

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

**EFFECTO DE DOS DENSIDADES DE CARGA SOBRE INDICADORES SANGUÍNEOS
DE ESTRÉS, EN NOVILLOS TRANSPORTADOS POR TRES HORAS VÍA
TERRESTRE**

**Memoria de Título presentada como
Parte de los requisitos para optar al
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

ALEJANDRA GIOCONDA ARANIS FUENTES

VALDIVIA - CHILE

2003

**A mis padres con mucho cariño,
por todo el amor y la confianza
entregados.**

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MATERIAL Y MÉTODO	13
5. RESULTADOS	16
6. DISCUSIÓN	24
7. BIBLIOGRAFÍA	30
8. ANEXOS	36

1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de dos densidades de carga (400 y 500 kg/m²) y de un tiempo de transporte terrestre de tres horas sobre los valores de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos.

Se utilizaron 60 novillos de la misma procedencia, similar genotipo, peso y edad. El experimento constó de cuatro repeticiones (2 en invierno y 2 en verano), en que se usaron 15 novillos cada vez. En cada repetición los animales se identificaron y pesaron en el predio, para luego asignarlos al azar en los distintos tratamientos. Para cada transporte se utilizaron camiones de similar estructura y capacidad. Para generar las dos densidades de carga el espacio de carga de cada camión se subdividió en 2 jaulas, una anterior y otra posterior en las que se ubicaron 7 (400 kg/m²) y 8 (500 kg/m²) animales. Luego del transporte los animales fueron descargados en la planta faenadora de carnes y permanecieron en ayuno por 12 horas antes del faenamamiento. Para la medición de las variables se tomaron muestras de sangre vía punción coccígea con tubos al vacío con heparina y NaF, en 4 oportunidades: 1) en el predio, 2) al llegar a la planta faenadora, 3) posterior al ayuno y 4) al momento de la sangría.

En las muestras de sangre se determinó el valor del volumen globular (VGA) y el número de leucocitos totales. Posteriormente en las muestras de plasma obtenidas mediante centrifugación se determinó la concentración de cortisol, glucosa, lactato, β -hidroxibutirato (β -HBA) y la actividad de creatinfosfoquinasa (CK).

Los resultados indican que las densidades estudiadas no produjeron diferencias significativas ($P > 0.05$) en las concentraciones y valores de las variables indicadoras de estrés utilizadas en el estudio. Si se presentaron diferencias en los periodos de muestreo tomando ambas densidades como un solo grupo. Igualmente se observaron diferencias cuando las replicas de invierno (1 y 2) fueron comparadas con las de verano (3 y 4). El transporte produjo aumentos significativos ($P < 0,05$) en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa y actividad plasmática de CK y el número de leucocitos en sangre. El noqueo produjo aumentos significativos ($P < 0,05$) en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa y lactato en relación a los valores previos a este manejo. La época del año también tuvo un efecto significativo sobre las variables sanguíneas, siendo mayores en invierno.

Se concluye que para transportes de tres horas no se justificaría disminuir la densidad de carga utilizada en el país (500 kg/m²) por una menor (400 kg/m²).

Palabras clave: novillos, estrés, densidad, variables sanguíneas.
Estudio financiado por el Proyecto FONDECYT 1010201.

2. SUMMARY

The aim of this study was to analyse the effect of two loading densities (400 and 500 kg/m²) and a road transport time of three hours on some blood variables indicator of stress (cortisol, glucose, β -HBA, CK, leucocytes, lactate and VGA values), in steers.

Sixty steers of the same breed from the same farm and similar genotype, weight and age, were used. The experiment consisted of four replicates (two in winter and two in summer), with fifteen steers, each. In each replicate the steers were bled, identified and weighed at the farm and then they were randomly located into the different treatments. For each trip trucks of similar structure and capacity were used. In order to obtain the two loading densities the loading space of each truck was divided into two pens, one in front and one in the rear, in which seven and eight animals were placed, respectively. After transportation the animals were unloaded at the abattoir and kept with a fasting time of 12 hours, before slaughter. For the measurement of the variables, blood samples were taken by cocccigeal venopuncture using vacuum tubes with heparin and NaF, four times: 1) at the farm, 2) at the abattoir, 3) after food deprivation and 4) at the killing.

Cortisol was determined with radioimmuneassay (RIA), VGA and leucocytes with the SISMEX-KX-21 N hematologic counter, glucose through a GOD-PAP technique without deproteinization, lactate using the UV- enzymatic method, β - HBA was determined using an enzymatic technique and the CK plasmatic activity using a UV- kinetic method.

When comparing both transport densities no statistical differences ($P > 0,05$) for the variables studied, were found. Statistical differences ($P < 0,05$) were found between the sampling periods when both densities were taken as one group. Also, differences were observed when winter replicates were compared with the summer ones.

It is concluded that under the condition of this study it is not justifiable to reduce the loading density used in the country (500 kg/m²), for a lower one (400 kg/m²). The short time of transport (3 hours) might have had an influenced in the fact that the density did not stressed enough the animals to produce differences between the groups. The transport significantly increased ($P < 0,05$) the blood concentrations of cortisol and glucose, plasmatic activity of CK and leukocytes values. The stunning significantly increased ($P < 0,05$) the blood concentrations of cortisol, glucose and lactate in relationship to the values previous to this management. The season of the year had a significantly effect on the blood variables, being higher during winter.

Key words: stress, steers, density, blood variables.

Study founded by the FONDECYT 1010201 project.

3. INTRODUCCION

Según el censo agropecuario de 1997 (Chile 1997) en Chile existían 4.098.438 cabezas de ganado bovino, de las cuales hay 1.587.557 en la Décima Región (38,7%), 784.336 en la Novena Región (19,13%) y sólo 164.014 en la Región Metropolitana (4%). En el año 2000 fueron beneficiadas 940.374 cabezas en el país, de las cuales 161.294 (17,15%) se beneficiaron en la Décima Región, 101.881 (10,83%) en la Novena Región, mientras que en la Región Metropolitana se beneficiaron 405.824 (43,15%) cabezas (Chile, 2000). De lo anterior se concluye que la mayor parte de la producción bovina se concentra en la zona sur del país, especialmente la Décima Región, mientras que el beneficio ocurre principalmente en la Región Metropolitana, esto debido a que los centros de consumo se encuentran alejados de las zonas productoras (Gallo y col., 1995).

Lo anterior implica que en la cadena de comercialización de carne en Chile, sea característico el traslado en pie de un gran número de animales desde los centros productores a los centros de faenamiento y consumo. Según Matic (1997), más del 50% de los bovinos beneficiados en la principal Planta Faenadora de Carnes de Santiago (Lo Valledor) viaja en camiones por distancias superiores a los 600 km. Lo anterior, además del estrés propio del transporte, implica que los animales deben permanecer por muchas horas sin alimento ni agua de bebida (Tadich y col., 2000).

El transporte de ganado bovino desde 1994, además de cumplir con las normas del Ministerio de Transporte y Telecomunicaciones, debe ajustarse a la Ley de Carnes o Ley 19.162 (Chile,1992) con su Reglamento general de transporte de ganado y carne bovina (Chile, 1993), que contiene indicaciones tendientes a mejorar las condiciones de transporte, estableciéndose entre otras cosas aspectos relativos al manejo de animales, a la densidad de carga y al tiempo máximo de transporte continuo. El Art. 4-d señala: “la superficie interna mínima deberá permitir un cómodo transporte de los animales. Se exigirá de un metro cuadrado por cada 500 kg. de peso vivo”.

Importante con respecto a las condiciones de transporte de animales, es la densidad de carga. Al respecto, Tarrant y col, (1988) y Tarrant y Grandin (1993) señalan que altas densidades de carga traen consigo inconvenientes como un mayor estrés, mayor número de contusiones y más animales caídos frente a densidades medias y bajas. Además hay inhibición del movimiento e inhabilitación para adoptar las orientaciones preferidas, con la consiguiente pérdida de balance y predisposición a caídas. En cuanto a la densidad de 500 kg/m² que señala como densidad máxima permitida el reglamento de transporte (Chile, 1993) y usada en Chile, los autores arriba mencionados la catalogan de alta.

Muchos autores señalan que el transporte y el ayuno producen diversos grados de estrés, según la duración e intensidad del estímulo, desencadenando diversas respuestas fisiológicas y conductuales adaptativas en los animales (Forrest y col., 1979; Lister y col.,

1981; Shaw y Tume, 1992; Tume y Shaw, 1992; Warriss y col., 1995). El estrés que provocan los manejos a que son sometidos los animales antemortem, tiene un efecto directo sobre el bienestar animal e indirecto sobre la calidad y cantidad de carne producida (Warriss, 1992).

El estrés ha sido definido por Selye (1954) como la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente de un animal sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio, respiratorio y digestivo, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas. Para la biología es una respuesta inespecífica del organismo ante cualquier demanda externa cuando los animales se encuentran sujetos a condiciones ambientales adversas que interfieren con su bienestar (Stott, 1981). Existe otra definición para estrés: “cualquier estímulo, interno o externo, químico, físico o emocional, que excita las neuronas del hipotálamo para que liberen la hormona liberadora de corticotrofina (ACTH) a mayor velocidad de lo que ocurriría en ese momento del día si no hubiera el estímulo” (Blood y Radostits, 1992).

Moberg (2000), define el estrés, como la respuesta biológica que se presenta cuando un individuo percibe alguna amenaza a su homeostasis, esta amenaza se define como “factor estresante”. El modelo de estrés presentado por el autor, señala que se puede dividir la respuesta frente a un factor estresante en 3 diferentes categorías: a) reconocimiento del factor estresante, b) defensa biológica y c) las consecuencias de la respuesta al estrés. La amenaza causada por el factor estresante es percibida en primer lugar por el Sistema Nervioso Central (SNC). Este desarrolla una respuesta de tipo fisiológico dada por la combinación de cuatro diferentes, pero relacionados mecanismos o respuestas biológicas: conductual, sistema nervioso autónomo, inmune y neuroendocrino, siendo esta última respuesta la de mayor importancia, ya que posee el efecto más prolongado en el organismo, además de que estas hormonas regulan prácticamente todas las funciones biológicas afectadas durante un episodio de estrés.

Caballero y Sumano (1993) en una revisión bibliográfica señalan que el estrés muestra una relación positiva entre la agresividad del medio externo y la magnitud de la respuesta orgánica del individuo, como reacción defensiva ante los agentes inductores de estrés (AIE). Estos AIE son los detonadores de estas respuestas y son capaces de desequilibrar los mecanismos reguladores homeostáticos, de manera tal, que el organismo pierde la capacidad de mantener sus oscilaciones fisiológicas dentro de los límites normales y surge el “Síndrome General de Adaptación” (SGA). Este comprende 3 fases: a) reacción de alarma, dada por la respuesta inmediata del sistema nervioso simpático frente a una estimulación aguda; b) resistencia, que se presenta cuando existe una estimulación crónica y existe participación del eje hipotálamo, hipófisis y corteza- adrenal, cuyas implicaciones en ambos casos pueden llevar al organismo a un estado de adaptación o resistencia; y c) la 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 a la muerte.

Caballero y Sumano (1993) además señalan que la capacidad de adaptación y la complejidad de las respuestas fisiológicas de un individuo están reguladas por la liberación de hormonas como la adreno-corticotropina (ACTH), los glucocorticoides (GC) y las

catecolaminas (CA). La cantidad y proporción de estas hormonas depende del tipo de estrés experimentado (agudo o crónico) (Jonson y Vanjonak, 1976; Axerold y Reisine, 1984).

Otras hormonas, como el factor liberador de corticotropina (ACTH-RH), el péptido intestinal vasoactivo (PIV), las β -endorfinas y la arginina-vasopresina, estimulan la liberación de ACTH, mientras que los corticoesteroides, la somatostatina y la norepinefrina cerebral inhiben su secreción. Todos estos agentes actúan juntos y determinan las respuestas fisiológicas ante una gran variedad de AIE (Axerold y Reisine, 1984). No obstante, este cuadro de liberación hormonal no es exclusivo del estrés, pues las concentraciones de catecolaminas y el estrés mismo están asociados en animales y humanos con la capacidad de aprendizaje y la habituación a un AIE (Levine, 1985).

La literatura señala que existen diversos factores que inducen estrés en los animales, algunos de estos factores son la privación de alimento, las variaciones de temperatura, el transporte por períodos prolongados, el ejercicio muscular y los estímulos sociales (mezcla de grupos de animales de distinto origen) (Dantzer y Normède, 1984; Mitchell y col., 1988; Shaw y Tume, 1992; Tume y Shaw, 1992). A estos hay que sumar otros factores implícitos en el transporte tales como carga, descarga, arreo, hacinamiento, movimiento, ruido, vibraciones, etc., y todos los manejos menores inmediatamente previos al sacrificio propiamente tal (Cockram y col., 1996; Gallo, 1994 y 1996). Según Gallo (1996) en Chile a estos factores se les da poca importancia, a diferencia de lo que ocurre en países con mayor desarrollo tecnológico en que se le presta gran atención al bienestar animal.

Broom (1986), definió al bienestar como el estado de un individual en relación a sus intentos de hacerle frente a su entorno. En esta definición, el animal trata de mantenerse en equilibrio y tiene que hacer cambios fisiológicos y de comportamiento para mantener su homeostásis y es desafiado por cambios en su entorno. La medición de estos cambios permite una cierta cuantificación del bienestar, pero no da una medida absoluta.

