

## **Efecto del ayuno durante dos tiempos de confinamiento y de transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos\***

Effect of fasting during two periods of confinement and road transport on some blood constituents indicators of stress in steers

N. TADICH<sup>1</sup>, M.V. Ph.D.; C. GALLO<sup>2</sup>, M.V. Ph.D.; R. ECHEVERRÍA<sup>1</sup>, G. van SCHAİK<sup>3</sup>, M.Sc., Ph.D.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. E-mail: ntadich@uach.cl

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología de Carnes, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

<sup>3</sup>Instituto de Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

### **SUMMARY**

The aim of this study was to determine in steers the effect of two periods of fasting, either confined on the farm or transported by road, on their blood concentration of cortisol, glucose,  $\beta$ -HBA, lactate and the blood values of leucocytes; PCV and plasmatic activity of CK. The study included two experiments, carried out during July 2001 (winter) and November 2002 (spring), in the province of Valdivia, Chile.

One hundred and twenty steers from the same farm, breed, age (milk teeth or 2 permanent teeth) and live weight (average 450 kg) were used. In each experiment (winter - spring), 60 steers were bled by coccigeous venopunction, identified individually with ear tags and weighed. They were randomly allocated into four groups of 15 steers each: one group was transported by road for three hours without water or food, at the same time and under similar conditions, another group was kept confined in a pen at the farm. The other 2 groups were subjected to respectively similar conditions, but for a period of 16 hours. After treatments the steers were bled and weighed again.

Plasma concentrations of cortisol were determined by radioimmunoassay (RIA); the glucose concentrations by the GOD-PAP test without deprotenization (GL 2623, RANDOX®), lactate concentrations by the UV-enzimatic method;  $\beta$ -HBA by using the enzymatic technique that uses the  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenase enzyme for measuring the pass from NAD<sup>+</sup> to NADH; PCV and leucocytes values by using the SYSMEX KX - 4N haematological counter and the CK plasma activity was measured by the UV kinetic method. The stress indicators were checked for a normal distribution by visual inspection of a histogram of the variables with the Kolmogorov-Smirnov test. When the distribution was not normal, the variables were normalised by taking a natural logarithm. Multivariable generalised linear regression models were used to determine the associations between the stress indicators and the independent variables. The independent variables were treatment (before transport or confinement, fasting in confinement for 3 hours, transported for 3 hours, fasting in confinement for 16 hours, and transported for 16 hours), and season (winter or spring).

Steers that were transported for 3 h and those fasted in confinement for 16 h had significantly higher ( $P<0.01$ ) cortisol concentrations than before treatment; the other treatments and season did not significantly ( $P=0.20$ ) influence the concentration of cortisol. PCV values were significantly ( $P<0.01$ ) decreased in steers confined for 3 h and significantly ( $P=0.02$ ;  $P<0.01$ ) increased in the steers transported for 3 and 16 h, respectively. The PCV values were also higher ( $P<0.01$ ) in winter than in spring. Leukocyte values in steers did not show a consistent pattern but increased ( $P<0.01$ ) in steers that were transported both for 3 and 16 h.

---

Aceptado: 28.10.2003.

Financiado por Proyecto FONDECYT 1010201.

Season did not influence leukocytes values. Glucose concentrations significantly increased ( $P<0.01$ ) with all treatments. In winter, glucose was significantly ( $P<0.01$ ) lower than in spring. Steers that fasted in confinement for 3 h had significantly lower ( $P=0.02$ ) lactate concentrations than before treatment. Steers in confinement for 16 h and those transported for 16 h had significantly ( $P<0.01$ ) lower  $\beta$ -HBA concentrations than before treatment.  $\beta$ -HBA concentrations were significantly ( $P<0.01$ ) higher in winter. Steers that were confined for 3 h and those transported for 3 h had significantly ( $P<0.01$   $P=0.02$ ) higher CK levels than before treatment. In winter, the CK activity was significantly ( $P<0.01$ ) lower than in spring.

*Palabras claves:* bovino, estrés, transporte, confinamiento, ayuno.

*Key words:* cattle, stress, transport, confinement, fasting.

## INTRODUCCION

De los 4.098.438 de bovinos con que cuenta Chile, un 57.8% se encuentra en las Regiones IX<sup>na</sup> y X<sup>a</sup> y sólo el 4.0% en la Región Metropolitana (Chile, 1997). Sin embargo, de los 870.282 bovinos que se beneficiaron en el país el año 2001, sólo 244.559 (28.10%) fueron beneficiados en las regiones IX<sup>na</sup> y X<sup>a</sup>, mientras que 383.121 unidades (44%) lo fueron en la Región Metropolitana (Chile, 2001), esto indica la importancia que tiene el transporte de ganado bovino vivo en Chile.

El transporte es un evento poco familiar para los animales, el cual produce estrés. Durante el transporte los animales son expuestos a factores como, calor, frío, humedad, privación de alimento y agua, sonidos y movimientos (Tarrant y Grandin, 1993). Entre los efectos adversos producidos por el transporte, destacan, la posibilidad de muertes, las pérdidas de peso por el ayuno, cambios en los constituyentes sanguíneos y enfermedades, como fiebre del embarque, entre otras (Knowles, 1999). Cole y col. (1988) señalan que el estrés causado por el transporte, más que el estrés causado por el ayuno, altera la función ruminal, los constituyentes bioquímicos de la sangre, así como las concentraciones de cortisol en éste. Estos cambios dependen de la duración del período de transporte.

Según Gallo y col. (1995), el promedio de viaje del ganado bovino en Chile es de 24 horas continuas, coincidiendo con el máximo permitido por la reglamentación vigente (Chile, 1993). Estos autores han encontrado viajes que

superaron los límites permitidos (41 horas) sin los descansos correspondientes; si a esto se añade las esperas en matadero, se obtiene un promedio de 60 horas de privación de alimento en los bovinos destinados al faenamiento.

El transporte puede influir sobre la cantidad y calidad de carne producida debido a la muerte de animales, pérdidas de peso y lesiones, como hematomas o daños físicos en diferentes grados (Gallo, 1994). El estrés ambiental también afecta la calidad de la carne, reflejándose en cambios de pH y color de la misma (Gallo y col., 2000, 2001). La respuesta de los bovinos al transporte varía desde una respuesta de tipo moderada y fácilmente identificable, que puede o no afectar el bienestar animal, hasta las respuestas extremas que implican dolor y causan gran alteración, tanto del punto de vista del bienestar animal, como por las pérdidas económicas (Tarrant y Grandin, 1993).

Los tiempos de ayuno previo al faenamiento ejercen un efecto directo sobre el bienestar animal e indirecto sobre la calidad de la carne (Warriss, 1992). Lister y col. (1981) señalan que ayunos de hasta tres días disminuyen los lípidos y glicógeno hepático. Gaylean y col. (1981) indican que la respuesta al estrés por ayuno es menor que aquella que produce el ayuno junto al transporte, debido a que este último impone efectos adicionales en la química sanguínea. Períodos variables de ayuno, con o sin transporte, y los diferentes grados de estrés asociados a estos manejos, pueden producir pérdidas económicas significativas (Warriss y col., 1995). En nuestro país existen estudios que indican que los animales faenados para producir

carne son sometidos a medidas de manejo que condicionan estrés (Gallo, 1994; 1996; Gallo y col., 1995).

