

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

**CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE VARIABLES INDICADORAS DE ESTRÉS  
EN CORDEROS EN REPOSO Y TRANSPORTADOS DURANTE 12 HORAS VÍA  
TERRESTRE**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

**ALEJANDRA KARINA BARRIENTOS ARANEDA**

**VALDIVIA – CHILE**

**2007**

**PROFESOR PATROCINANTE**

**Dr. Néstor Tadich B.**

Nombre

Firma

**PROFESOR COPATROCINANTE**

**Dra. Carmen Gallo S.**

Nombre

Firma

**PROFESORES CALIFICADORES**

**Dr. Arturo Escobar V.**

Nombre

Firma

**Dr. Jorge Correa S.**

Nombre

Firma

**FECHA DE APROBACIÓN:** 22 de Marzo de 2007.

## INDICE

Capítulo		Página
1. RESUMEN	.....	1
2. SUMMARY	.....	2
3. INTRODUCCIÓN	.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS	.....	10
5. RESULTADOS	.....	13
6. DISCUSIÓN	.....	21
7. BIBLIOGRAFIA	.....	26
8. ANEXOS	.....	32
9. AGRADECIMIENTOS	.....	37

## 1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar las concentraciones de algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés, en corderos en reposo y analizar sus variaciones durante un transporte terrestre de 12 horas.

Se realizaron dos experimentos, en los que se utilizaron 10 corderos de la raza Corriedale de una edad aproximada de 150 días y 37 kg de peso promedio, provenientes del mismo predio. En el primer experimento, los corderos tuvieron un periodo de acostumbramiento al manejo, de 15 días, luego fueron cateterizados en la vena yugular empleando catéteres comerciales heparinizados, los que se mantuvieron en su posición durante la duración del experimento. Se obtuvieron muestras de sangre tres veces al día durante tres días. El segundo experimento consistió en el transporte vía terrestre de los mismos corderos, durante 12 horas continuas, y se realizaron toma de muestras de sangre en el momento 0, antes de arrear los corderos para subirlos al camión, y a las 2, 4, 8 y 12 horas de transporte, respectivamente.

Las muestras de sangre fueron enviadas al laboratorio donde se obtuvo plasma para su posterior análisis. Se determinó hematocrito (VGA) mediante la técnica de microhematocrito; recuento de leucocitos con un contador hematológico Sysmex KX-21N; glucosa según el método GOD-PAP, deshidrogenasa; lactato utilizando el test LOD enzimático;  $\beta$ -OHB mediante una técnica enzimática; la actividad enzimática de CK (EC 2.7.3.2) por medio del método UV-cinético, y cortisol mediante radioinmunoanálisis (RIA). Se definió un rango basal que fue el equivalente al promedio  $\pm$  2DE. La significancia de la diferencia entre las medias durante el transporte, se determinó por medio de un ANDEVA de medidas repetidas o el test de Kruskal-Wallis, según fuese necesario.

En los corderos en reposo los valores plasmáticos promedio ( $\pm$ EE) de VGA fueron ( $36,6 \pm 0,23\%$ ), leucocitos ( $9.510 \pm 220/\mu\text{l}$ ); las concentraciones de glucosa ( $3,92 \pm 0,14$  mmol/L), lactato ( $0,73 \pm 0,03$  mmol/L),  $\beta$ -OHB ( $0,28 \pm 0,01$  mmol/L), cortisol ( $0,89 \pm 0,05$   $\mu\text{g/dL}$ ); y la actividad enzimática de CK ( $180 \pm 8,16$  U/L). Durante el transporte glucosa presentó un aumento significativo ( $P < 0,05$ ) a las 2 horas de iniciado el viaje; y lactato a las 2 y 12 horas ( $P < 0,05$ ). Se concluye que, durante el reposo las variables sanguíneas VGA, leucocitos, glucosa y la actividad enzimática de CK concuerdan con los rangos descritos para la especie en la literatura; sin embargo, lactato,  $\beta$ -OHB y cortisol fueron inferiores a los valores consultados. Por otra parte, no se evidenció un efecto del transporte sobre los valores de los constituyentes sanguíneos estudiados.

*Palabras clave:* corderos, estrés, transporte terrestre, constituyentes sanguíneos.

---

\*Financiado por Proyecto FONDECYT 1050492.

## 2. SUMMARY

### **CONCENTRATION OF SOME BLOOD CONSTITUENTS, INDICATORS OF STRESS, IN LAMBS AT REST AND TRANSPORTED BY ROAD FOR 12 HOURS.**

The aim of this study was to determine the concentrations of some blood constituent's used as indicators of stress for lambs. Samples were obtained at rest and during a 12 hours road transportation to analyse any changes.

Two experiments were performed, for which 10 Corriedale lambs, all from the same farm, with an approximate age of 150 days and an average body weight of 37 kg., were used. For the first experiment lambs had a period of 15 days to become accustomed to handling. After this period they were catheterised into the jugular vein with commercial heparinized catheters, these were kept in place until the end of the experiment. Blood samples were obtained three times a day during three consecutive days. The second experiment consisted of a 12 hours road transportation of the same lambs. In this experiment blood samples were obtained at time 0, this is before being rounded up and loaded in the lorry, and then at hours 2, 4, 8 and 12, respectively.

Blood samples were sent to the laboratory where plasma was obtained for posterior analysis. PCV values were determined using the microhaematocrit test; leucocytes values using the SYSMEX KX-4N haematological counter; glucose concentration by using GOD-PAP dehydrogenase test; lactate concentration with the LOD-enzymatic method;  $\beta$ -OHB with the enzymatic technique; CK plasma activity using the UV-kinetic method and cortisol concentration was determined by radioimmunoassay (RIA). A reference range was defined during the rest period; this was equivalent to the mean  $\pm$  2 s.d. The level of significance of the difference between the means was determined using ANOVA for repeated measures or Kruskal-Wallis test, as appropriated.

For the lambs during rest, plasmatic mean values ( $\pm$  SE) were: PVC ( $36.6 \pm 0.23\%$ ), leucocytes ( $9,510 \pm 220 / \mu\text{l}$ ), glucose concentration ( $3.92 \pm 0.14 \text{ mmol/L}$ ) lactate ( $0.73 \pm 0.03 \text{ mmol/L}$ ),  $\beta$ -OHB ( $0.28 \pm 0.01 \text{ mmol/L}$ ), cortisol ( $0.89 \pm 0.05 \mu\text{g/dL}$ ) and the enzymatic activity of CK was ( $180 \pm 8.16 \text{ U/L}$ ). During transport glucose had a significant increase ( $P < 0.05$ ) 2 hours after started the journey; and lactate concentrations were significantly increased ( $P < 0.05$ ) at 2 and 12 hours. These data suggests that during rest some blood constituents, PVC, leucocytes, glucose and enzymatic activity of CK were in agreement with the ranges described for sheep in the literature. However, lactate,  $\beta$ -OHB and cortisol were lower than the consulted values. On the other hand, no effect of road transportation over the values of the blood constituents studied was found.

Key words: lambs, stress, road transportation, blood constituents.

---

\* Funded by Project FONDECYT 1050492.

### 3. INTRODUCCIÓN

Según el último Censo Nacional Agropecuario (Chile 1997), el número de cabezas de ganado ovino existente en Chile era 3.695.062. De este total, las mayores existencias se encuentran en la Zona Austral, la que concentra aproximadamente el 60% de animales. La XI Región con 337.565 cabezas, reúne el 9,1% y la XII Región con 1.923.694 cabezas, el 51,8% (Chile 2000). El beneficio de ovinos a nivel nacional alcanzó en el año 2005, un total de 657.341 animales, siendo las regiones XII, VIII y Región Metropolitana respectivamente, donde se concentró la mayor parte de la faena (Chile 2006). Por lo tanto, en el caso de ovinos producidos en la XI Región, una parte es faenada en la zona, pero una cantidad importante de este ganado es transportado a plantas faenadoras de la X Región y en algunos casos más al norte (Aguayo y Gallo 2005). Esto implica viajes en camión por distancias largas, que además del estrés propio del transporte, lleva a que los animales deban permanecer por muchas horas sin alimento, ni agua de bebida (Schwerter 2001).

Existe un creciente interés público por el bienestar del ganado durante los diferentes manejos productivos a los que éste es sometido. En algunos países es un punto sobre el cual el consumidor ejerce presión, insistiendo en que se contemple dentro de los esquemas de producción y comercialización aspectos relativos al bienestar animal (“Animal Welfare”), constituyendo un atributo más de calidad del producto, que se conoce como calidad ética (Gallo y Tadich 2005). Sin embargo, en Chile aún no se le ha dado la importancia necesaria a la relación entre transporte, bienestar animal y calidad de la carne (Gallo 1994; 1996).

Los procedimientos de manejo como la restricción de movimientos en una manga, por lo general no causan dolor, pero el miedo puede ocasionar un estrés psicológico al ganado que ha sido criado bajo métodos extensivos. Algunos resultados aparentemente contradictorios de distintos estudios, pueden ser explicados si se tienen en cuenta las variaciones en los niveles de estrés psicológico y físico que se produjeron en cada uno de ellos. Las respuestas de miedo en cada situación particular son difíciles de predecir, porque dependen de la forma en que un animal percibe la experiencia de manejo o de transporte, siendo regidas por una interacción compleja entre su constitución genética y sus experiencias previas (Grandin 1997).