Existen al menos dos métodos para cuantificar el estrés en los animales: i) análisis de la conducta animal; y ii) mediciones en los tejidos y fluidos del animal (Shaw y Tume, 1992). En relación con este último punto, entre los cambios que se pueden medir destaca la secreción de la hormona adenocorticotrófica (ACTH) desde la adenohipófisis, la que a su vez estimula la síntesis y secreción de corticoesteroides, adrenalina, noradrenalina y hormonas tiroideas (Forrest y col., 1979). Según los mismos autores, otros cambios fisiológicos asociados al estrés se relacionan con los cambios en los valores sanguíneos de cortisol, glucosa, lactato, insulina, ácidos grasos volátiles y volumen globular aglomerado (VGA). Además se ha indicado que con el transporte el número de neutrófilos aumenta, mientras que el número de linfocitos, monocitos y eosinófilos disminuye, junto con un aumento del pH sanguíneo y un incremento en el cloro y hemoglobina sanguínea (Schaefer y col., 1997).

Según Lister y col. (1981) muchas hormonas y metabolitos son liberados a la circulación en forma de pulsos. Esto ocurre en animales normales y en los sometidos a estrés, y contribuye al “ruido fisiológico” que debe ser considerado cuando se utilizan parámetros sanguíneos como indicadores de estrés.

Según Mitchell y col. (1988) el manejo, transporte y sacrificio son diferentes factores estresantes que producen cambios significativos en los metabolitos sanguíneos y concentraciones hormonales. Según estos autores los diferentes factores de estrés (manejo, transporte y sacrificio) no tienen un efecto aditivo y la respuesta al estrés tiene dos fases: la fase hipotálamo-corteza adrenal y la fase simpático-médula adrenal. La primera en que el cortisol aumenta, está asociada al estrés ambiental, y la segunda está asociada con estrés neurogénico tal como el debido al transporte, o más específicamente, a la gran descarga simpática producida durante el noqueo.

El estrés del transporte puede ser dividido de forma útil en 3 categorías: a) estrés físico, b) estrés fisiológico y c) estrés psicológico, aunque hay una cierta interacción entre ellas. Los estresantes físicos son aquellos que requieren de trabajo por parte del animal, estos incluyen la exigencia durante el arreo, ser cargados y el trabajo requerido para mantener una postura y equilibrio durante el transporte. El estrés fisiológico puede ser medido en términos de desafío fisiológico a través del grado de inanición y deshidratación y por el tiempo por el cual un animal debe retirar de sus reservas para mantener la temperatura y la actividad física, o sobrellevar una herida o una enfermedad. El estrés psicológico es el estrés que es percibido en forma consciente por el animal y por lo tanto es muy difícil de medir objetivamente. El estrés psicológico puede ser causado por un entorno nuevo y desconocido, con su asociado ruido y olor, en la presencia de un depredador potencial, por el deseo de beber o comer o mezclándose con animales desconocidos (Knowles 1998).

Para Shaw y Tume (1992) la determinación de la concentración sanguínea de cortisol es un buen indicador de estrés asociado con los manejos, transporte y sacrificio de los animales. Aunque Moberg (1987) considera que la concentración aumentada de cortisol sólo sería un indicador neuroendocrino primario, la mayoría de los investigadores siguen usando la determinación de cortisol plasmático como indicador de estrés (Crookshank y col, 1979; Warriss y col, 1984; Warner y col, 1986; Cooper y col, 1995; Horton y col, 1996). Estos mismos autores también han utilizado adicionalmente mediciones de volumen globular aglomerado (VGA), glucosa sanguínea y de enzimas como la creatinfosfoquinasa (CK). En este sentido Warriss y col. (1995) señalan que en animales destinados al sacrificio también se ha determinado una influencia del comportamiento sobre la actividad plasmática de CK, concentración plasmática de ácidos grasos libres y betahidroxibutirato (β -HBA), siendo los valores más altos en los animales sometidos a las condiciones más estresantes.

En relación a posibles diferencias entre sexos a la respuesta al estrés por transporte, diversos autores han señalado que no existen diferencias significativas entre machos y hembras para las concentraciones sanguíneas de cortisol, VGA, glucosa, β -HBA y CK (Tennessee y col, 1984; Kenny y Tarrant 1987; Warriss y col, 1995).

En relación a la densidad de animales utilizada en el transporte, Knowles (1999), señala que existe poca información al respecto. Además indica que la densidad recomendada por el Comité de Bienestar Animal de Inglaterra sugiere una densidad de 360 kg/m², pero que es necesario producir mayor información acerca de esta recomendación. Los estudios de

Tarrant y col (1988 y 1992) indican que al incrementar la densidad animal aumentan las concentraciones de cortisol, glucosa y CK indicando que aumenta el daño muscular y el estrés del animal. Tomando en cuenta lo anterior y considerando que en Chile las densidades utilizadas se acercan a los 500 kg/m² las posibilidades de que nuestros animales sufran daño muscular y alteración de su bienestar animal son altas.

3.1. Cortisol

Según Shaw y Tume (1992) el cortisol es la principal hormona de la corteza adrenal secretada como respuesta a la liberación de hormona adenocorticotrófica (ACTH) por la hipófisis, siendo su concentración en sangre un buen indicador de estrés agudo (Cooper y col., 1995) y de estrés psicológico (Cockram y col., 1996). El cortisol es necesario para el funcionamiento más efectivo de las catecolaminas, especialmente para la movilización de ácidos grasos libres (Shaw y Tume, 1992).

Según Kaneko (1989) la concentración plasmática promedio en vacas es de 0.61 ± 0.07 µg/dl. Pero diversos estudios indican que en los bovinos las concentraciones de corticoesteroides son erráticas (Caballero y Sumano, 1993). En un estudio realizado por Oyarce y col. (2002) se obtuvieron valores promedio de 1,4 µg/dl.

Los efectos del estrés están mediados por el Sistema Nervioso Central, en una forma similar a los factores que influyen los ritmos circadianos en la secreción de glucocorticoides. La respuesta a los glucocorticoides es inmediata, y en ésta se observa que las concentraciones de cortisol aumentan con rapidez, en unos minutos, para llegar a valores varias veces sobre lo normal (Cunningham, 1994). Este autor señala que la respuesta de los glucocorticoides es proporcional a la gravedad del estrés, así el estrés moderado da lugar a una menor producción de cortisol.

Del cortisol secretado, solamente alrededor del 10% permanece en estado libre, alrededor del 70% se une a una alfa-globulina llamada transcortina y el 20% restante se encuentra unido a albúmina. En casos de alta estimulación producto de un alza en la secreción de ACTH, lo que ocurre durante episodios de estrés, la concentración de cortisol en estado libre puede aumentar llegando a un 20 ó 30% (Kaneko, 1989).

Según Moberg (1985), la principal función de la secreción de glucocorticoides durante un episodio de estrés es inducir el comienzo de la gluconeogénesis, lo que resulta en un alza en los valores de glucosa disponible para el metabolismo de órganos sensibles como el SNC. Dantzer y Normede (1984) señalan que el cortisol favorece la síntesis de azúcares a partir de sustancias no glucídicas, como proteínas y lípidos, los que aumentan a su vez la tasa de glicógeno hepático.

Shaw y Tume (1992) y Tume y Shaw (1992) señalan que el cortisol es un indicador sensible en el estrés inducido por los manejos, el transporte y el sacrificio, además indican una elevación de los valores sanguíneos de cortisol durante el transporte, al menos durante el

embarque y el principio de la jornada de transporte. Sin embargo, llega un momento en que los animales se adaptan a ser transportados y las concentraciones plasmáticas de cortisol disminuyen (Warriss y col., 1995).

3.2. Hematocrito (VGA)

El hematocrito representa el porcentaje del volumen de sangre que está dado por los eritrocitos, su valor depende fundamentalmente del número de eritrocitos y de su tamaño. El valor promedio del VGA para bovinos es de 28 a 38% (Wittwer y Böhmwald, 1983).

El VGA es un indicador de estrés influido por las concentraciones plasmáticas de las catecolaminas (Lister y col, 1981). El transporte, el ayuno, y la baja ingesta de agua producen un aumento del VGA lo que se puede deber a dos factores, el movimiento de fluidos fuera del compartimento vascular, y a la contracción esplénica, ésta a su vez puede deberse a la actividad del sistema simpático, mediante las catecolaminas liberadas por el estrés de los factores antes descritos, durante el recorrido hacia la planta faenadora (Mittchell y col., 1988).

Existen dos causas principales de deshidratación; una es el consumo insuficiente de agua y la otra la pérdida excesiva de la misma (Blood y Radostits, 1992). La respuesta inicial a la deshidratación consiste en la extracción de líquido de los tejidos, con conservación del volumen sanguíneo normal; la respuesta secundaria consiste en la disminución de líquidos de la sangre, con la consiguiente reducción del volumen sanguíneo circulante (oligohemia) y el aumento de la concentración de la sangre (hemoconcentración). Al ir aumentando progresivamente el tiempo de transporte hay una elevación de la concentración sanguínea de albúmina, proteína plasmática total y osmolaridad, lo que indica un aumento progresivo de la deshidratación (Warriss y col., 1995).

Caballero y Sumano (1993), señalan que el estrés crónico genera polidipsia, por lo que de acuerdo con Tadich y col. (1999) los animales al disponer de agua *ad libitum* durante el periodo de ayuno o espera en matadero recuperan los niveles normales de su hidratación, disminuyendo los valores del VGA. Warriss y col. (1995) señalan que la deshidratación que se produce durante en transporte no implicaría un cambio brusco en los valores del VGA.

3.3. Glucosa

La glucosa es el principal producto de la digestión de los carbohidratos y principal azúcar circulante del organismo (Ganong, 1992). La concentración de glucosa sanguínea en bovinos es de 3,0 a 4,4 mmol/l (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Cunningham (1994), señala que la glucosa se almacena en el organismo únicamente en forma de glucógeno, el que se encuentra distribuido principalmente en el hígado y músculo esquelético, lo que no impide su posterior síntesis a partir de otros compuestos. Es por esto que la mayor parte de la glucosa circulante en los rumiantes se origina a partir de la gluconeogénesis y que, cualitativamente el precursor más importante en esta vía es el propionato, el cual ingresa al ciclo de Krebs.

Cualquier relación entre la glucosa y el estrés está mediada por las catecolaminas y/o glucocorticoides. Por esta razón, los valores de glucosa circulante son un indicador indirecto de estrés (Shaw y Tume, 1992). El transporte en sí, produce según Shaw y Tume (1992) y Warriss y col. (1995) un aumento de glucosa sanguínea, debido principalmente a la glucogenólisis producida por la secreción de catecolaminas como también a un aumento de la gluconeogénesis hepática producto del cortisol liberado y al ayuno del transporte.

El estrés producido por el ayuno genera un aumento de noradrenalina en la sangre, lo cual estimularía la glucólisis con el consiguiente aumento de la glicemia (Tadich y col., 1999). La hiperglicemia puede tardar dos días en regresar a los valores basales (Warriss y col., 1995).

El estrés por el sacrificio tiene diferencias del producido por el transporte o manejos. La glucosa sanguínea en el estrés por el sacrificio es más alta que la medida después del transporte y manejos. El aumento de la noradrenalina debido al procedimiento de noqueo causaría la elevación de la concentración sanguínea de glucosa (Mitchell y col., 1988, Tadich y col., 1999).

3.4. Lactato

Los valores de referencia para la concentración de lactato plasmático en el bovino son, según Radostits y col. (2000), de 0,6 – 2,2 mmol/l. En un estudio realizado por Oyarce col. (2002) se señalan valores promedio de 0.7 mmol/l.

La partición del glicógeno muscular, como resultado de un esfuerzo muscular extremo puede llevar a la producción de grandes cantidades de ácido láctico los cuales serán liberados al torrente sanguíneo. Por lo tanto concentraciones elevadas de ácido láctico en la sangre se presenta después de una actividad muscular excesiva. Adicionalmente la liberación de catecolamina como respuesta al miedo o excitación, también puede llevar a una rápida glucogenólisis y así de este modo a una excesiva producción de lactato (Shaw y Tume, 1992).

Mitchell y col (1988), demostraron que el manejo y el transporte producen un aumento significativo del lactato en el plasma, sin embargo, el mayor aumento fue observado en muestras post- faenamiento. Estos mismos autores encontraron que las concentraciones plasmáticas de lactato eran significativamente mayores después de realizar un procedimiento de manejo estresante comparadas con las encontradas en los animales en los que no se realizó este tipo de manejo.

3.5. β -hidroxibutirato (β -HBA)

El β -HBA forma parte, junto con el acetoacetato y la acetona, de los llamados cuerpos cetónicos, y son principalmente producto del metabolismo energético de los rumiantes (Kaneko, 1989). La producción de β -HBA se lleva a efecto principalmente a nivel hepático, a partir de acetoacetato y butirato, que en rumiantes provienen de la fermentación que hacen los microorganismos a nivel ruminal (Shaw y Tume, 1992). Herdt (1988), indica que los

rumiantes producen un suministro constante de cuerpos cetónicos, debido principalmente a la conversión del butirato en β -HBA a nivel ruminal. Los valores promedio de la concentración de β -HBA en sangre de bovinos son de 0,02 a 0,46 mmol/l (Wittwer y Böhmwald, 1983). En un estudio realizado por Oyarce y col. (2002) se señalan valores promedio de 0.4 mmol/l.

En los rumiantes los ácidos grasos volátiles son los energéticos principales que sirven de una manera similar a la glucosa utilizada por los monogástricos (Cunningham, 1994). El autor señala que en los rumiantes, además de producirse a nivel hepático se forma a partir del butirato y acetato en el epitelio ruminal; entonces los cuerpos cetónicos que se forman en la digestión normal son importantes metabolitos energéticos para los rumiantes.

Kaneko (1989), señala que el aumento en la síntesis de cuerpos cetónicos se produce en el rumiante por un variado número de causas, siendo el ayuno prolongado la causa más común. Según Tadich y col. (1999), al existir una falta de ingesta alimenticia se produce movilización grasa, con el consecuente aumento en los valores sanguíneos de los cuerpos cetónicos y por lo tanto, del β -HBA, lo que explicaría su aumento durante períodos prolongados de ayuno.