El cortisol plasmático es la medida más clásica de estrés, aunque su aumento sólo sería un indicador neuroendocrino primario (Moberg, 1987). Diferentes investigadores (Crookshank y col., 1979; Warris y col., 1984; Warner y col., 1986; Mitchell y col., 1988; Warriss y col., 1995; Horton y col., 1996), han utilizado el cortisol plasmático como indicador de estrés. Algunos de estos autores, además, han utilizado otras variables sanguíneas como: el Volumen Globular Aglomerado (VGA), glucosa sanguínea, creatinfosfoquinasa y  $\beta$ - hidroxibutirato, presentándose los valores más altos en aquellos animales sometidos a condiciones más estresantes.

Basado en los antecedentes planteados y en la importancia que tiene para el ganadero el conocer los efectos de las prácticas de manejo más comunes realizadas en animales destinados a la producción de carne, se estableció como objetivo de este estudio determinar el efecto de dos tiempos de confinamiento en ayuno y de transporte terrestre en ayuno, sobre las concentraciones y valores de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos.

## MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la provincia de Valdivia, durante los meses de julio de 2001 (invierno) y noviembre del 2002 (primavera).

**MATERIAL.** Se usaron 120 bovinos machos castrados (novillos, 60 en cada experimento), con características similares en cuanto a raza (Frisón Negro), edad (DL o 2D), peso vivo (aproximadamente 450 kg) y procedencia. La obtención de las muestras de sangre se realizó con tubos al vacío Vacutainer® con heparina y NaF. Para el transporte se utilizaron dos camiones que cumplían con los requisitos estipulados en la legislación vigente para transporte de ganado (Chile, 1993). Además, se utilizaron corrales del predio, con piso de tierra, cercos de madera, sin bebederos ni comederos.

**MÉTODO.** Los novillos que se utilizaron en el experimento de invierno estaban confinados en una plataforma de alimentación donde recibían una alimentación en base a 4 kg de avena aplastada por novillo día y ensilaje de pradera y agua a discreción. Los novillos utilizados en el experimento de primavera estaban a pastoreo en una pradera de ballicas de buena calidad.

En cada experimento, en la granja de origen, a todos los novillos se les extrajeron dos muestras de sangre por venopunción coccígea, una con Heparina y otra con NaF, fueron identificados con aretes plásticos numerados correlativamente y finalmente fueron pesados. Luego se asignaron al azar en cuatro grupos de 15 novillos de similar peso promedio (figura 1).

Un grupo fue cargado en un camión para transporte de ganado con una densidad de aproximadamente 500 kg/m<sup>2</sup>, y transportado por tres horas, recorriendo una distancia de alrededor de 200 km. Durante este tiempo no consumieron alimento, ni bebieron agua. Un segundo grupo actuó como control y se mantuvo confinado en el predio en condiciones similares a las de los animales transportados, en cuanto a tiempo y ayuno. Con los otros dos grupos, se llevó a cabo un procedimiento similar al señalado anteriormente, en el cual sólo varió el tiempo de transporte y de confinamiento en ayuno (16 horas). Los 4 tratamientos se realizaron en el predio en forma paralela el mismo día y bajo similares condiciones de manejo (figura 1). Al término del experimento a todos los animales se les extrajeron por segunda vez dos muestras de sangre por venopunción coccígea.

**ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SANGUÍNEAS.** Las muestras de sangre para la determinación de cortisol,  $\beta$ -HBA, CK, VGA y leucocitos se obtuvieron con tubos al vacío con heparina. Para la determinación de glucosa y lactato se utilizaron tubos al vacío con NaF.

La determinación de Cortisol se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Endocrinología de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción (Chile), para lo cual se envió plasma congelado a -20°C.

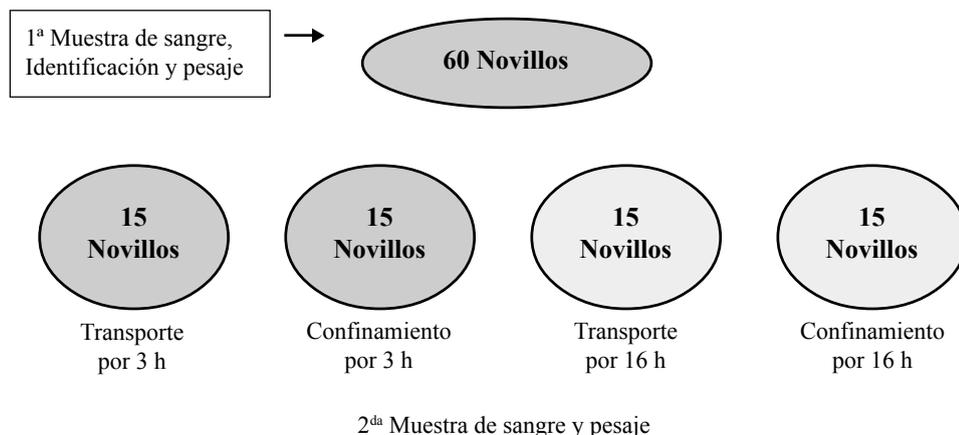
Para la determinación de hematocrito (VGA) y recuento de leucocitos la sangre obtenida fue analizada con un contador hematológico Sysmex KX-21N. La determinación de la concentración sanguínea de glucosa se realizó mediante la prueba para glucosa GOD-PAP, sin deproteinización (GL 2623, RANDOX®). Luego se midió la coloración utilizando un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche®). La concentración de Lactato se determinó mediante la técnica basada en el test UV enzimático (Boehringer Mannheim N° 149993) y con un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche®).

La concentración sanguínea de  $\beta$ -hidroxibutirato fue determinada mediante una técnica enzimática que consiste en la oxidación de  $\beta$ -hidroxibutirato por medio del NAD<sup>+</sup> (Nicotinamida adenin dinucleótido) mediante la enzima 3 HBDH (3-hidroxibutirato deshidrogenasa) a acetoacetato (FAO/IAEA, 1993). La cantidad de NAD<sup>+</sup> reducido se midió con un espectrofotómetro HITACHI 4020.

La determinación de la actividad plasmática de la creatínfosfoquinasa se realizó mediante el método UV-cinético, a 340nm y 37°C, optimizado según la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Se emplearon reactivos Boehringer Mannheim (MPR 2 1442376) y un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche®).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. Los datos obtenidos en los experimentos de invierno y de primavera fueron unificados y analizados como se describe a continuación. La normalidad de las variables indicadoras de estrés fue determinada por inspección visual del histograma y con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Cuando la distribución no era normal, las variables fueron normalizadas transformándolas en su logaritmo natural. Las variables independientes fueron los tratamientos (antes del transporte, confinamiento en ayuno por 3 horas, transporte en ayuno por 3 horas, confinamiento en ayuno por 16 horas y transporte en ayuno por 16 horas) y la estación del año (invierno y primavera). Se calcularon los promedios y los intervalos de confianza (IC, 95%) de los indicadores de estrés antes del tratamiento y de cada tratamiento.

