis estadístico se utilizará los programas Infostat y SPSS.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de resultados

3.1.1 *Análisis de los resultados en conducta de estrés en pre y post aromaterapia:*

3.1.1.1 Análisis de postura corporal:

La evaluación de la postura corporal mostró cambios en la distribución de las categorías conductuales entre los periodos pre y post aromaterapia en los tres tratamientos evaluados, lo cual podemos observar en la Tabla 7. En el grupo control (T1), la categoría predominante correspondió a perros tensos con aceptación de manipulación, representando el 58,3 % de los individuos durante el periodo PRE y el 50,0 % durante el periodo POST. Asimismo, los pacientes clasificados como rígidos y de difícil manipulación aumentaron de 33,3 % a 41,7 %, mientras que apareció un 8,3 % de animales con postura encorvada y baja en la evaluación posterior.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), se observó una reducción de los individuos clasificados como rígidos y difíciles de manipular, pasando de 33,3 % en PRE a 0 % en POST. Paralelamente, los perros relajados con movimiento voluntario aumentaron de 8,3 % a 33,3 %, sugiriendo una tendencia hacia una mejor respuesta conductual posterior a la intervención.

Por su parte, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) presentó los cambios más notorios en la distribución de categorías conductuales. Los animales relajados con movimiento voluntario pasaron de 0 % en PRE a 41,7 % en POST, mientras que la categoría encorvado con postura baja disminuyó de 25,0 % a 0 %. De igual manera, la proporción de pacientes rígidos y difíciles de manipular se redujo de 16,7 % a 8,3 %, evidenciando una mejora en la postura corporal después de la aplicación de la aromaterapia.

Mientras que, en el caso de diferencias estadísticamente significativas, los resultados expresados en la Tabla 8 mostraron diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

El análisis post hoc de Dunn con corrección de Bonferroni evidenció diferencias significativas entre T3 y T1 (p = 0,007), así como entre T2 y T1 (p = 0,008), mientras que no se detectaron diferencias significativas entre T2 y T3 (p = 1,000).

Tabla 7.

Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura corporal en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	**Claves de conducta**	**Momento %**	
		PRE	POST
T1 (Control)	R	8,30	0,00
	T	58,30	50,00
	RDM	33,30	41,70
	EPB	0,00	8,30
	E	0,00	0,00
T2 (0,08%)	R	8,30	33,30
	T	58,30	66,70
	RDM	33,30	0,00
	EPB	0,00	0,00
	E	0,00	0,00
T3 (0,25%)	R	0,00	41,70
	T	58,30	50,00
	RDM	16,70	8,30
	EPB	25,00	0,00
	E	0,00	0,00
Total	R	5,60	25,00
	T	58,30	55,60
	RDM	27,80	16,70
	EPB	8,30	2,80
	E	0,00	0,00

R (Relajado con movimiento voluntario), **T** (Tenso con aceptación de manipulación), **RDM** (Rígido, difícil manipulación), **EPB** (Encorvado con postura baja), **E** (Enroscado).

Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 8.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura corporal con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	**Sig. Ajust**
T3-T2	0,032	1,000
T3-T1	3,037	0,007
T2-T1	3,005	0,008

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Estos resultados indican que ambos tratamientos con aceite esencial de *Melissa officinalis* produjeron una mejoría en la postura corporal en comparación con el grupo control, aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre las dos concentraciones evaluadas. Sin embargo, descriptivamente, el tratamiento T3 presentó una mayor proporción de animales clasificados como relajados con movimiento voluntario al finalizar la intervención., lo cual puede explicarse a partir de los mecanismos de acción del aceite esencial de *Melissa officinalis* administrado por vía inhalatoria., donde predominan monoterpenos volátiles como citronelal, geranial, linalol, los cuales ejercen su acción ansiolítica a través de múltiples vías de señalización, entre ellos la modulación de receptores GABA-A y 5-HT1A, donde según un estudio realizado por **Alvarado et al., (2023)** el geranial, uno de los componentes mayoritarios del aceite esencial de *M. officinalis*, ejerce su efecto ansiolítico mediante la modulación de dichos receptores, los cuales comparten mecanismos con ansiolíticos convencionales como las benzodiacepinas. Esta acción sinérgica de múltiples terpenos, es consistente con lo evidenciado en T3, donde los pacientes mostraron una reducción significativa de posturas de tensión y rigidez sin llegar a un estado de sedación completa.

Por otra parte, las diferencias significativas de T2 y T3, sugiere un posible efecto dosis-dependiente de la concentración del aceite esencial administrado, teniendo en cuenta ello, dichos resultados son consistentes con lo reportado por **Fernandes et al.,**

(2026)quienes en su estudio evidenciaron una reducción significativa en puntuaciones de postura corporal tensa y sumisa (p=0,027) con lavanda tópica, donde la concentración al 30% tuvo superioridad frente a la concentración del 15%. Igualmente, en otro estudio realizado por **Haverbeke et al., (2024)** reportaron que los efectos sobre la postura y el estado emocional varían en función de la dosis y la distancia a la fuente de difusión, donde los perros de refugio expuestos a mezclas de aceites esenciales pasaban menos tiempo en postura alta (tensa) tras la exposición, pero el efecto dependía críticamente de la concentración ambiental del aroma. Asimismo, en un estudio realizado por **Hope et al., (2024)** en perros hospitalizados, se logró evidenciar la tendencia a la disminución de niveles de alerta y tensión tras aromaterapia. Sin embargo, **Taylor & Madden, (2016)** evaluaron la conducta de los perros frente a un estímulo estresante, en dicho caso un nuevo entorno, en el cual se utilizó el spray (Pet Remedy) el cual está formulado a base de valeriana, no se hallaron diferencias significativas entre el grupo placebo y el experimental en cuanto a una variable de locomoción relacionada a postura corporal, por lo tanto, es importante destacar que estos hallazgos deben interpretarse con cautela, ya que si bien se encontraron diferencias significativas, esto puede deberse a diversos factores como la habituación, por lo que todo esto debe evaluarse en conjunto con otras variables y marcadores fisiológicos que se relacionen al estrés agudo **Chmelíková et al., (2020).**

3.1.1.2 Análisis de vocalización:

La distribución de las categorías de vocalización mostró cambios entre los periodos pre y post aromaterapia en los tratamientos evaluados, lo cual es visible en la Tabla 9. En el grupo control (T1), la ausencia de vocalización permaneció sin cambios (16,7 %), mientras que los perros que lloraban o aullaban aumentaron de 33,3 % a 50,0 % en la evaluación posterior.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), la ausencia de vocalización aumentó de 16,7 % a 58,3 % y desaparecieron las categorías de llanto con gemidos y gruñidos o intento de mordida observadas durante el periodo PRE. Por su parte, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) presentó los cambios más notorios, observándose un incremento de animales sin vocalización de 0 % a 50,0 %, acompañado de la desaparición de conductas de gruñido o intento de mordida y una reducción de los pacientes que lloraban o gemían de 58,3 % a 8,3 %.

Podemos observar que en la Tabla 10 el análisis mediante Kruskal-Wallis evidenció diferencias significativas entre tratamientos. La comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias significativas entre T3 y T1 (p = 0,034), mientras que no se encontraron diferencias entre T2 y T1 (p = 0,143) ni entre T2 y T3 (p = 1,000).

Tabla 9.

Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Vocalización en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	**Claves de conducta**	**Momento %**	
		PRE	POST
T1 (Control)	A	16,70	16,70
	Ll	33,30	50,00
	LlG	50,00	33,30
	G	0,00	0,00
	M	0,00	0,00
T2 (0,08%)	A	16,70	58,30
	Ll	41,70	41,70
	LlG	33,30	0,00
	G	8,30	0,00
	M	0,00	0,00
T3 (0,25%)	A	0,00	50,00
	Ll	25,00	41,70
	LlG	58,30	8,30
	G	16,70	0,00
	M	0,00	0,00
Total	A	11,10	41,70
	Ll	33,30	44,40
	LlG	47,20	13,90
	G	8,30	0,00
	M	0,00	0,00

A (Ausente), **Ll** (Llora o aúlla), **LlG** (Llora, gime), **G** (Gruñe, intenta morder), **M** (Muerde).
Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 10.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Vocalización con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	-0,550	1,000
T3-T1	2,529	0,034
T2-T1	1,979	0,143

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Los hallazgos en vocalización evidencian una tendencia a dosis-respuesta entre tratamientos, donde las diferencias estadísticamente significativas sólo se encontraron en T3 y T1 ($p = 0,034$), mientras que no se encontraron diferencias entre T2 y T1 ($p = 0,143$) ni entre T2 y T3 ($p = 1,000$). Este patrón es ligeramente parecido en la variable postura corporal, donde T3 demuestra un efecto favorable. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos en perros, como lo es el estudio de **Wells, (2006)** quien reportó que la exposición al aroma de lavanda durante viajes en automóvil redujo significativamente el tiempo que los perros pasaban vocalizando ($p < 0,05$), mientras que **Graham et al., (2005)** encontraron que la difusión de lavanda y manzanilla en refugios caninos disminuyó la vocalización y aumentó el reposo respecto a estímulos olfativos estimulantes como romero y menta.

Se sugiere, que los valores obtenidos en el análisis deben interpretarse teniendo en cuenta la tendencia dosis-respuesta, debido a que estudios recientes han demostrado que los efectos conductuales de los aceites esenciales en perros siguen una relación concentración-dependiente, **Haverbeke et al., (2024)** observaron que solo la concentración más alta de una mezcla de aceites esenciales (10 gotas) produjo reducción significativa del jadeo ($p = 0,047$), mientras que concentraciones menores de 1 y 5 gotas no alcanzaron significancia.

Por otra parte, un estudio realizado por **Binks et al., (2018)** refuerza la tendencia a la disminución de vocalizaciones frente a un estímulo estresor, en dicho caso se toma como referencia a perros de refugio con los cuales se realizó una experimentación con cuatro aceites esenciales, tales como vainilla, valeriana, coco y jengibre. Asimismo, **Amaya et al., (2020)** menciona que los perros tratados con lavanda y feromonas, vocalizaron 3 a 4 veces menos que con el tratamiento placebo, a pesar de ser sometidos a los mismos estresores. Estos estudios fortalecen los hallazgos obtenidos donde T3 marca una diferencia estadísticamente significativa, en la cual se encuentra la disminución de vocalización lo cual según **Sattayakhom et al., (2023)** se puede relacionar con mayor relajación por una disminución rápida del tono simpático.

3.1.1.3 Análisis de postura de orejas:

La distribución de las categorías de postura de orejas evidenció cambios favorables después de la aromaterapia en los tratamientos evaluados (Tabla 11). En el grupo control (T1), la mayoría de los pacientes continuó presentando movimiento de orejas hacia atrás durante ambos periodos de evaluación, sin observarse animales con postura normal.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), se observó la aparición de pacientes con postura normal de orejas en el periodo POST (25,0 %), acompañada de la desaparición de la categoría totalmente hacia atrás. De manera similar, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) mostró los cambios más notorios, incrementándose la proporción de animales con postura normal de 0 % a 41,7 % y desapareciendo completamente la categoría totalmente hacia atrás después de la intervención.

El análisis mediante Kruskal-Wallis (Tabla 12) evidenció diferencias significativas entre tratamientos en la puntuación de estrés asociada a la postura de orejas. La comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias significativas entre T3 y T1 ($p = 0,015$), mientras que no se encontraron diferencias entre T2 y T1 ($p = 0,152$) ni entre T2 y T3 ($p = 1,000$).

Tabla 11.

Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura de Orejas en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	**Claves de conducta**	**Momento %**	
		PRE	POST
T1 (Control)	N	0,00	00,00
	MA	50,00	83,30
	TA	50,00	16,70
	LC	0,00	0,00
	A	0,00	0,00
T2 (0,08%)	N	0,00	25,00
	MA	58,30	75,00
	TA	41,70	0,00
	LC	0,00	0,00
	A	0,00	0,00
T3 (0,25%)	N	0,00	41,70
	MA	50,00	58,30
	TA	50,00	0,00
	LC	0,00	0,00
	A	0,00	0,00
Total	N	0,00	22,20
	MA	52,80	72,20
	TA	47,20	5,60
	LC	0,00	0,00
	A	0,00	0,00

N (Normal), **MA** (Movimiento hacia atrás), **TA** (Totalmente hacia atrás), **LC** (Ligeramente caídas), **A** (Aplanadas).

Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 12.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura de orejas con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	0,842	1,000
T3-T1	2,797	0,015
T2-T1	1,956	0,152

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Con respecto a los resultados en esta categoría, sugieren que la concentración de 0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis* favoreció una reducción más marcada de las posturas auriculares asociadas al estrés en comparación con el grupo control, lo que coincide con la disminución progresiva de indicadores conductuales de tensión descritos en perros sometidos a intervenciones orientadas al bienestar durante la consulta veterinaria., lo cual tiene concordancia con el estudio realizado por **Aponso et al., (2020)** donde nos indica que a mayor concentración de aceites esenciales, existe mayor tendencia de relajación en los individuos, algo que podemos evidenciar en comparación con el tratamiento T3, por otra parte, para reforzar esto se incluye el estudio de la relación dosis-respuesta por **Haverbeke et al., (2024)** en perros, donde únicamente la concentración más alta de una mezcla de aceites esenciales (10 gotas) produjo efectos significativos sobre una conducta ansiosa ($p = 0,047$). Añadiendo a esto, **Perea, (2019)** menciona que, en su estudio con hormonas sintéticas en perros, también se observó diferencias o disminución en la posición de orejas frente a un estímulo estresante como lo es el acercamiento de un individuo ajeno al vínculo familiar.

3.1.1.4 Análisis de postura de cola:

La distribución de las categorías de postura de cola mostró cambios favorables después de la aromaterapia en los tratamientos evaluados (Tabla 13). En el grupo control (T1), la mayoría de los pacientes mantuvo la cola baja durante ambos periodos de evaluación, sin observarse cambios relevantes en la distribución de las categorías conductuales.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), se observó un incremento de pacientes con la cola ligeramente hacia abajo, pasando de 41,7 % en PRE a 83,3 % en POST, acompañado de una disminución de los animales con cola baja. Por su parte, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) presentó los cambios más notorios, con la aparición de perros que mostraron una postura relajada o en reposo (25,0 %) y la desaparición de la categoría cola entre las patas, considerada una manifestación conductual asociada al estrés.

El análisis mediante Kruskal-Wallis (Tabla 14) evidenció diferencias significativas entre tratamientos en la puntuación de estrés asociada a la postura de cola. La comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias significativas entre T3 y T1 ($p = 0,001$), mientras que no se encontraron diferencias entre T3 y T2 ($p = 0,621$). La comparación entre T2 y T1 presentó un valor cercano al nivel de significancia ($p = 0,052$), sugiriendo una tendencia favorable del tratamiento con menor concentración.

Tabla 13.

Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Postura de Cola en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	Claves de conducta	Momento %	
		PRE	POST
T1 (Control)	R	0,0	0,0
	LHA	25,0	25,0
	B	58,3	66,7
	EP	16,7	8,3
	E	0,0	0,0
T2 (0,08%)	R	0,0	0,0
	LHA	41,7	83,3
	B	41,7	8,3
	EP	16,7	8,3
	E	0,0	0,0
T3 (0,25%)	R	0,0	25,0
	LHA	25,0	66,7
	B	50,0	8,3
	EP	25,0	0,0
	E	0,0	0,0
Total	R	0,0	8,3
	LHA	30,6	58,3
	B	50,0	27,8
	EP	19,4	5,6
	E	0,0	0,0

R (En reposo o relajada), **LHA** (Ligeramente hacia abajo), **B** (Baja), **EP** (Entre las patas), **E** (Enroscada).

Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 14.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Postura de cola con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	1,261	0,621
T3-T1	3,642	0,001
T2-T1	2,38	0,052

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*.

Sig. Ajust= valor de p o p=

Estos resultados indican que la concentración de 0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis* produjo una reducción significativa de las posturas caudales asociadas al estrés en comparación con el grupo control.

La posición de la cola es uno de los marcadores más sensibles y mejor documentados del estado emocional canino. La cola baja, pegada al cuerpo o metida entre las patas traseras constituye una respuesta postural clásica ante situaciones de miedo, ansiedad o sumisión, mediada por la activación del eje simpático-adrenal. Por el contrario, la cola en posición relajada o en reposo indica un estado de confianza y bienestar. En el presente estudio, el paso de un 25% de pacientes con cola entre las patas en la fase PRE a un 0% en T3, y la aparición de un 25% de perros con cola relajada solo en el grupo de mayor concentración, representan una mejoría clínica importante.

Estos hallazgos tienen similitud con los resultados obtenidos en otros estudios, como el de **Perea, (2019)** en el cual evidenciaron una disminución de conductas de miedo o ansiedad, tales como “rígido cola baja” y “entre las piernas”, posterior al tratamiento con feromonas sintéticas (Adaptil Spray) ante un factor estresante. De manera similar, el estudio de **(Lupo, 2019)** demostró una estabilización del comportamiento ansioso en perros de refugio, los cuales fueron tratados con gotas de lavanda en sus collares, en el cual se reportó diferencias en el comportamiento ansioso expresado en el grupo control. Estos resultados presentan concordancia con lo obtenido en la presenta

investigación, donde los cambios observados en la postura de cola ocurrieron simultáneamente con mejorías en otras variables conductuales.

