

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLINICAS VETERINARIAS

**EFFECTO DE DOS TIEMPOS DE AYUNO CON Y SIN TRANSPORTE
TERRESTRE SOBRE ALGUNAS VARIABLES SANGUÍNEAS
INDICADORAS DE ESTRÉS EN NOVILLOS.**

**Memoria de Titulo presentada como parte
de los requisitos para optar al TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO.**

RICARDO ANDRÉS ECHEVERRÍA PÉREZ

VALDIVIA – CHILE

2002

PROFESOR PATROCINANTE: **Dr. Néstor Tadich B.**

PROFESOR COPATROCINANTE: **Dra. Carmen Gallo St.**

PROFESORES CALIFICADORES: **Dr. Fernando Wittwer M.**

Dr. Roberto Ihl B.

FECHA DE APROBACIÓN: 12 de Diciembre 2002.

ÍNDICE

| | Página |
|------------------------------------|---------------|
| 1. RESUMEN | 4 |
| 2. SUMMARY | 5 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 6 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS | 17 |
| 5. RESULTADOS | 20 |
| 6. DISCUSIÓN | 27 |
| 7. CONCLUSIONES | 33 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 34 |
| 9. ANEXOS | 38. |

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de dos tiempos de ayuno en bovinos con y sin transporte terrestre, sobre las concentraciones plasmáticas de cortisol, glucosa, β -hidroxibutirato y lactato, actividad plasmática de CK, además de la cantidad de leucocitos y valores de VGA. El estudio fue llevado a cabo en el mes de julio del 2001 y con una replica en el mes de enero del 2002, en la provincia de Valdivia, Chile.

Sesenta novillos Frisón Negro del mismo predio, de similar edad (dientes de leche y 2 dientes) y peso (promedio 450 Kg.), fueron usados en este estudio. Se les extrajo una muestra de sangre por venopunción coccígea, se identificaron con numeración correlativa y posteriormente fueron pesados. Luego fueron divididos en dos grupos de 30 novillos (G y H), y cada uno de ellos fue distribuido al azar nuevamente en dos subgrupos (G_1 , G_2 , H_1 , H_2) de 15 animales, cada uno. El grupo G_1 fue confinado en el predio sin agua ni comida por tres horas, al mismo tiempo el grupo G_2 fue transportado en un camión, con una densidad de 500 Kg/m² durante 3 horas (200 Km). Después de este periodo a los animales de ambos grupos se les extrajo una segunda muestra de sangre y fueron pesados. El mismo procedimiento fue llevado a cabo con los grupos H_1 y H_2 , usando un periodo de ayuno y transporte de 16 horas.

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 β -hidroxibutirato con la técnica que utiliza β -HBA deshidrogenasa para medir la reducción de NAD⁺ 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. Para el análisis estadístico se unificaron los datos de las repeticiones de julio 2001 y enero 2002. Para determinar las diferencias entre grupos y periodos se usó el test de "t" de Student. Cuando las varianzas no eran homogéneas se aplicó el test de "t" de Student modificado por Welch. Para el análisis se utilizó el programa computacional Statgraphic plus 2.0.

En el caso del ayuno más transporte por 3 h. se encontraron valores significativamente más altos ($P < 0,05$) para leucocitos, glucosa y lactato. En el ayuno más transporte por 16 h. se encontraron valores significativamente más altos ($P < 0,05$) para VGA y glucosa, en este grupo las concentraciones de cortisol fueron significativamente mayores ($P < 0,05$) para los animales ayunados en el predio. Se puede concluir que producto del ayuno más un transporte corto de 3 h. los animales sufrieron un mayor estrés que los que solo ayunaron, reflejado en el aumento de los valores sanguíneos de glucosa y leucocitos circulantes. En los animales sometidos a 16 h. de ayuno más transporte, el estrés se manifestó con aumentos en las concentraciones de glucosa y VGA. Independiente del tiempo de ayuno o ayuno más transporte se produjo daño muscular reflejado en un aumento en la actividad de CK. En este estudio las concentraciones de cortisol y β -HBA no fueron un buen indicador de estrés por ayuno más transporte.

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

Este estudio fue financiado por el proyecto **FONDECYT 101-02-01.**

2. SUMMARY

The aim of this study was to determine the effect of two times of fasting with and without transport on the blood concentrations of cortisol, glucose, β -HBA, lactate and the blood values of leucocytes; PCV and plasmatic activity of CK, in steers. The study was carried out during the months of July 2001 and January 2002, in the province of Valdivia, Chile.

Sixty Friesian steers were used in each experiment. The steers were from the same farm, breed, age (milk or 2 teeth), weight (average 450 kg). They were bled by coccigeous venopunction, identified with a ear tag and weighted. They were divided into two groups of 30 steers each (G and H), and again divided into two subgroups of 15 steers (G_1 ; G_2 and H_1 ; H_2). Group G_1 was maintained confined at the farm without water or food for three hours, at the same time G_2 was transported by road for the same period of time. After this period of time the animals were bled, and weighted again. The same procedure was repeated with Group H and H_2 , but using a period of 16 hours of fasting and transport.

Plasma concentrations of cortisol were determined by radioimmunoassay (RIA); the glucose concentrations by the GOD-PAP test without deprotenization (GL 2623, RANDOX²), lactate concentrations by the UV-enzimatic method; β -HBA by using the enzymatic technique that uses the β -hidroxibutirate deshidrogenase enzyme for measuring the pass from NAD⁺ 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. Data from both experiments were loaded into a EXCEL sheet and analysed as one group. To determine the significance of the differences between groups and periods Student's "t" test was used. When the variances were not homogenous Student's "t" test modified by Welch, was used. A Statgraphic plus 2.0 programme was used for the statistical analysis

In those animals transported and fasted for 3 h. significantly higher values ($P < 0,05$) of leukocytes, glucose and lactate, were found. In those animals transported and fasted for 16 h. significantly higher values ($P < 0,05$) of PCV and glucose were found. In this group the concentrations of cortisol were significantly higher ($P < 0,05$) in the animals fasted at the farm. It can be concluded that as an answer to the transport of 3 h. the animals were more stressed than those animals that were just fasted for the same period of time, showed by an increase in the plasmatic concentrations of glucose, lactate and values of leucocytes. The animal transported by 16 h. the stress was showed with an increase in the plasmatic concentrations of glucose and values of PCV. Independently of the time of transport or fasting there was an significant increase in the plasmatic activity of CK. Cortisol and β -HBA were not a good indicator of stress for transport or fasting, in this study.

Key words: Cattle, stress, transport, fasting.

This study was financed by project FONDECYT 101 – 02 –01.

3. INTRODUCCIÓN

La especie bovina (*Bos taurus*) fue introducida a Chile por los españoles, aproximadamente en el año 1600, se difundió rápidamente en la zona central del país y posteriormente a las demás regiones, especialmente la zona sur (Hervé, 1991). Hoy se presenta como una de las especies pecuarias más importantes del país en producción de carne y leche, así como de obtención de materias primas.

El número de bovinos en Chile, según el Censo Agropecuario de 1997 ascendió a 4.098.438, siendo 1.587.557 unidades (38.73%) pertenecientes a la Décima Región, 784.336 unidades (19.13%) a la Novena Región y 164.014 unidades (4.0%) pertenecientes a la Región Metropolitana (Chile, 1997).

En Chile se sacrificaron en el año 2001 un total de 870.282 unidades bovinas, de las cuales sólo 154.148 (17.7%) se beneficiaron en la Décima Región y 90.421 (10.39%) en la Novena Región, mientras que la Región Metropolitana tuvo un volumen de sacrificio de 383.121 (44%) (Chile, 2001). Esto indica que un gran número de animales es transportado en pie desde los centros productivos a los lugares de faenamiento y consumo.

Debido a que el transporte se asocia a una serie de estímulos físicos y emocionales, muchos de los cuales son dañinos, se reconoce como una de las causas más comunes de incomodidad para los animales. El transporte, es un evento amenazador y poco familiar para la vida de los animales domésticos. Este proceso comienza con el arreo, posteriormente el embarque, confinamiento con o sin movimiento, descarga y finalmente el reagrupamiento en los corrales. Además, durante el transporte los animales son expuestos a factores ambientales estresantes como: calor, frío, humedad y a esto debe agregarse un reagrupamiento social por los nuevos individuos presentes (Tarrant y Grandin, 1993).

El transporte puede influir tanto directa como indirectamente sobre la calidad de la canal. La forma directa es por medio de la muerte del animal que produce un impacto inmediato y una pérdida total del producto, otra, son las pérdidas de peso y las lesiones como traumatismos o daños físicos en diferentes grados. La forma indirecta es la provocada por el estrés que un ambiente extraño le puede producir al animal (Gallo, 1994).

Los reglamentos que regulan el transporte de animales domésticos varían de país a país. Para el caso de Chile la Ley de Carnes número 19.162 (Chile, 1992), en su Reglamento General de Transporte de Ganado y de Carne (Chile, 1993), establece en una de sus partes que el ganado debe ser vigilado regularmente por el transportista, desde el punto de partida hasta su destino final y debe ser sometido a períodos de descanso y consumo de agua cada 24 horas de viaje continuo, por un período mínimo de 8 horas.

El promedio de viaje del ganado bovino en nuestro país coincide con el máximo permitido, que es de 24 horas. Existe evidencia que demuestra la existencia de viajes que superaron los límites permitidos sin realizar los abrevajes correspondientes, que van desde las 15 hasta 41 horas. (Gallo, 1996).

La respuesta de los bovinos al transporte varía dependiendo de la situación y va de una respuesta al estrés de tipo moderada y fácilmente identificable, que puede ser o no preocupante desde el punto de vista del bienestar animal, hasta las respuestas extremas que implican dolor y causan gran preocupación tanto del punto de vista del bienestar animal como de las pérdidas económicas (Tarrant y Grandin, 1993).

3.1. FISIOPATOLOGÍA DEL ESTRÉS.

El estrés se define como el producto de reacciones biológicas y psicológicas que se desencadenan en un organismo cuando se enfrenta de una forma brusca con un agente nocivo, cualquiera sea su naturaleza (Navarro y Beltrán, 1984).

Según Selye (1973) citado por Caballero y Sumano (1993), los agentes inductores de estrés son detonadores de respuestas orgánicas y además son capaces de desequilibrar los mecanismos reguladores homeostáticos, de tal manera que el organismo pierde su capacidad de mantener sus balances fisiológicos dentro de los límites normales. La respuesta a factores estresantes incluye estructuras somáticas, viscerales, alteraciones metabólicas, endocrinas y nerviosas. En relación con la presencia de estos agentes inductores de estrés aparece el Síndrome General de Adaptación (SGA), en el cual se reconocen tres fases: a) una respuesta inmediata mediada por el sistema nervioso simpático; b) resistencia, que se presenta cuando hay estimulación crónica y existe participación del eje hipotálamo, hipófisis y corteza adrenal y c) una reacción de agotamiento, en la que un estímulo crónico sobrepasa los niveles de resistencia y conduce al agotamiento de la energía de adaptación y finalmente la muerte.

En estados de estrés físico y emocional de carácter agudo, el sistema nervioso simpático (adrenérgico) se descarga como una unidad, lo que da como resultado la estimulación generalizada del cuerpo, especialmente de la médula adrenal generando adrenalina. Esto produce un aumento en la frecuencia cardíaca y en la presión sanguínea, dilatación pupilar, elevación de los niveles sanguíneos de glucosa y de ácidos grasos libres, además de un incremento del estado de alerta. El efecto de la descarga simpática no sólo es diseminado, sino de mayor duración que la descarga parasimpática (colinérgica), debido a la circulación prolongada de adrenalina y noradrenalina (Cunningham, 1999). Si bien, el estado de estrés tiene la capacidad de provocar una abundante descarga hormonal desde la glándula suprarrenal y fibras terminales nerviosas respectivamente, la liberación de acetilcolina antagoniza los efectos de adrenalina y noradrenalina y evita un desbalance entre los dos sistemas que pudiera poner en peligro la vida (Cruz y Vargas, 1998).

La capacidad de adaptación y la complejidad de las respuestas fisiológicas de un individuo están reguladas por la liberación de hormonas (Caballero y Sumano, 1993). Bajo la

acción de estímulos estresantes, las células del hipotálamo segregan la hormona liberadora de corticotrofina (ACTH-RH); ésta llega a la hipófisis anterior por medio de una red vascularizada especializada (sistema porta) y provoca la liberación a la corriente sanguínea de la Hormona Adrenocorticotrófica o ACTH (Dantzer y Morméde, 1984).

Existen tres componentes principales en la secreción de ACTH, un ritmo diurno inherente a ella llamado circadiano, un sistema de retroalimentación de “asa” cerrada, que responde a los cambios en los niveles de cortisol circulante, y un componente de “asa” abierta relacionada con los numerosos estímulos mediados neuralmente y comúnmente referidos a factores estresantes tanto de carácter físico como emocional, estos pueden ser el dolor, fiebre, ansiedad, depresión, hipoglucemia, etc, (Felig y col., 1983). Algunas hormonas como ACTH-RH, β -endorfinas, arginina y vasopresina, estimulan la liberación de ACTH, mientras que los corticoesteroides, la somatostatina y norepinefrina cerebral inhiben su secreción (Caballero y Sumano, 1993).

Los efectos primarios de ACTH sobre la corteza suprarrenal son: la estimulación de la secreción de glucocorticoides, mineralocorticoides y esteroides androgénicos. La ACTH, se enlaza a receptores específicos de gran afinidad, situados sobre las membranas plasmáticas de la corteza suprarrenal y estimula la esteroideogénesis al favorecer la conversión de colesterol a pregnenolona a través de un mecanismo mediado por adenilciclasa. La ACTH también estimula la síntesis de proteínas conduciendo a hipertrofia e hiperplasia corticosuprarrenales (Felig y col., 1983). En presencia de estrés, la aparición de glucocorticoides es inmediata y proporcional a la gravedad del estímulo (Cunningham, 1999).

Entre los efectos específicos que provocan los glucocorticoides se pueden mencionar los siguientes: estimulan la gluconeogénesis a nivel hepático, que consiste en la conversión de aminoácidos en carbohidratos, aumentan el glucógeno hepático, la glucosa sanguínea, facilitan la lipólisis, la excreción de agua, interfieren en la respuesta inflamatoria, suprimen el sistema inmunitario y estimulan la secreción de ácido en el estómago (Cunningham, 1999).