Broom (1986) definió el bienestar de un individuo como su estado, en relación a los intentos que hace en su ambiente, para poder desarrollarse íntegramente. En esta definición, el animal trata de mantenerse en equilibrio con su ambiente y tiende a tener cambios fisiológicos y de comportamiento en orden al mantenimiento de la homeostasis. Cuando las condiciones se hacen difíciles, el animal usa varios métodos para contrarrestar los efectos adversos de aquellas condiciones. Es por esto que se desencadenan cambios de comportamiento y en algunas variables fisiológicas, provocando que se desvíen de los valores que son considerados “normales” (Knowles 1998). Así, el bienestar animal es un estado que procura solucionar condiciones adversas y lograr un equilibrio entre el individuo y su ambiente (Fraser y Broom

1997). Además, Mench (2000), indica que el más importante y utilizado indicador del bienestar animal es la presencia o ausencia de cierto grado de estrés.

Diversos estudios (Cole y col 1988; Mitchell y col 1988; Tarrant y Grandin 1993; Warriss y col 1995; Knowles y col 1995, 1998, 1999; Knowles y Warris 2000 y Gallo y Tadich 2005), han señalado al transporte y los manejos anexos, como uno de los sucesos más estresantes que ocurren en la vida de un animal.

El transporte involucra una serie de eventos, desde el arreo en el predio hasta el noqueo en la planta de faenamiento, como son: uso de diferentes elementos de arreo, la carga, el hacinamiento en corrales y en vehículos en movimiento, mezcla de grupos de animales de distinto origen, la descarga, exposición a un nuevo ambiente, la privación de agua y alimento; y factores ambientales como ruidos y cambios bruscos de temperatura y humedad; provocando invariablemente estrés en los animales (Dantzer y Mormede 1984; Bohus 1987; Shaw y Tume 1992; Tarrant y Grandin 1993). Además, Mitchell y col (1988) describen que el manejo, transporte y sacrificio son diferentes factores estresantes que producen cambios significativos en los metabolitos sanguíneos y concentraciones hormonales. Por otra parte, a mayor tiempo de transporte hay una mayor alteración de algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés (Tadich y col 1999). Así lo afirma Oyarce (2005), quien vio incrementadas significativamente las concentraciones basales de cortisol, glucosa y lactato sanguíneo, medidas en novillos canulados en la vena yugular y transportados por 12 horas.

El término estrés fue introducido por Hans Selye en el año 1936, quien descubrió los estímulos que podía provocar esta condición, como la activación del Eje Hipotálamo-Hipofisiario-Adrenal. Además definió el término estrés como la acción de los estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo de un animal, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas (Bustamante 2001; Lay y Wilson 2001).

De acuerdo con Selye (1954), el estrés muestra una relación positiva entre la agresión del medio externo y la magnitud de la respuesta orgánica del individuo, como reacción defensiva ante los diferentes 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), que 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 participación del eje hipotálamo, hipófisis y corteza adrenal; y c) la reacción de agotamiento, en la cual un estímulo crónico sobrepasa los niveles de resistencia y conduce al agotamiento de la energía de adaptación y finalmente a la muerte (Selye 1973). No obstante, Bohus (1987) indica que las tres fases que se presentan en el SGA de Selye no representan fielmente la realidad en los animales, ya que, estos presentan reacciones diferentes a los humanos en cuanto a la percepción del ambiente, estrés y adaptación. Conceptos recientes de estrés animal indican que debemos verlo como una respuesta biológica y funcional a las demandas ambientales (Gallo y Tadich 2005).

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”. Cuando la respuesta del animal realmente pone en riesgo su bienestar, pasa a una etapa de “Diestrés”. De acuerdo con Mellor y col (2000) un animal entra en un estado de diestrés cuando es expuesto a experiencias dañinas que producen respuestas fisiológicas, independientemente de si el estímulo es emocional (miedo), físico (ejercicio intenso) o ambos (dolor). Los estados de diestrés, son estados que siempre se consideran patológicos a diferencia del estrés que a pesar de producir cambios fisiológicos, éstos pueden ser positivos desde el punto de vista de actuar como una reacción de defensa del animal frente a un estímulo que el considera nocivo. Tanto los estados de estrés como diestrés pueden ser medidos a través de variables sanguíneas, sean estas hormonas o metabolitos. La ventaja de estas mediciones es que producen resultados cuantificables y posibles de comparar (Tadich 2004).

Según Hargreaves y Hutson (1990) el estrés por transporte usualmente puede ser dividido en tres categorías: a) estrés físico; b) estrés fisiológico y c) estrés psicológico, aunque puede existir una sobreposición de ellos. Los estresores físicos son aquellos que demandan esfuerzo físico por parte del animal, incluyen el ejercicio que realizan los animales al arrearlos, cuando suben al camión y además el que realizan para mantenerse de pie durante el transporte. El estrés fisiológico puede ser medido en términos de cambios fisiológicos; por el grado de inanición y deshidratación, y por la capacidad del animal para ocupar sus reservas en la mantención de la temperatura corporal y actividad física, o superar alguna herida o enfermedad. El estrés psicológico es aquel que es percibido por la conciencia animal y es por lo tanto muy difícil de medir objetivamente, pudiendo ser causado por un nuevo o desconocido ambiente, asociado a un sonido u olor, por la presencia de un potencial predador o por el hecho de juntarlo con un animal desconocido.

El modelo de estrés presentado por Moberg (2000) indica que la respuesta frente a un factor estresante se puede dividir 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 la de mayor importancia, ya que posee el efecto más prolongado en el organismo, regulando prácticamente todas las funciones biológicas afectadas durante un episodio de estrés.

Dentro de la respuesta neuroendocrina, dos sistemas son de particular interés, a) el Sistema Simpático-Médula Adrenal y b) el Sistema Hipotálamo-Pituitaria-Corteza Adrenal, (eje HPA), donde la activación de uno u otro varía de acuerdo al factor estresante que está produciendo el estímulo. El primer sistema, en el cual se generan impulsos nerviosos seguidos por una respuesta de carácter rápida y breve, conlleva a la liberación de adrenalina y noradrenalina. Ambas son las encargadas de poner el cuerpo en estado de alerta, preparándolo para luchar o huir, provocando aumento de la frecuencia cardíaca, vasoconstricción periférica, glicemia, dilatación pupilar y produciendo aumento de la ventilación. En el eje HPA, en cambio, comienza con la liberación del Factor Liberador de Corticotropina (CRH) a nivel del

hipotálamo, el cual actúa sobre la hipófisis anterior estimulando a su vez la liberación de la Hormona Adenocorticotrófica (ACTH), la cual es difundida al torrente sanguíneo donde estimula la síntesis y secreción de los glucocorticoides (GC), principalmente cortisol a nivel de la corteza adrenal. Al mismo tiempo, también estimula la liberación de catecolaminas (CA) y hormonas tiroideas. Entre estos, principalmente los GC, actúan aumentando la glucosa disponible en el cuerpo, debido a la degradación de proteínas, glicógeno y grasas, y a la estimulación de la glicogenólisis en el hígado (Axelrod y Reisine 1984; Dantzer y Mormede 1984; Breazile 1987; Currie 1988; Friend 1991; Lay y Wilson 2001).

En esta compleja respuesta fisiológica, cabe destacar, que existe un gran número de interacciones en la liberación de estas hormonas. Así, los GC regulan la biosíntesis de catecolaminas en la médula adrenal y a su vez éstas, estimulan la liberación de ACTH en la hipófisis anterior. Además durante el estrés intenso, la cantidad de ACTH secretada excede a la cantidad necesaria para producir la secreción máxima de GC, siendo la respuesta de estos al estrés inmediata y proporcional a la gravedad del estímulo. Conjuntamente el cortisol es el encargado principal de inhibir la producción de CRH, la cual finalmente, da lugar a una disminución en la secreción de ACTH (Cunningham 1999).

Según Moberg (1987) el nivel de cortisol en sangre es la medida más clásica de estrés, aunque la concentración aumentada de cortisol sólo sería un indicador neuroendocrino primario. Sin embargo, la mayoría de los investigadores lo siguen usando como principal indicador de estrés (Knowles y col 1993; Cooper y col 1995; Warriss y col 1995; Horton y col 1996; Cockram y col 2000; Oyarce 2005; Tadich y col 2005; Brito 2007). Estos autores también han utilizado adicionalmente mediciones de volumen globular aglomerado (VGA), glucosa sanguínea,  $\beta$ -OH-butirato y enzimas como la creatinfosfoquinasa, encontrando los valores más altos en los animales sometidos a condiciones más estresantes (Warriss y col 1984). Cooper y col (1995) también han utilizado como indicadores de estrés en terneros la medición de progesterona y endorfinas. Además, Lay y col (1992) afirma que las medidas más comunes de estrés fisiológico son el cortisol, la  $\beta$ -endorfina y frecuencia cardíaca.