3.1.1.5 Análisis de actividad motora:

La distribución de las categorías de actividad motora evidenció cambios favorables después de la aromaterapia en los tratamientos evaluados (Tabla 15). En el grupo control (T1), los pacientes continuaron presentando principalmente estados de inactividad y posturas asociadas a tensión muscular durante ambos periodos de evaluación, sin observarse actividad flexible.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), se observó la aparición de pacientes con actividad flexible en la fase POST (41,7 %), acompañada de la desaparición de la categoría temblor parcial. De manera similar, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) presentó los cambios más notorios, incrementándose la proporción de perros con actividad flexible de 0 % a 66,7 %, mientras que las categorías asociadas a temblor desaparecieron completamente tras la intervención.

El análisis mediante Kruskal-Wallis (Tabla 16) evidenció diferencias significativas entre tratamientos en la puntuación de estrés asociada a la actividad motora. La comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias significativas entre T3 y T1 ($p = 0,003$), así como entre T2 y T1 ($p = 0,003$). Sin embargo, no se encontraron diferencias entre T2 y T3 ($p = 1,000$).

Tabla 15.

Análisis estadístico de tablas cruzadas de la Actividad Motora en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	**Claves de conducta**	**Momento %**	
		PRE	POST
T1 (Control)	F	0,00	0,00
	I	66,70	33,30
	PF	16,70	41,70
	TP	8,30	16,70
	TC	8,30	8,30
T2 (0,08%)	F	0,00	41,70
	I	66,70	50,00
	PF	16,70	8,30
	TP	16,70	0,00
	TC	0,00	0,00
T3 (0,25%)	F	0,00	66,70
	I	50,00	25,00
	PF	25,00	8,30
	TP	25,00	0,00
	TC	0,00	0,00
Total	F	0,00	36,10
	I	61,10	36,10
	PF	19,40	19,40
	TP	16,70	5,60
	TC	2,80	2,80

F (Flexible), **I** (Inactivo), **PF** (Patas flexionadas), **TP** (Temblor parcial), **TC** (Temblor continuo).
Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 16.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Actividad motora con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	0,000	1,000
T3-T1	3,308	0,003
T2-T1	3,308	0,003

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Estos resultados indican que ambas concentraciones de aceite esencial de *Melissa officinalis* favorecieron una mejoría significativa de la actividad motora en comparación con el grupo control, reflejada por el aumento de comportamientos compatibles con relajación y la disminución de manifestaciones asociadas al estrés, como la inactividad y los temblores.

Estos hallazgos se asemejan con lo que obtuvieron **Graham et al., (2005)**, quienes reportaron disminución de comportamientos hiperactivos y mayor permanencia en estados de descanso durante exposición de aceite esencial de lavanda y manzanilla, dichos resultados sugieren una modulación conductual compatible con menor activación emocional, algo muy similar a la disminución de temblor parcial y mejora de flexibilidad motora observadas en T2 y T3 de la presente investigación. Por otra parte, en el estudio realizado por **Haverbeke et al., (2019)** evaluaron el efecto de mezclas de aceites esenciales administradas por vía olfativa en perros expuestos a un ambiente desconocido el cual constituye un factor estresante, obteniendo respuestas favorables compatibles con relajación, con mayor tendencia hacia menor excitación conductual, sus hallazgos respaldan los resultados obtenidos en el presente estudio, donde la aromaterapia inhalatoria se asoció con una transición sólida de conductas tensas hacia una actividad más flexible post intervención. Finalmente se puede complementar lo obtenido con lo observado por **Sattayakhom et al., (2023)** quienes documentaron que los aceites esenciales ejercen efectos autonómicos medibles, entre ellos la disminución de la frecuencia cardíaca y la modulación de la actividad

simpática, mecanismos que subyacen a la mejoría de la actividad motora observada en el presente estudio.

3.1.1.6 Análisis de movimiento de labios:

La distribución de las categorías de movimiento de labios mostró cambios favorables después de la aromaterapia en los tratamientos evaluados (Tabla 17). En el grupo control (T1), los pacientes continuaron presentando principalmente labios firmes durante ambos periodos de evaluación, observándose únicamente variaciones leves en la distribución de las categorías conductuales, donde la categoría de bostezo, pasó de 0% a 16,7% en la fase POST.

En el tratamiento T2 (0,08 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*), se observó la aparición de pacientes con labios relajados en la fase POST (16,7 %), acompañada de una disminución de los comportamientos de lamido de belfos. Por su parte, el tratamiento T3 (0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis*) presentó los cambios más notorios, incrementándose la proporción de perros con labios firmes de 25,0 % a 83,3 % y desapareciendo completamente la categoría de lamido de belfos, considerada una manifestación conductual asociada a estrés o incomodidad.

El análisis mediante Kruskal-Wallis (Tabla 18) evidenció diferencias significativas entre tratamientos en la puntuación de estrés asociada al movimiento de labios. La comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias significativas entre T3 y T1 ($p = 0,019$), mientras que no se encontraron diferencias entre T3 y T2 ($p = 1,000$). La comparación entre T2 y T1 presentó un valor estadísticamente no significativo ($p = 0,055$), pero cercano a la significancia, sugiriendo una tendencia favorable del tratamiento con menor concentración.

Tabla 17.

Análisis estadístico de tablas cruzadas del Movimiento de Labios en pre y post aromaterapia.

Tratamientos	Claves de conducta	Momento %	
		PRE	POST
T1 (Control)	R	0,00	0,00
	F	75,00	66,70
	LB	25,00	16,70
	BLB	0,00	16,70
T2 (0,08%)	R	0,00	16,70
	F	75,00	75,00
	LB	25,00	8,30
	BLB	0,00	0,00
T3 (0,25%)	R	8,30	16,70
	F	25,00	83,30
	LB	66,70	0,00
	BLB	0,00	0,00
Total	R	2,80	11,10
	F	58,30	75,00
	LB	38,90	8,30
	BLB	0,00	5,60

R (Relajados), **F** (Firmes), **LB** (Lamido de belfos), **BLB** (Bostezo, se lame los belfos).

Momento %= Porcentaje de pacientes que presentan dicha actitud.

Tabla 18.

Análisis estadístico de Kruskal Wallis de Movimiento de labios con prueba Post hoc de Dunn con corrección Bonferroni.

	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	0,369	1,000
T3-T1	2,729	0,019
T2-T1	2,361	0,055

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Desde una perspectiva etológica, **Domínguez et al., (2021)** señaló que el lamido de labios, constituye una señal frecuente durante estímulos percibidos como amenazantes, tales como la revisión clínica, interpretándose como un indicador temprano de ansiedad. Teniendo en cuenta eso, en el presente estudio, la desaparición completa del lamido de belfos en T3 (del 66,7% en PRE al 0% en POST) constituye la evidencia clara de reducción de la tensión emocional.

Estos hallazgos obtenidos también son consistentes con investigaciones como la de **Fernandes et al., (2026)** en la cual describieron reducciones en puntuaciones conductuales tensionales durante la aplicación tópica de lavanda en perros, entre ellas la reducción significativa del lamido de labios durante el manejo clínico. Estos resultados refuerzan los hallazgos actuales. Por otra parte, manifiesta una disminución de comportamientos relacionados al estrés u ansiedad, donde el extracto de *Melissa officinalis* obtuvo diferencias estadísticamente significativas en conducta.

3.1.2 *Análisis de los resultados en parámetros fisiológicos de estrés en pre y post aromaterapia:*

3.1.2.1 Análisis de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria:

Frecuencia cardíaca

La frecuencia cardíaca basal no presentó diferencias significativas entre los tratamientos antes de la aplicación de la aromaterapia (p = 0,593), evidenciando una condición inicial comparable entre los grupos experimentales (Tabla 19). Las medianas registradas oscilaron entre 122 y 124 lpm. Posteriormente, en la evaluación POST, se observaron diferencias significativas entre tratamientos (p = 0,012), registrándose la mayor frecuencia cardíaca en el grupo control (126 lpm) y los menores valores en los grupos tratados con aceite esencial de *Melissa officinalis*, especialmente en T3 (116 lpm).

Con el fin de evaluar el efecto del tratamiento sobre cada individuo, se analizaron los cambios de frecuencia cardíaca mediante deltas. El análisis de Kruskal-Wallis (Tabla 20) mostró diferencias significativas entre tratamientos, y la comparación múltiple de Dunn con corrección de Bonferroni evidenció diferencias significativas entre T3 y T1 (p < 0,0001), así como entre T2 y T1 (p = 0,003). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre T2 y T3 (p = 0,588).

Tabla 19.

Análisis de la Frecuencia cardíaca en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis.

	Tratamiento	N	Medianas (lpm)	Rangos promedio	H	p- valor
PRE	T1	12	124,00	18,75	1,03	0,5934
	T2	12	122,00	16,21		
	T3	12	123,67	20,54		
POST	T1	12	126,00	25,67	8,62	0,0122
	T2	12	120,00	16,08		
	T3	12	116,00	13,75		

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de Melissa officinalis.*

Tabla 20.

Análisis de la Frecuencia cardíaca en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.

	Estadístico de contraste	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	5,500	1,293	0,588
T3-T1	19,500	4,586	<0,0001
T2-T1	14,000	3,292	0,003

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Estos resultados indican que ambas concentraciones de aceite esencial de *Melissa officinalis* favorecieron una disminución de la frecuencia cardíaca asociada al estrés en comparación con el grupo control. Aunque el tratamiento T3 presentó la mayor reducción, no se detectaron diferencias estadísticas respecto a T2, sugiriendo que

ambas concentraciones fueron efectivas para modular esta respuesta fisiológica. La frecuencia cardíaca es un parámetro sensible a la activación del sistema nervioso simpático. Ante un estímulo estresante como la consulta veterinaria, se produce un aumento de la FC mediado por la liberación de catecolaminas desde la médula adrenal y las terminaciones simpáticas. En el grupo control (T1), el incremento de FC desde 124 lpm (PRE) hasta 126 lpm (POST) refleja la persistencia de la respuesta simpática durante el manejo clínico. En contraste, T3 redujo su FC de 123,67 lpm a 116 lpm.

Estos hallazgos coinciden con lo reportado por **Fernandes et al., (2026)** quienes evidenciaron una tendencia similar en la disminución de la FC al aplicar tratamientos con lavanda tópica, siendo el tratamiento con mayor concentración (30%) el que obtendría valores más bajos; apoyando esto, también tenemos lo reportado por **Aponso et al., (2020)** quienes nos indican que los efectos moduladores o en sí de "disminución" de marcadores de estrés se verán mayormente reflejados en dosis más altas del aceite esencial.

Finalmente, si tenemos en cuenta lo reportado por **Sattayakhom et al., (2023)**quienes indicaron que la inhalación de compuestos volátiles produce una disminución rápida del tono simpático y un incremento de la actividad parasimpática, medible a través de la reducción de la frecuencia cardíaca y el aumento de la variabilidad cardíaca. Este mecanismo explica por qué la FC de los perros en T3 disminuyó en cuestión de minutos durante la fase POST, contrastando con el mantenimiento de la taquicardia en el grupo control, puesto que hay que recordar que el aceite esencial de *Melissa officinalis* cuenta con varios monoterpenos que ejercen un efecto ansiolítico.

Frecuencia respiratoria

En la Tabla 21 se observa que, antes de la aplicación de los tratamientos, no existieron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia respiratoria entre los grupos experimentales ($p = 0,0936$), evidenciando una condición basal comparable. Las medianas registradas oscilaron entre 36 y 38 rpm, lo que indica que los animales iniciaron el estudio con niveles similares de esta variable fisiológica.

Posteriormente, en la fase POST se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$). El grupo control (T1) presentó la mayor frecuencia respiratoria (mediana = 37 rpm), mientras que los grupos tratados con aceite

esencial de *Melissa officinalis* mostraron valores inferiores, particularmente T3 (mediana = 28 rpm) y T2 (mediana = 30 rpm), sugiriendo una disminución de la respuesta fisiológica asociada al estrés tras la aromaterapia.

Para considerar el carácter pre-post del diseño experimental, se analizaron los cambios individuales mediante deltas. El análisis de Kruskal-Wallis (Tabla 22) sobre los deltas evidenció diferencias significativas entre tratamientos. La prueba post hoc de Dunn con corrección de Bonferroni mostró diferencias entre T3 y T1 ($p < 0,0001$) y entre T2 y T1 ($p = 0,003$), mientras que no se observaron diferencias entre T2 y T3 ($p = 1,000$). Estos resultados indican que ambas concentraciones de *Melissa officinalis* produjeron una reducción significativa de la frecuencia respiratoria respecto al grupo control, sin evidenciarse diferencias entre las dos concentraciones evaluadas.

Tabla 21.

Análisis de la Frecuencia respiratoria en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis

	Tratamiento	**N**	**Medianas (rpm)**	**Rangos promedio**	**H**	**p- valor**
PRE	T1	12	38,00	23,75	4,50	0,0936
	T2	12	36,00	15,50		
	T3	12	36,00	16,25		
POST	T1	12	37,00	29,38	19,42	<0,0001
	T2	12	30,00	14,13		
	T3	12	28,00	12,00		

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis,* T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis.*

Tabla 22.

Análisis de la Frecuencia respiratoria en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.

	Estadístico de contraste	**Desv. Estadístico de contraste**	**Sig. Ajust**
T3-T2	2,292	0,550	1,000
T3-T1	16,208	3,889	<0,0001
T2-T1	13,917	3,339	0,003

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial *de Melissa officinalis.* Sig. Ajust= valor de p o p=

Mientras que en el caso de la frecuencia respiratoria tanto el tratamiento T2 y T3 tuvieron resultados superiores en cuanto a la disminución de dichos valores frente a T1 (control). El aumento de la frecuencia respiratoria es una respuesta adaptativa frente al estrés agudo, mediada por la activación simpática y la liberación de catecolaminas, que prepara al organismo para la respuesta de lucha o huida. En el contexto de la consulta veterinaria, el aumento de la frecuencia respiratoria suele presentarse como un indicador de malestar emocional. El control (T1) pasó de 38,00 rpm (PRE) a 37,00 rpm (POST) sin cambios evidentes, mientras que T3 la redujo de 36,00 rpm a 28,00 rpm, y T2 de 36,00 rpm a 30,00 rpm. Un hallazgo distintivo de esta variable es que T2 y T3 mostraron efectos muy similares sobre la FR, esto sugiere que la frecuencia respiratoria podría tener un umbral de respuesta más bajo frente a los compuestos volátiles de *Melissa officinalis*, de modo que incluso la concentración intermedia (T2) fue suficiente para inducir una reducción máxima. Este fenómeno es consistente con las observaciones de **Aponso et al., (2020)**, quienes señalaron que diferentes variables fisiológicas y conductuales pueden tener distintas curvas dosis-respuesta frente a un mismo aceite esencial.

Asimismo, **Fernandes et al., (2026)** también reportaron una tendencia a la disminución de la FR en perros tratados con lavanda tópica durante la consulta veterinaria, con valores más bajos en la concentración del 30%. De forma similar, **Wells, (2006)** documentó que perros expuestos al aroma de lavanda durante viajes en

automóvil mostraban una mayor frecuencia de reposo y una reducción de conductas indicadoras de excitación, efectos que se acompañan de una normalización de la frecuencia respiratoria. Por otra parte, existe también un estudio realizado por **Lupo, (2019)** , en el cual se menciona que la administración de aceites esencial como lavanda por vía inhalatoria reduce significativamente la frecuencia respiratoria. Todo esto es consistente con la tendencia a la disminución de FR, puesto que, como anteriormente se mencionó, el mecanismo de escape del animal promueve el aumento de dichos parámetros fisiológicos, pero al tener una vía olfatoria (inhalatoria) directa de los compuestos del aceite esencial, esta alza tiende a disminuir en cuestión de minutos por la disminución rápida del tono simpático **(Sattayakhom et al., 2023; Yusupovna et al., 2026).**

3.1.3 *Análisis de los resultados de biomarcadores de estrés en pre y post aromaterapia:*

3.1.3.1 Análisis de concentración media de cortisol:

Con respecto a la concentración sérica de cortisol (Tabla 23), en la fase PRE no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($p = 0,209$), lo que indica una condición basal comparable antes de la aplicación de los tratamientos. Las medianas oscilaron entre 2,78 y 4,70 µg/dL, evidenciando una distribución homogénea de los niveles iniciales de cortisol entre los grupos evaluados.

En la fase POST se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p = 0,002$). El grupo control (T1) presentó los valores más elevados de cortisol (mediana = 3,65 µg/dL), mientras que el tratamiento con 0,25 % de aceite esencial de *Melissa officinalis* (T3) registró los valores más bajos (mediana = 1,90 µg/dL). El tratamiento T2 (0,08 %) mostró valores intermedios (mediana = 2,95 µg/dL).