El transporte y el ayuno producen un aumento de los valores sanguíneos de β -HBA como respuesta al ayuno durante el recorrido de los animales, lo que aumenta la movilización de grasas corporales. Los valores de β -HBA tardan de 1 a 2 días en regresar a los valores basales (Warriss y col., 1995).

3.6. Creatinfosfoquinasa (CK, EC 2.7.3.2)

La actividad de CK sérica es un indicador de estrés ampliamente utilizado en los animales (Lister y col., 1981). Esta presente en el músculo, donde hace que el ATP esté disponible para la contracción mediante la fosforilación del ADP a partir del creatinfosfato (Grandin, 2000). Los valores de referencia para el bovino según Radostits y col. (2000), son de 35 - 280 U/l.

Según Grandin y Tarrant (1993) el aumento de la actividad física se refleja en un aumento de la actividad de la CK plasmática. Warriss y col. (1995) señalan que un estrés físico, como la mantención de la postura en un vehículo en movimiento con el consiguiente desgaste físico, puede incrementar la actividad plasmática de la CK, esto se observa en los transportes prolongados, los cuales se asocian a un aumento de la actividad plasmática de la enzima.

Cockram y Corley (1991), señalan que un aumento en los valores plasmáticos de la CK podría deberse a diferentes causas, como al ayuno, ejercicio y a las catecolaminas que aumentan durante el transporte y que tendrían su mayor actividad durante el momento del noqueo y sacrificio. Grandin y Tarrant (1993) indican que en periodos de transporte de 4 y 24 horas, la actividad plasmática de la CK aumenta con el incremento de la densidad de animales,

reflejando daño muscular. Además, la actividad plasmática de la CK aumenta en proporción a la duración del período de transporte.

Warriss y col. (1995) señalan que la actividad plasmática permanece alta hasta por dos días, especialmente en los animales con tiempo de transporte más largos, pero retorna a valores normales dentro de los cinco días siguientes.

Al momento del sacrificio, la actividad plasmática de la CK también es mayor que la de animales normales y está positivamente correlacionada con el tiempo de desplazamiento de los animales. Sin embargo, no hay correlación entre la conducta previa al noqueo, que podría causar daño muscular, y la actividad de la CK (Cockram y Corley, 1991).

3.7. Leucocitos

Leucocitos es un nombre genérico que se le da a las diferentes células blancas nucleadas de la sangre; incluye a los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos, y linfocitos. Todos ellos participan en mecanismos de defensa del organismo, pero son cinética, morfológica y funcionalmente diferentes (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Caballero y Sumano (1993) señalan que los esteroides pueden tener gran influencia sobre la función del sistema linforreticular; empero, los efectos farmacológicos son más difíciles de precisar cuando estas sustancias se presentan en bajas dosis y en especies que son relativamente resistentes al efecto de los esteroides. Además es posible que los efectos de los glucocorticoides sobre la función inmune de los bovinos hayan sido sobreestimados, ya que la mayoría de los estudios se llevan a cabo en ratones de laboratorio que son clasificados como animales muy sensibles a los corticosteroides. Los bovinos son considerados como especies poco sensibles a los corticosteroides debido a que inducen una escasa lisis de linfocitos (Roth, 1985).

Las observaciones clínicas en bovinos indican que los glucocorticoides derivados del estrés ejercen efectos que dañan los mecanismos de defensa del huésped y que están asociados a hipertrofia adrenal (por aumento de ACTH), involución tímica, linfopenia, eosinopenia y neutrofilia (Griffin, 1989), aunque existen opiniones contrarias (Roth, 1985).

Para demostrar los efectos de los glucocorticoides endógenos en concentraciones elevadas se han realizado experimentos inyectando hormona adrenocorticotrófica (ACTH) a bovinos. Los resultados indican que los glucocorticoides inducen una disminución en la resistencia del animal ante diferentes enfermedades con activación de infecciones latentes como la rinotraqueítis viral bovina (Danies y Duncan, 1974), coccidiosis (Griffin, 1989), diarrea viral bovina (Shope y col., 1976), Parasitosis (Callow y Parker, 1969) y enfermedades causadas por herpes virus (Sheffey y Danies, 1972).

Es necesario señalar que en los bovinos la activación de la producción de corticosteroides por inyección de ACTH no siempre produce linfopenia (Roth, 1985).

Las observaciones de campo apoyan con fuerza el punto de vista de que el estrés reduce la resistencia a la infección. Esto parece lógico, pues hay una actividad adrenocortical mayor a lo normal. La relación de este tipo que se ha estudiado en forma más intensiva es la que existe entre la exposición de terneras al destete y transporte, y su susceptibilidad subsecuente a la fiebre del transporte. La prevalencia al parecer aumenta, y se incrementa todavía más por la introducción de otros factores de estrés (Crookshank y col., 1979).

Considerando los antecedentes precedentemente entregados, se formuló la siguiente hipótesis de trabajo:

3.8. Hipótesis de trabajo

Ha: Existen diferencias significativas en las concentraciones y valores de algunos indicadores sanguíneos de estrés en novillos transportados con una densidad de 500 kg/m² al compararlos con aquellos transportados con una densidad de 400 kg/m², durante tres horas vía terrestre.

3.9. Objetivos

3.9.1. Objetivo general

Analizar el efecto de dos densidades de carga y un tiempo de transporte terrestre de tres horas sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés, en novillos.

3.9.2. Objetivos específicos

Comparar el efecto de dos densidades de transporte, 400 kg/m² y 500 kg/m², en novillos transportados vía terrestre durante 3 horas, sobre los valores sanguíneos de cortisol, glucosa, β -HBA, leucocitos, lactato, valores de VGA y CK.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la provincia de Valdivia y consideró cuatro réplicas dos en los meses de julio de 2001 (1 y 2) y dos en enero de 2002, (3 y 4). Además, contó con la colaboración de la Planta Procesadora de Carnes, FRIVAL S.A., de la ciudad de Valdivia.

4.1. Material:

Se usaron 15 novillos (bovinos machos castrados) por réplica. Estos eran de similares características en cuanto a procedencia, edad (2D según cronometría dentaria), peso (490 kg promedio) y estado de gordura (grasa de cobertura 1) (Chile, 1993).

Para la obtención de las muestras de sangre se utilizaron tubos al vacío con NaF y heparina.

Para el transporte de los animales se utilizaron camiones de similar estructura y capacidad. Para generar las dos densidades de transporte (500 kg/m^2 y 400 kg/m^2) el espacio de carga de cada camión se subdividió en 2 jaulas de diferente superficie.

4.2. Método:

El manejo que se describe a continuación fue realizado en forma similar en cada una de las réplicas.

En el predio de origen a todos los animales se les extrajo 2 muestras de sangre mediante venopunción coccígea, utilizando tubos de 7 ml con heparina y de 7 ml con NaF. Luego se les identificó con un arete plástico numerado correlativamente y fueron pesados. Posteriormente los animales fueron divididos aleatoriamente en los corrales en dos grupos homogéneos de acuerdo a su peso vivo y cargados en el camión de acuerdo a la siguiente pauta, 7 animales en la sección anterior, densidad de 400 kg/m^2 y 8 animales en la sección posterior, densidad de 500 kg/m^2 .

Los animales fueron transportados durante 3 horas a la PFC (FRIVAL) de la ciudad de Valdivia. Durante ese tiempo recorrieron aproximadamente 120 km. de carretera asfaltada o pavimentada. A la llegada a la PFC los animales fueron inmediatamente descargados y se procedió a obtener una segunda muestra de sangre en forma similar a la descrita anteriormente. Posteriormente los animales descansaron durante 12 horas en la PFC, teniendo acceso a agua *ad libitum*, pero no a alimento.

Una vez concluido el período de descanso e inmediatamente antes de ser arreados a la sala de noqueo se obtuvo una tercera muestra de sangre por venopunción coccígea.

Finalmente posterior al noqueo, se obtuvo una cuarta y última muestra de sangre durante la sangría.

Durante las repeticiones de invierno la T° ambiental osciló entre los 7°C y 17°C con precipitaciones, mientras que durante las repeticiones de verano éstas oscilaron entre los 10°C y 24°C, sin precipitaciones.

4.3. Análisis de las variables sanguíneas.

Para la determinación de glucosa y lactato se utilizó tubos con NaF y para las otras variables tubos con heparina. Se utilizó plasma para las siguientes muestras: cortisol, glucosa, lactato, β -HBA y CK. Para las muestras de VGA y leucocitos se utilizó sangre entera.

4.3.1 Determinación de cortisol:

La determinación de la concentración de cortisol se realizó en las muestras de plasma heparinado mediante radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción.

4.3.2 Determinación del hematocrito (VGA) y recuento de leucocitos:

La determinación del VGA y del número de leucocitos totales se realizó mediante un contador hematológico SYSMEX modelo KX-21 N.

4.3.3 Determinación de glucosa:

La determinación de la concentración de glucosa se hizo en las muestras de plasma con NaF en base al procedimiento de la prueba GOD-PAP (Liquid), sin deproteinización (GL 2623, RANDOX^o) utilizando un espectrofotómetro COBAS MIRA PLUS de Roche. La determinación de glucosa se realizó después de una oxidación enzimática en presencia de la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona, por catálisis de la peroxidasa, con el fenol y el 4-aminoferrasona para formar un color rojo violeta como indicador.

4.3.4 Determinación de lactato:

La determinación de la concentración de lactato se hizo en las muestras de plasma con NaF. Se aplicó la técnica de medición basada en el test UV enzimático (Boehringer Mannheim N°149993). La determinación se realizó mediante una reacción enzimática que transforma el lactato en piruvato, la cual produce peróxido de hidrogeno. Posteriormente, el peróxido de hidrógeno es usado en una nueva reacción enzimática la cual genera un color el cual es medido en el espectrofotómetro COBAS MIRA PLUS de ROCHE.

4.3.5 Determinación de b-hidroxibutirato (b-HBA):

Para llevar a cabo la determinación se utilizó una técnica enzimática en la cual, el β -hidroxibutirato es oxidado por NAD⁺ (nicotinamida adenin dinucleotido) mediante la enzima 3 HBDH (3-hidroxibutirato deshidrogenasa) a acetoacetato. La cantidad de NAD⁺ reducida se midió en un espectrofotómetro COBAS MIRA PLUS de Roche.

4.3.6 Determinación de la creatínfosfoquinasa (CK) (EC.2.7.3.2):

La determinación de la CK se hizo mediante un método UV-cinético, a 340nm y a 37°C, optimizado según la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Se emplearon reactivos Roche y un espectrofotómetro COBAS MIRA PLUS de Roche.

Las muestras fueron transportadas a el laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, donde se realizó la determinación del VGA y recuento de leucocitos dentro de 24 horas y luego las muestras fueron centrifugadas para la obtención de plasma que fue almacenado a -25°C hasta la ejecución de los análisis.

4.4 Análisis estadístico:

La significancia estadística de las diferencias entre tratamientos fue cuantificada usando análisis de varianza mediante el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijkl} = \mu + tiempo_i + densidad_j + replica_k + e_{ijkl}$$

Donde:

y_{ijkl} = es un valor de la variable dependiente del l-ésimo animal sometido en la k-ésima réplica sometida al j-ésima densidad de transporte en el i-ésimo tiempo de transporte.

$tiempo_i$ = efecto fijo del i-ésimo tiempo de transporte (i = 1, 2)

$densidad_j$ = efecto fijo de la j-ésima densidad de transporte (j = 1, 2)

$réplica_k$ = efecto fijo de la k-ésima replica (k= 1, 2, 3, 4)

e_{ijkl} = efecto residual aleatorio (0, σ_e^2)

Las interacciones entre los efectos fijos del modelo fueron incluidas cuando estas fueron estadísticamente significativas (P<0,05). Los datos fueron analizados usando el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1990) (Statistical Analysis System).

5. RESULTADOS

No se determinaron diferencias ($P>0.05$) entre las 2 densidades de transporte (400 y 500 kg/m²) durante los diferentes periodos de muestreo, para ninguna de las variables indicadoras de estrés utilizadas en el estudio (Anexo 1). Al no existir diferencias entre las dos densidades de transporte en las cuatro réplicas éstas se trataron como un solo grupo, de tal forma que en los resultados se presenta el comportamiento que tuvieron las variables indicadoras de estrés entre periodos de muestreo y réplicas.

5.1 Concentración plasmática de cortisol.

La concentración plasmática de cortisol aumentó ($P<0.05$) entre el predio y la PFC, para luego disminuir ($P<0.05$) en el post-ayuno para posteriormente aumentar ($P<0.05$) al momento de la sangría (Gráfico 1).

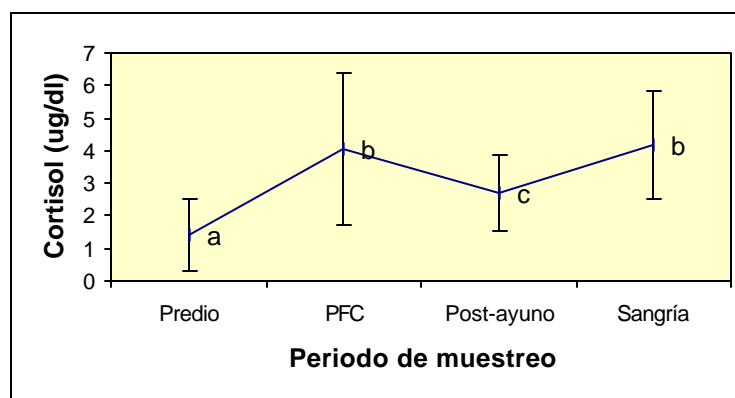


Gráfico 1. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de cortisol (mg/dl) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En cuanto a las réplicas del experimento las concentraciones plasmáticas de cortisol fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) para la réplica 1 comparada con las otras réplicas (tabla 1).

Tabla 1. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de cortisol (mg/dl) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	3.70 ± 1.86 (a)
2 (invierno)	3.25 ± 2.05 (ab)
3 (verano)	2.71 ± 1.73 (b)
4 (verano)	2.68 ± 2.08 (b)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.2 Valores de VGA.