Las asociaciones entre los indicadores de estrés y las variables independientes se determinaron utilizando modelos de regresión múltiple. Cada animal tuvo dos observaciones, una antes y una después del tratamiento. Se utilizó el procedimiento MIXED en SAS 8.2 (SAS Institute Inc.) para corregir la correlación entre las observaciones repetidas (PROC MIXED, repeated/type=CS, subject=ANIMID). Estos son modelos de transición con una estructura correlacionada de error residual. La distribución condicional de los parámetros es modelada a



**FIGURA 1. Distribución de los grupos de novillos para la realización de cada experimento.**  
Allocation of the different groups of steers in each experiment.

través de la predicción del error de la observación precedente (Akaike, 1974). Usando observaciones repetidas se generan los efectos promedio de la población. Para ambos modelos varias estructuras de covarianza fueron probadas (ej. Componentes de varianza (CV), estructura autoregresiva de primer orden (AR (1)), y componente de simetría (CS). El modelo general fue:

$$\begin{aligned} \text{Indicador de estrés} = & a + b \times \text{CONF3H} + \\ & c \times \text{TRANS3H} + d \times \text{CONF16H} + \\ & f \times \text{TRANS16H} + g \times \text{INVIERNO} + \varepsilon \end{aligned}$$

Donde *a* fue el intercepto, *b-f* fueron los coeficientes de regresión para los tratamientos relativo al nivel del indicador antes del tratamiento, *g* el coeficiente de regresión para invierno relativo al nivel del indicador en verano y  $\varepsilon$  la varianza residual, explicada por la correlación de las dos observaciones dentro de un animal y otra parte normal aleatoria  $\sim N(0, \sigma_e^2)$ .

El ajuste de los modelos estuvo basado en la varianza explicada, representada por el  $R^2$  ajustada y comprobada al graficar los valores predecidos contra los valores observados y graficar los valores residuales predecidos contra los valores residuales de la varianza estandarizada. Las observaciones extremas con grados residuales ( $< -3$  y  $> 3$ ) fueron excluidos del modelo para comprobar las robustez de éste. La bondad de ajuste del modelo fue evaluada usando la concordancia del coeficiente de correlación (CC) de los valores observados y predecidos. Altos  $R^2$  ( $>30\%$ ) y CC ( $>50\%$ ) indican que las variables independientes (tratamiento, estación, efecto animal) explican la mayor parte de la varianza del indicador sanguíneo de estrés. Por el contrario, cuando  $R^2$  y CC fueron bajos las variables independientes explicarían solo una pequeña parte de la varianza del indicador sanguíneo de estrés, existiendo otras variables desconocidas que explicarían esta varianza.

## RESULTADOS

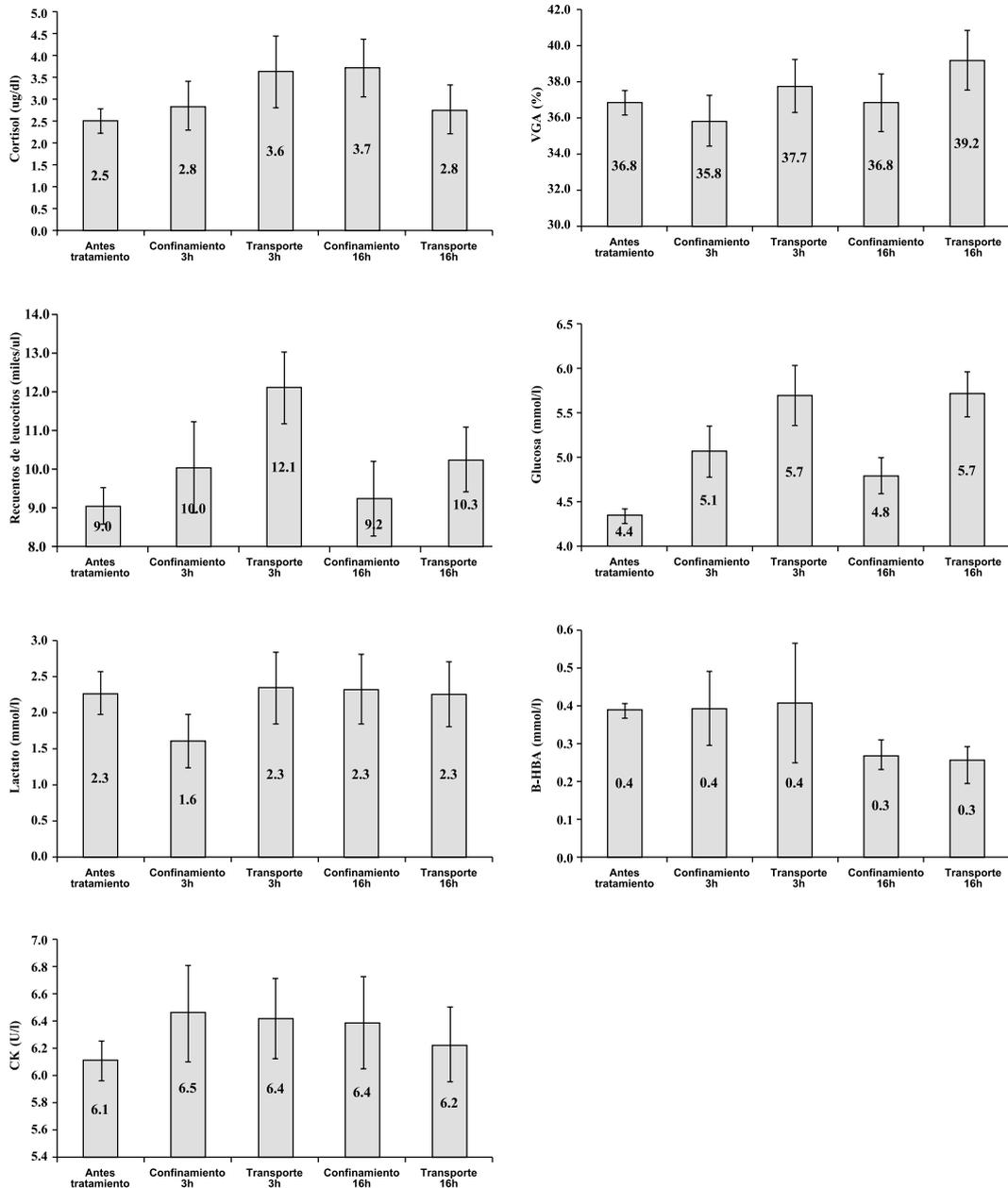
El gráfico 1 muestra el promedio de los indicadores de estrés antes del confinamiento o transporte y después del confinamiento o

transporte, con un Intervalo de Confianza de 95%. El cuadro 1 muestra los resultados de los modelos de regresión múltiple.

Los modelos mixtos con componente de simetría (CS), estructura de covarianza, ajustaron mejor los datos. El modelo con CS para cortisol, glucosa, lactato y  $\beta$ -HBA no fue significativamente diferente del modelo nulo, sin la estructura de covarianza, lo cual fue demostrado por el bajo coeficiente de variación individual animal (correlación intraclase animal), para el animal-efecto en estos modelos. La variación individual de los animales fue considerable para los indicadores de estrés, CK, leucocitos y VGA.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CORTISOL. El gráfico 1 muestra que los novillos transportados por 3 h y aquellos confinados por 16 h tuvieron mayores concentraciones de cortisol. El cuadro 1 confirma estos resultados, ya que al corregir, por efecto animal y época del año, los valores para los novillos de estos tratamientos fueron significativamente mayores que aquéllos que los obtenidos antes del experimento (1.09 y 1.23  $\mu\text{g/dl}$ , respectivamente,  $P < 0.01$ ). La época del año no tuvo influencia en los valores de cortisol (cuadro 1). De la varianza total, sólo el 9% se explica por la variación individual del animal. La bondad de ajuste del modelo con los datos fue pobre, con un CC de 15%. En este estudio cortisol fue un indicador moderado de estrés por confinamiento y transporte con un  $R^2$  de 31% y CC de 15%.