Para evaluar el efecto de la aromaterapia sobre el cambio individual de cortisol, se analizaron los deltas mediante la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de comparaciones múltiples de Dunn con corrección de Bonferroni (Tabla 24). Los resultados evidenciaron diferencias significativas entre T3 y T1 (p ajustado < 0,0001), así como entre T2 y T1 (p ajustado = 0,006), indicando que ambos tratamientos con *Melissa*

officinalis produjeron una reducción significativamente mayor de cortisol en comparación con el grupo control. No obstante, no se observaron diferencias significativas entre T3 y T2 (p ajustado = 0,090), aunque T3 mostró una tendencia a generar una reducción más pronunciada.

Tabla 23.

Análisis de las concentraciones de Cortisol en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis

	Tratamiento	N	Medianas (ug/dL)	Rango promedio	H	p- valor
PRE	T1	12	2,78	14,58	3,12	0,209
	T2	12	4,35	18,75		
	T3	12	4,70	22,17		
POST	T1	12	3,65	25,50	12,16	0,002
	T2	12	2,95	19,42		
	T3	12	1,90	10,58		

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis,* T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis.*

Tabla 24.

Análisis de Cortisol en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.

	Estadístico de contraste	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	9,333	2,170	0,090
T3-T1	22,667	5,271	<0,0001
T2-T1	13,333	3,101	0,006

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

Estos resultados sugieren que la aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* contribuyó a disminuir las concentraciones séricas de cortisol asociadas al estrés durante la consulta veterinaria, siendo más evidente en los grupos tratados que en el grupo control.

Como ya se había indicado anteriormente, el cortisol es el principal glucocorticoide liberado por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) en respuesta al estrés. Su concentración suele elevarse en cuestión minutos después de la exposición a un estresor agudo, como la manipulación veterinaria, y disminuye cuando el estímulo cesa o cuando hay intervención en los mecanismos inhibitorios (retroalimentación negativa) reestableciendo así la homeostasis. En el presente estudio, el mantenimiento de cortisol elevado en T1 (3,65 µg/dL) refleja la persistencia de la activación del eje HHA durante la consulta, mientras que la reducción en T3 (1,90 µg/dL) indica una modulación efectiva de la respuesta neuroendocrina al estrés.

Estos hallazgos son consistentes con lo afirmado por **Uccheddu et al., (2018)** quienes en su estudio obtuvieron concentraciones de cortisol salival bajas post aplicación de un tratamiento con aceite esencial de lavanda, sin embargo, en el mismo estudio no se obtuvieron diferencias significativas de concentraciones de cortisol salival con otros aceites esenciales, tales como *Cananga odorata, Cistus ladaniferus, Citrus aurantium, Cupressus sempervirens, etc.*, lo cual nos sugiere que la disminución del cortisol depende de la composición específica del aceite esencial y de la posible sinergia entre sus componentes. En el caso de *Melissa officinalis*, el aceite esencial contiene múltiples monoterpenos con actividad ansiolítica documentada, tal como lo mencionan **Pei et al., (2024)** donde demostraron que la inhalación de linalol y β-cariofileno redujo significativamente los niveles de ansiedad y la frecuencia cardíaca en humanos, activando vías GABAérgicas y serotoninérgicas. Asimismo, **Koyama Y Heinbockel, (2020)** describieron cómo los monoterpenos de los aceites esenciales activan receptores GABA-A y TRP en el sistema olfatorio, modulando la transmisión sináptica hacia el bulbo olfatorio y las regiones límbicas. Partiendo de ello, según **Pasyar et al., (2025)** el linalol está presente en el aceite esencial de *Melissa officinalis*, lo cual podría explicar la relación de disminución de la concentración de cortisol, aunque hay que tener en cuenta que el compuesto de linalol no es el único presente en

el aceite esencial, también están presentes otros compuestos como el citronelal, geraniol, etc., que también son descritos como precursores del efecto ansiolítico, de hecho, en un estudio realizado por **Stojanović et al., (2022)** menciona que el efecto ansiolítico del toronjil no se centra en un solo compuesto, en ese caso citronelal, más bien se basa en la posible sinergia de otros bioactivos del aceite esencial para lograr dichos efectos. Lo cual tiene consistencia debido a que en un estudio realizado por **Fernandes et al., (2026)**no obtuvo diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de cortisol salivar, aun presentando cambios conductuales marcados posterior a 2 tratamientos de lavanda con concentraciones del 15% y 30% en vía tópica, lo cual, si bien se trata de una diferente vía de obtención de valores de cortisol, hay estudios que mencionan que el cortisol salivar y el cortisol sérico pueden ser utilizados como biomarcador de estrés agudo, siendo el cortisol salivar un aproximado del cortisol sérico, ambos presentándose en cuestión de minutos, por otra parte, también se menciona el ritmo cicardiano del cortisol, lo cual también podría ser equivalente a que no haya una diferencia significativa del cortisol con el estudio comparado de Fernandes, puesto que no se menciona un horario delimitado para la toma de muestras, teniendo en cuenta que los picos más altos se presentan en la mañana, algo muy diferente a lo estandarizado en este estudio, donde si se tomó en cuenta el ritmo cicardiano **(Giannetto et al., 2014; Kaszycka et al., 2025)**. Aun así, con todo lo anteriormente mencionado, la disminución de cortisol posterior a la aromaterapia debe discutirse como evidencia compatible con una menor activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), especialmente cuando coincide con una mejoría de las manifestaciones conductuales y una reducción de los parámetros fisiológicos asociados al estrés. No obstante, es importante considerar que el cortisol sérico constituye un biomarcador altamente sensible a múltiples factores, entre las principales fuentes de variación se encuentran el ritmo circadiano, la manipulación física del animal y el procedimiento de venopunción, que pueden actuar como estímulos estresantes adicionales capaces de inducir una liberación aguda de cortisol; así como factores propios de cada individuo, tales como edad, sexo, temperamento, experiencias previas en consultas veterinarias, estado sanitario y capacidad de adaptación frente a situaciones novedosas. Asimismo, aspectos ambientales como la presencia o ausencia del tutor, el tiempo de permanencia en la clínica, los estímulos

sonoros, visuales y olfativos presentes en el entorno hospitalario pueden modular la respuesta endocrina observada.

Debido a estas fuentes de variabilidad, el cortisol sérico no debe interpretarse de manera aislada como un indicador único de bienestar o estrés. Por el contrario, su utilidad aumenta cuando se analiza de forma conjunta con otros indicadores complementarios, como las manifestaciones conductuales y los parámetros fisiológicos. En este sentido, la concordancia observada entre la disminución de cortisol, la reducción de la frecuencia cardíaca y respiratoria, y la mejoría de las conductas asociadas al estrés proporciona una interpretación más robusta del posible efecto modulador de la aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* sobre la respuesta al estrés en caninos durante la consulta veterinaria **(Chmelíková et al., 2020).**

3.1.3.2 Análisis de concentración de glucosa:

Con respecto a las concentraciones de glucosa sérica (Tabla 25), en la evaluación PRE no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($p = 0,108$), evidenciando condiciones basales comparables antes de la aplicación de los tratamientos. Las medianas oscilaron entre 100 y 117 mg/dL, mientras que los rangos promedio variaron entre 13,38 y 21,96.

De igual manera, en la evaluación POST tampoco se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p = 0,930$). Las medianas registradas fueron similares entre grupos, con valores comprendidos entre 109 y 111 mg/dL, lo que indica una distribución comparable de las concentraciones de glucosa al finalizar la intervención.

No obstante, al analizar el cambio individual de glucosa mediante deltas y al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis seguida de comparaciones múltiples de Dunn con corrección de Bonferroni (Tabla 26), se observaron diferencias significativas entre T3 y T1 (p ajustado < 0,0001), así como entre T2 y T1 (p ajustado = 0,008). Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas entre T3 y T2 (p. ajustado = 0,102).

Tabla 25.

Análisis de las concentraciones de Glucosa en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis

	Tratamiento	N	Medianas (mg/dL)	Rangos promedio	H	p- valor
PRE	T1	12	100,00	13,38	4,43	0,108
	T2	12	114,00	20,17		
	T3	12	117,00	21,96		
POST	T1	12	109,00	19,33	0,14	0,930
	T2	12	110,00	18,46		
	T3	12	111,00	17,71		

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis,* T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*.

Tabla 26.

Análisis de Glucosa en pre y post aromaterapia con la Prueba de Kruskal-Wallis de Deltas con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni.

	Estadístico de contraste	Desv. Estadístico de contraste	Sig. Ajust
T3-T2	9,000	2,119	0,102
T3-T1	21,750	5,121	<0,0001
T2-T1	12,750	3,002	0,008

T1 = Tratamiento control (0%), T2 = Tratamiento con 0,08% de aceite esencial de *Melissa officinalis*, T3 = Tratamiento con 0,25% de aceite esencial de *Melissa officinalis*. Sig. Ajust= valor de p o p=

La evaluación de las concentraciones de glucosa mostró que no existieron diferencias significativas entre tratamientos cuando se compararon directamente los valores PRE (p = 0,108) ni los valores POST (p = 0,930). Sin embargo, el análisis basado en los

cambios individuales (Delta glucosa = glucosa POST − glucosa PRE) evidenció diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El análisis post hoc mostró diferencias entre T3 y T1 ($p < 0,0001$) y entre T2 y T1 ($p = 0,008$), mientras que no se observaron diferencias entre T2 y T3 ($p = 0,102$). Estos resultados indican que ambos tratamientos con aceite esencial de *Melissa officinalis* produjeron modificaciones en la respuesta glucémica distintas a las observadas en el grupo control.

La diferencia entre los resultados obtenidos mediante la comparación directa de valores POST y aquellos obtenidos mediante el análisis de deltas se explica porque el análisis de deltas cuantifica el cambio experimentado por cada animal entre la medición inicial y final, permitiendo evaluar de forma más precisa el efecto de la intervención. De esta manera, aunque los grupos presentaron concentraciones finales de glucosa relativamente similares, los perros tratados con *Melissa officinalis* mostraron una reducción individual mayor respecto a sus valores basales, diferencia que fue detectada mediante el análisis de delta glucosa.

Desde el punto de vista fisiológico, estos hallazgos pueden explicarse por la estrecha relación entre la glucosa sanguínea y la respuesta neuroendocrina al estrés. En un estudio clásico realizado por **Eigler et al., (1979)**, en perros conscientes, se demostró que la hiperglucemia inducida por estrés no depende de una sola hormona, sino de la interacción entre glucagón, epinefrina y cortisol. Los autores observaron que la epinefrina incrementa la producción hepática de glucosa y reduce su utilización periférica, mientras que el cortisol potencia y prolonga estos efectos metabólicos, favoreciendo la disponibilidad energética necesaria para afrontar situaciones estresantes. Considerando que en el presente estudio los grupos tratados presentaron una reducción significativa de cortisol respecto al grupo control, es posible que la menor activación de estos mecanismos contrarreguladores haya contribuido indirectamente a una respuesta glucémica más estable.

Asimismo, en el estudio de **O'Neill et al., (1991)** señalaron que las concentraciones de glucosa pueden verse influenciadas por diversos factores fisiológicos, entre ellos cortisol, glucagón, insulina y la variabilidad individual de cada animal. Debido a esta compleja regulación homeostática, la glucosa suele mostrar una menor sensibilidad que el cortisol para detectar cambios agudos asociados al estrés. Por esta razón, aunque

las diferencias entre grupos no fueron evidentes en las concentraciones finales de glucosa, el análisis de los cambios individuales permitió detectar un efecto de la aromaterapia que no habría sido identificado mediante la comparación exclusiva de las mediciones PRE y POST.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que la aromaterapia con *Melissa officinalis* podría contribuir a modular la respuesta metabólica al estrés, favoreciendo una mayor estabilidad glucémica durante la consulta veterinaria, efecto que parece estar relacionado con la reducción de la activación neuroendocrina inducida por el estrés.

3.1.4 *Análisis de dosis- respuesta*

La relación dosis-respuesta fue más evidente en las variables conductuales, donde el tratamiento T3 (0,25 %) mostró consistentemente un perfil más favorable frente a T2 (0,08 %). En vocalización, solo T3 difirió significativamente del control ($p = 0,034$), mientras que T2 no alcanzó significancia ($p = 0,143$). En postura de orejas, T3 fue significativo ($p = 0,015$) y T2 no ($p = 0,152$). En postura de cola y movimiento de labios, T2 presentó valores límite ($p = 0,052$ y $p = 0,055$, respectivamente) que sugieren una tendencia favorable sin alcanzar significancia. Estos hallazgos concuerdan con **Fernandes et al., (2026)** quienes reportaron que la concentración al 30 % de lavanda tópica tuvo superioridad frente a la del 15 % en la reducción de puntuaciones de postura tensa, y con **Haverbeke et al., (2024)** quienes observaron que solo la concentración más alta de una mezcla de aceites esenciales (10 gotas) produjo reducción significativa del jadeo ($p = 0,047$), mientras que concentraciones menores no alcanzaron significancia. **Aponso et al., (2020)** refuerzan estos hallazgos al indicar que a mayor concentración de aceites esenciales existe mayor tendencia de relajación en los individuos, y que diferentes variables pueden tener distintas curvas dosis-respuesta frente al mismo aceite esencial.

En el caso del cortisol sérico, el gradiente dosis-respuesta fue notable a nivel descriptivo: las medianas en POST escalonaron de 3,65 µg/dL (T1), 2,95 µg/dL (T2) y 1,90 µg/dL (T3). Aunque la diferencia entre T3 y T2 no alcanzó significancia estadística ($p = 0,090$), la tendencia fue consistente, y la diferencia entre T2 y el control sí fue significativa ($p = 0,006$) y T3 y el control también fue significativo ($p<0,0001$). Este patrón sugiere que la modulación del eje HHA depende de la concentración de monoterpenos activos disponibles para la estimulación olfativa. **Stojanović et al.,**

(2022) proponen que el efecto ansiolítico de *Melissa officinalis* no reside en un único compuesto, sino en la sinergia de múltiples bioactivos, lo que explicaría por qué una mayor concentración del aceite esencial incrementa la intensidad de la respuesta neuroendocrina. Concuerda con lo observado por **Perea, (2019)** quien también documentó una disminución progresiva en marcadores conductuales de estrés frente a diferentes concentraciones de intervención.

Sin embargo, en frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria no se evidenció un gradiente dosis-dependiente entre T2 y T3, sino un efecto meseta: ambos tratamientos difirieron significativamente del control, pero no entre sí ($p = 0{,}588$ y $p = 1{,}000$, respectivamente). Esto sugiere que las variables fisiológicas mediadas por el sistema nervioso autónomo poseen un umbral de respuesta más bajo frente a los compuestos volátiles, de modo que incluso la concentración intermedia (0,08 %) fue suficiente para inducir una reducción máxima. **Sattayakhom et al., (2023)** documentaron que la inhalación de compuestos volátiles produce una disminución rápida del tono simpático, mecanismo que explicaría por qué la respuesta autonómica se satura a concentraciones relativamente bajas, mientras que las respuestas conductuales y neuroendocrinas requieren dosis mayores para alcanzar su efecto máximo.

3.2 Verificación de hipótesis

Para la validación de la hipótesis se realizaron diferentes pruebas estadísticas, iniciando con la prueba de Shapiro- Wilks para ver si existe normalidad de los datos, obteniendo el p valor con valores menores de (0.05), lo cual indica que no existe normalidad, por lo que se opta por el uso de pruebas no paramétricas.