El cortisol, necesario para el buen funcionamiento de las catecolaminas y especialmente para la movilización de ácidos grasos libres, es un indicador usado en periodos cortos de tiempo para distintos manejos tales como, la castración. Esta es una medida dependiente del tiempo que toma 10 a 20 minutos en alcanzar valores máximos (Lay y col 1992). Cunningham (1999) afirma que su vida media es de aproximadamente 60 minutos, siendo el hígado el órgano esencial para la eliminación de esta hormona, mediante la conjugación con sulfatos y glucorónidos, haciéndolo hidrosoluble para ser eliminado por la orina. Se ha evidenciado una elevación de los niveles sanguíneos de éste durante el transporte, embarque y el principio del trayecto, para luego tender a normalizarse, al parecer, por una adaptación de los animales al medio hostil disminuyendo los niveles del glucocorticoide en el plasma (Warriss y col 1995). También se investigó el efecto del transporte más ayuno frente al ayuno sólo en ovinos, encontrando que los niveles de cortisol sanguíneo fueron más altos en los animales transportados y ayunados en comparación con los que sólo ayunaron, lo que estaría indicando un estrés adicional del transporte (Horton y col 1996).

El transporte influye en la concentración sanguínea de glucosa (glicemia), debido a que producto del estrés varios elementos se liberan y actúan estimulando su incremento (Warris y col 1995). Algunos de estos elementos son los glucocorticoides y las catecolaminas, dentro de los que destacan el cortisol y la adrenalina, respectivamente, y hormonas específicas del proceso de regulación de la glucosa, como el glucagón y la insulina. Además, como respuesta al estrés, los niveles de cortisol activan la glicólisis hepática y la gluconeogénesis unido a un aumento del catabolismo de las proteínas libres. Por lo tanto, la glucosa se puede considerar como un buen indicador indirecto de estrés, en caso de que no exista un desbalance entre el consumo y la eliminación de ésta como sería en el caso de estrés alimenticio (Shaw y Tume 1992).

Los cuerpos cetónicos ( $\beta$ -OH-butirato, acetona y acetoacetato), funcionan como sustitutos energéticos que sirven de una manera similar a la glucosa utilizada por los monogástricos, aportando un 60-80% de la energía a la dieta de los rumiantes (Wittwer y Böhmwald 1983, Cunningham 1999). Cuando el transporte involucra periodos extensos sin comida ni agua, se produce una pérdida inicial de peso vivo que obliga al animal a ocupar sus reservas corporales (Cunningham 1999). Si la cantidad de grasa movilizada excede la capacidad de oxidación del hígado, se produce un incremento de los cuerpos cetónicos. Así lo afirman Shaw y Tume (1992) quienes encontraron un aumento en las concentraciones de  $\beta$ -OH-butirato en ovejas sometidas a diferentes tiempos de ayuno, por lo que este cuerpo cetónico puede ser usado como indicador de estrés por ayuno.

Por otra parte, ante una alta demanda de nutrientes y de oxígeno, la musculatura del cuerpo produce un excedente en la liberación de ácido láctico (lactato), ya que, tanto el músculo esquelético como el cardiaco están bajo un régimen de alta actividad y el piruvato formado a partir de glucosa no entra al ciclo de los ácidos tricarbónicos, se convierte como residuo en lactato (Ganong 1993). Además, el aumento del esfuerzo físico, se refleja en un aumento de la actividad de la creatinfosfoquinasa plasmática (CK). Esta enzima es liberada por el músculo esquelético como respuesta a cambios en la permeabilidad de la membrana celular y llega a la circulación desde el tejido dañado por ejercicio vigoroso, como resultado de contusiones musculares o por el esfuerzo que significa mantener la posición en un vehículo en movimiento (Tarrant y Grandin 1993). Debido a esto, su aumento está asociado con prolongados periodos de transporte (Warriss y col 1995).

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 compartimiento vascular y la contracción esplénica. Ésta última, a su vez, puede deberse a la actividad del sistema simpático, mediante un aumento de las catecolaminas liberadas por el estrés de los factores antes descritos, durante el recorrido a la planta faenadora (Mitchell y col 1988).

Meyer y Harvey (2000) afirman que el aumento de los glucocorticoides endógenos también tiene un efecto importante en el número circulante de células blancas, el cual es denominado "leucograma de estrés". Según Wittwer y Böhmwald (1983), podemos evidenciar estrés cuando se aprecia en la línea blanca leucocitosis, eosinopenia, linfopenia y neutrofilia. Esta última se produce porque los glucocorticoides provocan un aumento en la liberación de

neutrófilos maduros desde la médula ósea y a la disminución del paso de neutrófilos desde la sangre hacia los tejidos. La magnitud de la neutrofilia va disminuyendo con el tiempo, pero la linfopenia y eosinopenia persisten mientras las concentraciones plasmáticas de glucocorticoides permanezcan elevadas (Meyer y Harvey 2000).

**Cuadro 1.** Resumen de valores referenciales de constituyentes sanguíneos en ovinos. [Wittwer y Böhmwald 1983<sup>(1)</sup>; Kaneko 1997<sup>(2)</sup>; Radostits y col 2000<sup>(3)</sup>; \*Laboratorio de Patología Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.]

VGA	Leucocitos	Glucosa	Lactato	$\beta$ -OHB	CK	Cortisol
<sup>(1)</sup> 27-45 %	<sup>(1)</sup> 4.000 - 12.000/ $\mu$ L	<sup>(1)</sup> 2,6-4,9 mmol/L	<sup>(2)</sup> 1-1,33 mmol/L	<sup>(*)</sup> 0,20-0,60 mmol/L	<sup>(*)</sup> < 40 U/L	<sup>(3)</sup> 1,4-3,1 $\mu$ g/dL

Knowles y col (1993) en corderos transportados por 14 horas, demostraron cambios asociados al transporte en VGA, glucosa plasmática, lactato, proteínas totales, cortisol y ácidos grasos libres, al comparar con valores pre-transporte.

Por lo expresado anteriormente, es necesario contar con valores referenciales para los distintos indicadores sanguíneos usados para medir el estrés en ovinos, pudiendo de esta forma determinarse el efecto real que éste pueda tener sobre ellos.

Existe escasa información publicada en la literatura científica internacional relacionada con el transporte de ovinos, comparada con aquella literatura que hace alusión a las otras especies de ganado transportado en pie, como es el caso del bovino y cerdo. Al ser principalmente europea se obvian de cierta manera posibles variaciones que pueden ser causadas por diferencias fisiológicas o de manejo entre su ganado y el de nuestro país. Consecuentemente, se ha considerado necesario aportar con información sobre los valores sanguíneos de corderos en condiciones de reposo y en un transporte de 12 horas, para que sea incorporada a otros estudios que se están realizando en esta misma línea en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, y que además, sirva de comparación para estudios venideros.

Basado en los antecedentes se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos:

### **3.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

#### **3.1.1. Experimento 1**

H<sub>0</sub>: Los valores de hematocrito y leucocitos y las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato,  $\beta$ -OHB y actividad plasmática de CK obtenidos en corderos en reposo, son similares a los informados en la literatura.

#### **3.1.2. Experimento 2**

H<sub>a</sub>: Los valores de hematocrito y leucocitos y las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato,  $\beta$ -OHB y actividad plasmática de CK obtenidos en corderos, aumentan durante el transporte de éstos.

### **3.2. OBJETIVOS**

#### **3.2.1. Objetivo General**

Analizar las concentraciones de algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés en corderos, determinando sus valores basales y variaciones durante el transporte.

#### **3.2.2. Objetivos Específicos**

##### **3.2.2.1. Experimento 1**

- Determinar los valores de hematocrito (VGA) y el recuento de leucocitos, las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato,  $\beta$ -OHB y la actividad enzimática de CK de corderos en reposo.

- Comparar los valores obtenidos en el estudio, con aquellos indicados como rangos referenciales para la especie ovina, por la literatura científica existente.

##### **3.2.2.2. Experimento 2**

- Analizar las variaciones de los valores de hematocrito (VGA) y el recuento de leucocitos, las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato,  $\beta$ -OHB y la actividad enzimática de CK de corderos transportados durante 12 horas por vía terrestre.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Hospital Veterinario de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile en la ciudad de Valdivia, entre Marzo y Agosto del 2006.

### 4.1. EXPERIMENTO 1

#### 4.1.1. Materiales

Se utilizaron 10 corderos de la raza Corriedale de una edad aproximada 150 días, con un peso promedio de 37 kg, provenientes del predio “Estancia Río Cisnes” ubicado en la XI Región de Aysén.

Para la obtención de las muestras de sangre se usó un catéter venoso central de 14 G CERTOFIX<sup>®</sup> (B/Braun), tubos al vacío con NaF y heparina, jeringas y soportes.

#### 4.1.2. Método

A la llegada de los corderos al Hospital Veterinario, se procedió a estabularlos en una pesebrera de 11,9 m<sup>2</sup>, con piso de cemento y cama de paja, paredes de cemento y madera, provista de luz natural y artificial, y con una disponibilidad de espacio de 1,2 m<sup>2</sup>/cordero. Posterior a un período de acostumbramiento al manejo, de 15 días, los animales fueron cateterizados en la vena yugular izquierda con un catéter venoso central. Éstos se mantuvieron en su posición, durante la duración del experimento mediante una banda plástica y se conservaron limpios con una solución de heparina estéril. La primera muestra de sangre se obtuvo 12 horas posteriores a la colocación de los catéteres con el objetivo de evitar que el efecto estresante de este manejo se manifestara en las variables sanguíneas. Las muestras de sangre fueron obtenidas con una jeringa de 10 ml desde cada catéter, tres veces al día (cada 8 horas) durante tres días y colocadas en tubos con NaF y Heparina. Una vez recolectadas las muestras, fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, donde se determinaron los siguientes constituyentes sanguíneos: VGA, Leucocitos, Glucosa, Lactato,  $\beta$ -OHB y CK (EC 2.7.3.2). La muestra para determinar Cortisol se envió al laboratorio de Fisiología y Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción.