Los valores de VGA (Gráfico 2) aumentaron ($P < 0.05$) en los periodos del post-ayuno y la sangría, con referencia al valor inicial en el predio (Gráfico 2).

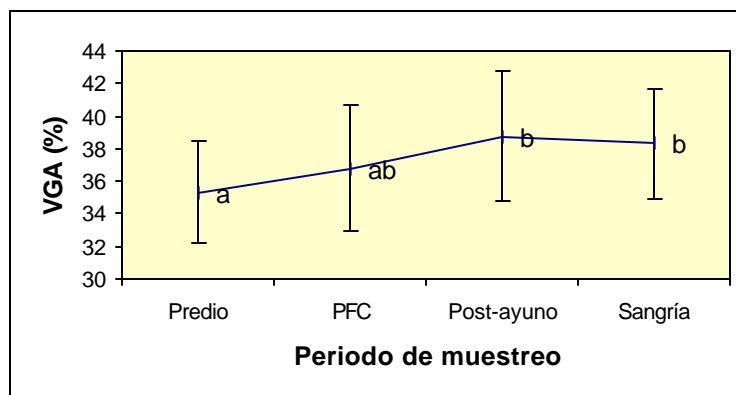


Gráfico 2. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de los valores de VGA (%) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En cuanto a las replicas del experimento los valores de VGA presentaron un valor significativamente mayor ($P < 0.05$) para la réplica 1 al compararla con las otras réplicas del experimento (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de los valores de VGA (%) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	40.04 \pm 4.26 (a)
2 (invierno)	37.35 \pm 3.83 (b)
3 (verano)	35.47 \pm 2.69 (b)
4 (verano)	36.32 \pm 3.07 (b)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.3 Concentración plasmática de glucosa.

La concentración plasmática de glucosa aumentó ($P < 0.05$) entre el muestreo en el predio y la PFC, luego disminuyó ($P < 0.05$) entre el muestreo en la PFC y el post-ayuno. A la sangría se observó un aumento ($P < 0.05$) en relación a las concentraciones en el predio y post-ayuno (Gráfico 3).

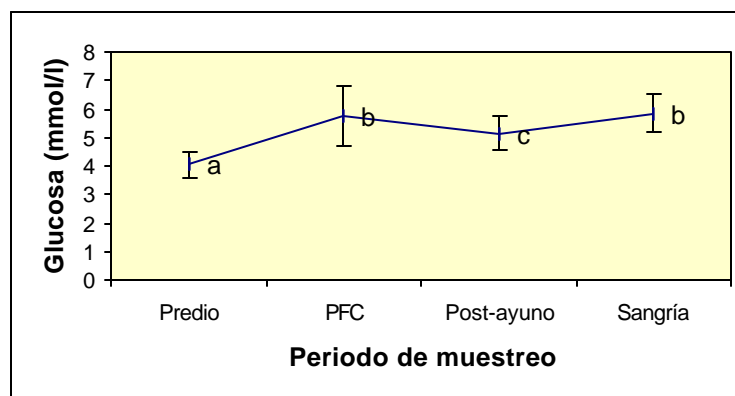


Gráfico 3. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/l) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

La concentración plasmática de glucosa fue ($P < 0.05$) mayor para la réplica 2 comparada con las otras réplicas, mientras que en el caso de la réplica 4, las concentraciones fueron significativamente menores ($P < 0.05$) que las concentraciones en las otras réplicas (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/l) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	5.24 ± 1.00 (a)
2 (invierno)	5.56 ± 1.05 (b)
3 (verano)	5.23 ± 0.83 (a)
4 (verano)	4.74 ± 1.01 (c)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.4 Concentración plasmática de lactato.

La concentración plasmática de lactato aumentó en forma significativa ($P < 0.05$) sólo al momento de la sangría (Gráfico 4).

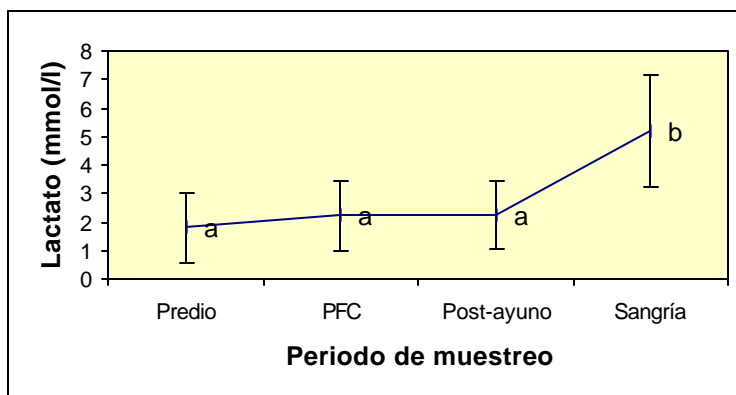


Gráfico 4. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de lactato (mmol/l) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En cuanto a las réplicas del experimento, la concentración plasmática de lactato fue significativamente ($P < 0.05$) mayor para la réplica 1 al compararla con la réplica 4, no se presentaron diferencias entre las demás réplicas del experimento (Tabla 4).

Tabla 4. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de lactato (mmol/l) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	3.16 ± 2.11 (a)
2 (invierno)	3.01 ± 2.22 (ab)
3 (verano)	2.82 ± 1.87 (ab)
4 (verano)	2.51 ± 1.69 (b)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.5 Concentración plasmática de b-hidroxibutirato (b-HBA).

La concentración plasmática de β -HBA disminuyó ($P < 0.05$) en los periodos de post-ayuno y sangría con referencia a los periodos previos (Gráfico 5).

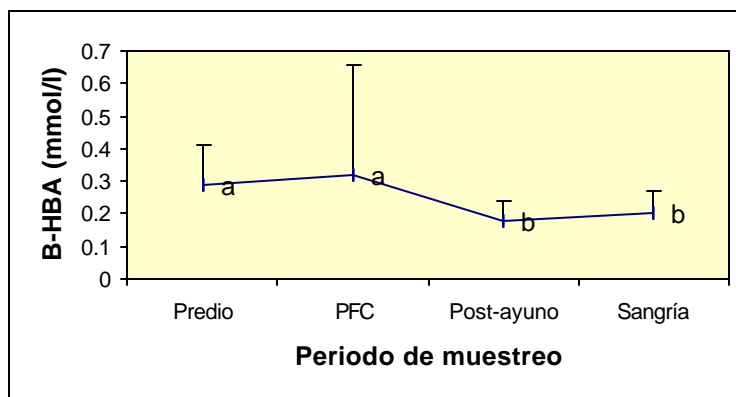


Gráfico 5. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de β -HBA (mmol/l) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En cuanto a las réplicas del experimento la concentración plasmática de β -HBA fue significativamente ($P < 0.05$) mayor para la réplica 1 comparada con las otras réplicas, mientras que en el caso de la réplica 4, las concentraciones fueron significativamente menores ($P < 0.05$) que las concentraciones en las otras réplicas (Tabla 5).

Tabla 5. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de las concentraciones plasmáticas de β -HBA (mmol/l) para las distintas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	0.35 \pm 0.32 (a)
2 (invierno)	0.25 \pm 0.09 (b)
3 (verano)	0.24 \pm 0.08 (b)
4 (verano)	0.16 \pm 0.10 (c)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.6 Actividad plasmática de Creatinfosfoquinasa (CK).

La actividad plasmática de CK aumentó ($P < 0.05$) entre el muestreo en el predio y la PFC, posteriormente se produjo una disminución ($P > 0.05$) hasta el momento de la sangría (Gráfico 6).

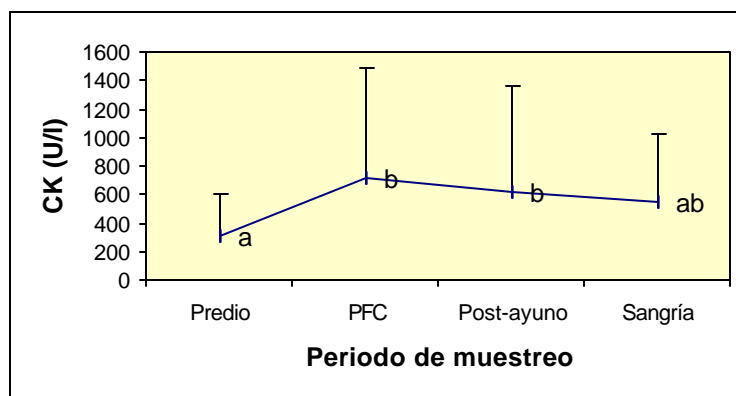


Gráfico 6. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de la actividad plasmática de CK (U/l) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3, posterior alreposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En relación a las réplicas del experimento estas no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ellas (Tabla 6).

Tabla 6. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de la actividad plasmática de CK (U/l) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	464.75 \pm 673.81 (a)
2 (invierno)	688.32 \pm 874.93 (a)
3 (verano)	478.25 \pm 266.69 (a)
4 (verano)	555.22 \pm 486.69 (a)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

5.7 Recuento de leucocitos totales.

El número de leucocitos totales aumentó ($P < 0.05$) entre el muestreo en el predio y la PFC, para posteriormente presentar una disminución que fue significativa ($P < 0.05$) entre el muestreo a la llegada a la PFC y el momento de la sangría, alcanzando valores similares a los del inicio del experimento (Gráfico 7).

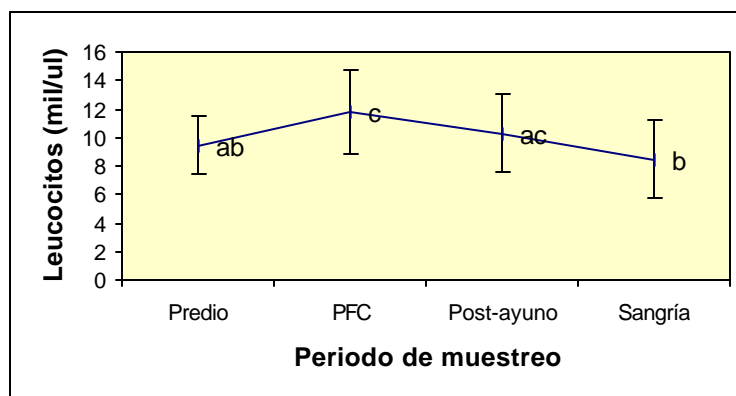


Gráfico 7. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de los valores de leucocitos (mil/ul) en muestras de 60 novillos obtenidas: 1 en el predio, 2 en la PFC, 3 posterior al reposo y ayuno (Post-ayuno) y 4 en la sangría.

En cuanto a las replicas del experimento estas no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ellas (Tabla 7).

Tabla 7. Promedio de los mínimos cuadrados (\pm d.e) de los valores de leucocitos (mil/ul) para las réplicas del experimento.

Réplica	Promedio
1 (invierno)	9.57 ± 3.15 (a)
2 (invierno)	9.51 ± 2.20 (a)
3 (verano)	10.89 ± 2.50 (a)
4 (verano)	10.05 ± 3.41 (a)

Nota: Letras distintas indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

6. DISCUSIÓN

La discusión del estudio comprende tres puntos principales: en el primero se analiza el efecto de las densidades de transporte en el comportamiento de las variables indicadoras de estrés, en segundo lugar se hará un análisis del comportamiento de cada variable en los periodos de muestreo tomando ambas densidades como un solo grupo y en tercer lugar se discutirá brevemente el efecto de las replicas en los resultados del estudio.

6.1 Efecto densidad

Knowles (1999) en una revisión sobre transporte de ganado, señala que existe una densidad optima para el transporte y que el bienestar animal puede ser malo si la densidad es muy alta o muy baja.

Los resultados de este estudio que indican que las diferentes densidades de carga a las que fueron sometidos los animales no alteraron ($P < 0.05$) las concentraciones y valores promedio de las variables indicadoras de estrés utilizadas, no fueron del todo inesperados. Esta ausencia de diferencias entre ambos grupos se debería principalmente al tiempo de transporte utilizado en el estudio. De acuerdo con Warris (1990), el tiempo de viaje es, generalmente, más importante que la distancia recorrida. Warris y col. (1995) concluyeron que hasta 15 horas de transporte son aceptables desde el punto de vista del bienestar animal. Por otra parte Tarrant y col (1992) indican que el bienestar se afecta con transportes de más de 24 horas. Lo anterior indicaría que el efecto de las diferentes densidades de transporte como factor estresante y transgresor del bienestar animal, pudo no manifestarse debido a que el tiempo de transporte fue corto y por lo tanto se necesitarían períodos de transporte más largos para producir alteraciones en las variables indicadoras de estrés.

Por otra parte estos resultados indicarían que una densidad de transporte de 400 kg/m² no sería necesariamente más beneficiosa que la densidad de 500 kg/m², utilizada en nuestro país; por lo tanto para que se manifestaran diferencias, la densidad baja utilizada en el transporte debió ser aún menor. A pesar que lo más probable es que la densidad de 400 kg/m² no haya manifestado sus beneficios debido al tiempo de transporte utilizado.

Tarrant y col. (1988) utilizando novillos de 600 kg., observaron los efectos de tres diferentes densidades, 200, 300 y 600 kg/m², durante viajes de 4 horas. En un segundo estudio Tarrant y col (1992) usaron novillos de 600 kg los cuales fueron transportados durante 24 horas con densidades de aproximadamente 450, 500 y 600 kg/m². En ambos estudios los autores concluyeron que la densidad de 600 kg/m² era una densidad inaceptable. Además, que el cortisol plasmático, la glucosa y CK aumentaban al incrementar la densidad animal, indicando que aumentan el daño muscular y el estrés en los animales (Tarrant y Grandin, 1993).