VALORES DE VGA. El gráfico 1 muestra que los valores promedios de VGA fueron similares para todos los tratamientos. Sin embargo, al corregir, por el efecto animal y época del año (cuadro 1), se observa que aquellos novillos confinados por 3 h en el predio disminuyeron significativamente (1.57 %,  $P < 0.01$ ) sus valores de VGA, mientras que aquellos novillos transportados por 3 y 16 h los aumentaron significativamente (1.06%,  $P = 0.02$ ; 2.13%,  $P < 0.01$ ). Por otra parte, los valores de VGA fueron significativamente mayores en invierno (3.92%,  $P < 0.01$ ). Un alto porcentaje de la variación fue explicada por la



**GRAFICO 1. Promedios de las concentraciones sanguíneas de Cortisol (µg/dl), VGA (%), Leucocitos (10<sup>3</sup>/µl), Glucosa (mmol/ml), Lactato (mmol/ml), β-HBA (mmol/l), CK (U/l) con un 95% de IC en novillos antes y después del período de confinamiento y transporte de 3 y 16 horas.**

Mean blood concentrations of Cortisol (µg/dl), PCV (%), Leukocytes (10<sup>3</sup>/µl), Glucose (mmol/ml), Lactate (mmol/ml), β-HBA (mmol/l), CK (U/l) with a 95% of CI in steers before and after a period of confinement and transport of 3 h and 16 h.

**CUADRO 1. Resultados de los modelos de regresión mixtos para los valores sanguíneos de Cortisol, Hematocrito (VGA), Leucocitos, Glucosa, Lactato,  $\beta$ -Hidroxibutirato (B-HBA) y Creatinfosfoquinasa (CK) corregidos por época del año y efecto-animal, en novillos confinados y transportados por 3 h y 16 h.**  
**Results of the mixed regression models for blood values of Cortisol, Haematocrit (PCV), Leukocytes, Glucose, Lactate,  $\beta$ -hydroxybutyrate (B-HBA), Creatine phosphokinase (CK) corrected for season of the year and animal-effect, in steers confined and transported for 3 h and 16 h.**

Variable	CORTISOL	VGA	LEUCOCITOS	GLUCOSA	LACTATO	B-HBA	CK											
	R <sup>2</sup> =0.31, Variación individual animal*==9%, CC=0.15	R <sup>2</sup> =0.25, Variación individual animal*==72%, CC=0.43	R <sup>2</sup> = 0.13, Variación individual animal*== 39%, CC= 0.27	R <sup>2</sup> = 0.50, Variación individual animal*== 12%, CC=0.67	R <sup>2</sup> = 0.004 Variación individual animal*==14%, CC=0.05	R <sup>2</sup> = 0.10, Variación individual animal*== 12%, CC= 0.21	R <sup>2</sup> = 0.31, Variación individual animal*==69%, CC= 0.51											
Variable	Estima- ción	DE	P	Estima- ción	DE	P	Estima- ción	DE	P									
Intercepto	2.34	0.19	<.01	8.72	0.31	<.01	4.51	0.07	<.01	2.28	0.16	<.01	0.35	0.02	<.01	6.59	0.09	<.01
Confinamiento 3h	0.35	0.34	0.30	0.87	0.49	0.08	0.71	0.12	<.01	-0.67	0.28	0.02	0.01	0.04	0.86	0.60	0.10	<.01
Transporte 3h	1.09	0.35	<.01	3.20	0.46	<.01	1.33	0.12	<.01	0.08	0.29	0.79	0.02	0.04	0.67	0.24	0.10	0.02
Confinamiento 16h	1.23	0.34	<.01	0.18	0.46	0.70	0.44	0.12	<.01	0.03	0.28	0.91	-0.12	0.04	<.01	0.09	0.10	0.39
Transporte 16h	0.28	0.34	0.42	1.25	0.48	0.01	1.35	0.12	<.01	-0.03	0.29	0.92	-0.13	0.04	<.01	0.03	0.10	0.76
Antes del Experimento	0	0		0			0			0			0			0		
Invierno	0.3	0.23	0.20	0.65	0.40	0.11	-0.33	0.08	<.01	-0.01	0.20	0.97	0.08	0.03	<.01	-0.97	0.12	<.01
Primavera	0	0		0			0			0			0			0		

\*Animal Intraclass correlation.  
 CC= Concordancia coeficiente correlación.

variación individual del animal (72%) y la bondad de ajuste del modelo con los datos fue moderada, con un CC de 43% y 25% de la variación total explicada por el modelo. El VGA resultó ser un indicador sanguíneo de mejor calidad para el estrés producido por el confinamiento y transporte.

RECuento DE LEUCOCITOS. Los recuentos leucocitarios no mostraron un patrón consistente. El gráfico 1 muestra que los animales transportados tuvieron recuentos más altos que pretransporte o confinamiento, siendo estos recuentos más altos en aquellos transportados por 3 horas. Al corregir por el efecto animal y época del año (cuadro 1) se observó un incremento significativo (3.2 y 1.25 mil/ $\mu$ l,  $P < 0.01$ ) en los animales transportados por 3 y 16 h con respecto a los valores pretransporte y con respecto a los animales confinados durante los mismos períodos de tiempo. La época del año no tuvo influencia en los valores de leucocitos. El efecto individual animal explicó 39% de la varianza en los recuentos de leucocitos. La bondad de ajuste del modelo fue pobre, con un  $CC=27\%$  y un  $R^2=13\%$ .

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE GLUCOSA. Las concentraciones de glucosa se incrementaron significativamente ( $P < 0.01$ ) en todos los tratamientos en relación a las concentraciones previas al experimento (gráfico 1, cuadro 1). Los valores de glucosa de aquellos animales transportados por 3 y 16 h fueron significativamente ( $P < 0.05$ ) mayores a los de aquellos animales confinados por los mismos períodos de tiempo (gráfico 1). Las concentraciones de glucosa fueron significativamente menores en invierno (-0,33 mmol/l,  $P < 0.01$ ) (cuadro 1). La variación individual fue baja (12%) y la bondad de ajuste del modelo fue buena, con un  $R^2 50\%$  y un CC de 67%.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LACTATO. Los novillos confinados por 3 h tuvieron una concentración significativamente menor (-0.67 mmol/l,  $P=0.02$ ) de lactato que la concentración

pre experimental (gráfico 1 y cuadro 1). Los otros tratamientos y la época del año no influyeron en las concentraciones de esta variable. El efecto individual animal explicó sólo una parte de la variación (14%) y por eso la bondad de ajuste del modelo fue mala.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE  $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO. Se observa que los animales confinados por 16 h y aquellos transportados por 16 h disminuyeron significativamente (-0.1;  $P < 0.01$ ) sus concentraciones sanguíneas de  $\beta$ -HBA, con respecto a los valores pre-experimentales (gráfico 1; cuadro 1). Los valores de  $\beta$ -HBA fueron significativamente más altos en invierno (0.08 mmol/l,  $P < 0.01$ ) (cuadro 1). El factor individual animal sólo explicó 12% de la varianza y el modelo el 10% de la varianza total.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CREATININOSFOQUINASA (LNCK) . No existieron diferencias significativas entre los novillos confinados y los que fueron transportados (gráfico 1). Al corregir por la época del año y el efecto animal los novillos confinados y los transportados por 3 h tuvieron valores de actividad plasmática de CK significativamente (0.6 U/l,  $P < 0.01$  y 0.24 U/l,  $P=0.02$ ) superiores a los valores pre-experimentales (cuadro 1). Los valores de CK en invierno fueron significativamente menores (-0.97 U/l,  $P < 0.01$ ) (cuadro 1). El factor individual animal explicó gran parte de la varianza (69%) y el modelo explicó 31% de la varianza total con una bondad de ajuste de moderada a buena ( $CC=51\%$ ).