#### 4.1.3. Análisis de las Muestras

Las muestras de sangre para la determinación de VGA, leucocitos, cortisol,  $\beta$ -OHB y CK fueron colocadas en tubos con heparina. En el caso de las muestras para la determinación de glucosa y lactato, se depositaron en tubos con NaF. Luego de ser determinados los valores de VGA y recuento de leucocitos, las muestras se centrifugaron y el plasma se almacenó congelado para su posterior análisis.

El VGA se determinó utilizando la técnica del microhematocrito (Wittwer y Böhmwald 1983), empleando una microcentrífuga Biofuge Haemo (HERAEUS). Para el

recuento de leucocitos, se utilizó un contador hematológico Sysmex KX-21N.

La determinación de la concentración sanguínea de glucosa se realizó según el procedimiento de la prueba para glucosa GOD-PAP, deshidrogenasa. Se emplearon reactivos HUMAN (artículo 10260) y un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche®).

La concentración de lactato se determinó mediante la técnica basada en el test LOD enzimático (Cobas Mira Plus Roche®, Art. 17285 Sentinel®).

La concentración sanguínea de  $\beta$ -OHB se determinó con un espectrofotómetro HITACHI 4020 mediante la técnica enzimática que consiste en la oxidación de  $\beta$ -OHB por medio del NAD<sup>+</sup> (nicotinamida adenin dinucleótido) mediante la enzima 3 HBDH (3-hidroxiacetato deshidrogenasa) a acetoacetato (FAO/OIEA 1993).

La determinación de la actividad enzimática de la creatinfosfoquinasa se realizó mediante el método UV-cinético, a 340 nm y a 37°C, optimizado según la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Se emplearon reactivos HUMAN (Art. 12015) y un espectrofotómetro Cobas Mira Plus (Roche®).

La determinación de cortisol plasmático se realizó mediante radioinmunoanálisis (RIA).

## **4.2. EXPERIMENTO 2**

### **4.2.1 Materiales**

Se utilizaron los 10 corderos empleados en el experimento 1.

Para la obtención de las muestras de sangre se usaron catéteres venosos centrales y tubos con NaF y heparina.

Para el transporte se utilizó un camión de un piso, sin techo, con piso metálico. Los corderos fueron confinados en 1 x 2 m (0,2 m<sup>2</sup>/cordero), replicando la disponibilidad de espacio en condiciones comerciales que va de 0,16-0,22 m<sup>2</sup>/cordero (Tarumán 2006).

### **4.2.2 Método**

Los corderos fueron transportados vía terrestre durante 12 horas continuas con periodos cortos de descanso a las 2, 4, 8 y 12 horas, para la toma de las muestras de sangre. Además, se obtuvo una muestra en el momento 0 antes de arrear los corderos para subirlos al camión. Durante el viaje los corderos no tuvieron acceso a agua ni comida y el vehículo se trasladó a una velocidad promedio de 70 Km/hora, por caminos pavimentados y de ripio. Las muestras fueron obtenidas con una jeringa desde cada catéter y depositadas en tubos con NaF y heparina al interior del camión. Una vez obtenidas las muestras, éstas fueron trasladadas al laboratorio para su posterior análisis.

#### 4.2.3. Análisis de las Muestras

El proceso de análisis de las muestras de sangre fue realizado de manera similar al del experimento 1.

#### 4.2.4. Análisis Estadístico

Para ambos experimentos los datos fueron introducidos en una planilla MS EXCEL<sup>®</sup> y presentados mediante estadística descriptiva como promedios y error estándar (EE). Con los datos del primer experimento se obtuvo un rango basal que fue equivalente al promedio  $\pm$  2DE y en el caso de variables que no cumplieron el supuesto de normalidad, a pesar de ser transformadas a su logaritmo natural, se usó la siguiente fórmula:

- Límite inferior: valor de observación  $(N+1) \times 0,025$
- Límite superior: valor de observación  $(N+1) \times 0,975$

En este experimento, debido al efecto del cambio de catéter, se eliminaron los datos de las variables sanguíneas del cordero 1, para la tercera muestra del segundo día (muestra 6). Debido al mismo efecto se eliminó un dato para la variable CK del cordero 3.

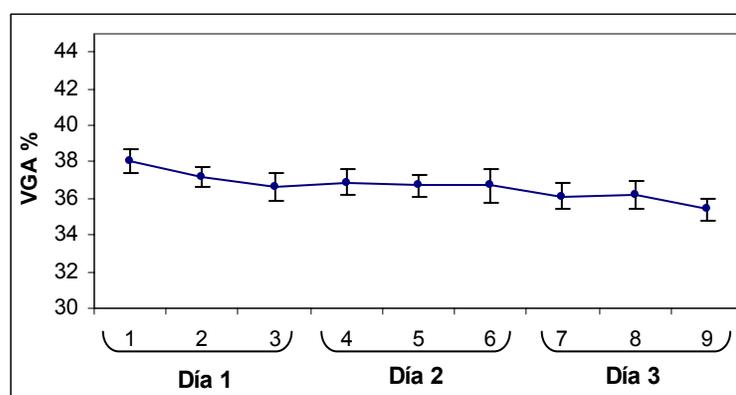
En el experimento 2, no se obtuvo muestra del cordero 6, por pérdida del catéter. Además, no se incluyeron en el análisis estadístico los datos del cordero 5, por presentar éste valores muy alejados de la media. La comparación de los valores sanguíneos para las distintas horas de transporte en el experimento 2, se realizó mediante un ANDEVA de medidas repetidas de una vía y en el caso de variables no paramétricas mediante el test de Kruskal Wallis. Se consideró un valor significativo de  $P \leq 0,05$ . El programa estadístico utilizado fue el Statistix<sup>®</sup> 8.0.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. EXPERIMENTO 1

#### 5.1.1. Hematocrito (VGA)

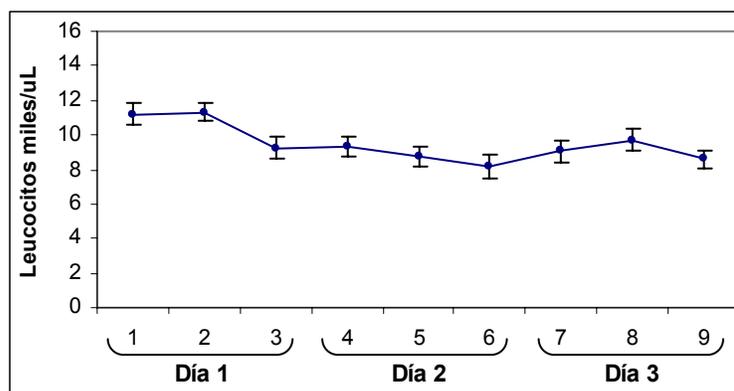
El promedio del VGA durante los tres días de muestreo fue de  $36,6 \pm 0,23\%$ ; observándose una tendencia a disminuir durante el período de muestreo. Los valores promedio fluctuaron entre 38,0 y 35,4% al principio y al final del muestreo, respectivamente (Figura 1). Los límites del rango obtenido fueron de 32,3 – 41,0%.



**Figura 1.** Valores promedio ( $\pm$  EE) del VGA (%) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

#### 5.1.2. Recuento de Leucocitos

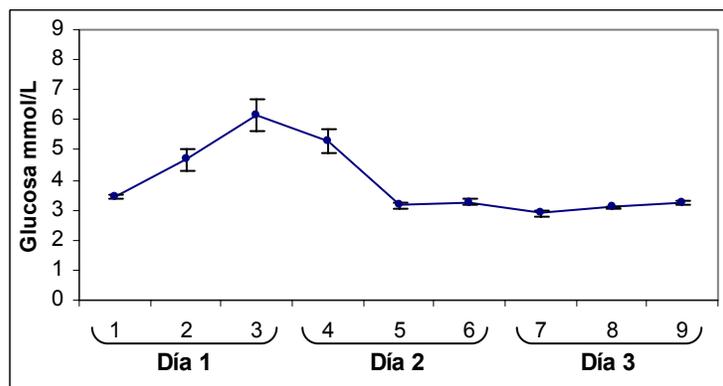
El recuento promedio de leucocitos durante los tres días de muestreo fue de  $9.510 \pm 220/\mu\text{l}$ . Los valores disminuyeron en relación a los dos primeros muestreos para luego mantenerse relativamente constantes (Figura 2). Los límites del rango obtenido fueron 5.430 - 13.590/ $\mu\text{l}$ .



**Figura 2.** Valores promedio ( $\pm$  EE) de recuento de leucocitos (mil/ $\mu$ l) en corderos en estado de reposo, durante los tres días de muestreo.