Eldridge y Winfield (1988) en un estudio en que se transportaron animales de 360 kg. bajo diferentes densidades de transporte, concluyeron que los animales transportados con las densidades más bajas tenían un menor ritmo cardiaco y menor movimiento. Eldridge y col. (1986) usando ganado de aproximadamente 326 kg. de peso en viajes cortos reportaron menos estrés en las densidades altas que en las bajas, (0.8 y 1.0 m² / animal respectivamente), esto basado en ritmo cardiaco. Kannan y col. (2000) en un estudio realizado con caprinos concluyeron que el transporte y la mantención en grupos de alta y baja densidad (0.18 y 0.37 m²/animal) no tuvo influencia en las respuestas al estrés. Esta conclusión basada en la medición de cortisol, leptina, CK y leucocitos en sangre como variables indicadoras de estrés.

6.2 Efecto Periodo de muestreo

6.2.1. Concentración plasmática de cortisol.

El aumento significativo ($P < 0.05$) en las concentraciones plasmáticas de cortisol observado al llegar a la PFC, concuerda con lo encontrado por Warris y col. (1995) y Tadich y col. (1999), quienes describieron un aumento significativo en las concentraciones de ésta variable en animales transportados por tres horas. Warris y col. (1995) señalan que se produce una elevación de los niveles sanguíneos de cortisol durante el embarque y el principio de la jornada de transporte. Respecto a esto, Cockram y Corley (1991), creen que este aumento en las primeras horas de transporte, se debería principalmente a efectos psicológicos relacionados con éste, como lo son el embarque, el ruido y las vibraciones. Es importante mencionar que los valores obtenidos en el predio, en este estudio, son similares a los encontrados por Oyarce y col. (2002), en novillos en reposo.

La disminución significativa ($P < 0.05$) observada posterior al descanso en la PFC coincidiría con lo señalado por Cunningham (1994), el cual señala que la respuesta de los glucocorticoides es proporcional a la gravedad del estrés, así el estrés moderado da lugar a una menor producción de cortisol, lo anterior puede señalar que el descanso en la PFC sería un factor menos estresante para los animales que el transporte.

El aumento significativo ($P < 0.05$) que se produce en el momento de la sangría, coincide con lo señalado por Shaw y Tume (1992) y Tume y Shaw (1992). Estudios realizados por los autores señalan que el cortisol es un indicador sensible en el estrés inducido por el sacrificio.

6.2.2. Valores de VGA.

El hecho que no existan diferencias significativas en los valores de VGA, entre el predio y la PFC, no concuerda con lo encontrado por Tadich y col. (1999), en que animales transportados por tres horas presentaron un aumento significativo del VGA. En cambio, Bustamante (2001) encontró que en animales transportados por tres horas producía una disminución en los valores de VGA entre el predio y la PFC. En este caso la tendencia a aumentar del VGA podría ser atribuida a la activación del sistema nervioso simpático, que

produce liberación de noradrenalina con lo cual hay contracción esplénica y de esta forma los valores de VGA aumentan. Los valores encontrados en el predio son levemente superiores a los encontrados por Oyarce y col. (2002), en novillos en reposo.

El aumento significativo ($P < 0.05$) de los valores de VGA posterior al descanso con respecto a los valores en el predio, no coincidiría con lo señalado por Tadich y col. (1999), que indica que los animales al disponer de agua *ad libitum* durante el periodo de ayuno o de espera en matadero recuperan los niveles normales de su hidratación, disminuyendo los valores de VGA. En este caso es posible que los animales no hayan consumido agua en los corrales.

El aumento de los valores de VGA al momento de la sangría con respecto a los valores en el predio, coincide con lo señalado por Mitchell y col. (1988) quienes describen un aumento significativo ($P < 0.05$) en los valores de VGA durante el proceso de faenamiento, el que se debería a la contracción esplénica que se produce como consecuencia de la liberación de catecolaminas, las cuales según Lister y col. (1981), son secretadas durante el momento del noqueo.

6.2.3. Concentración plasmática de glucosa.

El aumento significativo ($P < 0.05$) en la concentración plasmática de la glucosa a la llegada a la PFC coincide con lo encontrado por Tadich y col. (1999), Schwerter (2001) y Bustamante (2001) quienes describen un aumento ($P < 0.05$) en la variable posterior a un transporte de tres horas. Este aumento, según Shaw y Tume, (1992) se debe principalmente a las catecolaminas y glucocorticoides liberados producto del estrés del transporte, los que estimulan los procesos de glucólisis y gluconeogénesis. Es importante mencionar que los valores de la variable obtenidos en el muestreo en el predio son similares a los encontrados en novillos en reposo por Oyarce y col. (2002).

La mantención de concentraciones altas de glucosa en el muestreo posterior al descanso en la PFC, en relación al muestreo en el predio, se debería a que los niveles de glucosa tardan al menos dos días en regresar a sus valores basales (Warriss y col., 1995),

El aumento ($P < 0.05$) de la glucosa al momento de la sangría concuerda con lo señalado por Mitchell y col. (1988), Shaw y Tume, (1992) y Tadich y col. (1999), quienes señalan que los niveles sanguíneos de glucosa aumentan, producto del *peak* de catecolaminas que se produce en el momento del noqueo.

6.2.4. Concentración plasmática de lactato.

Esta variable no tuvo cambios durante el transporte y ayuno, lo que no coincide con lo señalado por Gregory (1998) que indica que durante cortos episodios de ejercicio fuerte hay una gran degradación de glucógeno muscular y producción de grandes cantidades de ácido láctico, el cual entra a la circulación. Según este autor la glicogenólisis en el músculo puede deberse al ejercicio o al efecto de la adrenalina liberada desde la médula adrenal. Es

importante mencionar que los valores obtenidos en el muestreo en el predio son mayores a los encontrados por Oyarce y col. (2002), en animales no estresados, por lo que es probable que el manejo realizado (arreo desde el potrero, arreo a los corrales y hacia la manga) antes del muestreo haya influenciado los valores de la variable.

Posteriormente, en el momento de la sangría se produjo un aumento significativo ($P < 0.05$) en la concentración plasmática de la variable, lo que concuerda con lo encontrado por Mitchell y col (1988), quienes demostraron que el mayor aumento se produce en muestras post faenamiento. Este se explica por el *peak* de liberación de catecolaminas desde la médula adrenal que se produce al momento del noqueo y que estimula la glicogenólisis en el músculo.

6.2.5. Concentración plasmática de b-hidroxitirato (b-HBA).

La ausencia de cambios significativos la concentración plasmática de β -HBA entre el predio y la PFC, concuerda con lo encontrado por Bustamante (2001) y Schwerter (2001), quienes encontraron que en animales transportados por tres horas se producía una disminución no significativa ($P > 0.05$) en la concentración plasmática de β -HBA. Esto podría deberse al corto tiempo utilizado para el transporte de los animales. Kaneko (1989), indica al ayuno prolongado como la causa más común de un alza de los valores de β -HBA, en el caso de este estudio el transporte realizado no involucra un ayuno en los animales. Debido a lo anterior Tadich y col. (1999) y Schwerter (2001) señalan al β -HBA como un mal indicador de estrés agudo por transporte, pero un buen indicador de ayunos cuando estos sobrepasan las 24 horas. Es importante mencionar que los valores encontrados para el β -HBA en el muestreo del predio fueron menores a los encontrados por Oyarce y col. (2002), en novillos en reposo.

La disminución significativa ($P < 0.05$) que se mantiene hasta el momento de la sangría, puede ser explicada por la utilización que hacen los rumiantes del pool circulante de este cuerpo cetónico (Tadich y col., 1999). Este pool se explica debido a que los rumiantes producen un suministro constante de cuerpos cetónicos desde el rumen donde se incluye el β -HBA (Herdt, 1988).

6.2.6. Actividad plasmática de Creatinfosfoquinasa (CK).

El aumento ($P < 0.05$) en la actividad plasmática de la variable que se presenta a la llegada a la PFC, indicaría que el transporte, aunque sea corto, produce daño muscular en los animales y coincide con lo encontrado por Tadich y col. (1999) y Bustamante (2001) en animales transportados por tres horas. Warris y col. (1995) señalan que el estrés físico, como la mantención de la postura en un vehículo en movimiento, puede incrementar la actividad plasmática de la CK. Además, estos autores señalan que la actividad plasmática de la CK aumenta en proporción a la duración del periodo de transporte. Coincidente con lo anterior Tadich y col. (1999) y Schwerter (2001) encontraron una menor variación en el incremento de la variable en animales transportados por tres horas al compararlos con transportes más largos.

La tendencia a disminuir la actividad plasmática de la variable que se mantuvo hasta el momento de la sangría, estaría de acuerdo con lo señalado por Knowles y col. (1993) y Tadich y col. (1999) quienes indican que en el descanso en el matadero se produce eliminación y dilución de la enzima producto del consumo de agua, con el consecuente descenso de sus concentraciones plasmáticas. Sin embargo, no coincide con lo encontrado por Schwerter (2001) en animales transportados por tres horas y sometidos a diferentes tiempos de ayuno, en cuyo experimento los valores de CK aumentaron durante el tiempo de ayuno.

En cuanto al comportamiento de la variable en la sangría Cockram y Corley (1991) señalan que al momento del sacrificio, la actividad plasmática de la CK es mayor que la de animales en reposo lo que no concuerda con lo encontrado en este experimento.

6.2.7. Número de leucocitos.

El aumento ($P < 0.05$) en el número de leucocitos circulantes a la llegada a la PFC, coincide con lo señalado por Schalm (1986) quién señala que el aumento del recuento leucocitario como resultado de ejercicio muscular, excitación, miedo o disturbios emocionales constituye una leucocitosis fisiológica, que se produce debido a el aumento de los neutrófilos y linfocitos, esto debido a un efecto adrenérgico. Esto se debe a que la adrenalina liberada producto de estrés produce vasoconstricción, afectando la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales y con esto aumenta el pool de leucocitos circulantes. Es importante mencionar que los valores en los leucocitos encontrados en el predio fueron mayores que los encontrados por Oyarce y col. (2000), en novillos en reposo. Lo anterior señalaría que los manejos realizados antes del transporte ya habrían influenciado los valores de la variable.

La disminución constante de los valores de leucocitos, posterior a la llegada de los animales a la PFC y hasta el momento de la sangría, coincide con lo señalado con Meyer y Harvey (1998) en que los valores de leucocitos vuelven a la normalidad posterior al cese del estímulo estresante, que en este caso sería el transporte.

6.3 Efecto Replica del experimento

Los resultados obtenidos observando las replicas del experimento, nos indican una influencia de la época del año, habiendo sido más afectadas las variables indicadoras de estrés durante el invierno, especialmente en la réplica 1, lo que podría indicar que las condiciones ambientales de la época son importantes en el estrés producido a los animales por los diferentes manejos a los que son sometidos.

Esto concuerda con Villarroel y col. (2001) quienes señalan que el bienestar animal también depende de variables indirectas tales como las tradiciones, el clima, la demografía de la población animal y la legislación de los diferentes países. Además, Gregory (1998), dentro de una pequeña lista de agentes estresantes recopilados durante un viaje incluye el calor y al frío.

En un estudio realizado por Kannan y col. (2000) en caprinos, se concluyó que el transporte y la mantención de animales en climas muy calurosos, debería ser evitado a modo de reducir pérdidas económicas y evitar estrés a los animales.

Por lo tanto sería beneficioso tomar en cuenta este factor como un inductor de estrés en el transporte de nuestros animales, ya que se podrían tomar medidas que disminuyan los efectos adversos que este factor suma al estrés que involucra el transporte.

6.4 Conclusiones

1. Bajo las condiciones experimentales de este estudio, se rechaza la hipótesis de que existirían diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de cortisol, glucosa, lactato, β -HBA, valores de VGA, leucocitos y actividad plasmática de CK en novillos transportados bajo una densidad de 400 kg/m² con relación a novillos transportados bajo densidad de 500 kg/m².
2. El efecto del transporte se manifestó en aumentos significativos de la concentración de cortisol y glucosa, de la actividad plasmática de CK y valores de leucocitos entre el predio y la llegada a la PFC.
3. El noqueo de los animales produjo aumentos significativos de las concentraciones de cortisol, glucosa y lactato determinados al momento de la sangría en relación a los valores de estas variables previo a este manejo.

7. BIBLIOGRAFIA

AXEROLD, J., T.D. REISINE.1984. Stress hormones: Their interaction and regulation, Science, 224: 452-459.

BUSTAMANTE, H. A. 2001. Determinación del efecto de diferentes tiempos de ayuno t transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos en el período Otoño- Invierno. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.

BLOOD, D.C., O.M. RADOSTITIS.1992. Medicina Veterinaria. 7ª Ed. Interamericana McGraw-Hill. España.

BROOM, D. M. 1986. *British Veterinary Journal*, 142:524. Citado por: Knowles, T.G. 1988. A review of the road transport of slaughter sheep. *Vet. Rec.*143, 212-219.

CABALLERO, S.C., H.S. SUMANO. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med.Vet.*, 1: 15-30.

CALLOW, L.L. , R.J. PARKER. 1969. Cortisone induced relapses in *Babesia argentina* infectious of cattle. Citado por: Caballero, S.C., H.S. Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 1: 15-30.

CHILE 1992.Ley 19.162. Establece sistema obligatorio de clasificación de ganado, tipificación y nomenclatura de sus carnes y regula funcionamiento de mataderos, frigoríficos y establecimientos de la industria de la carne. Publicada en Diario Oficial 7 de Septiembre de 1992.

CHILE, 1993. Instituto Nacional de Normalización. Norma Chilena Oficial Nch 1306. Of. 93. Canales de bovino: definiciones y tipificación.

CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1993. Reglamento General de Transporte de Ganado y Carne Bovina. Decreto N° 240. Publicado en el Diario Oficial 26 de Octubre de 1993.

CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS. 1997. VI Censo Nacional Agropecuario.

CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA. OFICINA DE ESTUDIOS Y POLITICAS AGRARIAS (ODEPA). 2000. Estadísticas Agropecuarias. <http://www.odepa.gob.cl/>.