Se inicia con el análisis de Kruskal Wallis con la prueba post hoc Dunn con ajuste Bonferroni y tablas cruzadas, en cuanto a las variables de conducta, obteniendo resultados estadísticamente significativos. Por otra parte, también se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para Deltas con la prueba post hoc Dunn con ajuste Bonferroni para las variables de parámetros fisiológicos y biomarcadores de estrés, obteniendo valores estadísticamente significativos de p valor menor a 0,05. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- La aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* mostró una respuesta favorable sobre las manifestaciones conductuales asociadas al estrés en caninos durante la consulta veterinaria, observándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en varias de las variables evaluadas, especialmente en el tratamiento T3 (0,25%). Estos resultados sugieren un posible efecto beneficioso sobre la conducta relacionada con el estrés agudo.
- Los tratamientos con aceite esencial de *Melissa officinalis* presentaron menores valores de frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria respecto al grupo control en la fase POST, evidenciándose diferencias significativas entre tratamientos para frecuencia cardíaca ($p = 0,012$) y frecuencia respiratoria ($p < 0,0001$). Asimismo, el análisis de deltas confirmó diferencias significativas entre los grupos tratados y el control ($p < 0,05$), sugiriendo una menor activación fisiológica asociada al estrés.
- La aromaterapia inhalatoria con aceite esencial de *Melissa officinalis* presentó un efecto diferencial sobre las concentraciones de biomarcadores de estrés agudo evaluados. Las concentraciones séricas de cortisol mostraron diferencias significativas entre tratamientos en la fase POST ($p = 0,002$), siendo más bajas en el tratamiento T3 (0,25%). Además, el análisis de deltas evidenció diferencias entre T3 y T1 ($p < 0,0001$) y entre T2 y T1 ($p = 0,006$), lo que sugiere una respuesta favorable sobre este biomarcador de estrés. Por el contrario, la glucosa no presentó diferencias significativas entre tratamientos en la evaluación POST ($p = 0,930$), sin embargo, el análisis de delta glucosa evidenció diferencias significativas entre los tratamientos con aceite esencial y el grupo control (T3–T1: $p < 0,0001$; T2–T1: $p = 0,008$). Esto sugiere que la evaluación mediante deltas permitió detectar cambios fisiológicos individuales asociados a la intervención, sugiriendo una respuesta favorable de los

tratamientos con aceite esencial de *Melissa officinalis* con respecto a los biomarcadores de estrés agudo.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios en diferentes especies para determinar si estas presentan sensibilidad frente al aceite de *Melissa officinalis*, además de añadir más marcadores de estrés agudo.
- Aplicar la aromaterapia inhalatoria como una estrategia complementaria y no sustitutiva de las prácticas de manejo de bajo estrés, integrándola con enfoques como Low Stress Handling, Fear Free y Dog Friendly Practice para favorecer una experiencia veterinaria más positiva para el paciente.
- Utilizar biomarcadores menos invasivos en futuras investigaciones, como cortisol salival, cortisol fecal e incluso cortisol en pelaje, ya que permiten evaluar la respuesta al estrés reduciendo el efecto potencialmente estresante de la venopunción y minimizando la interferencia de la toma de muestras sobre los resultados obtenidos.
- Desarrollar estudios que evalúen la seguridad de la exposición repetida al aceite esencial de *Melissa officinalis* en caninos, considerando posibles efectos a mediano y largo plazo, así como diferencias asociadas a edad, sexo, raza y temperamento de los animales.

CAPÍTULO V

MATERIALES DE REFERENCIA

5.1 Referencias bibliográficas

Ahsan, M., Nisar Khan, B., Ashfaq, Y., Durrani, A. Z., Sharif, S., Rafi, F., Azhar, M., Ashraf, M., Mukhtar, A., & Awan, E. A. (2024). Effects of essential oils aroma therapy on stress-ladened solitary carnivores: Changes in anxiety-related behavior and cortisol concentration. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, *8*(3), 270–295. https://doi.org/10.5281/zenodo.11625078

Al-Hassani, I., Khan, N. A., Elmenyar, E., Al-Hassani, A., Rizoli, S., Al-Thani, H., & El-Menyar, A. (2024). The Interaction and Implication of Stress-Induced Hyperglycemia and Cytokine Release Following Traumatic Injury: A Structured Scoping Review. In *Diagnostics* (Vol. 14, Number 23). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/diagnostics14232649

Alvarado, P., Soto, M., Infantes, F., Guzmán, N., Rodríguez, Y., Jara, D., Rengifo, R., Gavidia, J., & Alfaro, I. (2023). Effects of *Melissa officinalis* essential oil on state and trait anxiety. *Pharmacognosy Journal*, *15*(3), 454–460. https://doi.org/10.5530/pj.2023.15.101

Amaya, V., Paterson, M. B. A., Descovich, K., & Phillips, C. J. C. (2020). Effects of olfactory and auditory enrichment on heart rate variability in shelter dogs. *Animals*, *10*(8), 1–22. https://doi.org/10.3390/ani10081385

Aponso, M., Patti, A., & Bennett, L. E. (2020). Dose-related effects of inhaled essential oils on behavioural measures of anxiety and depression and biomarkers of oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*, *250*, 112469. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2019.112469

Binks, J., Taylor, S., Wills, A., & Montrose, V. T. (2018). The behavioural effects of olfactory stimulation on dogs at a rescue shelter. *Applied Animal Behaviour Science*, *202*, 69–76. https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2018.01.009

Chmelíková, E., Bolechová, P., Chaloupková, H., Svobodová, I., Jovičić, M., & Sedmíková, M. (2020). Salivary cortisol as a marker of acute stress in dogs: a review. In *Domestic Animal Endocrinology* (Vol. 72). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.106428

Csoltova, E., Martineau, M., Boissy, A., & Gilbert, C. (2017). Behavioral and physiological reactions in dogs to a veterinary examination: Owner-dog interactions improve canine well-being. Physiology and Behavior, 177, 270–281. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.05.013

Domínguez, A., Mota, D., Ruiz, A., Miranda, Á., & Hernández, I. (2021). *Reconocimiento clínico del estrés en perros y gatos*. www.ammvepe.mx

Eigler, N., Sacca, L., & Sherwin, R. S. (1979). Synergistic interactions of physiologic increments of glucagon, epinephrine, and cortisol in the dog. A model for stress-induced hyperglycemia. *Journal of Clinical Investigation*, *63*(1), 114–123. https://doi.org/10.1172/JCI109264

Enviroliteracy. (2025, febrero 24). *¿Cómo se diluyen los aceites esenciales para mascotas?* Retrieved from https://enviroliteracy.org/how-do-you-dilute-essential-oils-for-pets/?utm

Fernandes, A. J. B., Borges, D. A., Bonfim, I. V., Bezerra, R. da L., Campos, F. da S. F., Dutra, C. R., Fuzii, B. T., da Silva, M. E. C., Silva, T. M., Scott, F. B., & Cid, Y. P. (2026). Effect of a lavender (Lavandula angustifolia) essential oil-based formulation on dogs' welfare during veterinary clinical examination. *Journal of Veterinary Behavior*, *85*, 49–58. https://doi.org/10.1016/J.JVEB.2026.03.004

Gavilánez, E. (2024). *Evaluación del aceite esencial de valeriana (Valeriana officinalis) en la reducción de estrés en caninos domésticos durante la consulta*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato] https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/42781

Giannetto, C., Fazio, F., Assenza, A., Alberghina, D., Panzera, M., & Piccione, G. (2014). Parallelism of circadian rhythmicity of salivary and serum cortisol concentration in normal dogs. *Journal of Applied Biomedicine*, *12*(4), 229–233. https://doi.org/10.1016/j.jab.2014.01.009

Goodwin, S., & Reynolds, H. (2018). Can aromatherapy be used to reduce anxiety in hospitalised felines. *The Veterinary Nurse*, *9*. https://doi.org/https://doi.org/10.12968/vetn.2018.9.3.167

Graham, L., Wells, D. L., & Hepper, P. G. (2005). The influence of olfactory stimulation on the behaviour of dogs housed in a rescue shelter. *Applied Animal Behaviour Science*, *91*(1–2), 143–153. https://doi.org/10.1016/J.APPLANIM.2004.08.024

Guevara, S. (2023). *ANÁLISIS DE LA EFICACIA DEL ACEITE ESENCIAL DE TÉ VERDE (Camellia sinensis) COMO AROMATERAPIA EN LA REDUCCIÓN DE ESTRÉS EN GATOS DE CONSULTA.* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato] https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/39864

Haverbeke, A., Uccheddu, S., Arnouts, H., & Sannen, A. (2019). A Pilot Study on Behavioural Responses of Shelter Dogs to Olfactory Enrichment. *Veterinary Science Research*, *1*(1). https://doi.org/10.30564/vsr.v1i1.1147

Haverbeke, A., Uccheddu, S., Reinert, C., Tertemiz, S., & Sannen, A. (2024). *Dose-Dependent Responses: A Preliminary Investigation into the Olfactory Effects of Essential Oil Concentrations on Canine Behavior*. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11259-024-10466-1

Hedigan, F., Sheridan, H., & Sasse, A. (2023). Benefit of inhalation aromatherapy as a complementary treatment for stress and anxiety in a clinical setting – A systematic review. In *Complementary Therapies in Clinical Practice* (Vol. 52). Churchill Livingstone. https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2023.101750

Hekman, J. P., Karas, A. Z., & Sharp, C. R. (2014). Psychogenic stress in hospitalized dogs: Cross species comparisons, implications for health care, and the challenges of evaluation. In *Animals* (Vol. 4, Number 2, pp. 331–347). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ani4020331

Hope, A., Perez, N., Hall, B., & Broadway, M. (2024). Effectiveness of Lavender Aromatherapy in Reducing Canine Stress in a Veterinary Setting. *Dog Behavior*, *10*. https://doi.org/https://doi.org/10.4454/db.v4i1.185

Karpiński, M., Wojtaś, J., & Garbiec, A. (2022). Temperament Assessment Algorithm in Dogs. *Animals*, *12*(5). https://doi.org/10.3390/ani12050634

Kaszycka, K., Goleman, M., & Krupa, W. (2025). Testing the Level of Cortisol in Dogs. In *Animals* (Vol. 15, Number 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/ani15091197

Koyama, S., & Heinbockel, T. (2020). The effects of essential oils and terpenes in relation to their routes of intake and application. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Number 5). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms21051558

Lupo, A. (2019). Effect of lavender (Lavandula angustifolia) essential oils on sheltered dog behavior: preliminary results. *Dog Behavior*, *5*(3), 19–22. https://doi.org/10.4454/db.v5i3.111

Marik, P. E., & Bellomo, R. (2013). Stress hyperglycemia: an essential survival response! V I E W P O I N T. In *Critical Care* (Vol. 17). https://doi.org/https://doi.org/10.1186/cc12514

O'Neill, P. A., Davies, ; I, Fullerton, ; K J, & Bennett, D. (1991). *Stress Hormone and Blood Glucose Response Following Acute Stroke in the Elderly*. https://doi.org/https://doi.org/10.1161/01.STR.22.7.842

Pasyar, N., Aghababaei, M., Rambod, M., & Zarshenas, M. M. (2025). The effectiveness of *Melissa officinalis* L. essential oil inhalation on anxiety and symptom burden of hemodialysis patients: a randomized trial study. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *25*(1). https://doi.org/10.1186/s12906-025-04840-y

Pei, S., Chen, J., Lu, J., Yao, L., & Zhang, N. (2024). Exploring the physiological response differences of β-caryophyllene, linalool and citral inhalation and their anxiolytic potential. *Heliyon*, *10*(19). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38941

Perea, A. (2019). *USO DE ANSIOLÍTICOS NATURALES PARA MEJORAR EL BIENESTAR ANIMAL DE PERROS EN COLECTIVOS*. [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Barcelona] https://aplicaciones.ciencia.gob.es/teseo/#/tesis/O580061/detalle

Riemer, S., Heritier, C., Windschnurer, I., Pratsch, L., Arhant, C., & Affenzeller, N. (2021). A review on mitigating fear and aggression in dogs and cats in a veterinary setting. In *Animals* (Vol. 11, Number 1, pp. 1–27). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ani11010158

Roy, A. S., Aberkane, F. Z., Cisse, S., Guibert, A., Richard, D., Lerouzic, M., Suor-cherer, S., Boisard, S., Guilet, D., Benarbia, M. E. A. B., & Mallem, M. Y. (2025). Metabolomics provides novel understanding of *Melissa officinalis* mechanism of action ensuring its calming effect on dogs. *BMC Veterinary Research*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/s12917-025-04904-8

Ruan, Q., Dai, C., Lin, Y., Wu, W., & Yi, F. (2026). Aroma Olfactory Intervention: Enhancing Stress Recovery via Brain Neural Activity Modulation. *Buildings*, *16*(5). https://doi.org/10.3390/buildings16051038

Ruiz, J., Sáenz, R., & Salinas, A. (2017). *Diseño y formulación de una loción contra el estrés a base de aceites esenciales de Toronjil (Melissa officinalis) y Lavanda (Lavandula angustifolia), durante el período abril 2016 – septiembre 2017. 2017* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua] http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/6622

Salgirli Demirbas, Y., Isparta, S., Saral, B., Keskin Yılmaz, N., Adıay, D., Matsui, H., Töre-Yargın, G., Musa, S. A., Atilgan, D., Öztürk, H., Kul, B. C., Şafak, C. E., Ocklenburg, S., & Güntürkün, O. (2023). Acute and chronic stress alter behavioral laterality in dogs. *Scientific Reports*, *13*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-023-31213-7

Sattayakhom, A., Wichit, S., & Koomhin, P. (2023). The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. In *Molecules* (Vol. 28, Number 9). MDPI. https://doi.org/10.3390/molecules28093771

Scalia, B., Alberghina, D., & Panzera, M. (2017). Influence of low stress handling during clinical visit on physiological and behavioural indicators in adult dogs: a preliminary study. *Pet Behaviour Science*, (4), 20–22. https://doi.org/10.21071/pbs.v0i4.10131

Senu, N. A., Salari, R., Ghavami, V., & Mirzakhani, K. (2025). The effect of inhalation aromatherapy with lemon balm essential oil on perceived stress in infertile women undergoing in vitro fertilization: An RCT. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, *23*(7), 577–586. https://doi.org/10.18502/ijrm.v23i7.19490

Sharma, A., Sharma, M. M., & Priyadarshi, H. (2026). Stress to scent: Integrating abiotic stress physiology with essential oil chemistry in *Melissa officinalis*. In *Plant Stress* (Vol. 20). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.stress.2026.101269

Sinaei, M., Salari, R., Birjandi, R. M., Raesi, R., & Sadeghi, T. (2024). The Effect of Inhalation Aromatherapy with Lemon Balm (*Melissa officinalis*) Essential Oil on Sleep Quality in Mothers of Preterm Infants in the Neonatal Intensive Care Unit (A Randomized Clinical Trial Study). *The Open Public Health Journal*, *17*(1). https://doi.org/10.2174/0118749445280519240110075936

Siniscalchi, M., d'Ingeo, S., Minunno, M., & Quaranta, A. (2018). Communication in dogs. In *Animals* (Vol. 8, Number 8). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ani8080131

Sisubalan, N., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., & Chaiyasut, C. (2023). *Composition, Bioactivities, Safety Concerns, and Impact of Essential Oil on Pets' and Animals' Health*. https://doi.org/10.20944/preprints202311.2008.v1

Squair, C., Proudfoot, K., Montelpare, W., & Overall, K. L. (2023). Effects of Changing Veterinary Handling Techniques on Canine Behaviour and Physiology Part 1: Physiological Measurements. *Animals*, *13*(7). https://doi.org/10.3390/ani13071253

Stojanović, N. M., Mladenović, M. Z., Maslovarić, A., Stojiljković, N. I., Randjelović, P. J., & Radulović, N. S. (2022). Lemon balm *(Melissa officinalis* L.) essential oil and citronellal modulate anxiety-related symptoms – In vitro and in vivo studies.

Journal of Ethnopharmacology, *284*, 114788. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114788

Stojanović, N. M., Mladenović, M. Z., Randjelović, P. J., & Radulović, N. S. (2023). The potential of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil as an anti-anxiety agent – is the citronellal the activity carrier? *Journal of Ethnopharmacology*, *314*, 116661. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2023.116661

Štrabac, F., Petrovic, K., Stojanovic, D., & Ratajac, R. (2021). POSSIBILITIES AND LIMITATIONS OF THE USE OF ESSENTIAL OILS IN DOGS AND CATS. *ВЕТЕРИНАРСКИ ЖУРНАЛ РЕПУБЛИКЕ СРПСКЕ*, *21*(1–2). https://doi.org/10.7251/vetjen2101238s

Świder, K., Startek, K., & Wijaya, C. H. (2019). The therapeutic properties of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.): Reviewing novel findings and medical indications. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *92*, 327–335. https://doi.org/10.5073/JABFQ.2019.092.044

Taylor, S., & Madden, J. (2016). The effect of pet remedy on the behaviour of the domestic dog (*Canis familiaris*). *Animals*, *6*(11), 2–9. https://doi.org/10.3390/ani6110064

Uccheddu, S., Mariti, C., Sannen, A., Vervaecke, H., Arnout, H., Gutierrez Rufo, J., Gazzano, A., & Haverbeke, A. (2018). Behavioral and cortisol responses of shelter dogs to a cognitive bias test after olfactory enrichment with essential oils. *Dog Behavior*, *4*(2), 1–14. https://doi.org/10.4454/db.v4i2.87

Wang, Q., Mei, J., & Xie, J. (2022). The Effects of Lemon Balm *(Melissa officinalis* L.) Essential Oil on the Stress Response, Anti-Oxidative Ability, and Kidney Metabolism of Sea Bass during Live Transport. *Animals*, *12*(3). https://doi.org/10.3390/ani12030339

Wells, D. L. (2006). Aromatherapy for travel-induced excitement in dogs. *JAVMA*, *229*, 964–967. https://doi.org/https://doi.org/10.2460/javma.229.6.964

Yusupovna, M. I., Abdujalilovich, M. Z., Rakhmonovich, A. I., & Juraevna, U. G. (2026). Molecular and Translational Pharmacology of *Melissa officinalis*: Targeting Nrf2/ARE, NF-κB/MAPK, and Purinergic Receptors. In *Asian Journal of Green*

Chemistry (Vol. 10, Number 3, pp. 483–499). Sami Publishing Company. https://doi.org/10.48309/ajgc.2026.559064.1865

5.2 Anexos

Anexo 1. *Escala de evaluación de estrés en caninos hospitalizados.*

Nivel de estrés	Postura del cuerpo	Postura de la cola	Postura de las orejas	Mirada	Pupilas	Respiración	Labios	Actividad	Vocalización
0	Relajado, se mueve por su cuenta.	En reposo o levantada.	Elevadas y ligeramente hacia adelante.	Mira continuamente al médico.	Normal, responden a la luz.	Normal, mandíbula relajada.	Relajados.	Flexible.	Ninguna.
1	Tenso, acepta manipulación.	Ligeramente más abajo que en reposo.	Se mueven hacia atrás.	Mirada intermitente al médico.	Normal, leve dilatación. tensa.	Normal, mandíbula	Firmes.	Inactivo.	Llora o aúlla.
2	Rígido, difícil de manejar, cuerpo un poco agachado.	Hacia abajo.	Totalmente hacia atrás.	No mira al médico, pero observa la habitación	Dilatadas con una cantidad considerable de iris	Jadeo.	Lame belfos.	Patas flexionadas, temblor ligero.	Llora, gime.
3	Encorvado, difícil de examinar el vientre, con postura baja.	Escondida entre patas.	Hacia atrás y caídas.	No observa la habitación, busca a su dueño.	Dilatadas con poca cantidad de iris,	Jadeo con salivación.	Bosteza, lame belfos.	Temblor periódico	Gruñe e intenta morder.
4	Enroscado, completamente retraído.	Enroscada y pegada al vientre.	Tan atrás y caídas posibles.	Mirada fija a la distancia.	Totalmente dilatadas sin iris.	Hipersalivación, jadeo, boqueo.	--	Temblor continuo.	Muerde.