### 5.1.3. Concentraciones plasmáticas de Glucosa

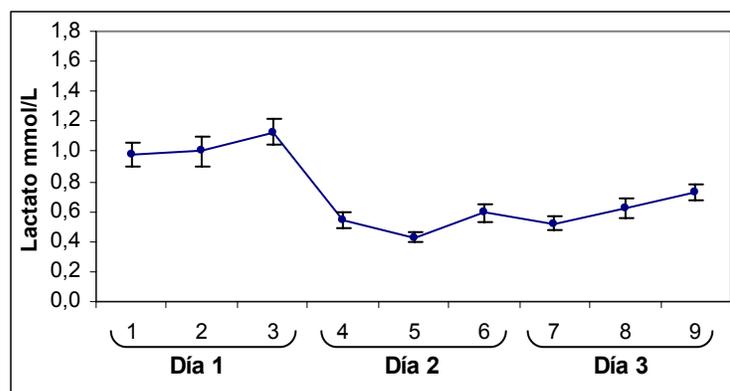
La concentración plasmática promedio de glucosa durante los tres días de muestreo fue de  $3,92 \pm 0,14$  mmol/L. Existió una tendencia a aumentar durante el primer día de muestreo, para luego disminuir y estabilizarse en los dos últimos días (Figura 3). Los límites del rango obtenido fueron 2,62 - 7,59 mmol/L.



**Figura 3.** Valores promedio ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/L) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

### 5.1.4. Concentraciones plasmáticas de Lactato

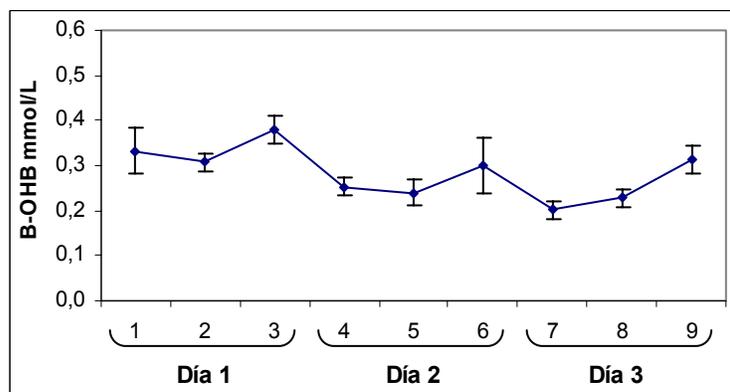
La concentración plasmática promedio de lactato durante los tres días de muestreo fue de  $0,73 \pm 0,03$  mmol/L. Hubo una tendencia a disminuir de las concentraciones promedio durante el segundo día, para permanecer estable hasta el final del período de muestreo (Figura 4). Los límites del rango obtenido fueron 0,36 - 1,56 mmol/L.



**Figura 4.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de Lactato (mmol/L) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

### 5.1.5. Concentraciones plasmáticas de $\beta$ -OH-butirato

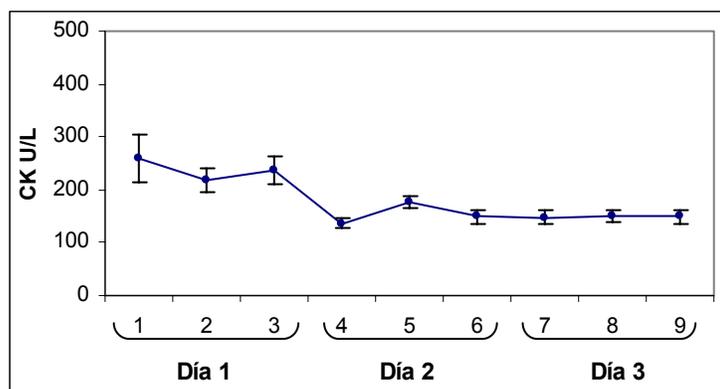
La concentración plasmática promedio de  $\beta$ -OHB durante los tres días de muestreo fue de  $0,28 \pm 0,01$  mmol/L. Las concentraciones promedio tuvieron una tendencia a disminuir durante el periodo de muestreo, no obstante los valores más altos fueron los correspondientes a los muestreos de las 24 horas (Figura 5). Los límites del rango obtenido fueron 0,05 - 0,49 mmol/L.



**Figura 5.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de  $\beta$ -OHB (mmol/L) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

### 5.1.6. Actividad enzimática de Creatinfosfoquinasa (CK) (EC 2.7.3.2).

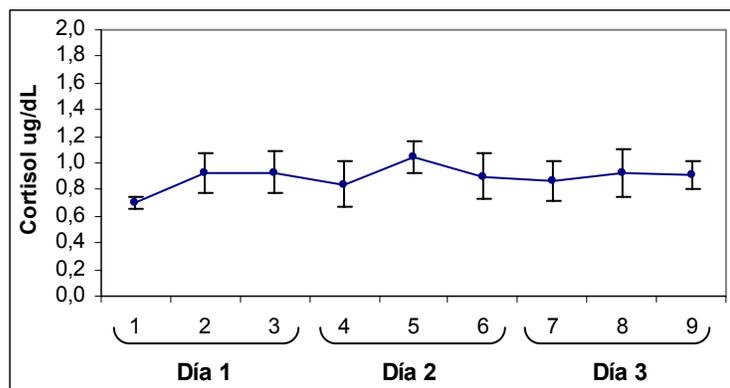
El valor promedio de CK durante los tres días de muestreo fue de  $180 \pm 8,16$  U/L. La curva de promedios de la actividad enzimática de CK mostró un descenso desde 259 U/L en el primer muestreo, estabilizándose en 149 U/L en los últimos muestreos (Figura 6). Los límites del rango obtenido fueron de 92 - 445 U/L.



**Figura 6.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de la actividad enzimática de creatinfosfoquinasa (U/L) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

### 5.1.7. Concentraciones plasmáticas de Cortisol

La concentración plasmática promedio de cortisol durante los tres días de muestreo fue de  $0,89 \pm 0,05 \mu\text{g/dL}$ . Después del primer muestreo donde se presentó la concentración promedio más baja ( $0,70 \mu\text{g/dL}$ ), los valores se mantuvieron alrededor de  $0,90 \mu\text{g/dL}$  (Figura 7). Los límites del rango fueron de  $0,20$ - $1,76 \mu\text{g/dL}$ .

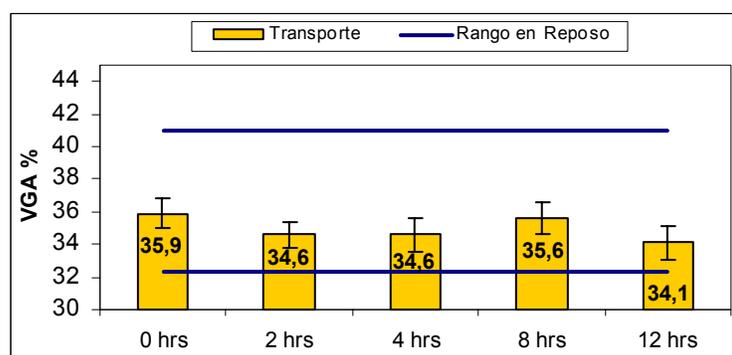


**Figura 7.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de las concentraciones plasmáticas de cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ) en corderos en reposo, durante los tres días de muestreo.

## 5.2. EXPERIMENTO 2

### 5.2.1. Hematocrito (VGA)

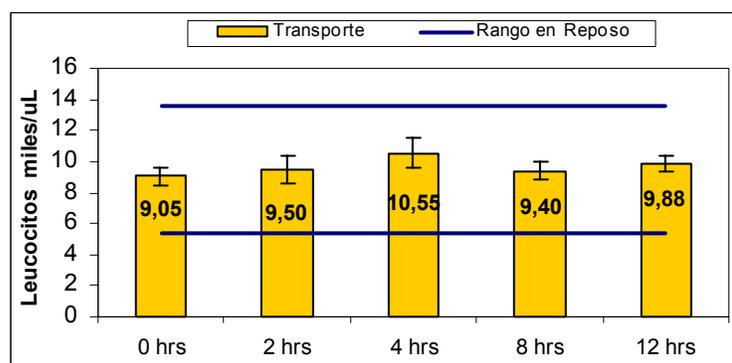
No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los valores promedio de VGA para los distintos periodos de transporte estudiados. Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para estos animales en reposo (Figura 8).



**Figura 8.** Valores promedio  $\pm$  EE del VGA (%) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 32,3 – 41,0%.

### 5.2.2. Recuento de Leucocitos

El recuento de leucocitos no presentó diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los valores promedio de los distintos periodos de transporte estudiados. Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para estos animales en reposo (Figura 9).

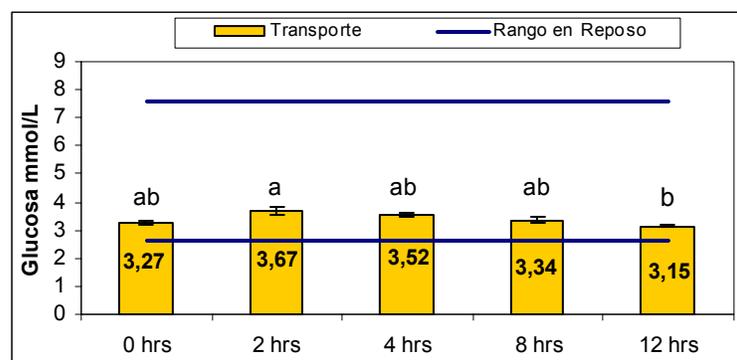


**Figura 9.** Valores promedio ( $\pm$  EE) de recuento de leucocitos (mil/ $\mu$ l) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 5.430 - 13.590/ $\mu$ l.