- 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: 444-454.
- COCKRAM, M.S., J.E. KENT, P.J. GODDARD, N.K. WARAN, I.M. MCGILP, R.E. JACKSON, G.M. MUWANGA, S. PRYTHERCH. 1996.** Effect of space allowance during transport on the behavioral and physiological responses of lambs during and after transport. *Animal Science.*, 62: 461-477.
- COOPER, C.A., C.O. EVANS, S. COOK, N.C. RAWLINGS. 1995.** Cortisol, progesterone and B-endorphin response to stress in calves. *Can. J. Anim. Sci.*, 95: 197-201.
- CROOKSHANK, H.R., M.H. ELISSALDE, R.G. WHITE, D.C. CLANTON, H.E. SMALLEY. 1979.** Effect of transportation and handling of calves upon blood serum composition. *J. Anim. Sci.*, 48: 430-435.
- CUNNINGHAM, J.G. 1994.** Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana McGraw-Hill. 1º Edición. México.
- DANIES, D.H., J.R. DUNCAN. 1974.** The pathogenesis of recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus induced in calves by treatment with corticosteroids. Citado por: Caballero, S.C., H.C. Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 1: 15-30.
- DANTZER, R., P. NORMEDE. 1984.** El estrés en la cría intensiva del ganado. Editorial Acribia. España.
- ELDRIDGE, G. A, J.L. BARNETT, R.D. WARNER, W.J. VOWLES, C.G. WINFIELD 1986** The handling and transport of slaughter cattle in relation to improving efficiency, safety, meat quality and animal welfare. Research report series N° 19, Victoria Department of Agriculture and Rural Affairs, Australia.
- ELDRIDGE, G. A., C. G. WINFIELD. 1988.** The behaviour and bruising of cattle during transport at different space allowances. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 28: 695-698.
- FORREST, J.C., E.D. ABERLE, H.B. HEDRICK, M.D. JUDGE, R.A. MERKEL. 1979.** Fundamentos de ciencia de la carne. Ed. Acribia, Zaragoza. España.
- GALLO, C. 1994.** Efecto del manejo pre y post faenamiento en la calidad de la carne. Serie Simposios y Compendios de la Sociedad Chilena de Producción Animal, vol. 2:27-47.
- GALLO, C., X. CARMINE, 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. XX Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal, 205-206.

- GALLO, C. 1996.** Consideraciones sobre el manejo antemortem en Chile y su relación con la calidad de la carne. Informativo sobre Carne y Productos Cárneos (edición especial) 21: 27-46.
- GANONG, W. F. 1992.** Fisiología Médica. 13^o Edición. Ed. Manual Moderno.
- GRANDIN, T., V. TARRANT. 1993.** Livestock handling and transport. CAB Int., U.K.
- GRANDIN, T. 2000.** Livestock Handling and Transport. 2nd. end. Oxford, CABI Publishing. pp 1-14.
- GREGORY, N. G. 1998.** *Animal Welfare and Meat Science*. Oxford, CABI Publishing. pp 69:74-89.
- GRIFFIN, J.F.T. 1989.** Stress and Immunity: Unifying concept. 263-312. En: Veterinary Immunology and Immunopathology. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands.
- HERDT, T.H. 1988.** Fuel homeostasis in the ruminant. *Vet.Clin North Ame: Food Animal Practice*, 4: 213-231.
- 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. *Anim. Sci.* 62: 49-66.
- JOHNSON, H.D., W.J. VANJONAK. 1976.** Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lacting animals, *J. Dairy Sci.* 59: 1603-1617.
- KANNAN, G., T. H. TERRIL, B. KOUAKOU, O. S. GAZAL, S. GELAYE, E. 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. 1989.** Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4^o.Ed. Academic Press. San Diego. USA.
- KENNY, F.J., P.V. TARRANT. 1987.** The physiological and behavioural responses of crossbred friesian steers to short-haul transport by road. *Livestock Production Science*, 17: 63-75.
- KNOWLES, T.G., P.D. WARRISS, S.N. BROWN, S.N. KESTIN, S.M. RIHND, J.E. EDWARDS, M.H. ANIL, S.K. DOLAN. 1993.** *Veterinary record* 133: 286-293. Citado por Cockram, M.S., J.E. Kent, P.J. Goddard, N.K. Waran, I.M. McGilp, R.E. Jackson, G.M. Muwanga, S. Prytherch. 1996. Effect of space allowance during transport on the behavioural and physiological responses of lambs during and after transport. *Animal Science*, 62: 461-477.

- KNOWLES, T. G. 1998.** A review of the road transport of slaughter sheep. *Vet.Rec.*143: 212-219.
- KNOWLES, T.G. 1999.** A Review of the road transport of cattle., *Vet.Rec.*144:197-201.
- LEVINE, S. 1985.** A definition of stress? 51-69. En : Moberg, G.P. *Animal Stress*. Am. Physiol. Soc. Waverley Press, Bethesda, Maryland.
- LISTER, D., N.G. GREGORY, P.V. WARRISS. 1981.** *Developments in meat science*. Applied Science Publishers, London.
- MATIC, M.A. 1997.** Contusiones en canales bovinas y su relación con el transporte. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- MEYER, D., J. HARVEY. 1998.** *Veterinary Laboratory Medicine; Interpretation and Diagnosis*. 2 ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia. USA.
- 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. 1985.** *Animal Stress* American Physiological Society. Bethesda. USA.
- MOBERG, G.P. 1987.** A model for assessing the impact of behavioural stress on domestic animals. *J. Anim. Sci.* 65: 1228-1235.
- MOBERG, G.P. 2000.** *The Biology of Animal Stress. Basic Principles and implications for Animal Welfare*. G.P. Moberg and J.A. Mench (eds). CAB International. Oxford. England.
- OYARCE, J., N. TADICH, C. GALLO. 2002.** Determinación de algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés en novillos en reposo. Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Octubre. Chillán, Chile.
- RADOSTITS, O.M., C.C. GAY, D.C. BLOOD, K.W. HINCHCLIFF. 2000.** *Veterinary Medicine; A textbook of the Diseases of Catle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 9 ed. W.B. Saunders Company, London. England.
- ROTH, J.A. 1985.** Cortisol as mediator of stress – associated. En: Moberg, G.P. (ed). *Animal Stress*: 225-244. American Physiology Society Bethesda, Maryland.
- SAS, 1990.** *SAS User's Guide: Statistics, Versión 6.4*. Ed. 1990. SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- SCHAEFER, A.L., S.D.M., JONES, R.W., STANLEY. 1997.** The use of electrolyte solutions for reducing transport stress. *J. Anim. Sci.* 75: 258-265.

- SCHWERTER, M. C. 2001.** Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés, en bovinos sometidos a diferentes tiempos de transporte terrestre y ayuno en el periodo Primavera- Verano. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- SCHALM, O.W. 1986.** Schalm's Veterinary Hematology. 4 ed. Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
- SELYE, H. 1954.** Fisiología y Patología de la exposición al estrés. Ed. Científico Médica, Barcelona. España.
- SHAW, F.D., R.K. TUME. 1992.** The assessment of pre-slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents- A review of recent work. *Meat Science*, 32: 311-329.
- SHEFFEY, B., D.V. DANIES. 1972.** Reactivation of bovine herpes virus after corticosteroid treatment. Citado por: Caballero, S.C., H.S. Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 1: 15-30.
- SHOPE, R.E., C.C. MUSCOPLAT, V.W. CHEN, D.W. JHONSON. 1976.** Mechanism of protection from primary bovine viral diarrhoea virus infection .1. the effect of dexamethasone. Citado por: Caballero, S.C., H.S. Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 1: 15-30.
- STOTT, G.H. 1981.** What is animal stress and how is it measured?, *J. Anim. Sci.*, 52: 150-153.
- 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 bovinos. 24 Reunión Anual. Sociedad Chilena de Producción Animal. 27 – 29 de Octubre. Temuco. Chile.
- TARRANT, P.V., F.J. KENNY, D. HARRINGTON. 1988.** The Effect of Stocking Density During 4 Hour Transport to Slaughter on Behaviour, Blood constituents and Carcass Bruising in Friesian Steers. *Meat Science*, 24: 209-222.
- TARRANT, P.V., F.J. KENNY, D. HARRINGTON, M. MURPHY. 1992.** Long distance transportation of steers to slaughter, effect of stocking density on physiology, behaviour and carcass quality. *Livestock Production Science*, 30: 223-238.
- TARRANT, P.V., T. GRANDIN. 1993.** Cattle transport. En: Livestock handling and transport (editado por T. Grandin), CAB Int. *pp.* 109-126.
- TENNESSEN, T.G., M.A. PRICE, R.T. BERG. 1984.** *Canadian Journal of Animal Science*, 64: 333. Citado por Warris, 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.
- TUME, R.K., F.D. SHAW.1992.** Betaendorphin and cortisol concentration in plasma of blood samples collected during exsanguination of cattle. *Meat Science*, 31: 211-217.
- VILLARROEL, M., G. A. MARÍA, I. SIERRA, C. SAÑUDO, S. GARCÍA-BELENGUER, G. GEBRESENBET. 2001.** Critical points in the transport of cattle to slaughter in Spain that may compromise the animals' welfare. *Vet.Rec.*49:173-176.
- WARNER, R.D., G.A. ELDRIDGE, C.G. HALPIN, J.L. BARNETT, D.J. CAHILL. 1986.** The effects of fasting and cold stress on dark – cutting and bruising in cattle. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 16: 383-386.
- WARRISS, P.D., S.C. KESTING, S.N. BROWN, L.J. WILKINS. 1984.** Recovery from mixing stress in young bulls. *Meat Science* 10: 53-68.
- WARRIS, P. D. 1990.** The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass meat quality. *Applied Animal Behaviour Science*, 28: 171-186.
- WARRISS, P. 1992.** Animal welfare. Handling animal before slaughter and the consequences for welfare and product quality. *Meat Focus International* (July), 135-138.
- WARRISS, P.D., S.N. BROWN, T.G. KNOWLES, S.C. KESTIN, J.E. EDWARDS, S.K. DOLAN, A.J. PHILLIPS. 1995.** Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *Veterinary Record*, 136: 319-323.
- WITTWER, F., H. BÖHMWALD. 1983.** Manual de Patología Clínica Veterinaria. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia.

8. ANEXOS

ANEXO 1

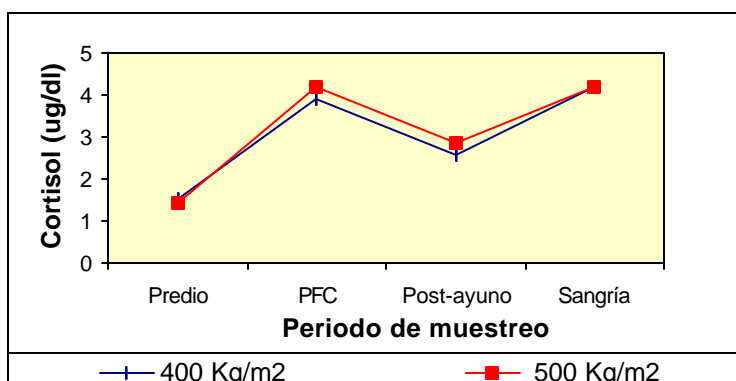


Gráfico 8. Valores promedio de las concentraciones plasmáticas de cortisol ($\mu\text{g/dl}$) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m^2).

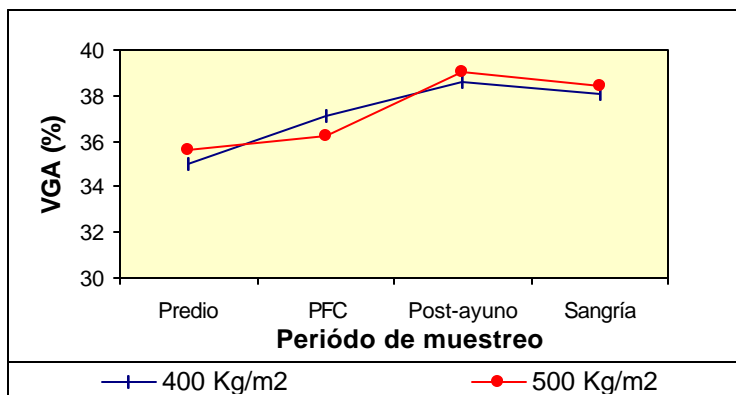


Gráfico 9. Valores promedio de VGA (%) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m^2).

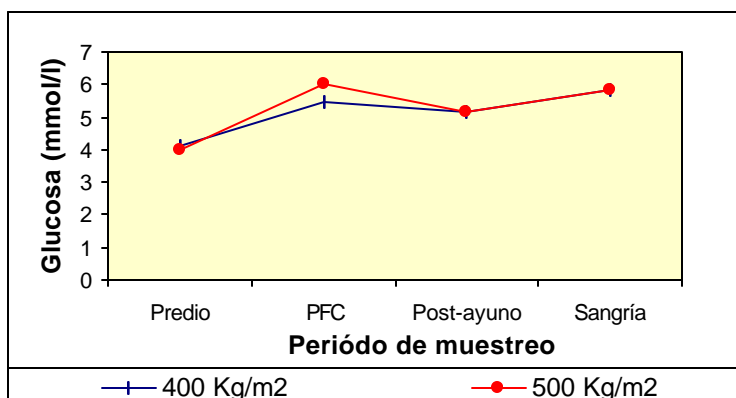


Gráfico 10. Valores promedio de las concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/l) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m²).