Anexo 2. *Tabla de conducta con niveles de estrés.*

Variable	Conducta	Clave	Nivel de estrés	Descripción
Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	R	1	Cuerpo suelto, sin tensión evidente.
	Tenso, con aceptación de manipulación	T	2	Cuerpo tenso, pero sin dificultad para la examinación.
	Rígido, difícil manipulación.	RDM	3	Cuerpo tenso, con dificultad para la examinación.
	Encorvado con postura baja	EPB	4	Encogido, difícil de examinar y con el cuerpo pegado hacia la mesa de examinación.
	Enroscado	E	5	Completamente retraído, acostado con patas dobladas en forma de bola.
Vocalización	Ausente	A	1	No emite sonidos.
	Llora o aúlla	Ll	2	Presenta quejidos por intervalos.
	Llora, gime.	LlG	3	Presenta quejidos continuos.
	Gruñe, intenta morder.	G	4	Emite un sonido de alerta mientras enseña los dientes.
	Muerde	M	5	Intento de ataque con los dientes.
	Normal.	N	1	Elevadas o caídas, esto dependiente de la raza.
	Movimiento hacia atrás.	MA	2	Movimientos hacia atrás por intervalos.

Postura de orejas	Totalmente hacia atrás.	TA	3	Hacia atrás sin intervalos.
	Ligeramente caídas.	LC	4	Aplanadas con las puntas caídas por intervalos
	Aplanadas.	A	5	Aplanadas con las puntas constantemente caídas.
Postura de cola	En reposo o relajada.	R	1	Posición natural.
	Ligeramente hacia abajo.	LHA	2	Se mantiene ligeramente más abajo que la posición natural.
	Baja.	B	3	Baja con la punta a la dirección del suelo.
	Entre las patas.	EP	4	Entre los miembros posteriores, pero sin pegarse al vientre.
	Enroscada.	E	5	Posición enroscada, pegada al vientre.
Actividad motora	Flexible.	F	1	Movimiento hacia los alrededores con facilidad.
	Inactivo.	I	2	Se mantiene en un sitio fijo.
	Patas flexionadas.	PF	3	Reposo sobre sus patas con temblores o movimientos ligeros.
	Temblor parcial.	TP	4	Movimientos periódicos.
	Temblor continuo.	TC	5	Movimientos constantes.
Movimiento de labios	Relajados.	R	1	Boca abierta, es posible ver la lengua.
	Firmes.	F	2	Labios apretados.
	Lamido de belfos.	LB	3	La lengua pasa por sus labios.
	Bostezo, se lame los belfos.	BLB	4	Abre la boca, pero tiene lamido de los labios continuamente.

Anexo 3. *Etograma adaptado para la recolecta de datos*

Motivo de consulta:			**Nombre del paciente:**		**Raza:**		**Hora:**	
ID propietario:			**Sexo:**		**Edad:**		**Fecha**	
Nivel de estrés	**Postura corporal**	**Vocalización**	**Postura de orejas**	**Postura de cola**	**Actividad motora**		**Movimiento de labios**	
1	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.		Relajados.	
2	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo.		Firmes.	
3	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.		Lamido de belfos.	
4	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.		Bostezo, se lame los belfos.	
5	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.		-	
Cortisol								
Glucosa								
FC								
FR								
Grupo			**Fase**					

Anexo 4. *Resultados de las pruebas de Cortisol (ug/dL) en el tratamiento control (T1)*

Número	Nombre	Pre (ug/dL)	Post (ug/dL)
1	Flor	2,1	2,4
2	Galleta	3,5	3,7
3	Nico	2,76	3,32
4	Mily	1,8	2,02
5	Rocky	4,2	5,8
6	Lula	2,8	3,6
7	Miky	5,8	6,7
8	Cielo	1,6	2,4
9	Jack	7,08	7,24
10	Laika	6,7	6,9
11	Laila	2,4	3,02
12	Leo	2,2	3,8

Anexo 5. *Resultados de la prueba de Cortisol (ug/dL) en el Tratamiento 2*

Número	Nombre	Pre (ug/dL)	Post (ug/dL)
1	Parlanchina	5,5	2,01
2	Yuri	1,57	1,07
3	Merlina	3,8	2,02
4	Lena	4,5	3,9
5	Miche	6,5	4,8
6	Kukis	5,92	4,86
7	Mila	4,2	3,3
8	Lucas	6,2	5,4
9	Roco	2,9	2,6
10	Lola	4,5	3,92
11	Viky	1,9	1,8
12	Pepo	2,3	2,02

Anexo 6. *Resultados de la prueba de Cortisol (ug/dL) en el Tratamiento 3*

Número	Nombre	Pre (ug/dL)	Post (ug/dL)
1	Hunter	3,8	1,6
2	Coca	5,9	3,5
3	Asy	2,6	1,08
4	Scooby	7,02	1,89
5	Guardián	3,9	1,12
6	Cobo	5,81	1,67
7	Kira	6,9	2,03
8	Lara	5,9	1,9
9	Mara	3,7	2,4
10	Sesy	5,5	2,8
11	Kovu	3,8	2,23
12	Linda	2,8	1,56

Anexo 7. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento control (T1)*

Número	Nombre	Pre (mg/dL)	Post (mg/dL)
1	Flor	92	95
2	Galleta	87	90
3	Nico	99	114
4	Mily	120	128
5	Rocky	98	99
6	Lula	128	126
7	Miky	118	125
8	Cielo	101	104
9	Jack	101	99
10	Laika	119	128
11	Laila	96	101
12	Leo	98	117

Anexo 8. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento 2*

Número	Nombre	Pre (mg/dL)	Post (mg/dL)
1	Parlanchina	118	112
2	Yuri	102	104
3	Merlina	116	110
4	Lena	112	108
5	Miche	128	122
6	Kukis	130	126
7	Mila	102	100
8	Lucas	129	118
9	Roco	98	96
10	Lola	122	118
11	Viky	98	92
12	Pepo	112	110

Anexo 9. *Resultados de la prueba rápida de Glucosa en el tratamiento 3*

Número	Nombre	Pre (mg/dL)	Post (mg/dL)
1	Hunter	94	82
2	Coca	132	118
3	Asy	105	99
4	Scooby	88	82
5	Guardián	137	128
6	Cobo	118	112
7	Kira	131	122
8	Lara	138	122
9	Mara	108	102
10	Sesy	124	116
11	Kovu	116	110
12	Linda	104	98

Anexo 10. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en el tratamiento control (T1)*

Número	Nombre	Pre (lpm)	Post (lpm)
1	Flor	124	124
2	Galleta	132	140
3	Nico	144	148
4	Mily	136	140
5	Rocky	128	128
6	Lula	124	124
7	Miky	120	124
8	Cielo	98	102
9	Jack	120	124
10	Laika	130	128
11	Laila	110	118
12	Leo	124	132

Anexo 11. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en Tratamiento 2*

Número	Nombre	Pre (lpm)	Post (lpm)
1	Parlanchina	128	120
2	Yuri	108	96
3	Merlina	88	84
4	Lena	120	112
5	Miche	124	116
6	Kukis	136	128
7	Mila	120	120
8	Lucas	136	124
9	Roco	120	120
10	Lola	132	128
11	Viky	116	116
12	Pepo	124	124

Anexo 12. *Resultados de la medición de Frecuencia cardíaca en el tratamiento 3*

Número	Nombre	Pre (lpm)	Post (lpm)
1	Hunter	128	108
2	Coca	126	110
3	Asy	138	110
4	Scooby	84	80
5	Guardián	112	84
6	Cobo	128	124
7	Kira	132	124
8	Lara	132	128
9	Mara	124	120
10	Sesy	132	124
11	Kovu	124	112
12	Linda	124	120

Anexo 13. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento control (T1)*

Número	Nombre	Pre (rpm)	Post (rpm)
1	Flor	40	44
2	Galleta	32	32
3	Nico	36	36
4	Mily	48	48
5	Rocky	32	36
6	Lula	40	44
7	Miky	36	36
8	Cielo	38	38
9	Jack	40	36
10	Laika	40	40
11	Laila	36	36
12	Leo	38	40

Anexo 14. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento 2*

Número	Nombre	Pre (rpm)	Post (rpm)
1	Parlanchina	32	24
2	Yuri	36	32
3	Merlina	36	36
4	Lena	32	24
5	Miche	36	28
6	Kukis	40	32
7	Mila	32	28
8	Lucas	40	32
9	Roco	28	24
10	Lola	36	32
11	Viky	28	28
12	Pepo	36	36

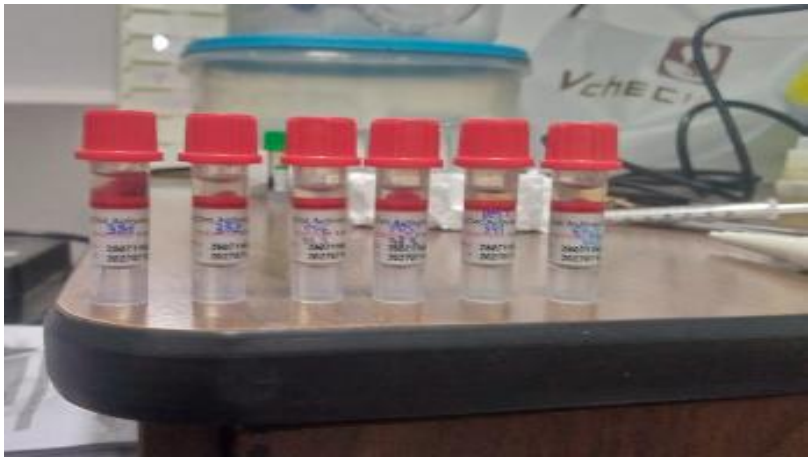
Anexo 15. *Resultados de la medición de Frecuencia respiratoria en el Tratamiento 3*

Número	Nombre	Pre (rpm)	Post (rpm)
1	Hunter	40	28
2	Coca	36	28
3	Asy	38	28
4	Scooby	28	24
5	Guardián	38	36
6	Cobo	32	28
7	Kira	36	28
8	Lara	40	32
9	Mara	32	28
10	Sesy	36	32
11	Kovu	28	28
12	Linda	28	24