## DISCUSION

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CORTISOL. En este estudio el cortisol fue un indicador moderado de estrés. El aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de cortisol tras el transporte por 3 h (gráfico 1, cuadro 1) discrepa con los resultados de Galyean y col. (1981), quienes señalan que las concentraciones de cortisol no son afectadas por los diferentes tiempos de ayuno y transporte a que son sometidos los animales. Sin embargo,

concuerdan con lo establecido por Warriss y col. (1995) y Tadich y col. (1999) que al transportar animales por 5 y 3 horas, respectivamente, encontraron aumentos significativos para esta variable. Warriss y col. (1995) señalan que el transporte es un factor de estrés, especialmente en el proceso de arreo, carga e inicios de éste.

El aumento significativo del cortisol en los animales sometidos al período de confinamiento en ayuno por 16 h (gráfico 1; cuadro 1) fue inesperado, especialmente si se compara con los novillos transportados por el mismo tiempo, que no mostraron aumento significativo. Esto podría deberse a que las condiciones del encierro o el manejo de estos animales fueron más estresantes que el transporte por el mismo período de tiempo y no necesariamente al efecto del ayuno; una situación similar habría sucedido en el confinamiento por 3 h en que no hubo diferencias significativas con los animales transportados. Esto concordaría con Mitchell y col. (1988) y Grandin (1997), quienes señalan que las concentraciones de cortisol aumentan en forma significativa posterior a manejos como el arreo y toma de muestras. El leve aumento ( $P>0.05$ ) observado en el grupo transportado por 16 h con respecto al valor inicial (gráfico 1), se debería a la adaptación de los animales al proceso de transporte descrito por Warriss y col. (1995) y Kent y Ewbank (1983), en el cual las concentraciones de cortisol en animales transportados por periodos largos de tiempo disminuyen hasta alcanzar sus valores iniciales. Warriss y col. (1987) encontraron aumentos significativos de cortisol en ovinos sometidos a períodos de ayuno de 24 h; sin embargo, los mismos autores señalan que el ayuno propiamente tal no debería considerarse como inductor de estrés. Estos resultados indican que al menos para el cortisol, las condiciones durante el confinamiento o el transporte podrían ser más importantes que el tiempo de exposición al tratamiento. En futuros experimentos se debería registrar el comportamiento animal (montas, peleas, posiciones) durante el período estudiado.

Cabe destacar que los valores iniciales de cortisol fueron mayores que los valores promedio ( $1.4 \pm 1.2 \mu\text{dL}$ ) reportados por Oyarce

y col. (2002) en novillos en reposo, lo que respaldaría la hipótesis que el manejo previo realizado con los novillos de este experimento, ya sea la segregación de grupos, arreo y toma de muestras sanguíneas, provocó algún grado de estrés.

VALORES DE VGA. El VGA fue un indicador moderadamente bueno de estrés. Los animales que permanecieron en confinamiento por 3 h disminuyeron significativamente los valores de VGA (cuadro 1), esto estaría determinado por un valor alto en la muestra inicial, la cual probablemente, en términos de manejo, fue más estresante que la toma de muestra final. Los valores iniciales de este estudio (gráfico 1) eran más altos que los determinados por Oyarce y col. (2002) ( $32.7 \pm 2.74\%$ ) en novillos en reposo previamente canulados. Sin embargo, estaban dentro de los rangos normales de la especie (24–46%) (Feldman y col., 2000) Mitchell y col. (1988) encontraron que la obtención de sangre vía punción yugular dentro de una manga era un factor estresante que aumentaba significativamente los valores de VGA. El factor individual del animal explicó gran parte de la variación (72%), también, la época del año tuvo una importancia considerable. Si no se hubieran corregido los datos por esos dos factores, los valores de VGA no hubieran sido significativamente diferentes entre tratamientos (gráfico 1).

El aumento significativo de los valores de VGA en los animales sometidos a transporte de 16 h en relación a los valores de los animales solamente confinados por el mismo tiempo (cuadro 1), indican que el transporte sí tendría un efecto más estresante que el confinamiento en ayuno de los animales por un período de tiempo similar. Estos resultados son similares a los encontrados por Knowles y col. (1997) y Tadich y col. (1999), quienes reportaron incrementos de carácter significativo en animales transportados por más de 12 h, aunque difieren con lo encontrado por Warriss y col. (1995), quienes describen una disminución de estos valores al transportar animales por 5, 10 y 15 h. Esto se debería a que el transporte produce estímulos

físicos y emocionales dañinos provocados por eventos amenazadores (sonidos, golpes, sed, temperatura, etc.) que desencadenan estados de estrés (Tarrant y Grandin, 1993), provocando deshidratación (Knowles y col., 1997), liberación de eritrocitos por la contracción esplénica mediada por catecolaminas (Mitchell y col., 1988; Warris y col., 1995) y finalmente la presencia de glucocorticoides que inducen un proceso de diuresis inhibiendo la actividad de la vasopresina (Cunningham, 1999).

RECUESTO DE LEUCOCITOS. El aumento significativo de los leucocitos circulantes (cuadro 1, gráfico 1), en aquellos animales transportados por 3 h y por 16 h, coincide con lo encontrado por Kent y Ewbank (1983), al transportar animales por un período de 6 horas y Kannan y col. (2000), quienes describen un resultado similar al transportar cabras por un período de 2.5 horas. Según Meyer y Harvey (2000), la adrenalina es la responsable de la neutrofilia y monocitosis que se producen en situaciones estresantes, provocando una disminución de la movilización de neutrófilos desde la sangre a los tejidos y un aumento de la migración de los neutrófilos marginales, ubicados en las paredes de vasos sanguíneos y tejidos cercanos, hacia la circulación. El transporte aumentaría los niveles de adrenalina, provocando consigo un aumento en los leucocitos.

Los resultados de este estudio indicarían que el proceso de transporte fue un evento más estresante que el período de confinamiento en ayuno, provocando una mayor liberación de catecolaminas. El hecho de que el aumento de leucocitos haya sido mayor en el transporte por 3 h indicaría que los leucocitos aumentan en las primeras horas de transporte en forma similar al cortisol, para luego disminuir probablemente debido a un acostumbamiento de los animales al transporte. Los valores promedio encontrados en este estudio para los novillos transportados por 3 h y 16 h fueron más altos a los valores promedio de leucocitos ( $8.3 \pm 3.14$  mil/ $\mu$ l) descritos por Oyarce y col. (2002) en novillos canulados y en reposo. Sin embargo, estos

valores se encontraban dentro de los rangos de la especie (4.0 – 12.0 mil/ $\mu$ l) (Feldman y col., 2000).