### 5.2.3. Concentraciones plasmáticas de Glucosa

Las concentraciones plasmáticas de glucosa en los corderos a las 2 horas de iniciado el transporte fueron significativamente más altas ( $P < 0,05$ ) que las de los mismos animales después de 12 horas de viaje, no así para los demás periodos de transporte y antes del arreo

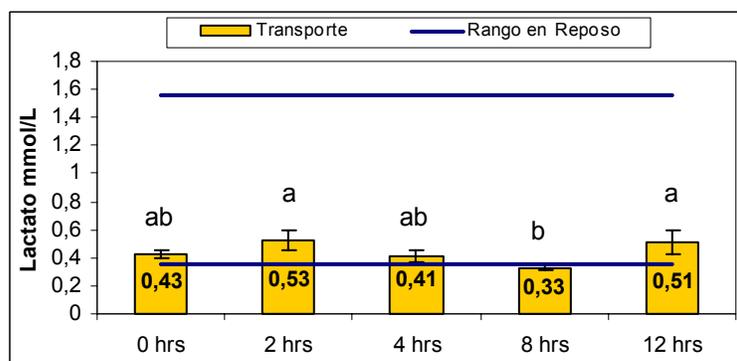
(Figura 10). Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para estos corderos en reposo.



**Figura 10.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de glucosa (mmol/L) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 2,62 - 7,59 mmol/L.

#### 5.2.4. Concentraciones plasmáticas de Lactato

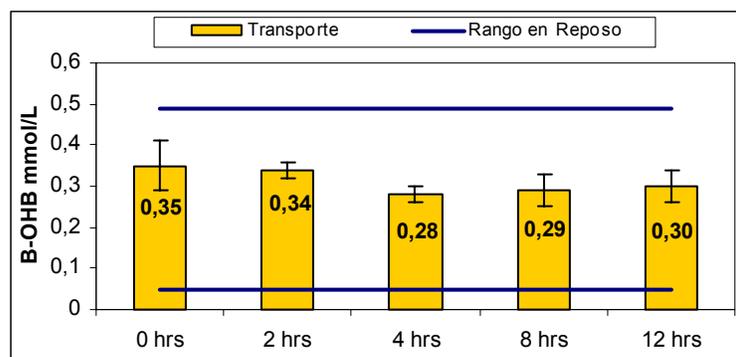
A las dos y 12 horas los corderos presentaron concentraciones plasmáticas de lactato significativamente más altas ( $P < 0,05$ ) que a las 8 horas de iniciado el transporte (Figura 11). Todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para estos animales en reposo.



**Figura 11.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de Lactato (mmol/L) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 0,36 - 1,56 mmol/L.

#### 5.2.5. Concentraciones plasmáticas de $\beta$ -OH-butirato

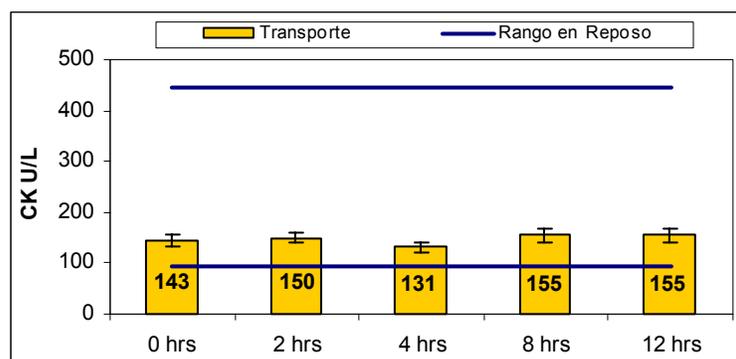
Las concentraciones plasmáticas promedio de  $\beta$ -OHB no presentaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los valores promedio de los distintos periodos de transporte estudiados (Figura 12). Los valores promedio alcanzados estuvieron dentro del rango establecido para los corderos en reposo.



**Figura 12.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de concentraciones plasmáticas de  $\beta$ -OHB (mmol/L) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 0,05 - 0,49 mmol/L.

### 5.2.6. Actividad enzimática de Creatinfosfoquinasa (CK) (EC 2.7.3.2)

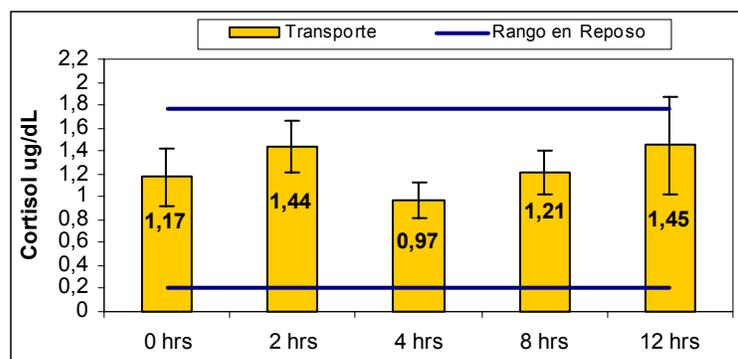
No se encontraron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los valores promedio de CK para los distintos periodos de transporte estudiados y todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para los corderos en reposo (Figura 13).



**Figura 13.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de la actividad enzimática de creatinfosfoquinasa (U/L) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 92 - 445 U/L.

### 5.2.7. Concentraciones plasmáticas de Cortisol

Las concentraciones plasmáticas de cortisol no presentaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en los distintos periodos de transporte estudiados y todos los valores se encontraron dentro del rango establecido para los corderos en reposo (Figura 14).



**Figura 14.** Valores promedios ( $\pm$  EE) de las concentraciones plasmáticas de cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) en corderos transportados durante los diferentes periodos de muestreo. Rango (—) 0,20 -1,76  $\mu\text{g}/\text{dL}$ .

## 6. DISCUSIÓN

El principal problema de las investigaciones de estrés aplicada al ganado, se relaciona con la metodología de evaluación y a lo inespecífico de las variables escogidas. Además, la experiencia de estrés en el animal puede ser interferida por el procedimiento de obtención de la muestra de sangre, por el confinamiento y por los procedimientos de manejo realizados durante la investigación (von Borell 2001). Por lo tanto, estos aspectos deben ser considerados al momento de analizar los resultados obtenidos.

En la mayoría de las investigaciones realizadas en transporte ovino, las muestras han sido recolectadas por venopunción yugular causando un estrés adicional, inevitable. El método utilizado en este estudio tiende a minimizar errores de este tipo y además, para disminuir la manifestación del efecto estresante de la postura de catéteres, el comienzo de la toma de muestras se realizó con 12 horas de posterioridad.

Cabe mencionar que habitualmente existen variaciones individuales en la respuesta de estrés por transporte en los grupos de animales (Alvarado 1999). Lo que se manifestó en uno de los corderos cuyos valores fueron excluidos del análisis estadístico realizado para el segundo experimento, debido a las diferencias manifestadas en las concentraciones plasmáticas de glucosa, lactato y cortisol (Anexos 5, 6 y 9).

Los rangos basales obtenidos para los siete constituyentes analizados son similares a los entregados por la literatura para la especie (Anexo 2); excepto para el  $\beta$ -OHB y cortisol, donde se observa que los valores máximos de los rangos determinados en reposo, son similares a los valores mínimos entregados por Radostits y col (2000) (0,47 mmol/L y 1,4  $\mu$ g/dL; respectivamente). Además, la concentración plasmática promedio de lactato fue inferior a 1-1,3 mmol/L (Kaneko 1997; Radostits y col 2000). En cuanto al valor promedio de CK, éste fue mayor a 40 U/L\*; aunque concuerda con lo indicado por Smith (2002), que establece un rango de 100-547 U/L. Estas diferencias se pueden atribuir a que los rangos fijados por estos autores fueron obtenidos por otro método de toma de muestra (probablemente venopunción), al sistema de crianza y a la diferencia genética y de edad de los animales (Hall y col 1998a; Montané 2002). Es así como Kannan y col (2003), detectaron influencias debido a la edad en índices de estrés fisiológico y calidad de carne en cabras jóvenes y adultas; observado que los animales jóvenes son más susceptibles a estos factores. Por lo tanto, los indicadores de estrés deben interpretarse según la edad del animal.

Durante los tres días de reposo, las concentraciones plasmáticas promedio de los diferentes constituyentes estudiados tuvieron una tendencia a disminuir, lo que indicaría una adecuada manipulación de los animales y un acostumbramiento al procedimiento de extracción de muestras.

---

\* Laboratorio de Patología Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

La tendencia de la curva de promedios de VGA de los corderos en reposo (Figura 1), indica que esta variable no fue influenciada por la colocación y reposición de los catéteres, debido a que se mantuvo dentro de los rangos para la especie, e incluso manifiesta el acostumbramiento que tuvieron estos animales al manejo. Diversos autores (Knowles y col 1997; Mitchell y col 1988; Warriss y col 1995), señalan que durante el transporte se producen estímulos físicos y emocionales dañinos provocados por eventos amenazadores que desencadenan deshidratación y contracción esplénica, mediada por la actividad nerviosa simpática y aumento de las catecolaminas circulantes. Sin embargo, en la Figura 8 se observa, que en el transporte llevado a cabo en este estudio no se evidenció tal efecto, manteniéndose todos los valores dentro del rango basal establecido para estos animales y de los entregados por la literatura para la especie: 27-45 % (Wittwer y Böhmwald 1983; Radostits y col 2000; Smith 2002).