Asociado a la liberación de ACTH, en estados de estrés, se liberan endorfinas, las cuales son pequeñas cadenas de aminoácidos que contienen una secuencia de metionina o leucina con una afinidad por los receptores opiodes. La clásica localización para estos son las glándulas suprarrenales y la hipófisis. También han sido detectados opiodes en los ganglios sensitivos, en los terminales periféricos de los nervios sensitivos, además de las células inmunitarias relacionadas con los procesos inflamatorios (Stein, 2001). La acción de las endorfinas es principalmente la analgesia, produciendo inhibición del peristaltismo, en el aparato respiratorio bradipnea e hipoventilación y en el sistema circulatorio, bradicardia e hipotensión (Pumarino y Pineda, 1980).

Según Matteri y col. (2000), citado por Bustamante (2001), cuando el o los factores estresantes son percibidos, se inicia una cascada de eventos, la mayoría relacionados con el eje hipotálamo – hipófisis – corteza adrenal, que finalmente lleva a la liberación de corticoides con determinados efectos fisiológicos (Figura 1).

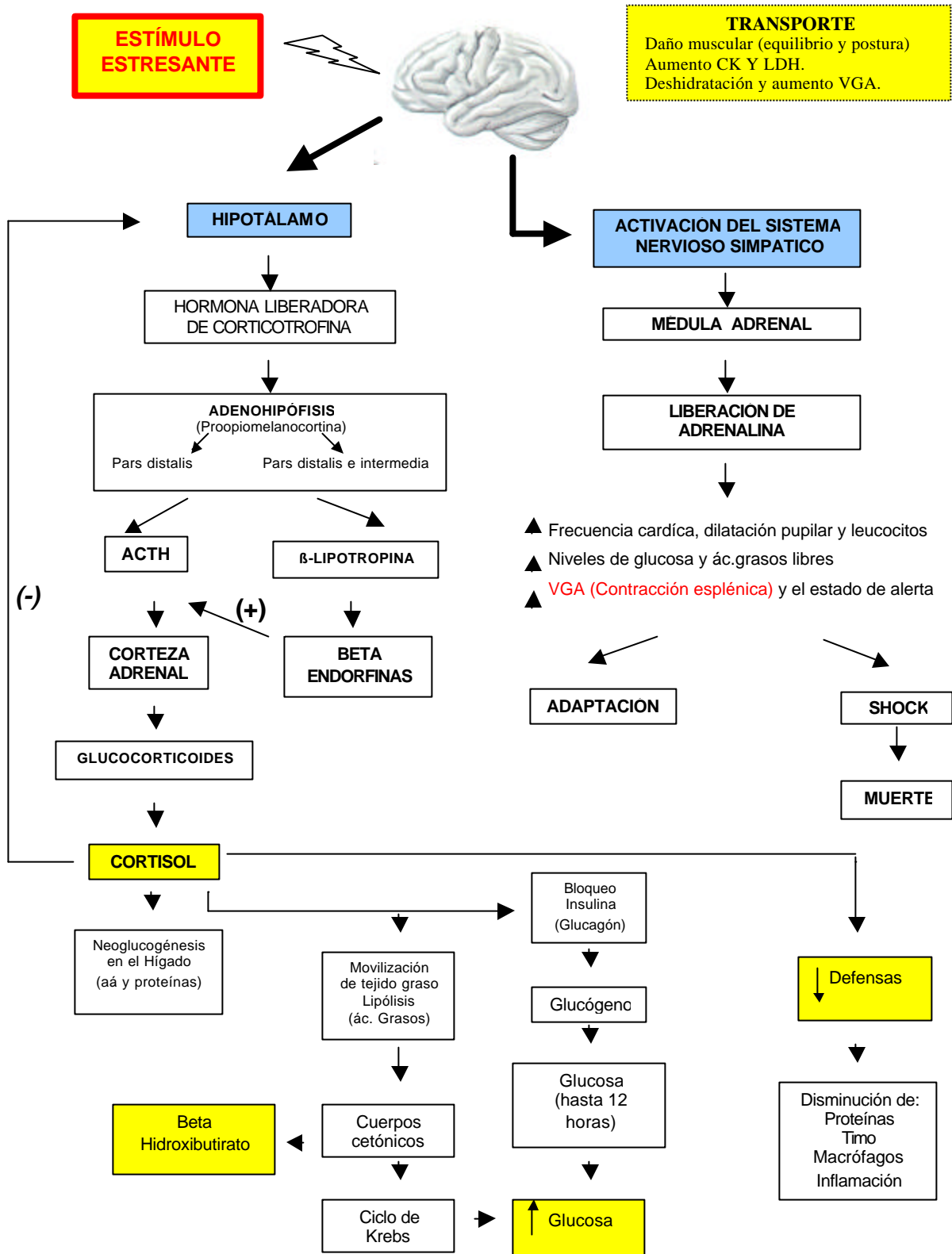


FIGURA 1. Fisiopatología del estrés animal. (Modificado de Caballero y Sumano; 1993)

3.2. VARIABLES SANGUÍNEAS RELACIONADAS CON EL ESTRÉS PRODUCIDO POR EL AYUNO Y TRANSPORTE TERRESTRE EN BOVINOS

La íntima relación del hombre con los animales y la creciente demanda de alimentos han generado un gran interés en la comunidad científica por cuantificar el estrés y permitir la explotación racional de los animales (Caballero y Sumano, 1993). Los animales pueden ser sometidos a diferentes factores estresantes, entre los cuales encontramos los del tipo psicológico como por ejemplo el manejo y el aislamiento, factores físicos como el hambre, sed, fatiga, lesiones y cambios de temperatura (Grandin, 1997).

El transporte en si, es un evento poco familiar para los animales, el cual invariablemente produce estrés. Durante el transporte los animales son expuestos a factores estresantes como calor, frío, humedad, sonidos y movimientos (Tarrant y Grandin, 1993). Knowles (1999), indica que existe una variedad de efectos que puede producir el transporte, donde destacan, la posibilidad de mortalidad durante el transporte, las pérdidas de peso provocadas por el período de ayuno, cambios en los constituyentes sanguíneos, enfermedades como fiebre del embarque, entre otras. Cole y col. (1988), agregan que el estrés causado por el transporte, más que el estrés causado sólo por el ayuno, altera la función ruminal, los constituyentes bioquímicos del suero sanguíneo así como las concentraciones de cortisol en éste. Estos cambios finalmente dependen de la duración del período de transporte que se aplique.

Existen pérdidas económicas pequeñas pero significativas que pueden ocurrir cuando los animales son sometidos a períodos de ayuno y de estrés durante el transporte (Warris y col., 1995). En nuestro país, existen diferentes estudios que indican que los animales faenados para producir carne, están siendo sometidos a medidas de manejo que condicionan estrés. (Gallo, 1994; 1996; Gallo y col., 1995).

Según Moberg (1987), el nivel de cortisol en la sangre es la medida más clásica de estrés, aunque su concentración aumentada sólo sería un indicador neuroendocrino primario. Es así como la mayoría de los investigadores como Crookshank y col. (1979), Warris y col. (1984), Warner y col. (1986), Mitchell y col. (1988), Warris y col. (1995) y Horton y col. (1996), utilizaron el cortisol plasmático como indicador de estrés. Algunos de estos autores utilizaron adicionalmente otras variables sanguíneas como: el Volumen Globular Aglomerado (VGA), glucosa sanguínea, la creatinfosfoquinasa y β - hidroxibutirato, siendo presentados los valores más altos en los animales sometidos a condiciones más estresantes.

Tadich y col. (2000), determinaron que el transporte por 36 horas era perjudicial para el bienestar animal, representado en los aumentos significativos en los constituyentes sanguíneos, como cortisol, glucosa y creatinfosfoquinasa. Por otra parte, el descanso de los animales tuvo un efecto beneficioso sobre creatinfosfoquinasa y los valores de VGA y en menor medida, en las concentraciones de β -hidroxibutirato.

3.2.1. Cortisol

La corteza adrenal produce dos tipos principales de hormonas esteroideas; entre éstas se pueden mencionar los mineralocorticoides y los glucocorticoides; los primeros, producidos en la zona glomerular, presentan una función considerable en el equilibrio electrolítico, en cambio los segundos, son producidos en la zona fasciculada y la reticular, lo cual es de real importancia para la regulación del metabolismo. El glucocorticoide más importante es el cortisol (Cunningham, 1999).

Esta hormona es fundamental en el metabolismo intermediario, estimulando la gluconeogénesis hepática, la cual consiste en la conversión de los aminoácidos en carbohidratos (Cunningham, 1999). El valor sanguíneo promedio para la especie bovina en reposo oscila entre los $1,4 \pm 1,2$ ug/dL. (Oyarce, 2002)[?].

Independiente de las variaciones fisiológicas, es válido decir que un estado de estrés provocado por factores como encierro, lactancia, ejercicio, anestesia, calor, emociones, privación del alimento, entre otros, puede activar el eje hipotálamo–adrenal y con esto, aumentar los niveles de hormonas esteroideas (Kaneko y col., 1997).

Crookshank y col. (1979), Mitchell y col. (1988) y Tadich y col. (2000), indican que los animales sometidos a transporte terrestre presentan variaciones en las concentraciones plasmáticas de cortisol, lo cual sería un indicador de falta de bienestar animal. Por el contrario Galyean y col. (1981) y Bustamante (2001), indican que los efectos provocados por el ayuno y el transporte, no afectarían en forma considerable los valores sanguíneos de cortisol.

Kent y Ewbank (1983), sugieren que no es la carga de los animales lo que induce un aumento en los niveles de cortisol, sino más bien el estrés causado por el transporte. Según Warris y col. (1995), los aumentos de cortisol en la sangre son mínimos durante el proceso de carga e inicio del transporte; sin embargo, durante el transporte estos niveles se incrementan en forma considerable.

3.2.2. Hematocrito (VGA)

El VGA representa el porcentaje del volumen de la sangre que está dado por los eritrocitos. Su valor depende fundamentalmente del número de eritrocitos y su tamaño. El rango de referencia en la especie bovina varía de un 24 – 46% (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Una de las causas del aumento del VGA es la contracción esplénica; esta se produce por la secreción de catecolaminas en respuesta a la activación de la médula adrenal por vía nerviosa, siendo esta, la principal causa de aumento en condiciones estresantes (Mitchell y col., 1988).

[?] Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

Kent y Ewbank (1983), indican que el hematocrito aumenta durante el período de carga e inicio del transporte de los animales, dado fundamentalmente por un aumento del número de los eritrocitos circulantes y en menor grado por el movimiento del agua desde la sangre.

Warris y col. (1995), señalan que la deshidratación que se produce durante el transporte no produciría cambios significativos en el hematocrito de los animales.

3.2.3. Leucograma (células de la línea blanca)

Leucocitos es el nombre genérico que se da a las diferentes células blancas nucleadas de la sangre; estas incluyen a los neutrófilos, eosinófilos, basófilos y linfocitos. Para la especie bovina los porcentajes para cada una de las diferentes células de la línea blanca fluctúan entre: basófilos (0% - 2%); eosinófilos (5% - 18%); neutrófilos (18% - 40%) y linfocitos (45% - 65%). El valor de referencia de leucocitos para el bovino es de 5.000 a 10.000 células por μ L. (Wittwer y Böhmwald, 1983).

La presencia de leucocitos es muy importante para las respuestas inmunitarias y alérgicas del cuerpo. El análisis del número total y de la distribución relativa de estas células proporciona pistas importantes para el diagnóstico de algunas enfermedades (Cunningham, 1999). La puesta en marcha del mecanismo inmunitario y del desarrollo de cada una de las reacciones que implica son profundamente modificadas por los estados de estrés (Dantzer y Morméde, 1984).

En diversos sistemas animales y humanos, los glucocorticoides han demostrado que afectan casi todas las etapas de las respuestas inmunológicas e inflamatorias. Estas incluyen acciones sobre el procesamiento del antígeno por los macrófagos, las funciones específicas de las células B y T, la producción y eliminación de anticuerpos, la movilización y funcionamiento de las células, polimorfos nucleares y mononucleares y la liberación de sustancias efectoras como quininas, activador del plasminógeno, etc., (Felig y col., 1983). A largo plazo, los corticoesteroides ejercen efectos inmunodepresores, disminuyen el número de linfocitos circulantes y reducen el volumen del timo y los órganos linfoides, deprimen los mecanismos de inmunidad humoral y la producción de anticuerpos e inhiben las reacciones de hipersensibilidad inmediata (Dantzer y Morméde, 1984).

Kent y Ewbank (1983), describen un aumento de los conteos de células de la línea blanca, seis horas posteriores al transporte. Estos incrementos en el conteo de células son generalmente descritos en ganado que realizan viajes cortos y expuestos a factores que puedan producir estrés.

Kannan y col. (2000), en un estudio realizado en transporte terrestre de cabras por 2,5 horas, encontraron una disminución en los conteos de linfocitos y un aumento en los porcentajes de neutrófilos debido al estrés provocado por el transporte.

3.2.4. Glucosa

La glucosa es la principal forma de energía en los procesos celulares de los mamíferos. Todas las células requieren un constante aporte de este nutriente y sólo pequeños cambios son

tolerados sin efectos adversos en la salud de los animales (Kaneko y col., 1997). La glucosa participa también en la síntesis de aminoácidos y de ácidos grasos, como también, formando parte estructural de glicolípidos y glicoproteínas (Wittwer y Böhmwald, 1983).

La glucosa puede almacenarse en el cuerpo como glucógeno, un almidón altamente ramificado que se encuentra en el hígado y músculo esquelético. El glucógeno es la única forma de almacenamiento de la glucosa en el cuerpo, a pesar de que la glucosa puede sintetizarse a partir de otros compuestos. Los aminoácidos son sustratos importantes para la gluconeogénesis, lo que indica que la mayoría de ellos se pueden convertir en glucosa cuando el aporte accesible disminuye (Cunningham, 1999).

Los valores de referencia para la glucosa en bovinos no sometidos a estrés, se observan entre los $3,9 \pm 0,53$ mmol/L (Oyarce, 2002)[?].