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE GLUCOSA. La glucosa fue el mejor indicador sanguíneo de estrés en este estudio. Los valores de glucosa en los distintos tratamientos fueron superiores a los descritos por Oyarce y col. (2002) ( $3.9 \pm 0.53$  mmol/l) en novillos en reposo y a los descritos por Kaneko y col. (1997) para bovinos ( $3.19 \pm 0.38$ ). El aumento significativo de los valores de glucosa (cuadro 1, gráfico 1) observado, tanto para los animales confinados como los transportados por 3 h y 16 h, coincide con lo reportado por Mitchell y col. (1988) y Warriss y col. (1995), al transportar animales por 2, 5, 10 y 15 h, Tadich y col. (1999) al transportar animales por 3, 6, 12 y 24 h y Bustamante (2001) y Schwerter (2001) al realizarlo por períodos de 3 y 16 h. De acuerdo con Shaw y Tume (1992) y Cunningham (1999) períodos cortos de ayuno producen una hipoglucemia que actúa como factor liberador de catecolaminas, promoviendo la glucólisis y gluconeogénesis. Fröhli y Blum (1988), al estudiar los efectos de infusiones de catecolaminas en novillos sometidos a ayuno, encontraron que éstas aumentaban las concentraciones de glucosa, mientras que el ayuno por sí mismo la disminuía, esto confirma que los aumentos de glucosa sanguínea son debidos principalmente al estrés y no al efecto del ayuno. Los valores de glucosa en este estudio (gráfico 1) fueron significativamente más altos en los animales que fueron sometidos a transporte frente a los que quedaron en confinamiento, lo que indicaría que el transporte sería un factor más estresante, promoviendo en mayor medida la glucólisis y gluconeogénesis.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LACTATO. Los valores promedio iniciales de esta variable fueron superiores a los valores promedio ( $0.7 \pm 0.4$  mmol/l) obtenidos por Oyarce y col. (2002) en novillos en reposo, indicando que los niveles de lactato aumentaron rápidamente producto del ejercicio físico provocado por el arreo y

manipulación para la toma de muestras. Mitchell y col. (1988) encontraron mayores concentraciones de lactato posterior a manejos como arreo y entrada a corrales, que en aquellos que no tuvieron ese tipo de manejo.

De acuerdo con Gregory (1998), tiempos cortos de ejercicio físico y estados de estrés, aumentan la adrenalina circulante, produciendo una degradación del glucógeno muscular y aumento de las concentraciones de lactato. Aparentemente, el confinamiento del grupo ayunado por 3 h permitió el descanso de los animales, disminuyendo significativamente las concentraciones de lactato, alcanzando valores similares a los descritos por Kaneko y col. (1997) y Oyarce y col. (2002) para la especie. En los animales de los grupos transportados y ayunados las concentraciones de lactato fueron similares a las concentraciones antes del tratamiento, probablemente debido al estrés producido por el proceso de carga, como por el ejercicio muscular necesario para la mantención de la postura y equilibrio durante el transporte (Grandin, 1997); con ello se produce una alta demanda de oxígeno producto de la contracción muscular sostenida, provocando glicólisis anaerobia, generando finalmente un aumento en el lactato y la consecuente fatiga muscular.

Diversos autores coinciden en que el tiempo de transporte de los animales contribuye a aumentar las concentraciones de lactato (Cole y col., 1988; Warriss y col., 1995). El grupo confinado en ayuno por 16 h tuvo niveles similares de lactato a los grupos transportados, probablemente debido a que el confinamiento más prolongado ejerció un efecto similar al transporte; hay que considerar que esta variable es fácilmente influenciada por diversos factores relacionados con el manejo de los animales, los cuales son más probables que ocurran durante un período más prolongado de confinamiento. Debido a esto el lactato, en este estudio, fue el peor indicador de estrés.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS  $\beta$ -HIDROXIBUTIRATO. El no haber encontrado diferencias entre los grupos confinados y los transportados por 3 h (gráfico 1) se podría deber

a su gran variación individual, lo que indicaría que las concentraciones plasmáticas de este cuerpo cetónico no serían afectadas de la misma manera en todos los animales por estos tratamientos, y confirma que el  $\beta$ -HBA no es un buen indicador de estrés agudo. Según Vernon (1980), la privación de alimentos por un corto período de tiempo es contrarrestada por el rumen, necesiándose varios días para alcanzar un estado de ayuno propiamente tal.

Tanto los animales confinados como los transportados por 16 h presentaron una disminución significativa (cuadro 1, gráfico 1) en sus valores sanguíneos. Esto coincide con lo reportado por Bustamante (2001) y Schwerter (2001), quienes utilizaron períodos de transporte de novillos similares y Tadich y col. (1999), los que transportaron novillos por 12 y 24 horas. Estos resultados difieren de los de Warriss y col. (1995) y Knowles y col. (1997), los que encontraron que las concentraciones sanguíneas de  $\beta$ -hidroxibutirato aumentaban al aumentar el tiempo de transporte. Tadich y col. (2000) señalan que durante las primeras 24 h de transporte las concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato presentarían una tendencia a disminuir, debido a la utilización del "pool" circulante de  $\beta$ -hidroxibutirato aportado por el rumen.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CREATINFOSFOQUINASA (LNCK). El factor animal explicó gran parte de la variación (69%) y la época del año también tuvo una importancia considerable. Los valores promedio de LNCK previo a los tratamientos como post tratamiento fueron superiores a los valores promedio ( $5.6 \pm 4.9$  U/L) reportados por Oyarce y col. (2002) en novillos en reposo. Los valores promedio de LNCK no fueron significativamente diferentes entre tratamientos (gráfico 1). Al corregir, por efecto de transporte y época del año, la actividad plasmática de esta variable aumentó significativamente (cuadro 1) en los animales confinados como en aquellos transportados por 3 h, pero no en los animales bajo similares tratamientos por 16 h. El mayor incremento en los valores de LNCK en los novillos confinados por 3 h se explicaría según Tarrant y Grandin,

(1993), producto de roces y peleas con otros animales dentro del corral o a malas condiciones de encierro, lo que causaría daño muscular con la consecuente liberación enzimática. Los resultados en los animales confinados y transportados por 16 h se deberían a que las concentraciones más altas de CK se alcanzarían entre las 2 a 12 h posteriores al daño muscular (Holmes y col., 1973), de esta manera, en este experimento los niveles más altos de esta variable, probablemente no fueron detectados dado el mayor tiempo entre la primera y última muestra. Esto coincide con lo encontrado por Tadich y col. (1999) al transportar animales por períodos de 6, 12, 16 y 24 horas.

Warriss y col. (1995) encontraron que la actividad de la enzima CK en sangre aumentaba proporcionalmente al tiempo de transporte en animales transportados hasta por 15 h. Esto sería atribuible al esfuerzo realizado por los animales para mantenerse en pie durante períodos más prolongados de transporte o confinamiento. Los autores de este trabajo, en diferentes estudios realizados, han encontrado resultados contradictorios en relación a la actividad plasmática de la enzima (Tadich y col., 1999; Bustamante, 2001), esto se debería en parte a una gran variabilidad individual (cuadro 1) en que el efecto del animal explica un 69% de la variación encontrada para este indicador de estrés.