Al respecto se han descrito resultados contradictorios; Knowles y col (1995) observaron un incremento del hematocrito después de 15 horas de viaje. Broom y col (1996) mencionan una disminución abrupta del VGA después de la carga (tiempo cero) y niveles bajos mantenidos en el transcurso de 15 horas de transporte. Hall y col (1998a), en un viaje de 90 minutos, obtuvieron una disminución significativa ( $P < 0,001$ ) de 35,1% a 33,9% en valores pre y post transporte. Según Broom y col (1996), eventos estresantes pueden producir una aparente disminución en el hematocrito; esto puede ser provocado por el cortisol como responsable de movimiento de líquido, desde el rumen hacia el plasma. Por el contrario, un estudio más reciente de Parker y col (2003) indicaron que ovejas estimuladas por infusión intravenosa de cortisol, sufrieron pérdida en exceso de agua corporal asociada con pérdida de electrolitos, lo que apoya la hipótesis de que elevadas concentraciones fisiológicas de cortisol inducen diuresis en rumiantes contribuyendo a su deshidratación.

Los recuentos promedio de leucocitos no tuvieron gran variación durante el muestreo en reposo (Figura 2), a pesar de las diferencias entre individuos, el rango referencial obtenido para estos corderos es semejante al citado por la literatura 4-12 miles/ $\mu\text{L}$  (Wittwer y Böhmwald 1983; Radostits y col 2000; Smith 2002). En relación al efecto producido por el transporte Kannan y col (2000), describen un aumento significativo ( $P < 0,05$ ) del recuento de leucocitos, luego de transportar cabras por 2,5 horas. Sin embargo, en el presente estudio, es posible asumir que los manejos realizados no fueron suficientemente estresantes para inducir cambios en esta variable, ya que, durante el transporte los valores encontrados se mantuvieron estables y dentro del rango establecido para ellos (Figura 9).

El alza en las concentraciones iniciales de glucosa de los animales en reposo (Figura 3), pudo haber sido influida por el efecto inicial de la manipulación para la toma de muestras. Oyarce (2005), en un estudio de similares características realizado en novillos canulados, vinculó esta alza de la glucosa al incremento de los valores de cortisol plasmático en el mismo periodo. Con respecto al transporte, Knowles y col (1995), encontraron que los niveles de glucosa plasmática de ovejas se incrementaron significativamente ( $P < 0,001$ ) a 6,5 mmol/L después de 3 horas de transporte, para luego de 9 horas de viaje retornar a valores pre-transporte, de 4,5 mmol/L. En este estudio, a las 2 horas de iniciado el transporte hubo un aumento significativo ( $P < 0,05$ ), para luego ir disminuyendo a medida que transcurrió el viaje

(Figura 10). Aunque este incremento fue sólo de un 12%, y estuvo bajo el promedio establecido en reposo, para los mismos corderos (3,92 mmol/L). Esta alza puede ser asociada a los eventos de carga y comienzo del viaje, no obstante, no se pudo diferenciar entre estos dos factores debido a que el primer muestreo fue realizado en la pesebrera, antes del arreo y carga de los animales y el segundo, a las 2 horas de iniciado el viaje.

Al igual que las otras variables, el lactato mostró una clara tendencia a disminuir durante el muestreo en reposo (Figura 4). Los valores iniciales más altos fueron debidos, probablemente, al efecto de la postura del catéter, como respuesta a una intensa actividad física. De acuerdo con Shaw y Tume (1992) y Gregory (1998), tiempos cortos de ejercicio brusco y estados de estrés aumentan la adrenalina circulante, produciendo glicogenólisis en hígado y músculo. En el músculo, como resultado de la ausencia de glucosa-6-fosfatasa, la glicogenólisis lleva a la formación de lactato, mientras que en el hígado la glucosa es el principal producto, llevando finalmente al incremento de las concentraciones plasmáticas de estas dos variables (Nwe y col 1996). Esto también, podría explicar las alzas significativas asociadas de glucosa y lactato a las 2 horas de iniciado el transporte (Figuras 10 y 11). Se ha reportado que, la fatiga muscular producto de mantener la postura en el vehículo en movimiento, puede estar acompañada por el incremento en los niveles de lactato (Warris y col 1995). Esto concuerda con lo encontrado al finalizar el segundo experimento, con un aumento significativo ( $P < 0,05$ ) a las 12 horas de transcurrido el viaje (Figura 11). No obstante, cabe destacar que todos los valores estuvieron dentro del rango de estos corderos en reposo. Knowles y col (1993), estudiaron el efecto de un transporte terrestre durante 9 y 14 horas en corderos, encontrando que posterior a ambos viajes hubo una disminución significativa de lactato ( $P < 0,001$ ) con respecto a valores pre-transporte. En el caso de estos autores, la variación se debió a la recuperación de los corderos a los extenuantes factores estresantes que fueron llevados a cabo en los momentos previos al transporte.

Habitualmente se encuentran concentraciones sanguíneas de  $\beta$ -OH-butirato producto de su síntesis a nivel ruminal (Herdt 1988), y los aumentos de estas se deben principalmente a su relación con el ayuno y la disponibilidad de azúcares en la sangre (Kaneko 1997; Alvarado 1999). El ayuno en los rumiantes tiene en general menos efectos que en otras especies, debido a que el rumen actúa como reservorio de nutrientes y ácidos grasos volátiles (Warriss 1990). El muestreo en reposo evidenció leves variaciones durante el día, siendo los valores más altos los correspondientes a los muestreos de las 24 horas (Figura 5). Este patrón correspondería a oscilaciones de las concentraciones sanguíneas normales.

Warris y col (1989) señalan que en corderos privados de alimento por 72 horas, pero no de agua; los niveles de  $\beta$ -OHB incrementaron progresivamente con el tiempo de ayuno (de 0,31 a 0,72 mmol/L). Esto concuerda con lo señalado por Knowles y col (1995) en ovinos transportados por 24 horas, quienes indican que a medida que transcurre el tiempo de viaje aumentan los niveles plasmáticos de esta variable, y que además, sobre las 24 horas de transporte, los cambios fueron similares a ovinos no transportados privados de alimento y agua. Sin embargo, en el presente estudio, durante las 12 horas de ayuno que implicó el transporte realizado, los valores promedio de los distintos periodos estudiados se mantuvieron estables y cercanos al promedio establecido en reposo (Figura 12). Esto indicaría que,

aparentemente, cuando el ayuno en estos rumiantes no excede a las 12 horas, no se presentan mayores cambios en esta variable; no así en transportes largos o situaciones de manejo previo extenuantes que incluyan ayuno. Brito (2007), al destetar y transportar por vía terrestre-marítima durante 48 horas a corderos de características similares a las de los animales usados en el presente estudio, encontró un alza significativa ( $P < 0,05$ ) de las concentraciones de  $\beta$ -OHB (de 0,43 a 0,76 mmol/L).

Los valores promedio de CK en el primer experimento tendieron a estabilizarse rápidamente (Figura 6), lo que indicaría un adecuado manejo en la toma de muestras. Se sabe que su actividad plasmática indica el grado de actividad o daño muscular que haya ocurrido durante un procedimiento de manejo (Wilson y col 1990). Esto explica que los valores iniciales más altos se deben a un daño muscular, que aunque pequeño, significó la postura de catéteres. También hubo un alza transitoria de actividad de la enzima, cuando se repuso el catéter en un cordero.

De acuerdo con Tarrant y Grandin (1993), durante el transporte se producen incrementos de CK producto del esfuerzo por mantener la postura y por roces entre los animales en el camión, alcanzando las concentraciones más altas entre 2 y 12 horas posteriores al daño muscular (Holmes y col 1973). Por otra parte, a medida que se incrementa la densidad de carga, la proporción de ovinos que pueden echarse disminuye, es por ello que, en corderos trasladados en altas densidades de carga se han encontrado mayores niveles de CK (Cockram y col 1996; Knowles y col 1998). Sin embargo, en este estudio, la evolución de esta variable durante el transporte demostró que con adecuadas densidades de carga (0,2 m<sup>2</sup>/cordero) y maniobras de conducción, es posible evitar daños musculares y esfuerzo físico, manteniendo estables los valores de CK durante las 12 horas del viaje (Figura 13).

Los valores promedio de cortisol se mantuvieron estables durante todo el periodo de reposo (Figura 7), lo que confirma el adecuado manejo realizado en la toma de muestras. Broom y col (1996) señalan que el grado de incremento del cortisol plasmático durante el transporte, depende de la concentración inicial. Cuando esta es baja, como en el presente estudio, se espera una mayor liberación de hormona producto de este manejo. Sin embargo, durante el transporte no hubo una manifestación clara de estrés en ninguno de los periodos estudiados, encontrándose todos los valores dentro del rango de estos animales en reposo. No obstante, se puede observar una leve tendencia a aumentar a las 2 horas de iniciado el transporte, disminuyendo a las 4 horas y aumentando nuevamente hasta el final del viaje. Estas leves variaciones no concuerdan con la literatura existente. Es así como en el estudio de Broom y col (1996), en borregos cateterizados y transportados por 15 horas, el comienzo del viaje produjo un pick de cortisol (350% por sobre el valor inicial; de 0,2 a 0,9  $\mu\text{g/dL}$ ) seguido por una suave declinación. Según los mismos autores, este marcado efecto tendió a declinar posterior a las 3 horas de transporte, pero el estímulo de liberación de cortisol se mantuvo hasta el final del periodo. Knowles y col (1995); Knowles (1998) y Cockram y col (2000) coinciden en señalar que los niveles plasmáticos de cortisol y glucosa, se incrementan durante la carga y estados iniciales del viaje, y que posterior a 9 horas los ovinos parecen adaptarse a la situación, retornando sus valores a los de pretransporte.