Las hormonas como epinefrina y glucagon, promueven un aumento de la glucosa sanguínea desde el glucógeno almacenado, en el músculo e hígado respectivamente. En cambio los glucocorticoides lo realizan aumentando y favoreciendo la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y oponiéndose a la acción de la insulina (Kaneko y col., 1997). Si el animal se encuentra en ayuno, el glucógeno muscular y hepático es degradado, aumentando la glucosa, pero si este ayuno es prolongado desciende en forma sustancial, produciéndose la formación de cuerpos cetónicos (Kaneko y col., 1997).

Crookshank y col. (1979), indican que un período de transporte y ayuno de 12 horas no afecta la glucosa sanguínea. Sin embargo, Cole y col. (1988); Alvarado (1999) y Bustamante (2001), señalan que el transporte y ayuno de animales por 3, 16, 24 y 36 horas produce un aumento de los niveles sanguíneos debido a un aumento de las catecolaminas y glucocorticoides liberados producto del estrés del transporte. Estos cambios de la concentración de glucosa en el suero probablemente son producidos por numerosos factores, incluyendo la actividad de las glándulas adrenales, cantidad y calidad de los alimentos absorbidos por el tracto gastrointestinal, grado de lipólisis y/o glicogenólisis y grado de utilización de los nutrientes por los tejidos (Cole y col., 1988).

3.2.5. Lactato.

El lactato es un producto del metabolismo de los carbohidratos y deriva principalmente de las células musculares y glóbulos rojos. El glucógeno al ser transformado a través de la vía glicolítica en piruvato puede ser usado para la generación de ATP o convertido en lactato. La conversión de glucosa a lactato ocurre cuando el músculo se encuentra con deficiencia de oxígeno, generalmente durante episodios cortos de ejercicio violento o cuando existe un exceso de piruvato (Gregory, 1998). Los valores de referencia para el bovino son, según Radostits y col. (2000), de 0,6 – 2,2 mmol/L.

[?] Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

Según Gregory (1998), las reservas de glucógeno hepático se agotan de 12 a 24 horas posteriores al ayuno, de esta manera los niveles de lactato y piruvato producidos en el músculo aumentan para luego pasar a la sangre favoreciendo la neoglucogénesis hepática siendo esta la encargada de mantener la glicemia en el organismo.

Warris y col. (1995), describen que las concentraciones de lactato son variables durante los periodos de transporte, destacando un aumento significativo en los animales transportados por 5 y 10 horas. No obstante, en aquellos animales transportados por 10 y 15 horas los niveles de esta enzima se incrementan luego del viaje.

Cole y col. (1988), indican que la duración del transporte aumenta significativamente el lactato, es así que el transporte de 12 horas no produce cambios significativos en su actividad. Sin embargo, en los animales transportados por 24 horas, se observa un incremento en la actividad.

3.2.6. β – hidroxibutirato (β -HBA).

Los cuerpos cetónicos están constituidos por metabolitos intermediarios del metabolismo de las grasas como son el ácido acético, acetona y beta-hidroxibutirato (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Kaneko y col. (1997), señalan que en los rumiantes el cuerpo cetónico conocido como β -hidroxibutirato se forma a partir del butirato en el epitelio ruminal y como un producto intermediario del metabolismo de las grasas endógenas. La concentración sanguínea en esta especie alcanza a $0,41 \pm 0,03$ mmol/L. De esta manera, los cuerpos cetónicos que se forman en la digestión normal son importantes metabolitos energéticos para estas especies (Cunningham, 1999). Ante una deficiencia en el metabolismo energético, aumenta la concentración de cuerpos cetónicos y con esto los niveles de β -hidroxibutirato debido a la mayor utilización de las grasas (Wittwer y Böhmwald, 1983). Esto indicaría que el ayuno prolongado en los rumiantes puede llegar a producir un aumento del β -hidroxibutirato sanguíneo (Kaneko y col., 1997).

Knowles y col. (1997), indican que existe una disminución de los niveles de β -hidroxibutirato, para aquellos animales transportados por periodos cortos de 8 horas. Knowles y col. (1999) reconocen una disminución significativa de los niveles de β -hidroxibutirato para aquellos animales transportados por menos de 24 horas.

Según Bustamante (2001), la disminución de β -hidroxibutirato es significativa en animales ayunados por 3 horas y aquellos que superaron las 24 horas. Schwerter (2001), indica una disminución significativa de las concentraciones de β -hidroxibutirato durante un periodo de transporte de 16 horas. Tadich y col. (2000), agregan que el transporte por 36 horas con o sin descanso, produce un alza significativa en los niveles de beta-hidroxibutirato.

Finalmente la concentración sanguínea de este cuerpo cetónico aumenta como respuesta a la falta de alimento durante el transporte y tardan unos días en regresar a los valores basales (Warris y col., 1995).

3.2.7. Creatinfosfoquinasa (CK, EC 2.7.3.2)

Esta es una de las enzimas celulares de uso clínico más específicas, se ubica en las células del músculo estriado y miocardio, y en menor proporción a nivel cerebral (Wittwer y Böhmwald, 1983). El valor sanguíneo promedio para esta especie en reposo oscila entre los 275 ± 136 U/I. (Oyarce, 2002)[?].

Esta es la enzima más frecuentemente usada en el suero, para la determinación de enfermedades neuromusculares en los animales domésticos. En el músculo, esta enzima funciona haciendo que el ATP sea mejor aprovechado en la contracción, por la fosforilación de ADP (Kaneko y col., 1997). Incrementos de CK se describen en animales que son transportados bajo características físicamente estresantes.

Holmes y col. (1973), indican que en casos de ayuno prolongado, en que se produce movilización de glucógeno, la actividad de CK aumenta. Del mismo modo Cockram y Corley (1991) y Tarrant y Grandin (1993), describen un aumento en los valores plasmáticos de CK debido a diferentes causas, como ayuno y ejercicio durante el proceso de transporte.

Tadich y col. (2000) y Bustamante (2001), encontraron aumentos de CK sanguíneos, tanto para los animales transportados por 36 horas como para los animales transportados por 3 y 16 horas, respectivamente. Asimismo, Schwerter (2001), encontró un aumento de esta enzima en bovinos transportados por 6 y 24 horas. Estos incrementos de CK se podrían explicar por la demanda física que determina el mantenimiento de la postura en un vehículo en movimiento, pero también se asocia con largos viajes que aumentan la fatiga del animal (Warris y col., 1995).

Basado en los antecedentes planteados y en la inquietud que reviste para el agricultor las deficientes prácticas de manejo, realizadas sobre los animales destinados a la elaboración de alimentos, se establece la siguiente hipótesis de trabajo.

3.3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

H_a: Los bovinos sometidos a dos tiempos de ayuno con y sin transporte terrestre presentan diferencias en las concentraciones y valores de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés.

3.4. OBJETIVOS

3.4.1. Objetivo general

?? Determinar el efecto de dos tiempos de ayuno, con y sin transporte terrestre, sobre las concentraciones y valores de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos.

[?] Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

3.4.2. Objetivos específicos

- ?? Determinar el efecto de un tiempo de 3 horas de ayuno, con y sin transporte terrestre, sobre las concentraciones sanguíneas de cortisol, hematocrito, leucocitos, glucosa, lactato, β -hidroxibutirato y creatinfosfoquinasa en novillos.

- ?? Determinar el efecto de un tiempo de 16 horas de ayuno, con y sin transporte terrestre, sobre las concentraciones sanguíneas de cortisol, hematocrito, leucocitos, glucosa, lactato, β -hidroxibutirato y creatinfosfoquinasa en novillos.

4. MATERIAL Y MÉTODO.

4.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en la provincia de Valdivia, en el mes de enero del 2002, bajo las condiciones que se exponen a continuación:

4.2. MATERIAL

Para la realización del experimento se usaron 60 novillos, con características similares en cuanto a raza (Frison Negro) edad (DL o 2D) y peso, aproximadamente 450 kilos de peso vivo (p/v).

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 cumplieran con los requisitos estipulados en la legislación vigente para transporte de ganado Ley N° 19.162 (Chile, 1993).

Se utilizaron corrales del predio, con piso de tierra, cercos de madera, sin bebederos ni comederos.

Además, se utilizaron antecedentes obtenidos en otro experimento realizado en el mes de julio del año 2001, en el mismo predio y bajo condiciones similares.

4.3. MÉTODO

En el predio de origen a todos los animales se les identificó por medio de un arete plástico con numeración correlativa, se les extrajo una muestra de sangre por venopunción coccígea y finalmente fueron pesados. Posteriormente se asignaron (aleatoreamente) en dos grupos de 30 novillos de similar peso promedio, a continuación cada uno de los grupos de 30 novillos fue distribuido al azar en dos nuevos grupos de 15 animales, denominándose G₁, G₂, H₁, H₂.

El grupo G₂ fue embarcado en un camión para transporte de ganado con una densidad de carga de aproximadamente 500 Kg/m², la cual es la habitualmente utilizada en Chile, posteriormente transportado por tres horas, con una distancia recorrida de aproximadamente 200 Km y sometidos a un período de restricción de consumo de alimento y agua, que para efectos de este estudio se conocerá como periodo de ayuno. El grupo G₁ actuó como control y se mantuvo confinado en el predio en condiciones similares a las de los animales transportados, en cuanto a tiempo, densidad y ayuno. Al término del tiempo de transporte y

una vez en el predio de origen, los animales de ambos grupos fueron sometidos a un segundo muestreo sanguíneo por venopunción coccígea y nuevamente pesados.

En el caso de los grupos H₁ y H₂, se llevó a cabo un procedimiento similar, al de los grupos anteriores, en el cual sólo varió el tiempo de transporte y de confinamiento en el predio el cual fue de 16 horas. (Figura 2). Ambos tratamientos se realizaron en el predio en forma paralela el mismo día y bajo similares condiciones de manejo.

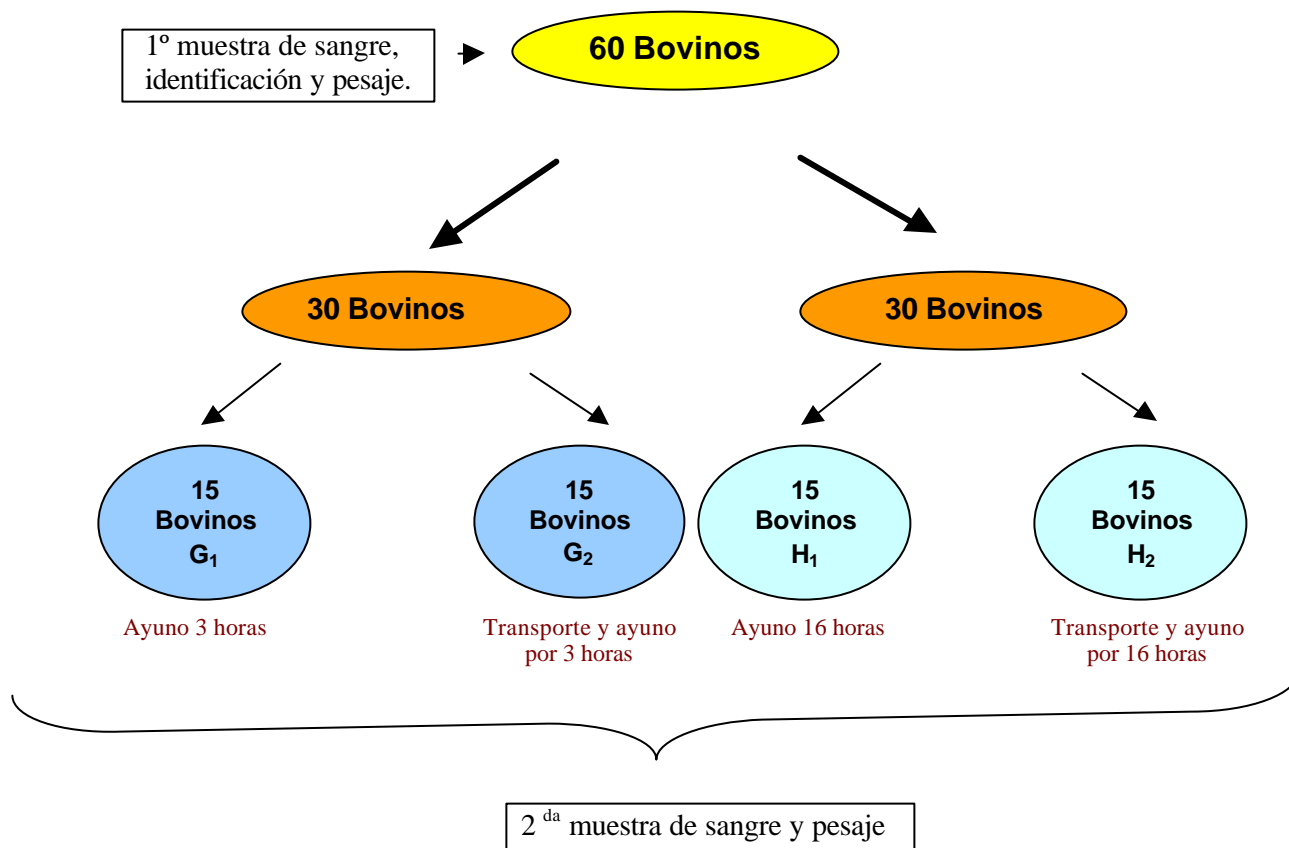


FIGURA 2. Distribución de los grupos de animales para la realización del estudio.

4.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SANGUÍNEAS

Para la medición de las diferentes variables sanguíneas, se utilizaron los siguientes métodos de laboratorio:

4.4.1. Determinación de la concentración sanguínea de cortisol.

Se utilizó tubos con heparina para la obtención de plasma, el cual fue congelado a -20°C y enviado a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción (Chile), donde se determinó la concentración de cortisol mediante radioinmunoensayo (RIA).

4.4.2.Determinación de hematocrito (VGA) y recuento de leucocitos.

La sangre obtenida fue colocada en tubos con heparina, y luego analizada con un contador hematológico Sysmex KX-21N, que requiere 50 uL de muestra y CellPack® como diluyente.

4.4.3.Determinación de la concentración sanguínea de glucosa.

La obtención de la sangre se realizó en tubos con NaF y la determinación por medio de la prueba para glucosa GOD-PAP, sin deproteinización (GL 2623, RANDOX®). La determinación de glucosa se efectúa después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona por catálisis de la peroxidasa, con fenol y 4-aminofenasona formando un color rojo violeta como indicador. Luego se midió la coloración utilizando un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche ®).