Anexo 16. *Prueba de Cortisol sérico de Vcheck*



Anexo 17. *Tubos tapa roja con muestra de sangre centrifugada*



Anexo 18. *Centrifugación de muestras de sangre para la prueba de cortisol.*



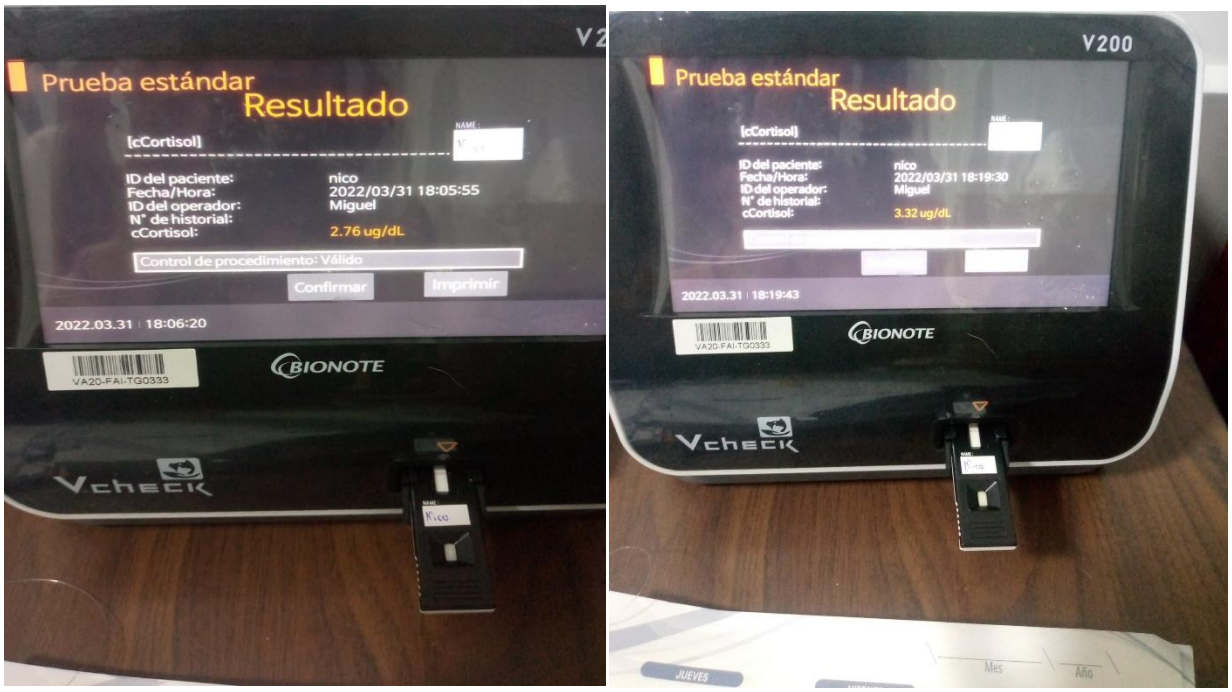
Anexo 19. *Analizador Vcheck*



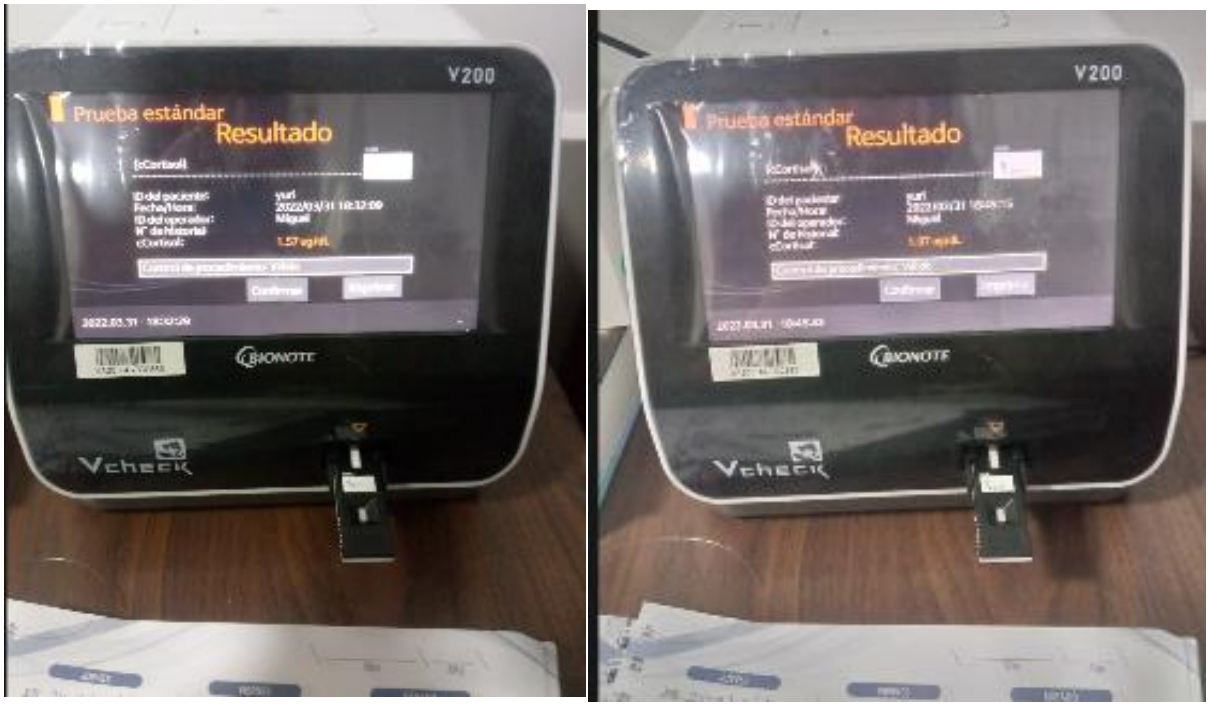
Anexo 20. *Test de cortisol sérico.*



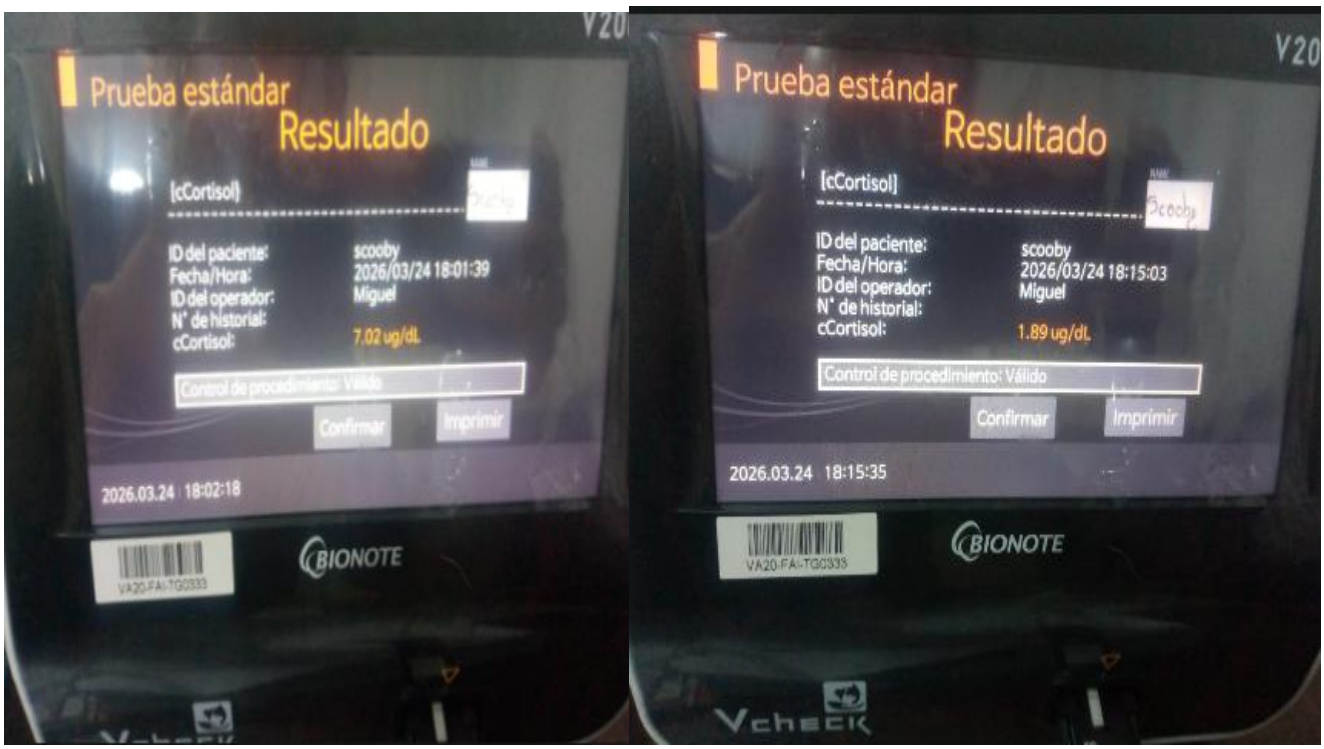
Anexo 21. *Resultados de la prueba de Cortisol Pre y Post con T1: Nico*



Anexo 22. *Resultados de la prueba de Cortisol Pre y Post con T2: Yuri*



Anexo 23. *Pruebas de Cortisol en Pre y Post con T3: Scooby*



Anexo 24. *Prueba rápida de Glucosa Pre y Post en T1: Cielo*



Anexo 25. *Prueba rápida de Glucosa en Pre y Post en T2: Merlina*



Anexo 26. *Prueba rápida de Glucosa Pre y Post en T3: Cobo*



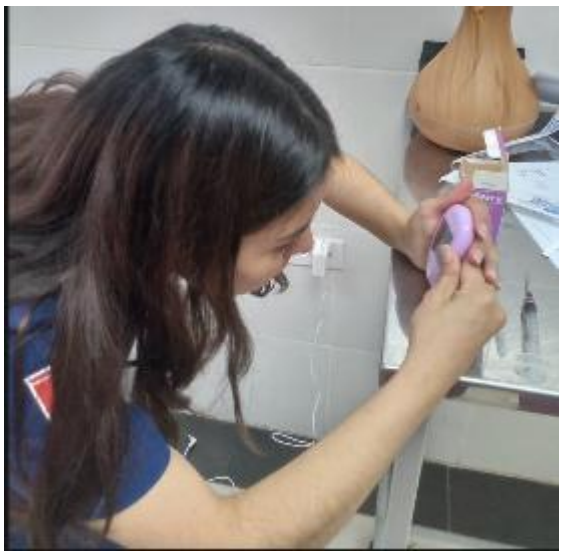
Anexo 27. *Paciente del T3 en Pre y Post aromaterapia.*



Anexo 28. *Preparación de glucómetro veterinario y hoja de registro por paciente*



Anexo 29. *Prueba rápida de glucosa con glucómetro veterinario*



Anexo 30. *Prueba de Shapiro Wilks Cortisol y prueba de Tukey*

Nueva tabla : 6/5/2026 - 20:41:17 - [Versión : 30/4/2020]

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Post (ug/dL)	36	0,00	1,38	0,93	0,0960
RDUO Pre (ug/dL)	36	0,00	1,67	0,92	0,0559

Pre (ug/dL)

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Pre (ug/dL)	36	0,07	0,02	41,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,80	2	3,90	1,31	0,2825
Tratamiento	7,80	2	3,90	1,31	0,2825
Error	97,94	33	2,97		
Total	105,74	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,72581

Error: 2,9680 gl: 33

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
T1	3,58	12	0,50	A	
T2	4,15	12	0,50	A	
T3	4,72	12	0,50	A	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Post (ug/dL)

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Post (ug/dL)	36	0,31	0,27	45,59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	30,58	2	15,29	7,55	0,0020
Tratamiento	30,58	2	15,29	7,55	0,0020
Error	66,87	33	2,03		
Total	97,45	35			

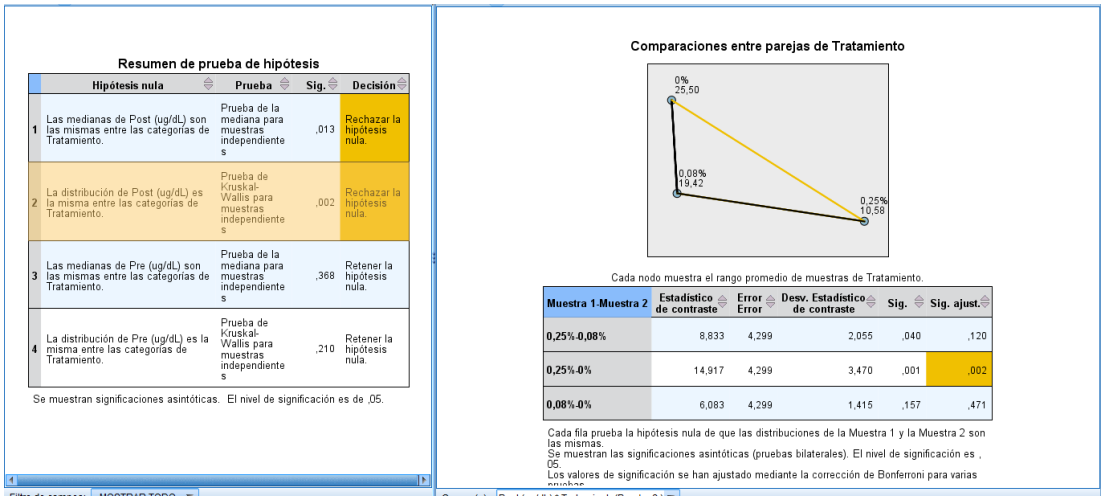
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,42599

Error: 2,0263 gl: 33

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
T3	1,98	12	0,41	A	
T2	3,14	12	0,41	A	B
T1	4,24	12	0,41		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Anexo 31. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Cortisol*



Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	Las medianas de Post (ug/dL) son las mismas entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de la mediana para muestras independientes	,013	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Post (ug/dL) es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,002	Rechazar la hipótesis nula.
3	Las medianas de Pre (ug/dL) son las mismas entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de la mediana para muestras independientes	,368	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de Pre (ug/dL) es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,210	Retener la hipótesis nula.

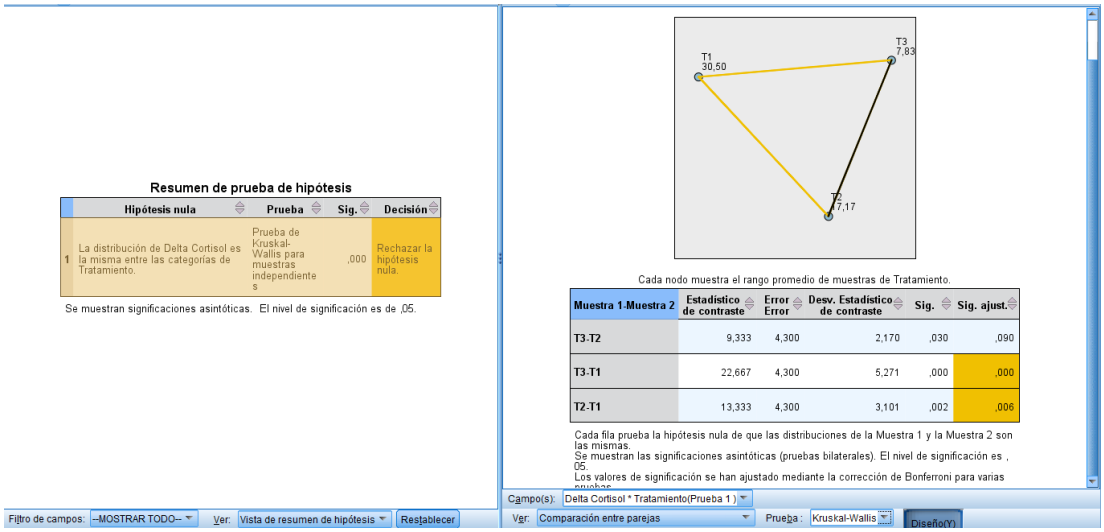
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Comparaciones entre parejas de Tratamiento

Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
0,25%-0,08%	8,833	4,299	2,055	,040	,120
0,25%-0%	14,917	4,299	3,470	,001	,002
0,08%-0%	6,083	4,299	1,415	,157	,471

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias



Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Delta Cortisol es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	9,333	4,300	2,170	,030	,090
T3-T1	22,667	4,300	5,271	,000	,000
T2-T1	13,333	4,300	3,101	,002	,006

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Filtro de campos: --MOSTRAR TODO-- Ver: Vista de resumen de hipótesis Restablecer

Campo(s): Delta Cortisol * Tratamiento(Prueba 1)

Ver: Comparación entre parejas Prueba: Kruskal-Wallis Diseño(Y)

Anexo 32. *Prueba de Shapiro Wilks - Frecuencia cardíaca*

Shapiro-Wilks (modificado)

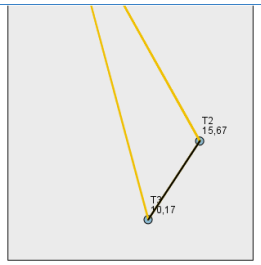
Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Pre	36	0,00	12,71	0,87	<0,0001
RDUO Post	36	0,00	13,19	0,87	<0,0001

Anexo 33. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Frecuencia cardíaca*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Delta FC es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	5,500	4,252	1,293	,196	,588
T3-T1	19,500	4,252	4,586	,000	,000
T2-T1	14,000	4,252	3,292	,001	,003

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

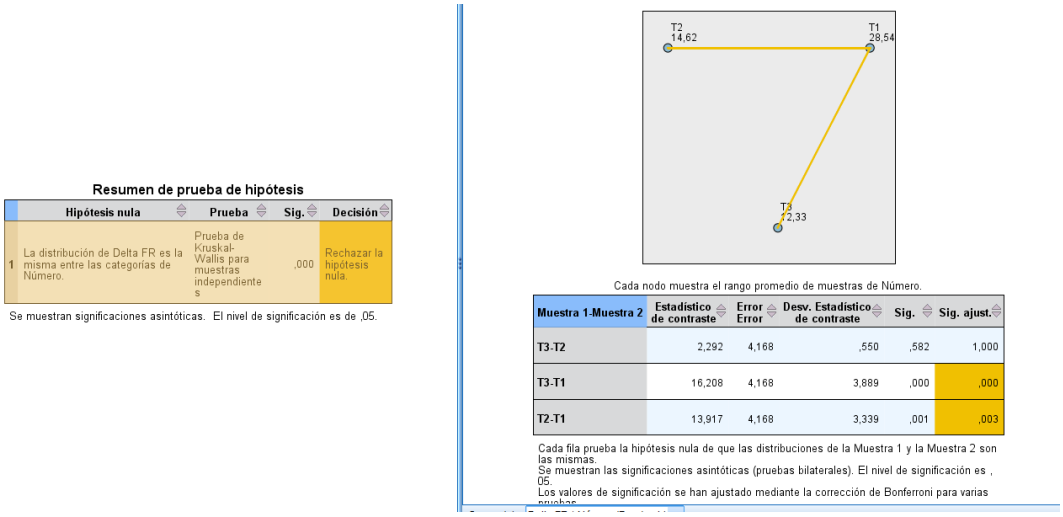
Anexo 34. *Prueba de Shapiro Wilks- Frecuencia respiratoria*

```
Nueva tabla_2 : 7/5/2026 - 0:21:51 - [Versión : 30/4/2020]

Shapiro-Wilks (modificado)


Variable   n  Media D.E.  W*   p(Unilateral D)
RDUO Pre   36  0,00 4,16 0,91          0,0216
RDUO Post  36  0,00 3,99 0,94          0,2349
```

Anexo 35. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Frecuencia respiratoria*



Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Delta FR es la misma entre las categorías de Número.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Número.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	2,292	4,168	,550	,582	1,000
T3-T1	16,208	4,168	3,889	,000	,000
T2-T1	13,917	4,168	3,339	,001	,003

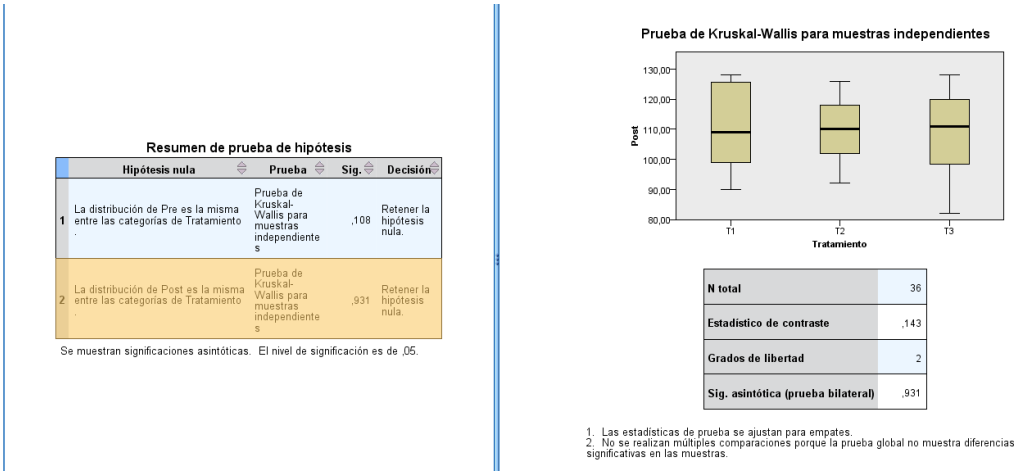
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Anexo 36. *Prueba de Shapiro Wilks- Glucosa*

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Pre	36	0,00	13,62	0,93	0,1316
RDUO Post	36	0,00	12,98	0,93	0,0808

Anexo 37. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Glucosa*



Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,108	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Post es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,931	Retener la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

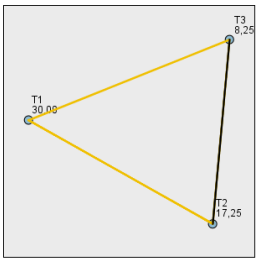
N total	36
Estadístico de contraste	,143
Grados de libertad	2
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,931

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.
2. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Delta Glucosa es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento .

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	9,000	4,247	2,119	,034	,102
T3-T1	21,750	4,247	5,121	,000	,000
T2-T1	12,750	4,247	3,002	,003	,008

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Anexo 38. *Tablas cruzadas en Postura Corporal*

Tabla cruzada Postura corporal*Momento*Tratamiento

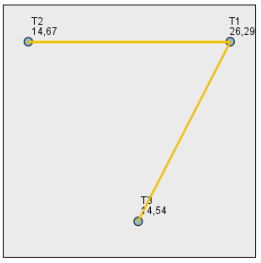
Tratamiento				Momento Pos	Momento Pre	Total
1,00	Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	Recuento	0	1	1
			% dentro de Momento	0,0%	8,3%	4,2%
		Tenso, con aceptación de manipulación	Recuento	6	7	13
			% dentro de Momento	50,0%	58,3%	54,2%
		Rígido, difícil manipulación	Recuento	5	4	9
			% dentro de Momento	41,7%	33,3%	37,5%
		encorvado con postura baja	Recuento	1	0	1
			% dentro de Momento	8,3%	0,0%	4,2%
	Total		Recuento	12	12	24
			% dentro de Momento	100,0%	100,0%	100,0%
2,00	Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	Recuento	4	1	5
			% dentro de Momento	33,3%	8,3%	20,8%
		Tenso, con aceptación de manipulación	Recuento	8	7	15
			% dentro de Momento	66,7%	58,3%	62,5%
		Rígido, difícil manipulación	Recuento	0	4	4
			% dentro de Momento	0,0%	33,3%	16,7%
	Total		Recuento	12	12	24
			% dentro de Momento	100,0%	100,0%	100,0%
3,00	Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	Recuento	5	0	5
			% dentro de Momento	41,7%	0,0%	20,8%
		Tenso, con aceptación de manipulación	Recuento	6	7	13
			% dentro de Momento	50,0%	58,3%	54,2%
		Rígido, difícil manipulación	Recuento	1	2	3
			% dentro de Momento	8,3%	16,7%	12,5%
		encorvado con postura baja	Recuento	0	3	3
			% dentro de Momento	0,0%	25,0%	12,5%
	Total		Recuento	12	12	24
			% dentro de Momento	100,0%	100,0%	100,0%
Total	Postura corporal	Relajado con movimiento voluntario	Recuento	9	2	11
			% dentro de Momento	25,0%	5,6%	15,3%
		Tenso, con aceptación de manipulación	Recuento	20	21	41
			% dentro de Momento	55,6%	58,3%	56,9%
		Rígido, difícil manipulación	Recuento	6	10	16
			% dentro de Momento	16,7%	27,8%	22,2%
		encorvado con postura baja	Recuento	1	3	4
			% dentro de Momento	2,8%	8,3%	5,6%
	Total		Recuento	36	36	72
			% dentro de Momento	100,0%	100,0%	100,0%

Anexo 39. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura Corporal.*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Postura C PRE es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,500	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Postura C POST es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,002	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta P.Corporal es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento .

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	,125	3,868	,032	,974	1,000
T3-T1	11,750	3,868	3,037	,002	,007
T2-T1	11,625	3,868	3,005	,003	,008

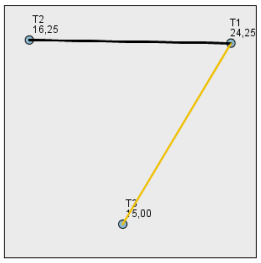
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Anexo 40. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Movimiento de labios*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Movimiento de Labios Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,139	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Movimiento de labios Post es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,012	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta Movimiento de labios es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,002	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	1,250	3,389	,369	,712	1,000
T3-T1	9,250	3,389	2,729	,006	,019
T2-T1	8,000	3,389	2,361	,018	,055

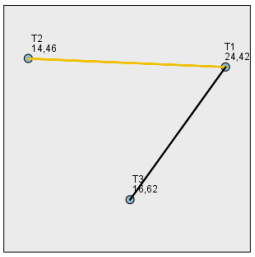
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Anexo 41. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Vocalización*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Vocalización Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,141	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Vocalización Post es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,029	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta Vocalización es la misma entre las categorías de Tratamiento .	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,003	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento .

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T2-T3	-2,167	3,937	-,550	,582	1,000
T2-T1	9,958	3,937	2,529	,011	,034
T3-T1	7,792	3,937	1,979	,048	,143

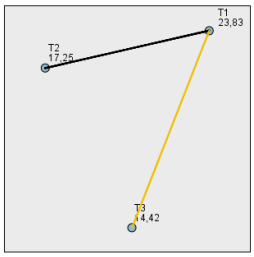
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Anexo 42. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura de orejas*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Postura de orejas Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,897	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Postura de orejas Post es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,016	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta Postura de Orejas es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,032	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	2,833	3,367	,842	,400	1,000
T3-T1	9,417	3,367	2,797	,005	,015
T2-T1	6,583	3,367	1,956	,051	,152

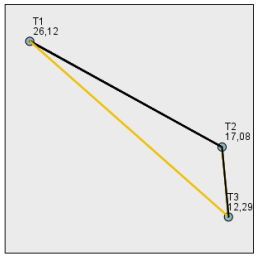
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias

Anexo 43. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Postura de cola*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de P. Cola Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,667	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de P. Cola Post es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta P. Cola es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T3-T2	4,792	3,798	1,261	,207	,621
T3-T1	13,833	3,798	3,642	,000	,001
T2-T1	9,042	3,798	2,380	,017	,052

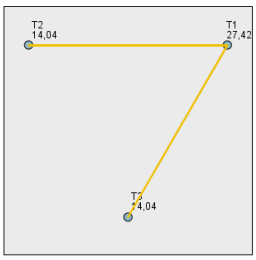
Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Anexo 44. *Prueba de Kruskal Wallis, con prueba post hoc Dunn y correcciones Bonferroni - Actividad Motora.*

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Actividad Motora Pre es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,525	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Actividad Motora Post es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,001	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Delta Actividad Motora es la misma entre las categorías de Tratamiento.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
T2-T3	,000	4,044	,000	1,000	1,000
T2-T1	13,375	4,044	3,308	,001	,003
T3-T1	13,375	4,044	3,308	,001	,003

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es , 05.
Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Anexo 45. *Aceite esencial de Melissa officinalis*



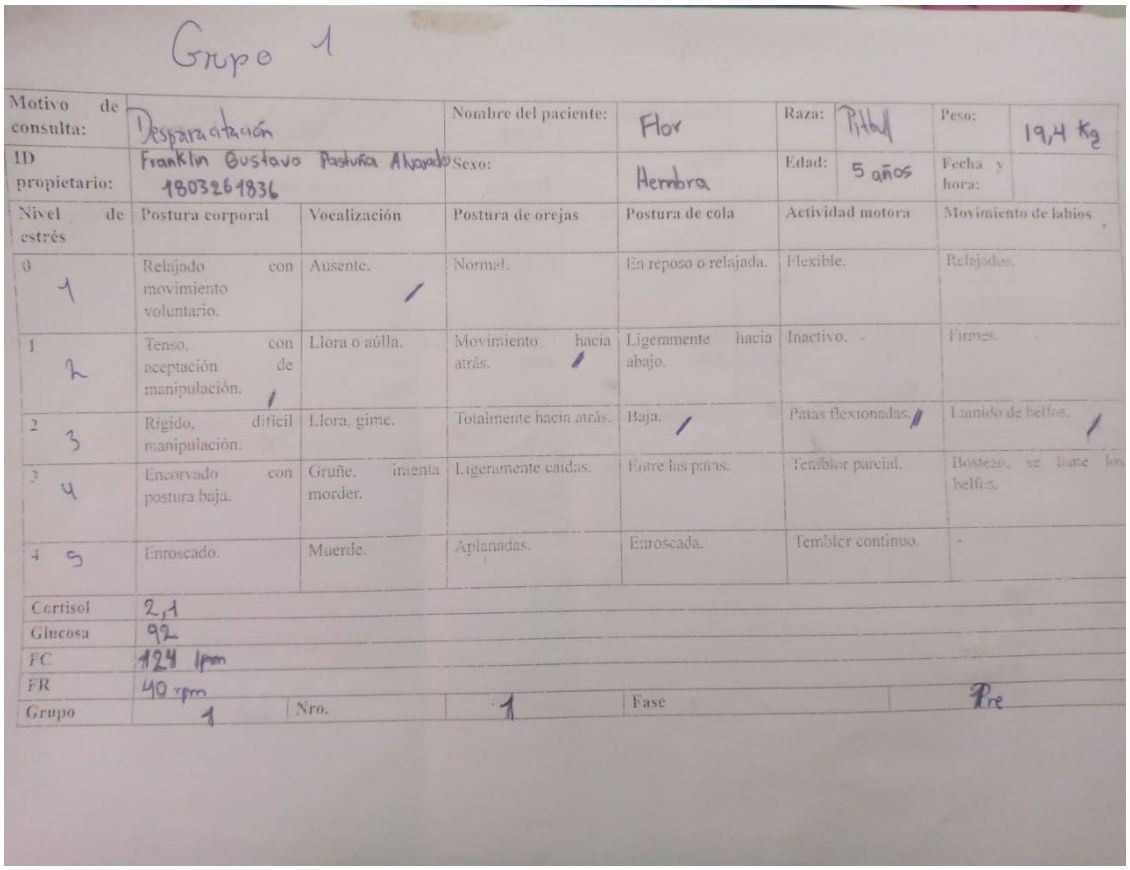
Anexo 46. *Cronograma de actividades por tratamiento.*

Cronograma		
Actividad de la tesista	**Actividad del ayudante**	**Tiempo**
Ingreso del tutor y paciente al consultorio para toma de datos, firma de consentimiento y toma de peso del paciente.		5 minutos
Inicio de la experimentación		
Preparación de dilución para aplicar en el difusor según el tratamiento asignado.	Evaluación conductual (ayudante).	2 minutos
	Toma de parámetros fisiológicos (ayudante)	1 minuto
Preparación de zona de punción en el miembro anterior derecho: rasurado, desinfección y torniquete	Preparación de mini centrifugadora y desinfección de la zona a medir la muestra.	1 minuto

Toma de muestra sanguínea (venopunción).	Preparación de glucómetro veterinario.	40 segundos
Retiro de torniquete y aplicación de torunda en el sitio de punción.	Colocación de 2-3 gotas de sangre y medición de glucosa.	10 segundos
Colocación de dilución en el difusor a 50 cm del paciente.	Colocación de muestra sanguínea en el tubo tapa roja.	10 segundos
Inicio de tratamiento		
Difusión de aroma.	Espera de 10 minutos para coagulación de la muestra. (En el caso de estar en el segundo tratamiento del día la ayudante también realizará la separación de suero y colocación del tubo en la caja de refrigeración).	30 minutos
Observación del paciente para verificar aceptación o tolerancia al tratamiento		
Preparación de insumos para la fase post	Colocación de la muestra en la mini centrifugadora por 15 minutos	
	Separación de suero y colocación del tubo en la caja de refrigeración	
Fin de tratamiento		
Observación del paciente.	Evaluación conductual.	2 minutos
	Toma de parámetros fisiológicos.	1 minuto
Preparación de zona de punción en el miembro anterior derecho: rasurado, desinfección y torniquete.	Preparación de mini centrifugadora y desinfección de la zona a medir la muestra.	1 minuto

Toma de muestra sanguínea (venopunción).	Preparación de glucómetro veterinario.	40 segundos
Retiro de torniquete y aplicación de torunda en el sitio de punción.	Colocación de 2-3 gotas de sangre y medición de glucosa.	10 segundos
Preparación del paciente (colocación de correa)	Colocación de muestra sanguínea en el tubo tapa roja.	10 segundos
Entrega de paciente y socialización con el tutor.	Espera de 10 minutos para coagulación de la muestra y ventilación del consultorio.	10 minutos
Limpieza del consultorio.		
Total		55 minutos

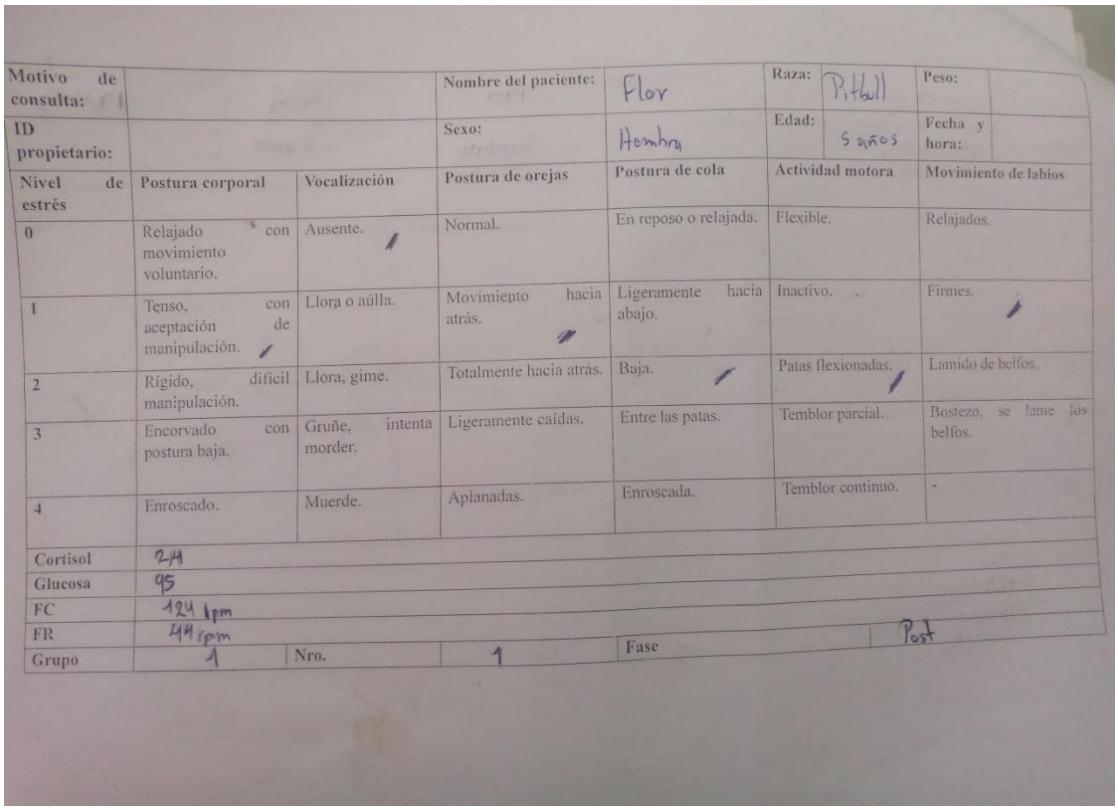
Anexo 47. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 1 paciente Flor fase PRE.*



Grupo 1

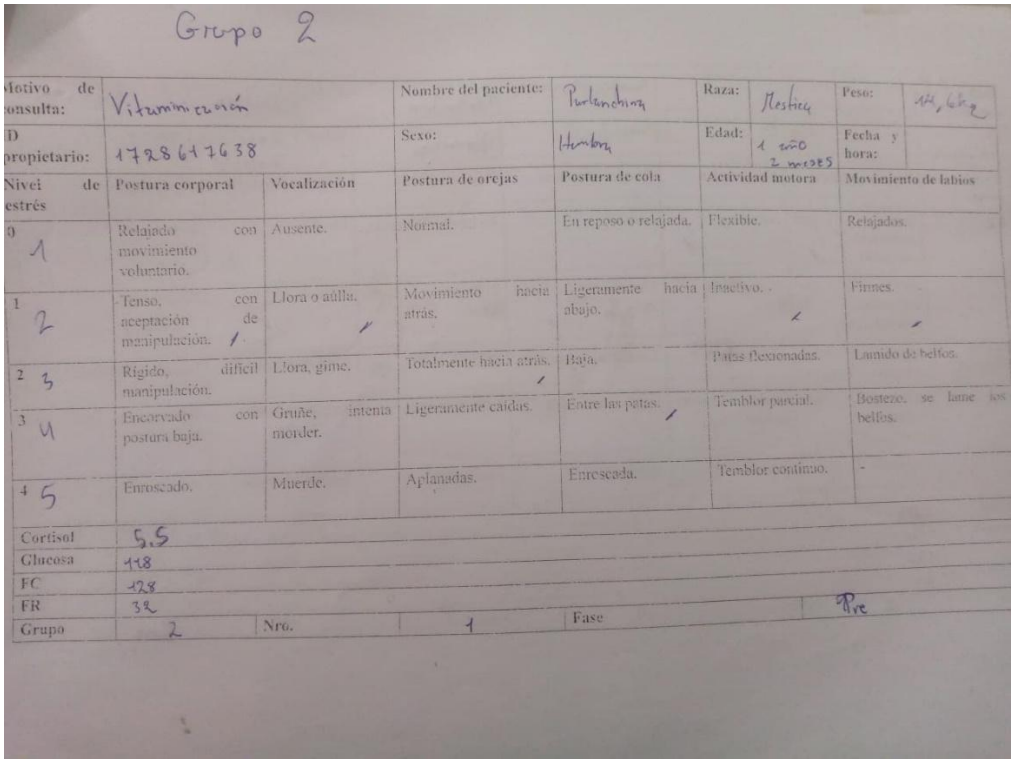
Motivo de consulta:	Desparasitación		Nombre del paciente:	Flor	Raza:	Pitbull	Peso: 19,4 Kg
ID propietario:	Franklin Gustavo Pastuña Alvarado 1803261836		Sexo:	Hembra	Edad:	5 años	Fecha y hora:
Nivel de estrés	Postura corporal	Vocalización	Postura de orejas	Postura de cola	Actividad motora	Movimiento de labios	
0 1	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.	Relajados.	
1 2	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo.	Firmes.	
2 3	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.	Lamido de belfos.	
3 4	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.	Bostezo, se lame los belfos.	
4 5	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.	-	
Cortisol	2,1						
Glucosa	92						
FC	124 lpm						
FR	40 rpm						
Grupo	1	Nro.	1	Fase	Pre		