EPOCA DEL AÑO. Los autores no encontraron información en relación al efecto de la época del año sobre las variables sanguíneas estudiadas. Sin embargo, las diferencias encontradas para las variables VGA, glucosa,  $\beta$ -HBA y CK, presumiblemente están más asociadas a los manejos diferentes de los animales, en ambas épocas del año, que al manejo experimental de los mismos.

La alimentación y el manejo de los animales utilizados en el experimento de invierno probablemente influyó en que las concentraciones de glucosa y lactato y la actividad plasmática de CK fueran significativamente menores a las de primavera, en que los animales estaban libres en potreros

con una alimentación en base a pradera. El manejo diario de los animales en la plataforma de alimentación implica un mayor contacto con el hombre y entre grupos de animales, produciendo un acostumbamiento a diversos manejos, esto, probablemente, hizo que los animales en el experimento realizado en invierno se estresaran menos por el manejo experimental que aquellos del experimento de primavera. Los valores más altos de VGA durante el invierno podrían deberse tanto a una menor disponibilidad de agua de bebida previo al experimento, como a un menor aporte de agua de la dieta. Los valores significativamente más altos de  $\beta$ -HBA durante el experimento de invierno podrían decir relación con los constituyentes de la dieta que recibían durante esa época del año.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que el transporte asociado al ayuno produjo mayores aumentos de las concentraciones sanguíneas de cortisol, VGA, leucocitos y glucosa que el ayuno en confinamiento. Algunas variables sanguíneas, tales como cortisol y los leucocitos tienden a aumentar rápidamente durante las primeras horas del transporte, para posteriormente comenzar a disminuir. Variables como CK y lactato son fácilmente influenciadas, no sólo por el transporte, sino que por el manejo y comportamiento de los animales previo y durante la toma de la muestra de sangre. El  $\beta$ -HBA no sería un buen predictor de estrés por ayuno o transporte en bovinos, cuando los períodos experimentales son inferiores a 24 h.

En el futuro, para una mejor comprensión de la respuesta fisiológica y endocrina de los bovinos sometidos a manejos estresantes, como los utilizados en este estudio, sería conveniente registrar simultáneamente otros eventos relacionados con el comportamiento y bienestar animal, tales como número de animales echados o parados, montas, cornadas, mugidos y otras interacciones, que pueden generar respuestas distintas de los indicadores sanguíneos de estrés.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de dos períodos de ayuno en bovinos, ya sea en confinamiento o con transporte terrestre, sobre las concentraciones plasmáticas de cortisol, glucosa,  $\beta$ -hidroxibutirato y lactato, actividad plasmática de CK, además de los valores de leucocitos y VGA. El estudio comprendió un experimento realizado en julio del 2001 y otro en noviembre del 2002, en la provincia de Valdivia, Chile.

Se utilizaron 120 novillos Frisón Negro, todos del mismo predio, de similar edad (dientes de leche y 2 dientes permanentes) y peso vivo (promedio 450 kg). En cada experimento se les extrajo una muestra de sangre por venopunción coccígea a 60 novillos, se identificaron individualmente y fueron pesados. Luego fueron asignados al azar en cuatro grupos de 15 animales cada uno: un grupo fue confinado en el predio sin agua ni comida por tres horas (confinamiento 3 h), al mismo tiempo otro grupo fue transportado en un camión por el mismo tiempo (transporte 3 h); los otros 2 grupos fueron sometidos a similares tratamientos respectivamente por 16 h (confinamiento 16 h y transporte 16 h). Después del tratamiento se les extrajo a los novillos una segunda muestra de sangre y fueron pesados.

El cortisol se determinó por radioinmunoensayo (RIA), la glicemia se midió con el procedimiento para glucosa GOD-PAP, sin deproteinización; el lactato se midió con el test UV enzimático; el  $\beta$ -hidroxibutirato con la técnica que utiliza  $\beta$ -HBA deshidrogenasa para medir la reducción de NAD<sup>+</sup> a NADH; el VGA y leucocitos con un contador hematológico y la actividad plasmática de CK se determinó con el método UV-cinético, a 340nm y 37°C. Los indicadores de estrés fueron revisados para determinar su distribución normal mediante inspección visual del histograma y con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Cuando ambos, el histograma y la prueba de Kolmogorov-Smirnov indicaban que la distribución no era normal las variables se normalizaron transformándolas a su logaritmo natural. Se utilizaron modelos

generalizados de regresión lineal múltiple para determinar las asociaciones entre los indicadores de estrés y las variables independientes. Las variables independientes fueron tratamiento (antes del confinamiento o transporte, confinamiento en ayuno por 3 h, transporte en ayuno por 3 h, confinamiento en ayuno por 16 h, transporte en ayuno por 16 h), y la estación del año (invierno y primavera).

Los novillos transportados por 3 h y aquellos en confinamiento por 16 h tuvieron concentraciones de Cortisol significativamente más altas ( $P < 0.01$ ) que antes del tratamiento; los otros tratamientos y la estación no afectaron significativamente ( $P = 0.20$ ) los niveles de Cortisol. El VGA disminuyó significativamente ( $P < 0.01$ ) en los novillos confinados por 3 h y aumentó significativamente ( $P = 0.02$ ;  $P < 0.01$ ) en los novillos transportados por 3 y 16 h, respectivamente. El promedio de VGA fue mayor ( $P < 0.01$ ) en invierno que en primavera. El recuento de leucocitos no mostró un patrón consistente, pero aumentó ( $P < 0.01$ ) en los novillos transportados por 3 y 16 h. La estación no influyó sobre el recuento leucocitario. Las concentraciones de glucosa aumentaron significativamente ( $P < 0.01$ ) con todos los tratamientos y fueron menores ( $P < 0.01$ ) en invierno que en primavera. Los novillos que ayunaron confinados por 3 h tuvieron una disminución significativa ( $P = 0.02$ ) del lactato sanguíneo respecto al valor inicial. Los animales ayunados por 16 h, tanto confinados como sometidos a transporte, tuvieron concentraciones significativamente menores ( $P < 0.01$ ) de  $\beta$ -HBA que antes del tratamiento; el promedio de  $\beta$ -HBA fue mayor ( $P < 0.01$ ) en invierno. Los novillos confinados y los transportados por 3 h mostraron actividad plasmática de CK significativamente superior ( $P < 0.01$  y  $P = 0.02$ ), respectivamente, que antes del tratamiento. En invierno, los niveles de CK fueron menores ( $P < 0.01$ ) que en primavera. Se concluye que, en general, el transporte asociado al ayuno produjo mayores aumentos de las concentraciones sanguíneas de cortisol, VGA, leucocitos y glucosa, siendo más estresante que el confinamiento en ayuno.