4.4.4.Determinación de la concentración sanguínea de lactato.

Para la obtención de la sangre se utilizó tubos con NaF y se aplicó la técnica de medición basada en el test UV enzimático (Boehringer Mannheim N° 149993). El método consiste en una reacción para transformar el lactato en piruvato, la cual produce peróxido de hidrógeno, luego éste es empleado para generar un colorante que es medido en un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche ®).

4.4.5.Determinación de la concentración sanguínea de β -hidroxibutirato.

Se utilizaron tubos heparinizados para la recolección de la sangre, para llevar a cabo la medición se aplicó la técnica enzimática que consiste en la oxidación de β -hidroxibutirato por medio del NAD⁺ (Nicotinamida adenin dinucleótido) mediante la enzima 3 HBDH (3-hidroxibutirato deshidrogenasa) a acetoacetato. La cantidad de NAD⁺ reducido se midió con un espectrofotómetro HITACHI 4020.

4.4.6.Determinación de la actividad plasmática de la creatínfosfoquinasa.

Para la obtención de sangre y posteriormente el plasma, se utilizaron tubos con heparina. La determinación se realizó mediante el método UV-cinético, a 340nm y 37°C, optimizado según la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Se emplearon reactivos Boenringer Mannheim (MPR 2 1442376) y un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche ®).

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos obtenidos en el experimento de invierno y en el de verano fueron unificados y los resultados se presentan como promedios y desviaciones estándar en tablas y gráficos utilizando estadística descriptiva. Se determinó la homoscedasticidad de las varianzas, cuando estas eran homogéneas las diferencias entre los promedios se calculó utilizando el test de “t” de Student. Cuando las varianzas no fueron homogéneas se aplicó el test de “t” modificado por Welch (Berenson y Levine, 1992). De esta forma se determinó las diferencias entre los valores iniciales y finales para cada variable y las diferencias entre los grupos G₁-G₂ y H₁-H₂. Se utilizó el programa computacional STATGRAPHICS Plus 2.0.

5. RESULTADOS

5.1. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CORTISOL.

5.1.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

No se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) entre los valores iniciales y finales tanto para los animales ayunados en el predio por 3 horas (G_1), como para los animales ayunados y transportados por este mismo periodo (G_2)(Tabla 1). Al comparar los valores iniciales y finales entre grupos, no se observaron diferencias significativas ($P>0,05$)(Gráfico 1).

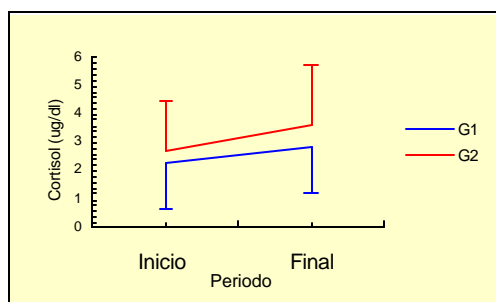


Gráfico 1. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de cortisol (ug/dL), para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).

5.1.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

Se observaron diferencias significativas ($P=0,05$) entre los valores iniciales y finales en el grupo de animales que permaneció en ayuno en el predio por 16 horas (H_1). Aquellos animales que fueron ayunados y transportados por este periodo (H_2) no mostraron diferencias significativas ($P>0,05$) (Tabla 2) (Anexo 2). Al comparar los valores iniciales y finales entre grupos, se observaron diferencias significativas sólo entre las muestras finales ($P=0,05$) (Gráfico 2).

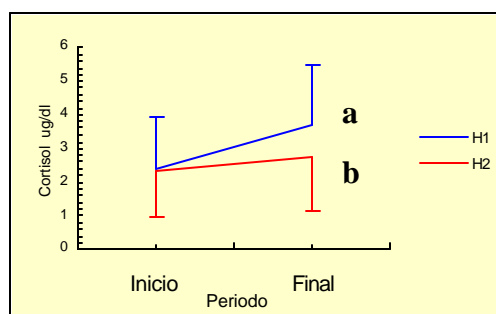


Gráfico 2. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de cortisol (ug/dL), para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).[?]

[?] Gráfico: Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre grupos

5.2. VALORES DE VGA

5.2.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores iniciales y finales de VGA, tanto para los animales ayunados en el predio por 3 horas (G_1) como para los animales ayunados y transportados por este mismo periodo (G_2) (Tabla 1) (Anexo 1). Al comparar los valores iniciales y finales de VGA entre ambos grupos, no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) (Gráfico 3).

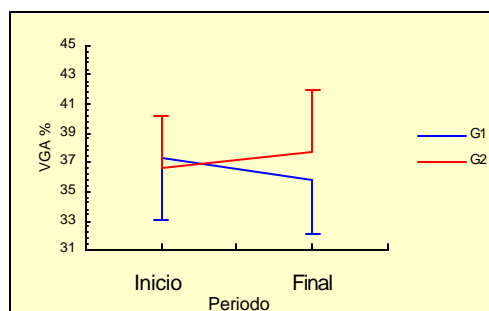


Gráfico 3. Valores promedio \pm D.E. de VGA (%), para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).

5.2.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores iniciales y finales tanto para los animales ayunados por 16 horas (H_1) como para los animales ayunados y transportados por este mismo periodo (H_2) (Tabla 2) (Anexo 2). Los valores finales del grupo con transporte (H_2) fueron significativamente mayores que los valores del grupo sin transporte (H_1) ($P = 0,05$) (Gráfico 4).

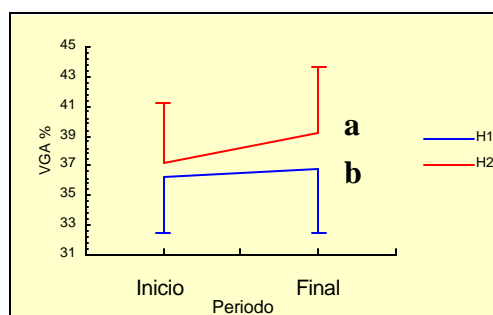


Gráfico 4. Valores promedio \pm D.E. de VGA (%), para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).[?]

[?] Gráfico: Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($P = 0,05$) entre grupos.

5.3. RECUENTO DE LEUCOCITOS.

5.3.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

Los valores iniciales y finales de los animales que permanecieron en ayuno en el predio por 3 horas (G_1), permanecieron constantes, mientras que aquellos animales que fueron ayunados y transportados por este mismo periodo (G_2) mostraron un aumento significativo en sus conteos celulares ($P=0,05$) (Tabla 1) (Anexo 1). Al comparar los valores iniciales y finales entre ambos grupos, se observan valores significativamente ($P=0,05$) mayores al término de las 3 horas para el grupo (G_2) (Gráfico 5).

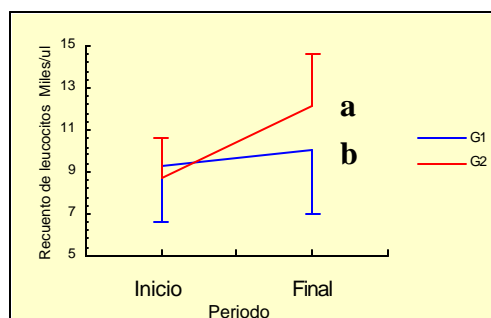


Gráfico 5. Valores promedio \pm D.E. del número de leucocitos (miles/ μ L), para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).[?]

5.3.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

No se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) entre los valores iniciales y finales de las muestras de sangre, tanto para aquellos animales ayunados por 16 horas (H_1), como para los animales ayunados y transportados por el mismo periodo (H_2) (Tabla 2) (Anexo 2). Del mismo modo no se observan diferencias al comparar los valores iniciales y finales entre ambos grupos ($P>0,05$) (Gráfico 6).

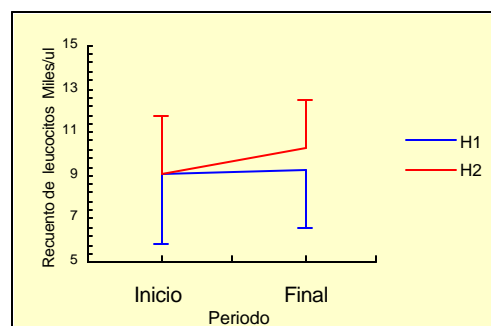


Gráfico 6. Valores promedio \pm D.E. del número de leucocitos (miles/ μ L), para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).

[?] Gráfico: Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($P=0,05$) entre grupos.

5.4. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE GLUCOSA

5.4.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

Ambos grupos aumentaron en forma significativa ($P=0,05$) sus concentraciones plasmáticas (Tabla 1) (Anexo 1); determinándose de esta manera que los valores del grupo con transporte (G_2) son significativamente más altos ($P=0,05$) que el grupo (G_1) al término del experimento (Gráfico 7).

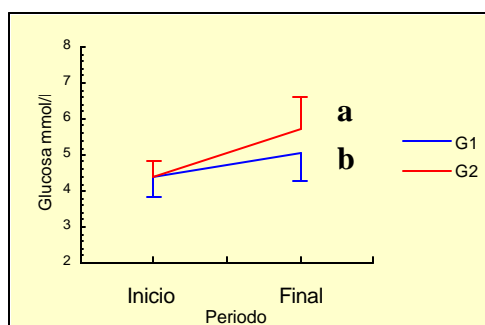


Gráfico 7. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/L) para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).[?]

5.4.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

Se observó un aumento significativo ($P=0,05$) entre los valores iniciales y finales tanto para los animales ayunados por 16 horas (H_1) como para los animales ayunados y transportados por 16 horas (H_2) (Tabla 2) (Anexo 2). Al comparar los valores iniciales y finales entre ambos grupos, se estableció que el grupo (H_2) presentó valores significativamente mayores ($P=0,05$) que el grupo (H_1) (Gráfico 8).

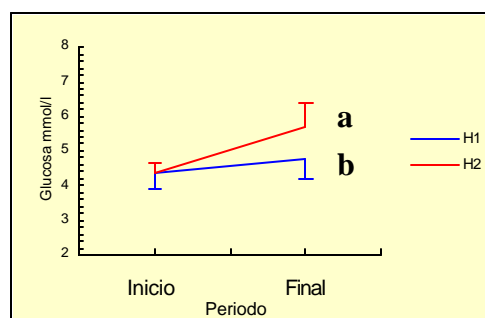


Gráfico 8. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/L) para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).*

[?] Gráfico: Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($P=0,05$) entre grupos.

5.5. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LACTATO

5.5.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

Se observó una disminución significativa ($P=0,05$) entre los valores de lactato iniciales y finales en aquellos animales que permanecieron en ayuno por 3 horas en el predio (G_1), en cambio aquellos animales que fueron ayunados y transportados (G_2) por el mismo periodo se mantuvieron constantes ($P>0,05$) (Tabla 1) (Anexo 1). Al comparar los valores iniciales y finales de lactato entre ambos grupos, se observó valores significativamente más altos entre las muestras finales ($P=0,05$) para el grupo (G_2) (Gráfico 9).

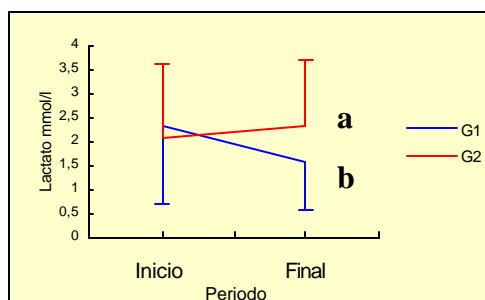


Gráfico 9. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de lactato (mmol/L) para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).[?]

5.5.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

No se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre los valores iniciales y finales de lactato en los animales ayunados por 16 horas en el predio (H_1), sin embargo sí se observó un aumento significativo ($P=0,05$), en los animales que fueron ayunados y transportados por 16 horas (H_2) (Tabla 2) (Anexo 2). Al comparar los valores iniciales y finales de lactato entre ambos grupos, se observan diferencias significativas entre las muestras iniciales ($P=0,05$), no así en los valores finales (Gráfico 10).

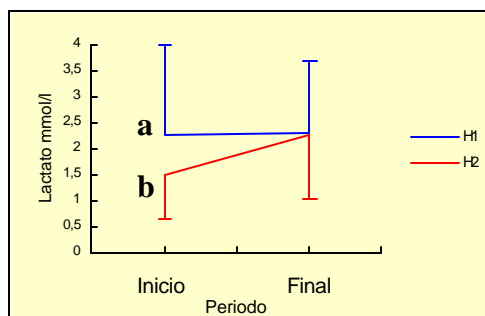


Gráfico 10. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de lactato (mmol/L) para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).[?]

[?] Gráfico: Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($P=0,05$) entre grupos.

5.6. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE β -HIDROXIBUTIRATO

5.6.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

No se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre los valores iniciales y finales de β -hidroxibutirato, tanto para aquellos animales ayunados por 3 horas (G_1), como para los animales ayunados y transportados por 3 horas (G_2) (Tabla 1) (Anexo 1). Al comparar los valores iniciales y finales de esta variable entre ambos grupos, no se observó diferencias significativas ($P>0,05$) (Gráfico 11).

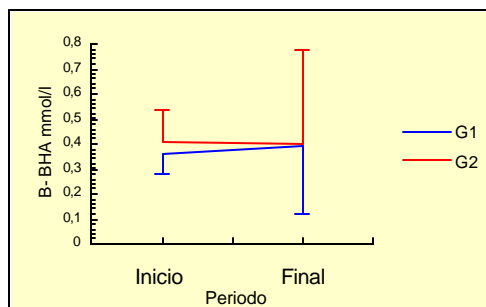


Gráfico 11. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de β -hidroxibutirato (mmol/L) para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).

5.6.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

Los valores de β -hidroxibutirato presentaron una disminución ($P=0,05$), tanto para el grupo ayunado por 16 horas (H_1) como para los animales ayunados y transportados por 16 horas (H_2) (Tabla 2) (Anexo 2). Al comparar los valores iniciales y finales de β -hidroxibutirato entre ambos grupos, no se observó diferencias significativas ($P>0,05$) (Gráfico 12).