Anexo 48. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 1 paciente Flor fase POST.*



Motivo de consulta:			Nombre del paciente:	Flor	Raza:	Pitbull	Peso:
ID propietario:			Sexo:	Hembra	Edad:	5 años	Fecha y hora:
Nivel de estrés	Postura corporal	Vocalización	Postura de orejas	Postura de cola	Actividad motora	Movimiento de labios	
0	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.	Relajados.	
1	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo.	Firmes.	
2	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.	Lamido de belfos.	
3	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.	Bostezo, se lame los belfos.	
4	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.	-	
Cortisol	2,4						
Glucosa	95						
FC	124 lpm						
FR	44 rpm						
Grupo	1	Nro.	1	Fase	Post		

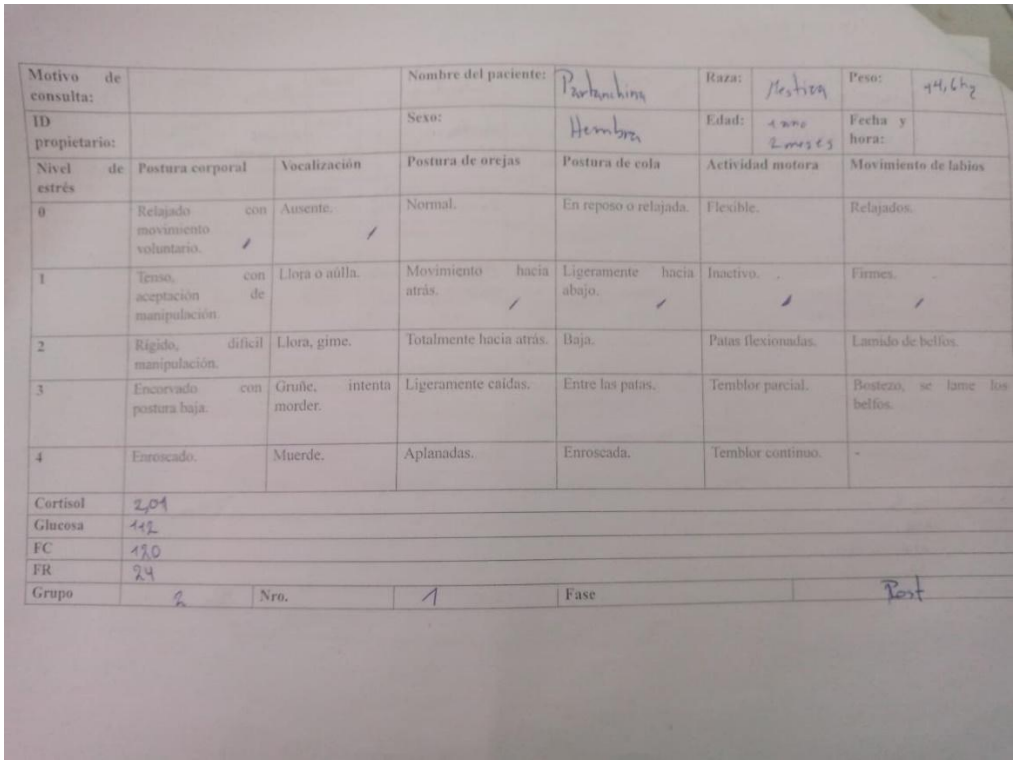
Anexo 49. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 2 paciente Parlanchina fase PRE.*



Grupo 2

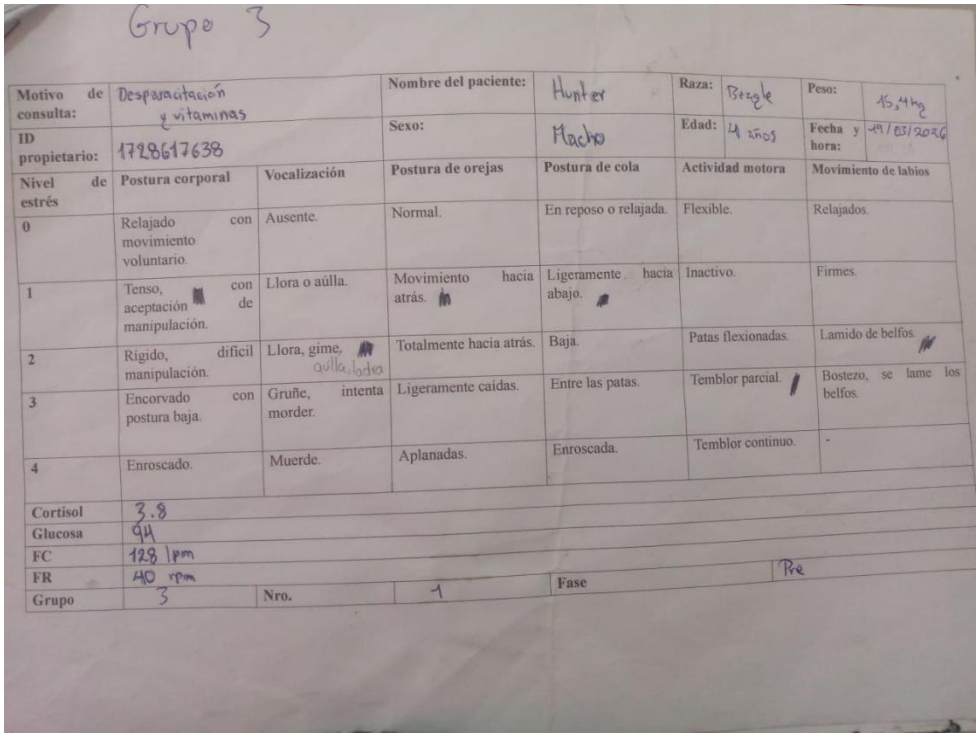
Motivo de consulta:	Vitaminización		Nombre del paciente:	Parlanchina	Raza:	Mestiza	Peso:	4,6kg
ID propietario:	1728617638		Sexo:	Hembra	Edad:	1 año 2 meses	Fecha y hora:	
Nivel de estrés	Postura corporal	Vocalización	Postura de orejas	Postura de cola	Actividad motora		Movimiento de labios	
0 1	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.		Relajados.	
1 2	Tenso, con aceptación de manipulación. ✓	Llora o aúlla. ✓	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo. ✓		Firmes. ✓	
2 3	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás. ✓	Baja.	Patas flexionadas.		Lamido de belfos.	
3 4	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas. ✓	Temblor parcial.		Bostezo, se lame los belfos.	
4 5	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.		-	
Cortisol	5,5							
Glucosa	118							
FC	128							
FR	32							
Grupo	2	Nro.	1	Fase	Pre			

Anexo 50. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 2 paciente Parlanchina fase POST.*



Motivo de consulta:			Nombre del paciente:	Parlanchina	Raza:	Mestiza	Peso:	4,6kg
ID propietario:			Sexo:	Hembra	Edad:	1 año 2 meses	Fecha y hora:	
Nivel de estrés	Postura corporal	Vocalización	Postura de orejas	Postura de cola	Actividad motora		Movimiento de labios	
0	Relajado con movimiento voluntario. ✓	Ausente. ✓	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.		Relajados.	
1	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás. ✓	Ligeramente hacia abajo. ✓	Inactivo. ✓		Firmes. ✓	
2	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.		Lamido de belfos.	
3	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.		Bostezo, se lame los belfos.	
4	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.		-	
Cortisol	2,01							
Glucosa	112							
FC	130							
FR	24							
Grupo	2	Nro.	1	Fase	Post			

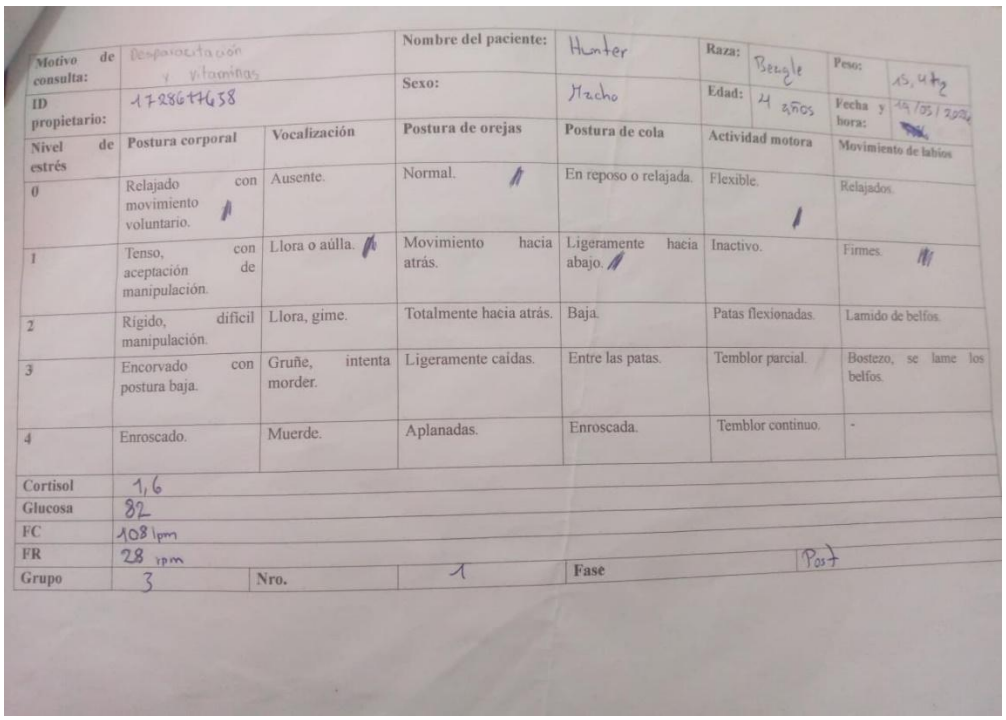
Anexo 51. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 3 paciente Hunter fase PRE.*



Grupo 3

Motivo de consulta:	Desparasitación y vitaminas		**Nombre del paciente:**	Hunter	**Raza:**	Beagle	**Peso:** 15,4 kg
ID propietario:	1728617638		**Sexo:**	Macho	**Edad:**	4 años	**Fecha y hora:** 19/03/2026
Nivel de estrés	**Postura corporal**	**Vocalización**	**Postura de orejas**	**Postura de cola**	**Actividad motora**		**Movimiento de labios**
0	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.		Relajados.
1	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo.		Firmes.
2	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime, aúlla, ladra	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.		Lamido de belfos.
3	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.		Bostezo, se lame los belfos.
4	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.		-
Cortisol	3,8						
Glucosa	94						
FC	128 lpm						
FR	40 rpm						
Grupo	3	**Nro.**	1	**Fase**	Pre		

Anexo 52. *Ficha clínica de evaluación experimental Grupo 3 paciente Hunter fase POST.*



Motivo de consulta:	Desparasitación y vitaminas		**Nombre del paciente:**	Hunter	**Raza:**	Beagle	**Peso:** 15,4 kg
ID propietario:	1728617638		**Sexo:**	Macho	**Edad:**	4 años	**Fecha y hora:** 19/03/2026
Nivel de estrés	**Postura corporal**	**Vocalización**	**Postura de orejas**	**Postura de cola**	**Actividad motora**		**Movimiento de labios**
0	Relajado con movimiento voluntario.	Ausente.	Normal.	En reposo o relajada.	Flexible.		Relajados.
1	Tenso, con aceptación de manipulación.	Llora o aúlla.	Movimiento hacia atrás.	Ligeramente hacia abajo.	Inactivo.		Firmes.
2	Rígido, difícil manipulación.	Llora, gime.	Totalmente hacia atrás.	Baja.	Patas flexionadas.		Lamido de belfos.
3	Encorvado con postura baja.	Gruñe, intenta morder.	Ligeramente caídas.	Entre las patas.	Temblor parcial.		Bostezo, se lame los belfos.
4	Enroscado.	Muerde.	Aplanadas.	Enroscada.	Temblor continuo.		-
Cortisol	1,6						
Glucosa	82						
FC	108 lpm						
FR	28 rpm						
Grupo	3	**Nro.**	1	**Fase**	Post		

Anexo 53. *Medición del consultorio.*



Anexo 54. *Recolecta de agua destilada, obtenida del laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato.*



Anexo 55. *Consentimiento informado para la participación.*

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN INVESTIGACIÓN

Yo, Franklin Gustavo Pastuña Alvarado portador(a) de la cédula de identidad N.° 1803261836, en calidad de tutor(a) responsable del paciente Flor, declaro que he sido informado(a) de manera clara y suficiente sobre los objetivos, procedimientos, beneficios y posibles efectos adversos tales como intolerancia al aroma, salivación, temblor, jadeo, etc., derivadas de la participación de mi mascota en el proyecto de investigación.

Autorizo voluntariamente a la tesista Melany Anahí Paspuezán Portilla, con cédula de identidad N° 1004516884, estudiante de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, a realizar las evaluaciones y procedimientos contemplados en la investigación titulada:

"Efecto del aceite esencial de toronjil (Melissa officinalis) sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria".

Comprendo que la participación de mi mascota es voluntaria y que puedo retirar mi autorización en cualquier momento, sin que ello implique perjuicio alguno en la atención veterinaria que reciba. Asimismo, autorizo el uso de la información obtenida únicamente con fines académicos y científicos.

DECLARACIÓN

Declaro que he leído y comprendido la información proporcionada, que he tenido la oportunidad de realizar preguntas y que estas han sido respondidas satisfactoriamente. Por lo tanto, otorgo mi consentimiento para la participación de mi mascota en el estudio antes mencionado.

Franklin Pastuña

.....

Firma del tutor responsable

Anexo 56. *Autorización del uso de las instalaciones del Hospital Docente Veterinario de la UTA.*

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD CIENCIAS AGROPECUARIAS

Memorando Nro. UTA-FCAGP-2026-0620-M

Ambato, 13 de marzo de 2026

PARA: Dra. Jenny Piedad Lozada Ortiz
Docente de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

ASUNTO: Autorización de uso de instalaciones del Hospital Docente Veterinario

De mi consideración:

Con un cordial saludo, me permito indicarle que el suscrito autoriza el uso de las instalaciones y equipos del Hospital Docente Veterinario a la señorita PASPUEZÁN PORTILLA MELANY ANAHÍ, estudiante tesista de la Carrera de Medicina Veterinaria, con número de cédula 1004516884.

Esta autorización se concede para promover el desarrollo del trabajo de campo correspondiente a su proyecto de titulación denominado: "Efecto del aceite esencial de toronjil (*Melissa officinalis*) sobre las manifestaciones conductuales, parámetros fisiológicos y niveles de cortisol asociados al estrés en caninos durante la consulta veterinaria".

Es importante señalar que el uso de las instalaciones se realizará **desde el 16 de marzo hasta el 07 de junio** del presente año, en el horario de 08:00 a 16:00 horas. En tal sentido, se solicita la colaboración del personal técnico del Hospital Docente Veterinario para el adecuado desarrollo de este proyecto.

Cabe señalar que la estudiante aportará los materiales e insumos necesarios para la ejecución de su investigación. De igual manera, en caso de presentarse algún inconveniente, daño o afectación a los equipos o instrumentos durante el tiempo de utilización, la estudiante **asumirá la responsabilidad correspondiente**.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente

Dr. Carlos Luis Vásquez Freytez
DECANO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Referencias:
- UTA-FCAGP-2026-0413-E

Anexos:
- SRTA. MELANY PASPUEZAN - USO DE HDV-UTA.pdf

Copia:
Dr. Jorge Daniel Moposita Maiza
Médico Veterinario Residente

Srta. Melany Anahi Paspuezán Portilla
Estudiante

wo

Firmado electrónicamente por:
CARLOS LUIS VASQUEZ FREYTEZ
Validar únicamente con FirmaEC

Campus Querochoa:
Cantón Cevallos Vía a Quero

(+593) 2746171 - 2746151 ext. 102

*Documento generado por Quipux Produccion

www.uta.edu.ec