## BIBLIOGRAFIA

- AKAIKE, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transaction on Automatic Control* AC-19: 716-723.
- BUSTAMANTE, H. 2001. Determinación del efecto de diferentes tiempos de ayuno y transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos en el período Otoño – Invierno. Tesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1993. Reglamento general de transporte de ganado y carne bovina. Decreto N° 240. Publicado en el Diario Oficial 27 de octubre 1993.
- CHILE. 1997. Instituto Nacional de Estadísticas. VI Censo Agropecuario.
- CHILE. 2001. Oficina de Estudios y Política Agraria. ODEPA. Compendio Agropecuario 2001.
- COLE, N. A., T. H. CAMP, L. D. ROWE Jr.; D. G. STEVENS, D. P. HUTCHESON. 1988. Effects transport on Feeder Calves. *Amer. J. Vet. Res.* 49: 178-183.
- CROOKSHANK, H. R., M. H. ELISSALDE, R. G. WHITE, D. C. CLANTON, H. E. SMALLEY. 1979. Effect of transportation and handling of calves upon blood serum composition. *J. Anim. Sci.* 48: 430-435.
- CUNNINGHAM, J. G. 1999. Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana McGraw-Hill 2ª edición. México.
- FAO/IAEA. 1993. Nutritional Metabolite Kit Protocol.  $\beta$ -Hydroxybutyrate protocol. Joint FAO/IAEA Programme, p.p. 1-11.
- FELDMAN, B., J. G. ZINKL, N. C. JAIN. 2000. Schalm's Veterinary Haematology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA.
- FRÖHLI, D., J. W. BLUM. 1988. Effects of fasting on blood plasma levels, metabolism and metabolic effects of epinephrine and norepinephrine in steers. *Acta Endocrinologica* 118: 254-259.
- GALLO, C. 1994. Efecto del manejo pre y pos faenamiento en la calidad de la carne. Serie Simposios y Compendios de la Sociedad Chilena de Producción Animal 2: 27-47.
- GALLO, C., C. GATICA, J. CORREA, S. ERNST. 1995. Análisis del tiempo de transporte y espera, destare y rendimiento de la canal de bovinos transportados desde Osorno a Santiago. Resúmenes de la XX reunión anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Coquimbo, Chile. p.p. 205-206.
- GALLO, C. 1996. Consideraciones del manejo antemorten en Chile y su relación con la calidad de la carne. Informativo sobre Carnes y Productos Cárneos. (Edición especial). 21: 27-46.
- GALLO, C., S. PÉREZ, C. SANHUEZA, J. GASIC. 2000. Efectos del tiempo de transporte de novillos previo al faenamiento sobre el comportamiento, las pérdidas de peso y algunas características de la canal. *Arch. Med. Vet.* 32: 157-170.
- GALLO, C., M. ESPINOZA, J. GASIC. 2001. Efectos del transporte por camión durante 36 horas con y sin período de descanso sobre el peso vivo y algunos aspectos de calidad de carne bovina. *Arch. Med. Vet.* 33: 43-53.
- GALYEAN, M. L., R. W. LEE, M. E. HUBBERT. 1981. Influence of fasting and transit on ruminal and blood metabolites in beef steers. *J. Anim. Sci.* 53: 7-18.
- GRANDIN, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J. Anim. Sci.* 75: 249 – 257.
- GREGORY, N.G. 1998. Animal welfare and meat science. Ed. Cab International.
- HOLMES, J. H. G., C. R. ASHMORE; D. W. ROBINSON. 1973. Effects of stress on cattle with hereditary muscular hypertrophy. *J. Anim. Sci.* 36: 684-694.
- HORTON, G. M. J., J. A. BALDWIN, S. M. EMANUELE, J. E. WOHLT, L. R. MCDOWELL. 1996. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *J. Anim. Sci.* 62: 49-66.
- KANEKO, J., J. HARVEY, M. BRUSS. 1997 Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5<sup>th</sup> ed. Academic Press. San Diego. USA.
- KANNAN, G.; H. TERRILL; B. KOUAKOU; S. GAZAL; S. GELAYE; A. AMOAH; S. SAMAKÉ. 2000. Transportation of goats: Effects on physiological stress responses and live weight loss. *J. Anim. Sci.* 78: 1450-1457.
- KENT, J. E., R. EWBANK. 1983. The effect of road transportation on the blood constituents and behaviour of calves. I. Six Months Old. *Br. Vet. J.*, 139: 228-235.
- KNOWLES, T. G., P. D. WARRISS, S. N. BROWN, J. E. EDWARDS, P. E. WATKINS, A. J. PHILLIPS. 1997. Effect on calves less than one month old of feeding or not feeding them during road transport of up to 24 hours. *Vet. Rec.*, 140: 116-124.
- KNOWLES, T. G. 1999. A review of the road transport of cattle. *Vet. Rec.* 144: 197-201.
- LISTER, D., N. G. GREGORY, P. D. WARRISS. 1981. Developments in meat science. Applied Science Publishers. London, England.

- MEYER, D., J. HARVEY. 2000. El laboratorio en Medicina Veterinaria. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina.
- MITCHELL, G., J. HATTINGH, M. GANHAO. 1988. Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *Vet. Rec.*, 123: 201-205.
- MOBERG, G. P. 1987. A model for assessing the impact of behavioural stress on domestic animal. *J. Anim. Sci.*, 65: 1228-1235.
- OYARCE, J., N. TADICH, C. GALLO. 2002. Determinación de algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés, en novillos en reposo. Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. 2-4 octubre. Chillán, Chile.
- SCHWERTER, M. 2001. Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés en bovinos sometidos a diferentes tiempos de transporte terrestre y ayuno en período primavera-verano. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- SHAW, F. D., R. K. TUME. 1992. The assessment of pre-slaughter and slaughter treatment of livestock by measurement of plasma constituents. A review of recent work. *Meat Science* 32: 311-329.
- TADICH, N., C. GALLO, M. ALVARADO. 1999. Efecto de 3, 6, 12 y 24 horas de transporte terrestre continuo sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovino. Resúmenes de la XXIV reunión anual Sociedad Chilena de Producción Animal, Temuco, Chile. p.p. 173-174.
- TADICH, N., C. GALLO, M. ALVARADO. 2000. Efecto de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 2: 171-183.
- TARRANT, P. V., T. GRANDIN. 1993. Cattle transport. In: *Livestock Handling and transport*. T. GRANDIN (ed). Editorial CABI. CAB International. Oxon. England.
- VERNON, R. G. 1980. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. *Prog. Lip. Res.* 19: 23-106.
- WARNER, R. D., G. A. ELDRIDGE, C. G. HALPIN, J. L. BARNET, C. G. HALPIN, D. J. CAHILL. 1986. The effects of fasting and cold stress on darkcutting and bruising in cattle. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 16: 383-386.
- WARRISS, P. D., S. C. KESTING, S. N. BROWN; L. J. WILKINS. 1984. Recovery from mixing stress in young bulls. *Meat Science* 10: 53-68.
- WARRISS, P. D., S. BROWN, E. A. BEVIS, S. C. KESTIN, C. S. YOUNG. 1987. Influence of food withdrawal at various times preslaughter on carcass yield and meat quality in sheep. *J. Sci. Food. Agric.* 39: 325-334.
- WARRISS, P. D. 1992. Animal Welfare. Handling animals before slaughter and the consequences for welfare and product quality. *Meat Focus International* (July) 135-138.
- WARRISS, P. D., S. N. BROWN, T. G. KNOWLES, S. C. KESTIN, J. E. EDWARDS, S. K. DOLAN, A. J. PHILLIPS. 1995. Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *Vet. Rec.* 136: 319-323.