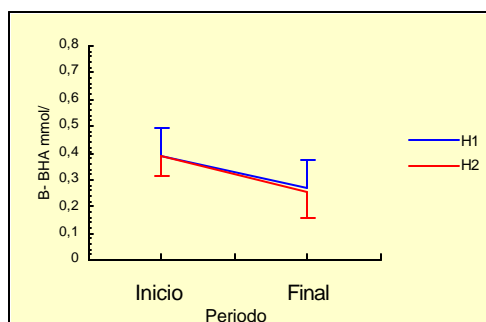


Gráfico 12. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de β -hidroxibutirato (mmol/L) para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).

5.7. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CREATINFOSFOQUINASA (CK)

5.7.1. Ayuno y ayuno más transporte por 3 horas

Al comparar los valores iniciales y finales de CK, tanto para aquellos animales ayunados por 3 horas (G_1), como para los animales ayunados y transportados por 3 horas (G_2) se observó un aumento significativo en ambos casos ($P=0,05$) (Tabla 1) (Anexo 1). Al comparar los valores iniciales y finales entre ambos grupos, no se observó diferencias significativas ($P>0,05$) (Gráfico 13).

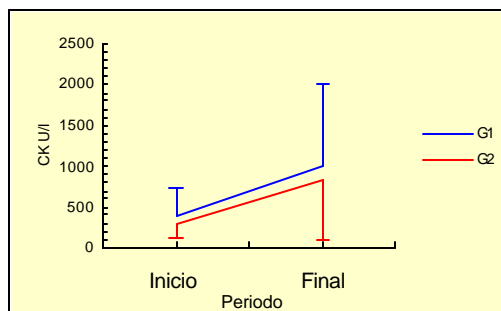


Gráfico 13. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de CK (mmol/L) para animales con ayuno durante 3 horas (G_1) y ayuno + transporte por 3 horas (G_2).

5.7.2. Ayuno y ayuno más transporte por 16 horas

Se observó un aumento significativo ($P=0,05$) sólo para el grupo que permaneció en ayuno por 16 horas en el predio (H_1), no así en aquellos animales que fueron ayunados y transportados por 16 horas (H_2) ($P>0,05$) (Tabla 2) (Anexo 2). Al comparar los valores iniciales y finales entre ambos grupos, no se observó diferencias significativas ($P>0,05$) (Gráfico 14).

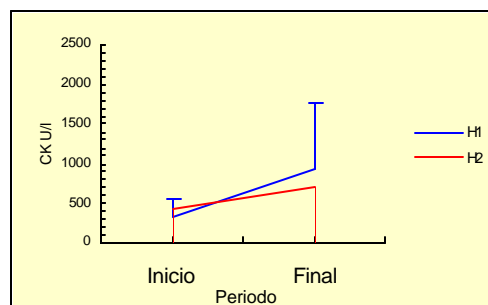


Gráfico 14. Valores promedio \pm D.E. de las concentraciones plasmáticas de CK (mmol/L) para animales con ayuno durante 16 horas (H_1) y ayuno + transporte por 16 horas (H_2).

6. DISCUSIÓN

6.1. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CORTISOL

Los resultados obtenidos en los animales sometidos a un ayuno y ayuno asociado al transporte por 3 horas (Tabla 1) (Anexo1), indican que no influenciaron las concentraciones plasmáticas de cortisol en forma significativa ($P>0,05$); siendo similar a lo reportado por Galyean y col. (1981), quienes señalaron que las concentraciones de cortisol no son afectadas por los diferentes tiempos de ayuno y transporte a que son sometidos los animales. Sin embargo, estos resultados discrepan con los establecidos por Warris y col. (1995), los cuales al transportar animales por 5 horas y Alvarado (1999) y Schwerter (2001), al realizarlo por un periodo de 3 horas encontraron aumentos significativos para esta variables ($P? 0,05$).

Esta tendencia al alza no significativa ($P>0,05$), encontrada en el grupo (G_1), se explica porque teóricamente un estímulo como el ayuno, no sería lo suficientemente fuerte para provocar la activación del eje hipotálamo-adrenal y de esta manera elevar en forma sustancial los niveles de cortisol circulantes. De acuerdo con Warris y col. (1995), el transporte es un factor provocador de estrés, especialmente en el proceso de arreo, carga e inicios de éste, lo cual se observa ya al comparar los valores iniciales de estos animales con los obtenidos por Oyarce (2002)[?], en animales en reposo. Cole y col. (1988), señalan que el estrés causado por el transporte más que el estrés causado por el ayuno, alteran los constituyentes sanguíneos, como las concentraciones de cortisol. Sin embargo en este experimento no se observaron diferencias significativas entre los grupos (Gráfico 1), por lo que se podría inferir que tanto el ayuno asociado al el transporte (G_2), como la forma en que fueron confinados y ayunados los animales en el predio (G_1) no fueron estímulos suficientemente intensos para producir un estado de estrés en los animales.

El aumento significativo ($P? 0,05$), obtenido en los animales sometidos al periodo de ayuno en el predio por 16 horas (H_1) (Tabla 2) (Anexo 2), fue inesperado. Una posible explicación para este suceso estaría basada en que estos animales fueron manejados en forma más estresante, previo al momento de la segunda obtención de sangre y no necesariamente este resultado correspondería al estrés provocado por el periodo de ayuno al cual fueron sometidos. Esto concordaría con lo descrito por Mitchell y col. (1988); quienes señalan que los niveles de cortisol se elevan en forma significativa posterior a los procedimientos de manejo como arreo y toma de muestras. Por otra parte, el leve aumento observado en el grupo transportado (G_2), se atribuiría a la existencia de una adaptación de los animales al proceso de transporte que es descrito por Warris y col. (1995) y Kent y Ewbank (1983), en el cual los

[?] Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

niveles de cortisol en animales transportados por largos periodos de tiempo descienden hasta alcanzar sus valores iniciales.

Es importante destacar que en todos los grupos sometidos al experimento, los valores iniciales de cortisol se encontraban por sobre los valores reportados por Oyarce (2002)² en novillos en reposo, por lo que es probable que el manejo previo realizado con ellos, ya sea la segregación de grupos, arreo y toma de muestras sanguíneas, provocó un grado de estrés.

6.2. VALORES DE VGA

Los animales que permanecieron en ayuno (G_1), tendieron a la disminución en los valores de VGA, la que estaría determinado por un valor porcentual alto en la toma de muestra inicial, la cual probablemente, en términos de manejo, fue más estresante que la toma de muestra final. Mitchell y col. (1998), indicaron que los valores de VGA son significativamente mayores en animales sometidos a un manejo estresante durante la obtención de sangre vía punción yugular dentro de una manga. Este mismo autor explica que este procedimiento produciría la liberación de catecolaminas, producto de la activación de la médula adrenal por vía nerviosa y la consecuente contracción esplénica que da origen a un aumento de los eritrocitos circulantes provocando una elevación en los valores VGA.

Los animales sometidos al período de transporte de 3 horas (G_2) presentaron una tendencia al aumento ($P>0,05$) en sus valores porcentuales, esto coincide con lo encontrado por Alvarado (1999) y Schwerter (2001), en animales sometidos a un periodo de transporte similar y discrepa con lo encontrado por Warris y col. (1995) y Bustamante (2001) que reportan un leve descenso no significativo en animales transportados por 5 y 3 horas respectivamente. Este aumento también se debería fundamentalmente al efecto vasoconstrictor del bazo mediado por las catecolaminas liberadas en estados de estrés.

Al comparar ambos grupos sometidos, tanto en sus muestras iniciales como finales, no se observaron diferencias significativas (Gráfico 3). Esto indicaría que en este estudio, el transporte durante 3 horas no fue más estresante que el mantener los animales confinados por un periodo similar de tiempo.

Las diferencias significativas ($P=0,05$) (Gráfico 4) encontradas posterior a las 16 horas entre los valores finales de VGA, entre ambos grupos, asociado con los valores superiores en los animales ayunados y transportados (H_2), indican que el transporte por este periodo de tiempo sí tendría un efecto más estresante que sólo el periodo de ayuno. Esto sería similar a lo encontrado por Knowles y col. (1997) y Alvarado (1999), quienes reportaron incrementos de carácter significativo en animales transportados por más de 12 horas y difiere con lo encontrado por Warris y col. (1995), quienes describen una disminución de estos valores al transportar animales por 5, 10 y 15 horas. Este aumento podría deberse 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

² Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

Grandin, 1993), provocando deshidratación y la consecuente salida del líquido del compartimiento vascular (Knowles y col., 1997), liberación de eritrocitos por la contracción esplénica (Warris y col., 1995), presencia de catecolaminas circulantes, producidas por el ayuno y falta de ingestión de agua, indicadas por Mitchell y col. (1988) y finalmente la presencia de glucocorticoides que inducen un proceso de diuresis inhibiendo la actividad de la vasopresina (Cunningham, 1999).

6.3. RECUENTO DE LEUCOCITOS

El aumento significativo de leucocitos circulantes (Tabla1) (Anexo1), encontrado en los animales sometidos a 3 horas de ayuno y transporte (G_2), coincide con lo encontrado por Kent y Ewbank (1983), al transportar animales por un periodo de 6 horas y Kannan y col. (2000) quienes describen un resultado similar al transportar cabras por un periodo 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, provocado por 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. Basado en esta información, el transporte sería un factor desencadenante, para el aumento de los niveles de adrenalina, provocando consigo un aumento en los conteos de leucocitos.

Las diferencias significativas encontradas para los valores finales de leucocitos entre los grupos (Gráfico 5), indicarían que el proceso de transporte fue un evento más estresante que sólo el periodo de ayuno, lo cual provoca una mayor liberación de catecolaminas.

Debido a que no se encontraron diferencias significativas entre los valores iniciales y finales de los leucocitos (Tabla2) (Anexo2), para el grupo ayunado (H_1) y ayunado y transportado (H_2), se podría asumir 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.

6.4. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE GLUCOSA

El aumento significativo de los valores de glucosa (Tabla 1) (Anexo 1) observado tanto para ayunados y transportados por 3 horas, coincide con lo reportado por Mitchell y col. (1988) y Warris y col. (1995), al transportar animales por 2, 5, 10 y 15 horas; Tadich y col. (1999) al transportar animales por 3, 6, 12 y 24 horas y Bustamante (2001) y Schwerter (2001) al realizarlo por periodos de 3 y 16 horas. Por el contrario, Crookshank y col. (1979), encontraron que un período de transporte y ayuno de hasta 12 horas no afecta los niveles de glucosa sanguínea. Esto se debe a que periodos cortos de ayuno producen hipoglucemia, el cual es el principal factor liberador de catecolaminas, que promueven la glucólisis y gluconeogénesis (Cunningham, 1999). De esta misma forma Shaw y Tume (1992), explican que el alza de glucosa sanguínea en animales transportados sería producto de los

glucocorticoides liberados, asociados con las catecolaminas los cuales estimulan los procesos antes descritos.

Al comparar los valores finales de glucosa en este experimento (Gráfico 7), se observan diferencias significativas ($P \leq 0,05$), siendo los valores mas altos para los animales que fueron expuestos al periodo de transporte (G_2). Esto sería atribuible a que el ayuno sumado con el transporte, sería más estresante promoviendo en mayor medida la glucólisis y gluconeogénesis.

En el experimento de 16 horas, las concentraciones plasmáticas de glucosa presentaron resultados similares (Tabla 2) (Anexo2) a las del experimento de 3 horas; por lo cual se puede inferir que la percepción del estímulo tanto de ayuno (H_1) como de ayuno más transporte (H_2) sería similar a las descritas anteriormente.

6.5. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE LACTATO

Teniendo en consideración que ambos grupos (G_1) y (G_2), presentaron valores en sus muestras iniciales, por sobre los resultados obtenidos por Oyarce (2002)[?] en novillos en reposo. Se puede asumir que los niveles de lactato aumentaron rápidamente producto del ejercicio físico provocado por el arreo y manipulación en la manga para la toma de muestras. Esto es similar a lo encontrado por Mitchell y col. (1988), que describieron que las concentraciones de lactato aumentaban posterior a manejos como arreo y entrada a corrales, comparados con animales a los cuales no se les realizó este manejo.

Gregory (1998), señala que durante tiempos cortos de ejercicio físico y estados de estrés, aumenta la adrenalina circulante, produciendo una degradación del glucógeno muscular y consecuentemente los valores de lactato aumentarían. Aparentemente el periodo de encierro, al que fue sometido el grupo (G_1) permitió el descanso de los animales, con el consecuente retorno de los valores de lactato a los niveles basales descritos por Oyarce (2002)*. Por el contrario, los animales del grupo (G_2) los niveles de lactato permanecieron elevados debido al estrés producido tanto por proceso de carga como por el ejercicio muscular provocado por la mantención de la postura y equilibrio durante el transporte.

Las diferencias significativas (Gráfico 10) encontradas entre las muestras iniciales, para el experimento de 16 horas, indicarían que esta enzima se altera fácilmente en estados de estrés físico, como son el arreo y toma de muestras, de esta manera se podría inferir que el grupo (H_1), fue manejado en forma más estresante que el grupo (H_2) lo cual tendría una explicación similar a la realizada en el experimento de transporte y ayuno por 3 horas.

El transporte durante 16 horas provocó un aumento significativo en el grupo (H_2), esto coincide con lo indicado por Warris y col. (1995), que describen valores marcadamente altos en animales transportados por periodos de 10 y 15 horas. Además Cole y col. (1988), indicaron que la duración del transporte aumenta en forma significativa la actividad del lactato

[?] Memoria de Título en ejecución; Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile.

muscular. La explicación para este fenómeno estaría basada en que la mantención de la postura y equilibrio durante el transporte lo cual es un evento estresante para los animales (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 (Harper, 1994)

Es importante destacar que en todos los grupos sometidos a los diferentes periodos de ayuno y transporte, tanto de 3 como de 16 horas, los niveles de glucosa asociados presentan un aumento de carácter significativo, con lo cual la conversión de glucosa a lactato se vería beneficiada y aumentaría cuando el músculo presenta deficiencia de oxígeno y ejercicio prolongado (Gregory, 1998).