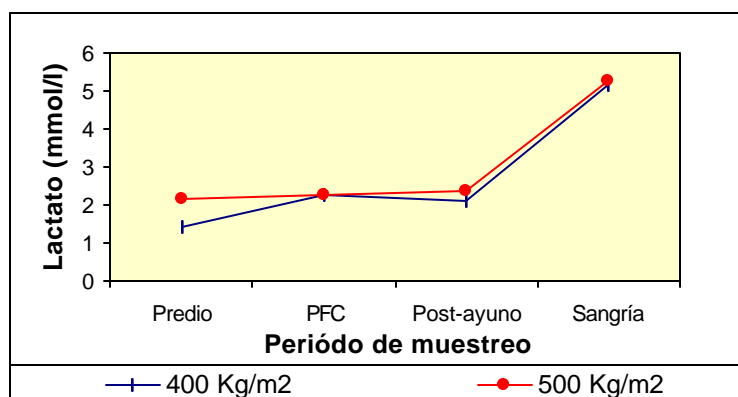


Gráfico 11. Valores promedio de las concentraciones plasmáticas de lactato (mmol/l) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m²).

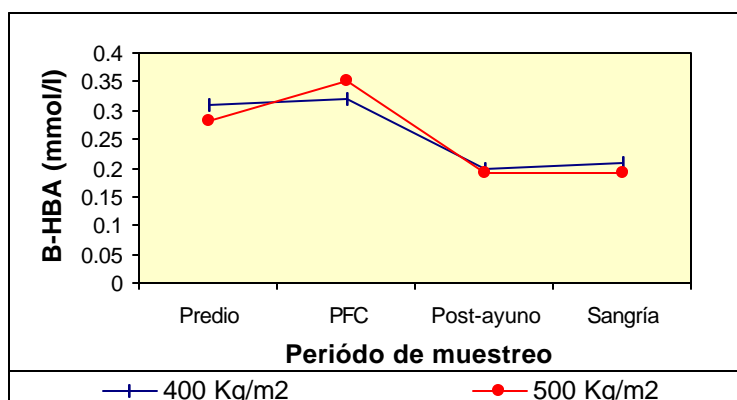


Gráfico 12. Valores promedio de las concentraciones plasmáticas de b-HBA (mmol/l) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m²).

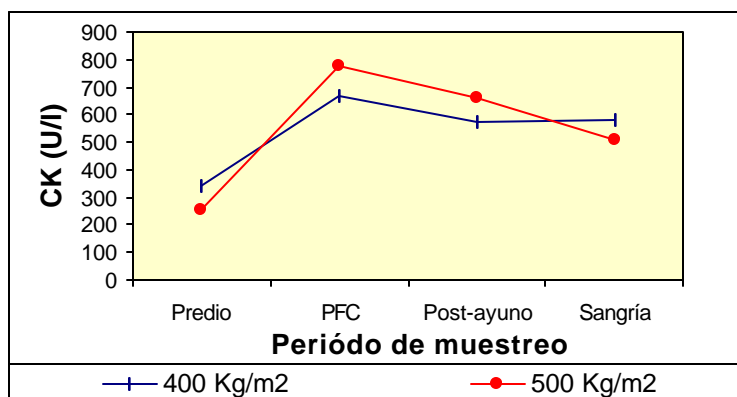


Gráfico 13. Valores promedio de la actividad plasmática de CK (U/l) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m²).

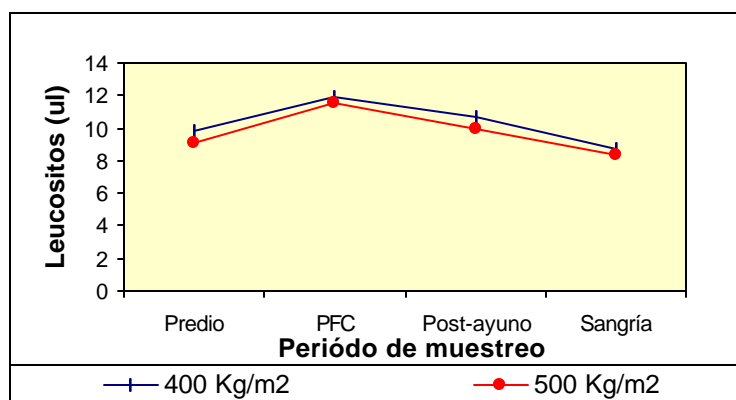


Gráfico 14. Valores promedio de las concentraciones de leucocitos (mil/ul) en los distintos periodos de muestreo para cada densidad de transporte (400 y 500 kg/m²).

ANEXO 2

Tabla 8. Promedios y desviaciones estándar de las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato, b-HBA, actividad plasmática de CK, leucocitos y valores de VGA para las dos densidades de transporte en los diferentes períodos de muestreo.

	400 kg/m2	500 kg/m2
Cortisol (ug/dl)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	1.51 ± 1.23	1.45 ± 1.04
PFC	3.9 ± 2.13	4.17 ± 2.51
Post ayuno	2.58 ± 1.16	2.84 ± 1.19
Sangría	4.21 ± 1.54	4.17 ± 1.77
VGA (%)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	35.01 ± 3.22	35.60 ± 3.15
PFC	37.14 ± 3.70	36.23 ± 4.07
Post ayuno	38.57 ± 4.00	39.05 ± 3.99
Sangría	38.09 ± 2.79	38.39 ± 3.91
Glucosa (mmol/l)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	4.14 ± 0.49	3.97 ± 0.40
PFC	5.46 ± 1.00	6.03 ± 1.02
Post ayuno	5.18 ± 0.58	5.13 ± 0.61
Sangría	5.82 ± 0.74	5.86 ± 0.61
Lactato (mmol/l)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	1.42 ± 0.84	2.18 ± 1.41
PFC	2.24 ± 1.32	2.25 ± 1.14
Post ayuno	2.08 ± 1.27	2.39 ± 1.11
Sangría	5.14 ± 2.05	5.25 ± 1.91
b-HBA (mmol/l)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	0.31 ± 0.13	0.28 ± 0.11
PFC	0.32 ± 0.21	0.35 ± 0.43
Post ayuno	0.20 ± 0.06	0.19 ± 0.06
Sangría	0.21 ± 0.09	0.19 ± 0.04
CK (U/l)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	337.81 ± 395.18	254.25 ± 120.63
PFC	670.31 ± 617.78	778.87 ± 909.54
Post ayuno	572.25 ± 824.47	661.56 ± 674.15
Sangría	578.21 ± 542.94	511.46 ± 409.59
Leucocitos (mil/ul)	Promedio ± d.e	Promedio ± d.e
Predio	9.82 ± 2.60	9.11 ± 1.49
PFC	11.93 ± 3.02	11.51 ± 2.84
Post ayuno	10.63 ± 3.36	10.00 ± 2.04
Sangría	8.72 ± 3.12	8.33 ± 2.45

ANEXO 3

Tabla 9. Promedio de los mínimos cuadrados y desviaciones estándar de las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato, b-HBA, CK, leucocitos y valores de VGA, tomando ambas densidades como un solo grupo en los diferentes períodos de muestreo.

Cortisol (ug/dl)	Promedio \pm d.e
Predio	1.39 \pm 1.11 (a)
PFC	4.06 \pm 2.32 (b)
Post ayuno	2.71 \pm 1.18 (c)
Sangría	4.19 \pm 1.65 (b)
VGA (%)	Promedio \pm d.e
Predio	35.33 \pm 3.17 (a)
PFC	36.78 \pm 3.89 (ab)
Post ayuno	38.78 \pm 3.96 (b)
Sangría	38.29 \pm 3.41 (b)
Glucosa (mmol/l)	Promedio \pm d.e
Predio	4.05 \pm 0.45 (a)
PFC	5.74 \pm 1.05 (b)
Post ayuno	5.15 \pm 0.59 (c)
Sangría	5.84 \pm 0.67 (b)
Lactato (mmol/l)	Promedio \pm d.e
Predio	1.81 \pm 1.23 (a)
PFC	2.23 \pm 1.23 (a)
Post ayuno	2.26 \pm 1.20 (a)
Sangría	5.20 \pm 1.98 (b)
b-HBA (mmol/l)	Promedio \pm d.e
Predio	0.29 \pm 0.12 (a)
PFC	0.32 \pm 0.34 (a)
Post ayuno	0.18 \pm 0.06 (b)
Sangría	0.20 \pm 0.07 (b)
CK (U/l)	Promedio \pm d.e
Predio	315.40 \pm 284.01 (a)
PFC	709.41 \pm 785.19 (b)
Post ayuno	616.90 \pm 742.89 (b)
Sangría	544.84 \pm 473.47 (ab)
Leucocitos (mil/ul)	Promedio \pm d.e
Predio	9.47 \pm 2.10 (ab)
PFC	11.77 \pm 2.90 (c)
Post ayuno	10.30 \pm 2.77 (ac)
Sangría	8.48 \pm 2.76 (b)

Nota: Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre períodos de muestreo.

ANEXO 4

Tabla 10. Valores individuales de cortisol, glucosa, lactato, CK, b-HBA, leucocitos y VGA para los animales de las distintas densidades en el predio.

Animal	Densidad	Cortisol(ug/dl).	Glucosa(mmol/l).	lactato(mmol/l).	CK(U/l).	BHB(mmol/l).	leucocitos(/ul).	VGA(%)
46	400	.	3.92	0.91	.	.	7.2	42
30	400	1.06	4.35	0.87	271	0.47	9.2	36.4
37	400	1.71	4.6	1.28	160	0.28	8.8	34.5
5	400	3.06	3.54	0.4	164	0.48	9.2	35.6
22	400	4.74	4.43	1.23	202	0.47	6.8	39.8
9	400	1.26	4.23	1.33	222	0.54	10	42.3
15	400	3.38	4.43	.	183	0.53	8	37.5
54	500	1.74	3.74	2.22	180	0.47	9.6	45.8
44	500	0.94	4.03	3.76	133	0.41	10.8	41
47	500	2.58	4.19	1.79	230	0.34	8	37.7
26	500	2.73	4.23	2.13	518	0.38	9.6	31.4
48	500	3.19	4.01	0.85	159	0.29	9.6	32.5
12	500	1.53	4.19	6.81	205	0.37	12.4	38.6
10	500	1.39	3.61	1.11	146	0.57	8.8	36
6	500	1.54	4.08	2.08	161	0.41	12.4	39.5
80	400	0.94	4.18	1.29	1598	0.4	11.2	33.8
82	400	2.11	3.84	1.12	152	0.17	10	33.7
73	400	0.94	4.59	2.19	211	0.17	11.6	30.2
72	400	1.44	5.16	2.07	277	0.2	11.2	32.9
77	400	3.82	4.16	1.37	134	0.26	9.2	37.5
76	400	3.02	4.46	1.65	1781	0.13	7.2	39.3
68	400	1.31	3.88	1.03	216	0.29	6.4	32.4
75	500	1.81	4.01	2.1	528	0.2	7.6	.
88	500	1.65	4.16	2.46	136	0.26	9.2	35.5
87	500	3.07	3.56	2.13	138	0.25	7.2	36.9
86	500	2.14	4.81	5.47	200	0.28	10.4	37
65	500	0.94	4.69	0.9	153	0.14	8.8	39.1
84	500	0.96	4.09	1.16	162	0.29	10.4	36.7
62	500	4.29	4.37	1.36	143	0.3	9.2	35.8
85	500	1.93	4.43	2.03	245	0.17	7.2	36.4
135	400	0.7	4.16	1.85	293	0.23	10.4	30.8
107	400	1.46	4.08	2.11	288	0.34	10.4	35.4
131	400	0.65	4.03	4.69	363	0.2	8.4	34.5
93	400	0.31	4.29	0.81	194	0.4	10	31.3
95	400	0.76	4.32	0.95	233	0.38	11.6	37.1
101	400	0.35	3.98	2.57	316	0.38	14.8	36.3
136	400	0.68	4.38	1.16	258	0.35	16.8	32.5
122	500	2.39	4.1	0.89	243	0.31	8	32.1
130	500	1.7	3.83	1.57	394	0.3	10.4	34

124	500	0.62	4.19	1.39	184	0.41	8	34.5
132	500	0.61	3.83	4.27	580	0.34	10.8	34
114	500	0.92	3.67	2.29	270	0.37	8.8	31.9
92	500	0.3	4.06	0.65	240	0.3	11.8	32
113	500	0.25	8	34.9
99	500	.	4.39	2.06	305	.	8.4	33.8
134	400	0.39	3.73	0.68	285	.	10	35.6
149	400	.	3.92	0.69	300	0.33	8.1	36.1
151	400	.	3.43	1.64	325	0.22	6	31.9
116	400	1.69	3.49	1.82	177	0.16	14.8	32.6
105	400	0.36	5.48	1.1	150	0.14	7.2	32.1
139	400	0.3	3.31	0.69	172	0.44	12.2	31.2
150	400	.	3.52	0.87	196	0.1	8.4	35.1
141	500	0.3	4.14	1.68	240	0.18	7.2	33.3
144	500	0.3	3.68	3.05	350	0.12	7.6	32.7
103	500	1.37	3.7	0.66	407	0.11	9.2	36.1
98	500	2.51	3.89	2.96	330	0.12	6.9	35.4
128	500	0.45	2.71	0.63	247	0.29	8.4	37
91	500	0.3	3.25	2.79	239	0.26	9.7	32.3
123	500	0.3	3.76	3.36	230	0.1	7.7	32.3
120	500	0.3	3.78	0.99	186	.	9.7	37.6

ANEXO 5

Tabla 10. Valores individuales de cortisol, glucosa, lactato, CK, b-HBA, leucocitos y VGA para los animales de las distintas densidades a la llegada a la PFC.