6.6. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS β - HIDROXIBUTIRATO

La poca variación ($P > 0,05$), encontrada en los grupos y entre los grupos (G_1) y (G_2), (Tabla 1) (Anexo 1) indicarían que las concentraciones plasmáticas de este cuerpo cetónico no serían afectadas por los cortos periodos, tanto de ayuno, como de ayuno y transporte, lo cual indicaría que el β - hidroxibutirato no sería un buen indicador de estrés agudo. Esto concuerda con lo indicado por Vernon (1980), citado por Bustamante (2001), en que la privación de alimentos por un corto periodo de tiempo sería contrarrestado por el rumen, necesitándose varios días para alcanzar un estado de ayuno.

Tanto los animales ayunados (H_1), como los ayunados y transportados (H_2), por 16 horas, presentaron una disminución significativa (Tabla 2) (Anexo 2) en sus valores sanguíneos. Esto coincide con lo reportado por Alvarado (1999), transportando animales por 12 y 24 horas; Bustamante (2001) y Schwerter (2001), transportando animales por periodos similares a este experimento. Por el contrario, estos resultados difieren con lo señalado por Knowles y col. (1997), los cuales al transportar animales por 8, 16 y 24 horas, encontraron que las concentraciones sanguíneas de β - hidroxibutirato aumentaban durante el transporte y ayuno prolongado. De acuerdo con Alvarado (1999), hasta las 24 horas, a medida que aumenta el tiempo de ayuno con y sin transporte, los niveles de β - hidroxibutirato, presentarían una fuerte tendencia a la baja que estaría dado porque los individuos harían uso del "pool" circulante de β - hidroxibutirato, el cual es aportado por el β - hidroxibutirato ruminal.

El hecho de que los valores finales entre los grupos no presenten diferencias significativas (Gráfico 11 y 12), nos indicaría que el proceso de ayuno al que fueron sometidos ambos grupos los afecto de similar manera y que el transporte no tendría un efecto sobre esta variable.

6.7. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CREATINFOSFOQUINASA (CK).

Los valores promedio de esta variable aumentaron significativamente (Tabla 1) (Anexo 1), tanto para los animales ayunados (G_1), como para los ayunados y transportados (G_2) por 3 horas. Esto coincide con lo encontrado por Alvarado (1999); Bustamante (2001) y Schwerter (2001), al transportar animales por periodos de 6 , 12 , 16 y 24 horas. Tarrant y Grandin,

(1993) reportan que al existir un aumento en la actividad muscular se producen elevaciones en las concentraciones plasmáticas de CK, donde esta enzima es liberada desde el músculo por un aumento en la permeabilidad de la membrana celular. Warris y col. (1995), agregan que los aumentos de esta enzima en la circulación sanguínea, a medida que se aumenta el tiempo de transporte, serían atribuibles al esfuerzo realizado por los animales para mantenerse en pie durante el periodo de transporte o confinamiento.

El incremento significativo (Tabla 2) (Anexo 2) en los valores de CK en los animales que permanecieron en el predio (H₁) durante 16 horas, 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. Además, cuando existen casos de movilización de glicógeno asociado a estrés producto de prolongados tiempos de ayuno, se produciría una mayor liberación de CK, al plasma sanguíneo, aumentando los niveles de este. Los valores finales menores de CK, encontrados para los ayunados y transportados por 16 horas, se justificarían porque las concentraciones más altas de CK, se alcanzarían entre las 2 a 12 horas posteriores al daño muscular (Holmes y col., 1973), de esta manera, en este experimento los niveles mas altos de esta variable, probablemente no fueron detectados, porque la muestra final fue tomada al final de un periodo de 16 horas de transporte.

7. CONCLUSIONES

- * Bajo las condiciones experimentales utilizadas se acepta la hipótesis de que los bovinos sometidos a dos tiempos de ayuno con y sin transporte terrestre presentan diferencias en las concentraciones y valores de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés.
- * El ayuno más transporte por un periodo de 3 horas produjo aumentos significativos del número de leucocitos circulantes y las concentraciones plasmáticas de glucosa, comparados con aquellos que sólo ayunaron por este periodo de tiempo.
- * El ayuno más el transporte por un periodo de 16 horas produjo aumentos significativos en las concentraciones plasmáticas de glucosa y valores de VGA, al compararlos con aquellos animales que sólo ayunaron durante este periodo de tiempo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO, M. A. 1999.** Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés por transporte en bovinos. Tesis, M.V. , Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Chile.
- BERENSON, M.; D. LEVINE. 1992.** Estadística basada en administración. Conceptos y aplicaciones. Prentice Hall Hispanoamericana. México.
- 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. Chile.
- CABALLERO, S.C.; H.S. SUMANO. 1993.** Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med.Vet.*,25: 15-30.
- CHILE. 1992. Ley 19.162.** Establece sistema obligatorio de clasificación de ganado, tipificación y nomenclatura de sus carnes y regula funcionamientos de mataderos, frigoríficos y establecimientos de la industria de la carne. Publicada en el Diario Oficial 7 de Septiembre de 1992.
- 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.
- COCKRAM, M.S.; K.T.T. CORLEY. 1991.** Effect of pre-slaughter handling on the behaviour and blood composition of beef cattle. *Br. Vet. J.*, 147: 44-454.
- 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.
- CRUZ, C.; L. VARGAS. 1998.** Estrés, entenderlo es manejarlo. Editorial Mediterráneo. Santiago , Chile.

- CUNNINGHAM, J.G. 1999.** Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana McGraw-Hill 2ª Edición. México.
- DANTZER, R.; P. MORMÉDE. 1984.** El estrés en la cría intensiva del ganado. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- FELIG, P.; J. BOXTER; A. BROADUS; L. FROHMAN. 1983.** Endocrinología y metabolismo. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México.
- 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. Vol. 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. Pág.: 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.
- 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.
- HARPER, 1994.** Bioquímica de Harper. Ed. Manual moderna.
- HERVÉ, M. 1991.** Apuntes de Zootecnia General. Serie apuntes N°2. Instituto de Zootecnia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- HOLMES, J.H.G.; C.R. ASHMORE; D.W. ROBINSON. 1973.** Effects of stress on cattle with hereditary muscular hypertrophy. *J. Anim. Sci.*, 36 (4): 684-694.
- HORTON, THE LATE 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.
- 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.

- KANEKO, J; J. HARVEY; M. BRUSS. 1997.** Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 5 Edición. Academic Press. San Diego. U.S.A.
- 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.; P.D. WARRISS; S.N BROWN; J.E. EDWARDS. 1999.** Effect on cattle of transportation by road for up to 31 hours. *Vet. Rec.*, 145:575-582.
- KNOWLES, T.G. 1999.** A review of the road transport of cattle. *Vet. Rec.*, 144: 197-201.
- 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.
- NAVARRO, R.; I.E. BELTRAN. 1984.** Diccionario terminológico de Ciencias Médicas. 12 Ed. Salvat. Barcelona. España.
- PUMARINO, H.; G. PINEDA. 1980.** Hipotálamo e Hipófisis. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile.
- RADOSTITS, O.M.; C.C. GAY; D.C. BLOOD; K.W. HINCHCLIFF. 2000.** Veterinary Medicine; A textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9 ed. W.B. Saunders Company, London. England.
- 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. 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.
- STEIN, C. 2001.** Opioides en el control del dolor. Editorial Masson. Barcelona. España.

- 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. Pág.: 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.
- 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 brusing 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.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.
- WITTWER, F.; H. BÖHMWALD. 1983.** Manual de Patología Clínica Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile.

9. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 1. Promedios, desviación estándar y significación estadística para las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, β – HBA, lactato, CK y valores de VGA y leucograma, para los animales ayunados por 3 horas y ayunados y transportados por 3 horas. [?]

| | Valor Inicial | Valor Final | Significación Estadística |
|--|--|--|----------------------------------|
| Cortisol (ug/dl) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 2,32 \pm 1,67 a | 2,82 \pm 1,58 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 2,73 \pm 1,72 a | 3,61 \pm 2,16 a | n.s |
| VGA (%) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 37,33 \pm 4,28 a | 35,82 \pm 3,81a | n.s |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 36,59 \pm 3,67 ^a | 37,72 \pm 4,19 a | n.s |
| Glucosa (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 4,35 \pm 0,53 a | 5,06 \pm 0,78 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 4,35 \pm 0,45 a | 5,69 \pm 0,89 b | $\leq 0,05$ |
| β – HBA (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 0,36 \pm 0,08 a | 0,39 \pm 0,27 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 0,41 \pm 0,12 a | 0,40 \pm 0,38 a | n.s |
| Lactato (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 2,31 \pm 1,58 a | 1,60 \pm 1,01 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 2,11 \pm 1,50 a | 2,33 \pm 1,39 a | n.s |
| Leucograma (miles/ul) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 9,27 \pm 2,64 a | 10,04 \pm 3,05 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 8,77 \pm 1,83 a | 12,13 \pm 2,48 b | $\leq 0,05$ |
| CK (U/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 3 horas (G ₁) | 391 \pm 356 a | 1.014 \pm 1.017 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 3 horas (G ₂) | 295 \pm 176 a | 839 \pm 740 b | $\leq 0,05$ |

* Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas (p=0,05) entre muestras.

* n.s. Sin significación estadística.

ANEXO 2

Tabla 2. Promedios, desviación estándar y significación estadística para las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, β – HBA, lactato, CK y valores de VGA y leucograma, para los animales ayunados por 16 horas y ayunados y transportados por 16 horas.[?]

| | Valor Inicial | Valor Final | Significación Estadística |
|---|--|--|----------------------------------|
| Cortisol (ug/dl) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 2,43 \pm 1,54 a | 3,71 \pm 1,78 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 2,34 \pm 1,37 a | 2,75 \pm 1,61 a | n.s |
| VGA (%) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 36,27 \pm 3,86 a | 36,82 \pm 4,37 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 37,17 \pm 3,99 a | 39,17 \pm 4,49 a | n.s |
| Glucosa (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 4,33 \pm 0,41 a | 4,78 \pm 0,55 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 4,36 \pm 0,32 a | 5,70 \pm 0,68 b | $\leq 0,05$ |
| β – HBA (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 0,39 \pm 0,10 a | 0,27 \pm 0,10 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 0,39 \pm 0,08 a | 0,25 \pm 0,09 b | $\leq 0,05$ |
| Lactato (mmol/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 2,26 \pm 1,73 a | 2,30 \pm 1,38 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 1,50 \pm 0,85 a | 2,25 \pm 1,21 b | $\leq 0,05$ |
| Leucograma (miles/ul) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 9,09 \pm 3,24 a | 9,24 \pm 2,66 a | n.s |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 9,05 \pm 2,73 a | 10,25 \pm 2,23 a | n.s |
| CK (U/l) | Promedio \pm (D.E) | Promedio \pm (D.E) | |
| Ayuno por 16 horas (H ₁) | 337 \pm 225 a | 922 \pm 857 b | $\leq 0,05$ |
| Ayuno y transporte por 16 horas (H ₂) | 432 \pm 427 a | 706 \pm 687 a | n.s |

* Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas (p=0,05) entre muestras.

* n.s. Sin significación estadística.

ANEXO 3

Tabla 3. Diferencias entre grupos para sus promedios más desviación estándar y significación estadística en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, β – HBA, lactato, CK y valores de VGA y leucograma, para los animales ayunados por 3 horas y ayunados y transportados por 3 horas. [?]

| Cortisol (ug/dl) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
|--|---|--|----------------------------------|
| Valor Inicial | 2,32 \pm 1,67 a | 2,73 \pm 1,72 a | n.s |
| Valor Final | 2,82 \pm 1,58 a | 3,61 \pm 2,16 a | n.s |
| VGA (%) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 37,33 \pm 4,28 a | 36,59 \pm 3,67 a | n.s |
| Valor Final | 35,82 \pm 3,81 a | 37,72 \pm 4,19 a | n.s |
| Glucosa (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 4,35 \pm 0,53 a | 4,35 \pm 0,45 a | n.s |
| Valor Final | 5,06 \pm 0,78 a | 5,69 \pm 0,89 b | \leq 0,05 |
| β – HBA (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 0,36 \pm 0,08 a | 0,41 \pm 0,12 a | n.s |
| Valor Final | 0,39 \pm 0,27 a | 0,40 \pm 0,38 a | n.s |
| Lactato (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 2,31 \pm 1,58 a | 2,11 \pm 1,50 a | n.s |
| Valor Final | 1,60 \pm 1,01 a | 2,33 \pm 1,39 b | \leq 0,05 |
| Leucograma (miles/ul) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 9,27 \pm 2,64 a | 8,77 \pm 1,83 a | n.s |
| Valor Final | 10,04 \pm 3,05 a | 12,13 \pm 2,48 b | \leq 0,05 |
| CK (U/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 391 \pm 356 a | 295 \pm 176 a | n.s |
| Valor Final | 1.014 \pm 1.017 a | 839 \pm 740 a | n.s |

* Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas (p=0,05) entre grupos.

* n.s. Sin significación estadística.

ANEXO 4

Tabla 4. Diferencias entre grupos para sus promedios más desviación estándar y significación estadística en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, β – HBA, lactato, CK y valores de VGA y leucograma, para los animales ayunados por 16 horas y ayunados y transportados por 16 horas.

| Cortisol (ug/dl) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
|--|---|--|----------------------------------|
| Valor Inicial | 2,43 \pm 1,54 a | 2,34 \pm 1,37 a | n.s |
| Valor Final | 3,71 \pm 1,78 a | 2,75 \pm 1,61 b | $\leq 0,05$ |
| VGA (%) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 36,27 \pm 3,86 a | 37,17 \pm 3,99 a | n.s |
| Valor Final | 36,82 \pm 4,37 a | 39,17 \pm 4,49 b | $\leq 0,05$ |
| Glucosa (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 4,33 \pm 0,41 a | 4,36 \pm 0,32 a | n.s |
| Valor Final | 4,78 \pm 0,55 a | 5,70 \pm 0,68 b | $\leq 0,05$ |
| β – HBA (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 0,39 \pm 0,10 a | 0,39 \pm 0,08 a | n.s |
| Valor Final | 0,27 \pm 0,10 a | 0,25 \pm 0,09 a | n.s |
| Lactato (mmol/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 2,26 \pm 1,73 a | 1,50 \pm 0,85 b | $\leq 0,05$ |
| Valor Final | 2,30 \pm 1,38 a | 2,25 \pm 1,21 a | n.s |
| Leucograma (miles/ul) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 9,09 \pm 3,24 a | 9,05 \pm 2,73 a | n.s |
| Valor Final | 9,24 \pm 2,66 a | 10,25 \pm 2,23 a | n.s |
| CK (U/l) | Ayuno por 3 horas (G₁). Prom \pm D.E | Ayuno y transporte por 3 horas (G₂). Prom \pm D.E | Significación estadística |
| Valor Inicial | 337 \pm 225 a | 432 \pm 427 a | n.s |
| Valor Final | 922 \pm 857 a | 706 \pm 687 a | n.s |

* Letras diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas (p=0,05) entre grupos.

* n.s. Sin significación estadística.

ANEXO 5

Tabla 5. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos antes del periodo de ayuno por 3 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| Nº Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 3 | 4,42 | 33,1 | 0,53 | 4,56 | 623 | 2,21 | 10,0 |
| 18 | 1,70 | 35,8 | 0,43 | 4,96 | 163 | 5,47 | 8,0 |
| 23 | 2,94 | 43,0 | 0,24 | 3,79 | 1482 | 3,54 | 11,2 |
| 24 | 1,98 | 35,5 | 0,30 | 4,45 | 132 | 0,88 | 13,2 |
| 25 | 1,12 | 36,5 | 0,30 | 4,28 | 166 | 1,04 | 5,2 |
| 27 | 0,94 | 42,8 | 0,27 | 4,35 | 188 | 1,69 | 7,6 |
| 32 | 1,47 | 47,3 | 0,29 | 4,10 | 221 | 1,78 | 8,4 |
| 40 | 0,94 | 43,4 | 0,28 | 3,76 | 149 | 4,86 | 12,0 |
| 49 | 0,94 | 38,1 | 0,33 | 4,27 | 180 | 1,45 | 7,6 |
| 51 | 1,10 | 41,0 | 0,47 | 3,64 | 200 | 1,54 | 12,4 |
| 52 | 0,94 | 39,7 | 0,48 | 4,04 | 271 | 0,63 | 16,4 |
| 55 | 4,91 | 40,3 | 0,43 | 3,68 | 637 | 1,14 | 6,0 |
| 58 | 1,19 | 40,4 | 0,47 | 4,20 | 250 | 0,79 | 8,8 |
| 59 | 0,94 | 36,6 | 0,47 | 2,86 | 213 | 0,71 | 10,0 |
| 60 | 1,15 | 37,6 | 0,29 | 4,21 | 166 | 0,77 | 11,2 |
| 91 | 0,9 | 33,1 | 0,45 | 4,66 | 1406 | 2,95 | 9,2 |
| 92 | 0,69 | 30,7 | 0,26 | 4,60 | 188 | 0,97 | 8,8 |
| 94 | 1,72 | 33,2 | * | 4,67 | * | 2,30 | 12,4 |
| 95 | 2,02 | 36,7 | 0,30 | 5,14 | 223 | 4,07 | 10,4 |
| 102 | 1,93 | 30,9 | 0,33 | 3,95 | 242 | 1,57 | 11,6 |
| 108 | 2,08 | 38,2 | 0,45 | 5,14 | 310 | 5,94 | 5,8 |
| 110 | 2,21 | 32,4 | 0,36 | 4,25 | 222 | 1,23 | 6,6 |
| 111 | 1,67 | 39,7 | 0,40 | 4,55 | 324 | 4,22 | 8,8 |
| 112 | 4,47 | 38,9 | 0,33 | 4,60 | 547 | 2,24 | 5,4 |
| 123 | 2,74 | 30,4 | 0,29 | 4,63 | 234 | 1,53 | 10,6 |
| 128 | 1,54 | 40,0 | 0,39 | 3,99 | 455 | 1,11 | 8,1 |
| 131 | 5,03 | 37,5 | 0,26 | 4,54 | 541 | 3,81 | 5,7 |
| 136 | 6,55 | 30,5 | 0,24 | 4,53 | 195 | 1,42 | 11,2 |
| 145 | 6,39 | 35,7 | 0,47 | 5,61 | 1082 | 2,30 | 7,6 |
| 146 | 3,17 | 41,1 | 0,33 | 4,52 | 329 | 5,28 | 8,1 |

ANEXO 6

Tabla 6. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos posterior al periodo de ayuno por 3 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| Nº Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 3 | 4,49 | 34,0 | 0,63 | 5,76 | 188 | 0,72 | 8,8 |
| 18 | 3,68 | 33,0 | 0,48 | 4,93 | 195 | 1,70 | * |
| 23 | 3,03 | 41,0 | 0,37 | 5,56 | 438 | 1,40 | 10,8 |
| 24 | 4,55 | 35,0 | 0,41 | 5,03 | 152 | 1,35 | 17,6 |
| 25 | 2,41 | 34,0 | 0,47 | 3,16 | 155 | 0,94 | 5,6 |
| 27 | 4,60 | 39,0 | 0,32 | * | 268 | 1,94 | 8,8 |
| 32 | 2,99 | 45,0 | 0,26 | 4,33 | 644 | 4,50 | 5,6 |
| 40 | 1,61 | 39,0 | 0,23 | 5,28 | 196 | 2,05 | 12,8 |
| 49 | 0,94 | 31,0 | 0,36 | 5,03 | 272 | 0,53 | 6,0 |
| 51 | 6,79 | 39,0 | 0,38 | 5,66 | 321 | 1,56 | 8,8 |
| 52 | 4,12 | 37,0 | 1,77 | 3,03 | 302 | 0,99 | 8,4 |
| 55 | 1,95 | 37,0 | 0,25 | 5,61 | 3386 | 0,82 | 7,2 |
| 58 | 2,57 | 34,0 | 0,39 | 4,72 | 923 | 0,48 | 6,8 |
| 59 | 1,07 | 39,0 | 0,34 | 4,26 | 266 | 0,21 | * |
| 60 | 2,28 | 36,0 | 0,38 | 5,07 | 1278 | 0,83 | 10,0 |
| 91 | 2,58 | 35,5 | 0,36 | 4,79 | 703 | 3,04 | 10,0 |
| 92 | 1,4 | 30,4 | 0,21 | 5,09 | 1942 | 2,26 | 11,6 |
| 94 | 1,01 | 35,0 | 0,37 | 4,77 | 1262 | 0,74 | 14,0 |
| 95 | 1,46 | 38,9 | 0,31 | 5,24 | 1038 | 1,65 | 11,2 |
| 102 | 2,85 | 29,4 | 0,30 | 5,24 | 379 | 0,64 | 12,4 |
| 108 | 1,08 | * | 0,35 | 5,45 | 338 | 0,85 | * |
| 110 | 0,5 | 35,2 | 0,27 | 4,58 | 644 | 0,98 | 13,2 |
| 111 | 2,75 | 38,2 | 0,41 | 7,17 | 4275 | 4,24 | 9,6 |
| 112 | 3,84 | 37,8 | 0,32 | 6,23 | 2056 | 2,29 | 8,4 |
| 123 | 2,42 | * | 0,33 | 5,06 | 337 | 1,74 | * |
| 128 | 3,41 | 39,0 | 0,30 | 5,33 | 2740 | 1,61 | 10,0 |
| 131 | 5,32 | 35,0 | 0,30 | 5,66 | 2724 | 2,14 | 9,6 |
| 136 | 2,03 | 30,4 | 0,26 | 5,04 | 954 | 1,66 | 15,6 |
| 145 | 1,24 | 27,9 | 0,37 | 4,98 | 1011 | 1,74 | 6,4 |
| 146 | 5,9 | 37,5 | 0,31 | 4,82 | 1039 | 2,68 | 12,0 |

ANEXO 7

Tabla 7. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos antes del periodo de ayuno y transporte por 3 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| Nº Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 5 | 3,06 | 35,6 | 0,48 | 3,54 | 164 | 0,40 | 9,2 |
| 6 | 1,54 | 39,5 | 0,41 | 4,08 | 161 | 2,08 | 12,4 |
| 9 | 1,26 | 42,3 | 0,54 | 4,23 | 222 | 1,33 | 10,0 |
| 10 | 1,39 | 36,0 | 0,57 | 3,61 | 146 | 1,11 | 8,8 |
| 12 | 1,53 | 38,6 | 0,37 | 4,19 | 205 | 6,81 | 12,4 |
| 15 | 3,38 | 37,5 | 0,53 | 4,43 | 183 | * | 8,0 |
| 22 | 4,74 | 39,8 | 0,47 | 4,43 | 202 | 1,23 | 6,8 |
| 26 | 2,73 | 31,4 | 0,38 | 4,23 | 518 | 2,13 | 9,6 |
| 30 | 1,06 | 36,4 | 0,47 | 4,35 | 271 | 0,87 | 9,2 |
| 37 | 1,71 | 34,5 | 0,28 | 4,60 | 160 | 1,28 | 8,8 |
| 44 | 0,94 | 41,0 | 0,41 | 4,03 | 133 | 3,76 | 10,8 |
| 46 | * | 42,0 | * | 3,92 | * | 0,91 | 7,2 |
| 47 | 2,58 | 37,7 | 0,34 | 4,19 | 230 | 1,79 | 8,0 |
| 48 | 3,19 | 32,5 | 0,29 | 4,01 | 159 | 0,85 | 9,6 |
| 54 | 1,74 | 45,8 | 0,47 | 3,74 | 180 | 2,22 | 9,6 |
| 99 | 5,49 | 33,5 | 0,29 | 4,63 | 317 | 3,54 | 10,0 |
| 101 | 6,56 | 36,8 | 0,34 | 4,84 | 324 | 3,42 | 12,4 |
| 104 | 0,59 | 37,7 | 0,35 | 4,09 | 550 | 2,87 | 7,4 |
| 106 | 1,14 | 34,9 | 0,37 | 5,02 | 176 | 2,81 | 6,0 |
| 114 | 0,5 | 33,9 | 0,54 | 4,34 | 311 | 0,91 | 10,0 |
| 118 | 1,94 | 39,6 | 0,43 | 4,09 | 215 | 1,18 | 6,6 |
| 124 | 0,71 | 33,4 | 0,35 | 4,4 | 559 | 1,14 | 7,2 |
| 126 | 5,32 | 34,6 | 0,30 | 5,18 | 254 | 1,81 | 7,6 |
| 130 | 4,53 | 36,1 | 0,33 | 4,13 | 345 | 1,10 | 8,5 |
| 132 | 4,62 | 29,9 | 0,29 | 4,37 | 221 | 1,65 | 7,0 |
| 140 | 2,11 | 30,7 | 0,87 | 4,73 | 963 | 0,58 | 7,5 |
| 142 | 4,98 | 32,9 | 0,33 | 5,33 | 480 | 1,59 | 7,0 |
| 147 | 4,93 | 40,0 | 0,33 | 4,3 | 301 | 2,38 | 5,6 |
| 148 | 3,14 | 37,5 | 0,47 | 4,26 | 344 | 4,15 | 10,4 |
| 150 | 1,94 | 35,7 | 0,38 | 5,38 | 272 | 5,52 | 9,5 |

ANEXO 8

Tabla 8. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos posterior al periodo de ayuno y transporte por 3 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| Nº Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 5 | 8,41 | 38,2 | 0,37 | 4,69 | 1358 | 1,40 | 10,0 |
| 6 | 7,29 | 41,6 | 0,36 | 7,20 | 377 | 1,31 | 18,8 |
| 9 | 1,95 | 40,7 | 0,60 | 5,99 | 265 | 0,82 | 11,2 |
| 10 | * | 40,4 | 0,41 | 6,48 | 248 | 1,21 | 10,8 |
| 12 | 2,17 | 37,2 | 0,40 | 4,91 | 542 | 2,34 | 14,4 |
| 15 | 1,27 | 40,9 | 0,48 | 4,64 | 1921 | 4,64 | 11,2 |
| 22 | 3,54 | 44,8 | 0,36 | 5,45 | 190 | 6,45 | 9,6 |
| 26 | 6,1 | 35,9 | 0,41 | 6,04 | 370 | 1,79 | 16,4 |
| 30 | 5,97 | 40,6 | 0,41 | 5,59 | 227 | 2,67 | 14,4 |
| 37 | * | 39,0 | 0,30 | 0,00 | * | * | 10,8 |
| 44 | * | 41,8 | * | 0,00 | * | * | 13,6 |
| 46 | 6,35 | 44,2 | 0,33 | 5,41 | 461 | 2,64 | 8,8 |
| 47 | 6,6 | 37,2 | 0,48 | 8,15 | 381 | 5,59 | 14,8 |
| 48 | 2,11 | 31,3 | 0,12 | 5,18 | 138 | 1,55 | 12,4 |
| 54 | 5,06 | 48,5 | 2,59 | 4,67 | 252 | 3,55 | 13,6 |
| 99 | 2,23 | 33,0 | 0,26 | 5,41 | 518 | 1,03 | 10,4 |
| 101 | 2,2 | 37,8 | 0,33 | 5,24 | 3072 | 1,43 | 14,0 |
| 104 | 3,34 | 38,0 | 0,37 | 6,96 | 1286 | 3,34 | 13,6 |
| 106 | 3,06 | 33,4 | 0,24 | 6,42 | 988 | 0,72 | 13,6 |
| 114 | 4,75 | 32,4 | 0,33 | 6,48 | 797 | 1,39 | 11,2 |
| 118 | 2,12 | 40,7 | 0,29 | 5,53 | 338 | 1,86 | 10,8 |
| 124 | 3,17 | 35,5 | 0,18 | 6,63 | 912 | 2,63 | 7,2 |
| 126 | 1,45 | 35,6 | 0,16 | 6,67 | 531 | 3,06 | 10,0 |
| 130 | 4,07 | 35,8 | 0,33 | 5,00 | 402 | 1,05 | 12,8 |
| 132 | 6,18 | 31,2 | 0,18 | 4,74 | 701 | 1,92 | 14,0 |
| 140 | 0,97 | 32,0 | 0,26 | 5,15 | 1204 | 1,17 | 9,2 |
| 142 | 2,35 | 35,4 | 0,34 | 5,18 | 1420 | 2,15 | 11,6 |
| 147 | 2,92 | 38,7 | 0,34 | 5,32 | 745 | 1,94 | 14,4 |
| 148 | 1,31 | 35,5 | 0,35 | 5,71 | 1098 | 3,02 | 10,0 |
| 150 | 0,73 | 34,4 | 0,24 | 4,58 | 2773 | 2,74 | 10,4 |