Animal	Densidad	Cortisol(ug/dl).	Glucosa(mmol/l).	lactato(mmol/l).	CK(U/l).	BHB(mmol/l).	leucocitos(/ul).	VGA(%)
46	400	6.35	5.41	2.64	461	0.33	8.8	44.2
30	400	5.97	5.59	2.67	227	0.41	14.4	40.6
37	400	0.3	.	.
5	400	8.41	4.69	1.4	1358	0.37	10	38.2
22	400	3.54	5.45	6.45	190	0.36	9.6	44.8
9	400	1.95	5.99	0.82	265	0.6	11.2	40.7
15	400	1.27	4.64	4.64	1921	0.48	11.2	40.9
54	500	5.06	4.67	3.55	252	2.59	13.6	48.5
44	500
47	500	6.6	8.15	5.59	381	0.48	14.8	37.2
26	500	6.1	6.04	1.79	370	0.41	16.4	35.9
48	500	2.11	5.18	1.55	138	0.12	12.4	31.3
12	500	2.17	4.91	2.34	542	0.4	14.4	37.2
10	500	.	6.48	1.21	248	0.41	10.8	40.4
6	500	7.29	7.2	1.31	377	0.36	18.8	41.6
80	400	1.98	6.05	2.13	618	0.44	14.4	38.8
82	400	2.95	5.83	1.82	549	0.34	11.6	36.3
73	400	6.88	5.93	2.21	223	0.28	12.4	32
72	400	7.09	6.49	0.87	379	0.39	9.6	32.2
77	400	2.75	7.74	3.72	281	0.29	8.4	41.3
76	400	7.11	4.83	1.25	306	0.44	8.8	42
68	400	1.81	7.63	1.7	365	0.39	10.4	35.5
75	500	7.34	8.1	2.67	3817	0.26	9.2	34.6
88	500	1.26	6.01	1.27	3853	0.38	6.4	31.6
87	500	8.53	6.26	1.72	738	0.23	9.6	38.2
86	500	3.59	6.18	2.65	986	0.36	14.4	37.7
65	500	7.99	7.18	3.19	351	0.38	8.8	43
84	500	2.02	5.4	1.85	2202	0.44	11.2	32.5
62	500	1.01	7.09	1.72	259	0.47	14.4	36.9
85	500	0.94	4.63	2.76	442	0.29	7.2	37.8
135	400	1.57	6.16	2.3	536	0.27	14.8	31.6
107	400	1.84	5.23	2.49	483	0.21	12.8	38.6
131	400	3.43	5.87	1.92	1312	0.29	10.8	34.3
93	400	3.81	5.45	4.71	715	0.14	10.4	34.7
95	400	1.52	11.2	39.8
101	400	4.57	6.22	1.59	915	0.27	16.8	36.3
136	400	4.19	5.51	2.16	419	0.26	11.2	33.5
122	500	1.83	5.45	1.1	856	0.35	11.2	33.1
130	500	4.68	5.82	2.77	530	0.39	12	37.5
124	500	3.64	6.08	1.78	271	0.34	8.4	38

132	500	7.11	4.71	0.64	678	0.38	12.8	32.3
114	500	3.83	7.06	1.66	524	0.28	10.8	30.2
92	500	1.86	6.47	0.95	326	0.25	12	33.7
113	500	1.71	5.38	3.78	380	0.3	11.2	37
99	500	3.7	6.81	2.84	1345	0.33	11.6	35.5
149	400	4.02	4.25	1.34	300	0.11	17.2	37.3
151	400	3.44	4.03	1.14	861	0.19	9.2	35.3
116	400	2.03	4.49	3.04	492	0.04	19.8	35.3
105	400	6.37	5.8	1.13	235	0.29	10	34.9
139	400	5.85	5.35	2.25	602	0.17	17.3	32.1
150	400	1.17	3.73	0.99	2942	0.1	10	34.9
141	500	1.93	4.72	3.23	592	0.07	8.4	35
144	500	3.82	5.64	1.4	513	0.07	12	31.2
103	500	1.68	4.41	2.23	355	0.08	8	37.2
98	500	3.95	6.17	5.09	1107	0.13	7.2	35
128	500	3.66	7.42	1.62	499	0.21	11.2	38.5
91	500	2.67	4.77	1.16	474	0.21	12.2	31.9
123	500	8.24	6.37	2	406	0.1	11.2	31.2
120	500	8.78	6.39	2.39	333	0.04	14.4	41.6

ANEXO 6

Tabla 10. Valores individuales de cortisol, glucosa, lactato, CK, b-HBA, leucocitos y VGA para los animales de las distintas densidades en el post ayuno.

Animal	Densidad	Cortisol(ug/dl).	Glucosa(mmol/l).	lactato(mmol/l).	CK(U/l).	BHB(mmol/l).	leucocitos(/ul).	VGA(%)
46	400	1.63	5.16	5.41	4469	0.28	7.8	44
30	400	1.44	5.18	.	1272	0.27	8.2	42
37	400	3.87	5.14	1.15	189	0.2	.	.
5	400	4.55	5.2	1.73	201	0.13	6.3	39
22	400	4.82	6.09	3.06	281	0.14	7.2	45
9	400	2.76	5.25	1.44	192	0.24	10.7	46
15	400	3.75	4.27	3.29	414	0.17	9.6	37
54	500	4.44	5.2	6.01	1246	0.24	8.3	50
44	500	2.52	4.64	1.66	365	0.28	.	.
47	500	2.16	4.81	2.2	2004	0.13	8.6	38
26	500	3.53	5.64	1.82	183	0.27	11.5	40
48	500	4.14	4.72	1.64	133	0.19	7.3	35
12	500	2.46	4.97	3.2	310	0.18	13.7	44
10	500	4.59	5.31	4.36	188	0.16	9.7	40
6	500	3.75	5.47	1.35	219	0.27	13.8	41
80	400	3.28	6.34	1.62	289	0.28	9.2	36.3
82	400	1.26	5.47	1.47	325	0.2	10.8	37.2
73	400	2.27	5.13	1	181	0.25	11.6	32.9
72	400	0.94	6.06	1.08	196	0.25	10.8	33.5
77	400	3.42	4.96	2.5	309	0.19	6	45
76	400	3.17	5.1	2.92	354	0.19	8.8	44.4
68	400	0.94	5.34	2.55	281	0.24	8.8	37.4
75	500	3.4	5.7	1.01	2073	0.17	9.6	36.4
88	500	3.05	4.97	2.16	246	0.24	8.4	39.3
87	500	4.76	5.65	3.47	3273	0.22	7.6	36.9
86	500	3.21	4.88	2.45	532	0.24	11.6	40.6
65	500	4.97	6.94	4.11	331	0.17	9.6	49.7
84	500	3.73	4.71	1.9	1285	0.26	12.8	36.3
62	500	0.98	5.82	1.66	258	0.31	11.2	38
85	500	1.19	4.71	2.04	429	0.26	5.6	40.2
135	400	2.97	5.78	4.14	1169	0.1	9.2	34.1
107	400	2.98	5.23	1.26	262	0.17	11.2	38.6
131	400	3.45	5.48	5.25	883	.	8	37.2
93	400	3.24	5.07	0.74	543	0.32	11.2	33.7
95	400	3.99	5.39	1.34	241	0.21	11.2	41.6
101	400	1.95	6.16	2.03	381	0.25	16	39.8
136	400	2.64	5.66	1.55	340	0.17	17.2	32.9
122	500	2.17	5.15	1.19	198	0.21	9.2	34.9
130	500	3.18	4.42	2.17	1083	0.17	10	39
124	500	1.63	5.27	1.95	462	0.23	9.2	38.7

132	500	2.73	4.69	1.7	562	0.19	12	32.5
114	500	0.63	5.08	1.94	442	0.26	10.8	.
92	500	1.67	4.87	3.29	721	0.16	11.6	35.6
113	500	2.15	4.88	2.89	411	0.19	9.2	38.2
99	500	4.38	5.57	2.05	320	0.13	10.4	36.2
134	400	1.98	4.71	1.2	429	0.08	11.6	41.4
149	400	1.15	4.47	0.63	364	0.11	14.4	37.9
151	400	2.21	4.25	2.13	687	.	8.4	34.7
116	400	0.85	4.33	3.39	1114	0.29	18	39.4
105	400	3.69	5.06	0.8	187	0.22	7.6	34.9
139	400	2.32	4.61	1.44	182	0.09	18.4	35.8
150	400	0.81	4.23	1.07	288	.	8.8	39.7
141	500	2.24	4.66	3.27	362	0.17	6.8	40
144	500	2.99	4.68	1.44	503	0.07	9.2	34
103	500	0.45	4.13	2.28	325	.	10	42.3
98	500	3.6	6.26	4.27	753	0.07	6.8	39.7
128	500	3.22	4.3	1.16	488	0.18	11.2	41.9
91	500	2.53	4.51	1.35	660	0.07	11.2	34.7
123	500	1.64	6.17	2.5	489	.	10	36.9
120	500	2.9	5.49	2.12	316	0.1	13.2	41.7

ANEXO 7

Tabla 10. Valores individuales de cortisol, glucosa, lactato, CK, b-HBA, leucocitos y VGA para los animales de las distintas densidades en el momento de la sangría.

Animal	Densidad	Cortisol(ug/dl).	Glucosa(mmol/l).	lactato(mmol/l).	CK(U/l).	BHB(mmol/l).	leucocitos(/ul).	VGA(%)
46	400	3.78	6.53	8.97	276	0.17	4	44.2
30	400	3.76	6.84	9.28	470	0.36	4.4	39.9
37	400	.	5.31	4.7	379	0.33	.	.
5	400	7.6	5.12	4.16	198	0.2	5.6	36.5
22	400	7.37	6.8	5.92	344	0.17	4.4	44.3
9	400	3.76	5.68	3.28	255	0.26	6.4	41.5
15	400	3.58	6.23	4.57	279	0.15	6.4	38.2
54	500	2.93	6.69	5.13	208	0.3	8	49.9
44	500	.	5.47	4.27	400	0.17	.	.
47	500	3.08	6.41	4.97	91	0.25	7.2	36.7
26	500	5.12	6.25	5.73	24	0.22	11.6	35.8
48	500	2.68	4.9	2.72	143	0.27	5.2	34.9
12	500	5.77	5.7	6.7	315	0.15	10.8	40
10	500	5.66	5.47	3.71	200	0.22	11.2	39.6
6	500	4.73	7.55	4.92	361	0.26	4.4	45.2
80	400	4.28	6.52	5.69	627	0.07	11.2	36.3
82	400	3.03	5.47	5.55	747	0.17	7.6	37.5
73	400	5.12	5.82	4.21	196	0.18	9.6	33.8
72	400	3.17	7.09	2.9	420	0.2	8.8	33.8
77	400	4.38	6.15	7.99	423	0.13	8	41.3
76	400	5.5	6.38	8.24	2757	0.2	8.4	38.8
68	400	1.13	6.41	4.55	874	0.27	6	39.8
75	500	6.38	6.32	4.37	1233	0.25	11.2	46.3
88	500	3.44	5.57	6.11	167	0.13	8	37.5
87	500	5.61	6.23	11.74	618	0.13	8	38.8
86	500	4.7	5.56	3.92	320	0.17	9.2	37.5
65	500	4.99	6.4	8.08	845	0.16	8	45
84	500	6.34	5.68	5.92	169	0.23	9.6	36.3
62	500	2.9	6	3.75	380	0.2	15.2	35
85	500	1.09	6.92	7.34	319	0.16	5.6	37.5
135	400	4.92	6.62	4.82	365	0.15	8.8	34.9
107	400	3.17	5.72	4.05	345	0.15	11.6	38.6
131	400	5.17	5.63	3.86	534	0.13	8	36.1
93	400	4.99	5.3	1.41	577	0.27	14	36.4
95	400	2.05	5.89	4.31	327	0.19	11.2	41.1
101	400	6.85	7.07	8.56	433	0.27	14	37
136	400	5.47	5.53	8.57	279	0.12	14.4	35.9
122	500	1.95	5.48	5.3	275	0.22	6.8	34.5
130	500	7	5.75	3.86	463	0.18	8.8	37.6
124	500	2.03	5.82	3.37	465	0.17	7.2	39.2

132	500	3.17	5.34	3.97	581	0.17	7.6	34.5
114	500	4.83	5.59	2.84	426	0.24	7.2	31.9
92	500	2.75	5.48	4.79	419	0.2	12	36.5
113	500	3.68	5.19	5.01	554	0.16	7.6	38.1
99	500	2.21	5.7	8.12	370	0.16	8.8	38.2
134	400	4.51	4.97	2.89	344	0.16	7.6	38.3
149	400	4.48	4.63	3.97	449	0.58	12.8	38.3
151	400	2.33	4.83	4.47	879	0.24	4.4	35.5
116	400	2.95	5.36	4.74	1944	0.27	12.8	38.1
105	400	2.89	5.34	3.97	618	0.32	8	40.4
139	400	4.7	5.62	5.08	501	0.13	8.8	35
150	400	2.89	4.1	3.46	350	0.24	8.4	37
141	500	1.69	5.49	3.81	220	0.2	4	36.7
144	500	4.08	5.98	5.73	432	0.16	9.6	36.6
103	500	4.59	4.82	2.79	845	.	8.4	41
98	500	8.7	6.83	4.1	973	0.12	4.2	37.1
128	500	4.63	5.12	4.04	400	0.12	7.2	42.2
91	500	5.93	5.44	6.42	1794	0.26	7.1	33.7
123	500	2.23	6.44	8.38	759	0.11	10	37.2
120	500	4.57	6	6.25	1598	0.18	8.8	39.3

9. AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de este trabajo.

Dr. Néstor Tadich. Gracias por su paciencia y dedicación durante el tiempo que compartimos en la elaboración de este trabajo.

Dra. Carmen Gallo. Gracias por su ayuda y buena voluntad durante la realización del trabajo.

Dr. Héctor Uribe, por su colaboración con el análisis estadístico de este trabajo.

Dra. Emilia Alvarez, por su amistad y apoyo.

A todas las personas que trabajan en el hospital veterinario, por su buena disposición para cooperar en todo, gracias.

Cristian Niepel, gracias por la fortaleza que me entregaste día a día y por el apoyo en todo momento.

Por último quiero agradecer a mis hermanos por la confianza puesta en mi, la cual me fortaleció para lograr esta gran meta.