ANEXO 9

Tabla 9. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos antes del periodo de ayuno por 16 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| Nº Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 1 | 5,74 | 41,8 | 0,47 | 3,97 | 186 | 5,95 | 15,6 |
| 11 | 1,69 | 37,0 | 0,44 | 4,27 | 147 | 0,64 | 8,8 |
| 13 | 0,94 | 31,7 | 0,48 | 4,37 | 160 | 1,10 | 8,0 |
| 16 | 2,13 | 32,6 | 0,37 | * | 312 | 0,56 | 7,6 |
| 17 | 0,94 | 38,8 | 0,56 | 4,1 | 191 | 1,72 | 10,0 |
| 29 | 1,73 | 40,7 | 0,35 | 4,03 | 215 | 2,18 | 10,4 |
| 31 | 4,08 | 44,4 | 0,42 | 4,02 | 221 | 0,90 | 6,4 |
| 33 | 2,12 | 39,7 | 0,42 | 4,19 | 204 | 1,55 | 8,0 |
| 34 | 0,94 | 40,3 | 0,19 | 4,35 | 198 | 3,55 | 6,8 |
| 36 | * | 36,2 | 0,45 | 4,39 | 209 | 1,95 | 7,2 |
| 38 | 0,94 | 38,1 | 0,70 | 3,47 | 158 | 1,89 | 14,0 |
| 42 | 1,92 | 44,3 | 0,35 | 4,83 | 353 | 3,06 | 6,8 |
| 45 | 1,65 | 39,8 | 0,40 | 3,21 | 976 | 1,76 | 10,4 |
| 53 | 4,16 | 39,9 | 0,44 | * | 691 | 2,60 | 10,0 |
| 56 | 0,94 | 33,3 | 0,35 | 4,23 | 201 | 1,94 | 15,6 |
| 93 | 0,64 | 34,7 | 0,46 | 4,45 | 278 | 1,12 | 10,4 |
| 96 | 4,82 | 29,5 | 0,40 | 4,78 | 336 | 6,63 | 14,0 |
| 98 | 4,92 | 34,7 | 0,36 | 4,92 | 321 | 7,49 | 8,0 |
| 100 | 5,08 | 31,0 | 0,23 | 4,87 | 538 | 2,50 | 12,4 |
| 105 | 0,58 | 33,2 | 0,35 | 4,73 | 285 | 0,79 | 6,4 |
| 113 | 1,66 | 34,5 | 0,40 | 4,68 | 345 | 2,97 | 5,9 |
| 116 | 0,64 | 33,1 | 0,30 | 4,15 | 190 | 1,12 | 13,0 |
| 120 | 2,88 | 38,6 | 0,32 | 4,59 | 533 | 2,78 | 11,2 |
| 122 | 3,51 | 32,6 | 0,33 | 4,63 | 745 | 1,55 | 5,2 |
| 129 | 2,85 | 36,2 | 0,30 | 4,85 | 414 | 3,75 | 5,5 |
| 137 | 2,52 | 34,1 | 0,28 | 4,59 | 916 | 1,65 | 11,7 |
| 138 | 4,43 | 33,9 | 0,51 | 4,11 | 191 | 1,20 | 5,4 |
| 139 | 2,87 | 33,8 | 0,51 | 4,45 | 239 | 1,04 | 5,0 |
| 143 | 2,07 | 33,2 | 0,31 | 3,86 | 143 | 0,85 | 9,2 |
| 149 | 1,12 | 36,4 | 0,40 | 4,31 | 232 | 1,13 | 4,0 |

ANEXO 10

Tabla 10. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos posterior al periodo de ayuno por 16 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| N° Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 1 | 6,63 | 45,0 | 0,34 | 4,80 | 363 | 3,87 | 12,0 |
| 11 | 2,20 | 40,0 | 0,39 | 4,68 | 162 | 3,83 | 8,8 |
| 13 | 6,56 | 30,0 | 0,35 | 4,93 | 936 | 1,27 | 6,8 |
| 16 | 1,55 | 35,0 | 0,38 | 4,30 | 281 | 1,44 | 7,6 |
| 17 | 2,32 | 36,0 | 0,47 | 4,52 | 149 | 2,12 | 8,4 |
| 29 | 3,76 | 39,0 | 0,38 | 4,24 | 308 | 4,38 | 10,0 |
| 31 | 1,77 | 45,0 | 0,20 | 4,58 | 1274 | 2,01 | 6,4 |
| 33 | * | 41,0 | 0,15 | 4,10 | 193 | 3,92 | 8,8 |
| 34 | 4,72 | 40,0 | 0,16 | 5,45 | 259 | 1,27 | 8,4 |
| 36 | 5,04 | 33,0 | 0,15 | 4,37 | 377 | 3,16 | 6,0 |
| 38 | 1,67 | 30,0 | 0,27 | 3,62 | 830 | 3,27 | 8,8 |
| 42 | 5,64 | 45,0 | 0,20 | 6,15 | 316 | 1,43 | 7,6 |
| 45 | 3,01 | 43,0 | 0,15 | 3,99 | 180 | 3,43 | 10,0 |
| 53 | 5,10 | 39,0 | 0,23 | 4,97 | 188 | 0,82 | 10,4 |
| 56 | 4,47 | 31,0 | 0,15 | 5,15 | 228 | 1,09 | 12,4 |
| 93 | 2 | 36,5 | 0,33 | 4,91 | 470 | 0,75 | 9,2 |
| 96 | 3,12 | 32,6 | 0,20 | 5,58 | 3040 | 4,22 | 16,4 |
| 98 | 6,17 | 35,2 | 0,23 | 5,19 | 3083 | 2,76 | 8,4 |
| 100 | 4,83 | 36,5 | 0,15 | 4,87 | 1336 | 1,46 | 7,2 |
| 105 | 3,29 | 32,1 | 0,45 | 5,16 | 309 | 0,42 | 4,4 |
| 113 | 4,36 | 35,1 | 0,33 | 4,65 | 3427 | 2,46 | 7,6 |
| 116 | 4,27 | 31,1 | 0,45 | 4,29 | 850 | 0,59 | 16,4 |
| 120 | 6,42 | 41,0 | 0,25 | 5,40 | 631 | 1,46 | 9,6 |
| 122 | 3,45 | 35,1 | 0,26 | 4,45 | 1741 | 0,94 | 7,2 |
| 129 | 1,75 | 32,6 | 0,37 | 5,60 | 802 | 0,83 | 6,4 |
| 137 | 5,85 | 36,8 | 0,18 | 4,87 | 1632 | 1,88 | 10,0 |
| 138 | 2,14 | 35,1 | 0,18 | 4,21 | 402 | 4,21 | 10,8 |
| 139 | 3,93 | 38,2 | 0,23 | 5,42 | 679 | 4,13 | 11,2 |
| 143 | 0,93 | 36,6 | 0,24 | 4,39 | 2371 | 0,88 | 10,0 |
| 149 | 0,8 | 38,1 | 0,33 | 4,80 | 858 | 4,80 | 10,0 |

ANEXO 11

Tabla 11. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos antes del periodo de ayuno y transporte por 16 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| N° Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 2 | 0,94 | 37,6 | 0,43 | 4,07 | 225 | 1,27 | 10,0 |
| 4 | 2,71 | 39,6 | 0,26 | 4,68 | 402 | 0,97 | 14,0 |
| 7 | 0,94 | 39,1 | 0,32 | 4,22 | 188 | 2,17 | 15,6 |
| 8 | 1,56 | 32,5 | 0,41 | 4,52 | 191 | 0,52 | 12,4 |
| 14 | 1,88 | 44,3 | 0,38 | 4,05 | 172 | 1,17 | 6,4 |
| 19 | 4,06 | 37,9 | 0,46 | 4,62 | 206 | 1,43 | 10,8 |
| 20 | 0,94 | 37,1 | 0,35 | 4,58 | 190 | 0,65 | 8,4 |
| 21 | 3,65 | 43,3 | 0,58 | 4,11 | 157 | 1,08 | 7,6 |
| 28 | 2,36 | 48,8 | 0,41 | 4,21 | 1816 | 1,41 | 8,8 |
| 35 | 1,09 | 41,8 | 0,34 | 4,16 | 205 | 3,29 | 8,0 |
| 39 | 4,28 | 35,2 | 0,50 | 4,19 | 194 | 1,34 | 10,0 |
| 41 | 4,44 | 39,4 | 0,52 | 4,32 | 198 | 0,78 | 6,8 |
| 43 | 2,92 | 38,2 | 0,36 | 3,95 | 189 | 1,23 | 8,0 |
| 50 | 1,85 | 39,0 | 0,49 | 3,51 | 1892 | 0,78 | 9,2 |
| 57 | 0,94 | 38,0 | 0,31 | 4,54 | 210 | 0,84 | 11,6 |
| 97 | 3,52 | 32,8 | 0,33 | 5,02 | 573 | 2,71 | 7,2 |
| 103 | 0,5 | 38,9 | 0,45 | 3,93 | 340 | 0,90 | * |
| 107 | 1,13 | 37,7 | 0,44 | 4,44 | 383 | 1,17 | 10,7 |
| 109 | 1,47 | 33,7 | 0,41 | 4,63 | 244 | 1,58 | 8,1 |
| 115 | 0,89 | 34,3 | 0,49 | 4,54 | 328 | 1,46 | 5,5 |
| 117 | 0,61 | 37,0 | 0,44 | 4,18 | 412 | 1,37 | 7,4 |
| 119 | 2,45 | 34,4 | 0,33 | 4,61 | 255 | 0,67 | 4,8 |
| 121 | 2,51 | 35,5 | 0,32 | 4,61 | 279 | 2,71 | 10,9 |
| 125 | 4,76 | 32,2 | 0,22 | 4,57 | 146 | 1,62 | 4,5 |
| 127 | 1,8 | 33,4 | 0,37 | 4,19 | 1804 | 2,06 | 10,8 |
| 133 | 4,18 | 38,2 | 0,30 | 4,16 | 350 | 4,50 | 10,5 |
| 134 | 4,38 | 36,2 | 0,40 | 4,34 | 475 | 1,23 | 10,1 |
| 135 | 3,65 | 28,8 | 0,47 | 4,84 | 214 | 1,03 | 12,5 |
| 141 | 3,31 | 35,7 | 0,33 | 4,87 | 420 | 1,56 | 6,0 |
| 144 | 0,74 | 34,7 | 0,30 | 4,27 | 325 | 1,75 | 5,9 |

ANEXO 12

Tabla 12. Concentraciones individuales de cortisol, glucosa, β - HBA, lactato, actividad de CK, valores de VGA y número de leucocitos en sangre, obtenidos posterior al periodo de ayuno y transporte por 16 horas en el predio, tanto para el experimento realizado en invierno como en verano.

| N° Animal | Cortisol ug/dl | VGA (%) | ? -HBA (mmol/l) | Glucosa (mmol/l) | CK U/l | Lactato (mmol/l) | Leucograma (miles/ul) |
|-----------|----------------|---------|-----------------|------------------|--------|------------------|-----------------------|
| 2 | 2,47 | 43,0 | 0,25 | 5,33 | 293 | 3,57 | 9,6 |
| 4 | 3,43 | 38,0 | 0,41 | 5,33 | 258 | 0,89 | 10,8 |
| 7 | 3,05 | 41,0 | 0,38 | 5,95 | 285 | 2,45 | 12,8 |
| 8 | 5,95 | 38,0 | 0,39 | 5,70 | 3139 | 2,39 | 9,6 |
| 14 | 1,39 | 47,0 | 0,33 | 5,15 | 241 | 2,84 | 8,8 |
| 19 | 1,75 | 41,0 | 0,32 | 5,85 | 268 | 2,55 | 15,2 |
| 20 | 2,63 | 41,0 | 0,47 | 6,28 | 200 | 2,69 | 13,2 |
| 21 | 5,74 | 46,0 | 0,39 | 5,36 | 265 | 3,63 | * |
| 28 | 3,49 | 51,0 | 0,28 | 5,91 | 265 | 3,08 | 9,6 |
| 35 | 4,97 | 40,0 | 0,21 | 5,30 | 187 | 2,29 | 13,6 |
| 39 | 6,49 | 40,0 | 0,23 | 4,88 | 241 | 1,06 | 10,0 |
| 41 | 4,54 | 47,0 | 0,33 | 5,52 | 707 | * | 10,4 |
| 43 | 5,65 | 36,0 | 0,14 | 5,90 | 416 | 2,05 | 8,4 |
| 50 | 2,27 | 38,0 | 0,25 | 5,65 | 685 | 2,93 | 10,8 |
| 57 | 3,50 | * | * | * | * | * | * |
| 97 | 1,25 | 35,8 | 0,17 | 6,20 | 1185 | 1,26 | 7,6 |
| 103 | 1,19 | 33,6 | 0,18 | 4,79 | 606 | 1,22 | 8,4 |
| 107 | 2,14 | 42,4 | 0,25 | 5,58 | 644 | 1,30 | 10,4 |
| 109 | 0,76 | 33,9 | 0,24 | 5,59 | 329 | 1,19 | 9,6 |
| 115 | 1,1 | 38,6 | 0,32 | 5,30 | 447 | 1,01 | 8,8 |
| 117 | 1,12 | 38,3 | 0,33 | 5,57 | 3042 | 1,79 | 11,6 |
| 119 | 2,22 | 37,7 | 0,08 | 6,17 | 503 | 6,24 | 12,8 |
| 121 | 1,82 | 34,9 | 0,22 | 4,98 | 466 | 0,51 | 5,2 |
| 125 | 1,62 | 34,9 | 0,21 | 4,98 | 295 | 1,26 | 11,2 |
| 127 | 1,97 | 36,8 | 0,15 | 4,67 | 759 | 2,14 | 10,0 |
| 133 | 1,99 | 36,5 | 0,12 | 6,60 | 1694 | 2,08 | 14,0 |
| 134 | 1,23 | 40,0 | 0,26 | 6,34 | 905 | 3,14 | 10,0 |
| 135 | 2,83 | 30,8 | 0,25 | 7,62 | 469 | 1,13 | 9,2 |
| 141 | 1,93 | 39,0 | 0,16 | 5,61 | 466 | 4,09 | 6,8 |
| 144 | 2,22 | 35,8 | 0,18 | 7,27 | 1218 | 2,41 | 8,8 |