Según Atkinson (2001) y Broom (2003), se debe considerar que los trabajos experimentales sobre transporte de animales se realizan en general bajo condiciones que son más favorables para los animales que en la realidad comercial. Esto explicaría la carencia de efecto debido a este manejo encontrado en los diferentes constituyentes estudiados; y además, nos lleva a pensar que un corto periodo de adaptación a un nuevo ambiente, fue suficiente para acostumbrarlos a la presencia humana. Lo que concuerda con lo reportado por Hall y col (1998b), en un estudio que evaluó los efectos de la domesticación en la respuesta de ovinos al transporte, existiendo diferencias en la respuesta individual de adaptación; y aquellos animales que respondieron mejor a la domesticación mostraron una menor respuesta durante el transporte. Por otra parte, el hecho de que las muestras de sangre fueron obtenidas mediante un catéter, evitó el estrés producido por la venopunción.

## **6.1. CONCLUSIONES**

### **6.1.1. Experimento 1:**

- Bajo las condiciones experimentales propuestas, se acepta la hipótesis de que los valores obtenidos en corderos en reposo de VGA y leucocitos, la concentración plasmática de glucosa y la actividad enzimática de creatinfosfoquinasa, concuerdan con aquellos rangos referenciales descritos por la literatura consultada.
- Las concentraciones plasmáticas de lactato,  $\beta$ -OHB y cortisol fueron menores a los valores de referencia consultados.

### **6.1.2. Experimento 2:**

- Bajo las condiciones experimentales propuestas, se rechaza la hipótesis de que los valores de hematocrito y leucocitos y las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato,  $\beta$ -OHB y actividad plasmática de creatinfosfoquinasa obtenidos en corderos aumentan durante un transporte terrestre de 12 horas.
- El acostumbramiento de los animales al manejo realizado durante el primer experimento podría haber influido sobre la respuesta de éstos al estrés por transporte. Esta situación debería ser considerada en futuras investigaciones en el tema.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Aguayo L, C Gallo. 2005. Tiempos de viaje y densidades de carga usadas para bovinos transportados vía marítima y terrestre desde la región de Aysén a la zona centro-sur de Chile. *Resúmenes del XII Congreso Latinoamericano de Buiatría*, Valdivia, Chile. Pp. 346-347.
- Alvarado MA. 1999. Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés por transporte, en bovinos. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Atkinson S. 2001. Farm animal transport-journey lengths and legislation, an internacional perspective. *Svensk-Veterinartidning* 53, 81-86.
- Axelrod J, T Reisine. 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. *Sci* 224, 452-459.
- Bohus B. 1987. Biology of Stress in Farm Animals: An Integrative Approach. En: Wiepkene PR, PWR van Appricher (eds). Kluwer Academic Publishers, Hinglawn, USA.
- Breazile J. 1987. Physiologic basis and consequences of distress in animals. *J Am Vet Med Assoc* 191, 1212-1215.
- Brito ML. 2007. Efecto del destete y de un transporte terrestre y marítimo de 48 horas sobre los valores de algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés en corderos Corriedale. *Memoria de titulación en ejecución*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Broom DM. 1986. Indicators of poor welfare. *Br Vet J* 142, 524.
- Broom DM, JA Goode, SJG Hall, DM Lloyd, RF Parrott. 1996. Hormonal and physiological effects of a 15 hour road journey in sheep: comparison with the responses to loading, handling and penning in the absence of transport. *Br Vet J* 152, 593-604.
- Broom DM. 2003. Transport stress in cattle and sheep with details of physiological, ethological and other indicators. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 110, 83-89.
- Bustamante HA. 2001. Determinación del efecto de diferentes tiempos de ayuno y transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos en el período otoño-invierno. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

- Caballero S, H Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch Med Vet* 25, 15-29.
- Chile 1997. Instituto Nacional de Estadísticas. VI Censo Nacional Agropecuario. Instituto Nacional de Estadísticas (INE). Santiago, Chile.
- Chile 2000. Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Ministerio de Agricultura. Estrategias de innovación agraria para producción de carne ovina. Santiago, Chile.
- Chile 2006. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Estadísticas macrosectoriales y productivas.
- Cockram MS, JE Kent, PJ Goddard, NK Waran, RE Jackson, IM McGilp, EL Southall, JR Amory, TI McConnell. 1996. Effect of space allowance during transport on the behavioural and physiological responses of lambs during and after transport. *Anim Sci* 62, 461-477.
- Cockram MS, JE Kent, PJ Goddard, NK Waran, RE Jackson, IM McGilp, EL Southall, JR Amory, TI McConnell, TO O'riordan, BS Wilkins. 2000. Behavioural and physiological responses of sheep to 16 h transport and a novel environment post-transport. *Vet J* 159, 139-146.
- Cole NA, TH Camp, LD Rowe Jr, DG Stevens, DP Hutcheson. 1988. Effect of Transport on Feeder Calves. *Am J Vet Res* 49, 178-183.
- Cooper C, ACO Evans, S Cook, NC Rawling. 1995. Cortisol, progesterone and beta-endorphin response to stress in calves. *Can J Anim Sci* 95, 197-201.
- Cunningham J. 1999. Sistema Endocrino. En: Cunningham J (ed). *Fisiología Veterinaria*. Editorial Elsevier, Madrid, España, Pp. 409-429.
- Currie WB. 1988. Structure and Function of Domestic Animals. Ed. Butterworth Boston, USA.
- Dantzer R, P Mormede. 1984. El Estrés en la Cría Intensiva del Ganado. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- Friend T. 1991. Symposium: Response of animals to stress. *J Dairy Sci* 74, 292-303.
- Fraser AJ, D Broom. 1997. Welfare terminology and concepts. En: *Farm Animal Behaviour and Welfare*. Third ed., Oxon, Pp. 256-357
- 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*, Pp.2, 27-46.
- 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.
- Gallo C, N Tadich. 2005. Transporte terrestre de bovinos: Efectos sobre el bienestar animal y la calidad de la carne. *Agro-Ciencia* 21, 37-49.
- Ganong WF. 1993. Fisiología Médica. Ed. Manual Moderno. 13° Edición.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 75, 249-257.
- Gregory NG. 1998. Animal Welfare and Meat Science. CABI Publishing, Oxon. England.
- Hall SJG, DM Broom, GNS Kiddy. 1998a. Effects of transportation on plasma cortisol and packed cell volume in different genotypes of sheep. *Small Rumin Res* 29, 233-237.
- Hall SJG, SM Kirkpatrick, DM Broom. 1998b. Behavioural and physiological responses of sheep of different breeds to supplementary feeding, social mixing and taming, in the context of transport. *J Anim Sci* 67, 475-483.
- Hargreaves AL, GD Hutson. 1990. The effect of gentling on heart rate, flight distance, and aversion of sheep to handling procedure. *Appl Anim Behav Sci* 26, 243.
- Herdth TH. 1988. Fuel homeostasis in the ruminant. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 4, 213-231.
- Holmes JHG, CR Ashmorer, DW Robinson. 1973. Effect of stress on cattle with hereditary muscular hypertrophy. *J Anim Sci* 36, 684-694.
- Horton GMJ, JA Baldwin, SM Emanuele, JE Wohlt, LR McDowell. 1996. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *Anim Sci* 62, 49-66.
- Kaneko J. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5<sup>th</sup> Ed. Academic Press, San Diego, USA.
- Kannan G, TH Terril, B Kouakou, OS Gazal, S Gelaye, EA Amoah, S Samake. 2000. Transportation of goats: Effects on physiological stress responses and live weight loss. *J Anim Sci* 78, 1450-1457.
- Kannan G, B Kouakou, TH Terrill, S Gelaye. 2003. Endocrine, blood metabolite, and meat quality changes in goats as influenced by short-term, preslaughter stress. *J Anim Sci* 81, 1499-1507.
- Knowles TG, PD Warriss, SN Brown, SC Kestin, SM Rhind, JE Edwards, MH Anil, SK Dolan. 1993. Long distance transport of lambs and the time needed for subsequent recovery. *Vet Rec* 133, 286-293.

- Knowles TG, SN Brown, PD Warriss, AJ Phillips, SK Dolan, P Hunt, JE Ford, JE Edwards, PE Watkins. 1995. Effects on sheep of transport by road for up to 24 hours. *Vet Rec* 136, 431-438.
- Knowles TG, PD Warriss, SN Brown, JE Edwards, PE Watkins, AJ Phillips. 1997. Effect on calves less than one month old of feeding or not feeding them during road transport of up to 24 hours. *Vet Rec* 140, 116-124.
- Knowles TG. 1998. A review of the road transport of slaughter sheep. *Vet Rec* 143, 212-219.
- Knowles TG. 1999. A review of the road transport of cattle. *Vet Rec* 144, 197-201.
- Knowles TG, PD Warriss. 2000. Stress Physiology of Animals During Transport. En: Grandin T. (ed.). *Livestock Handling and Transport*. 2<sup>nd</sup> edition, UK, Pp 385-407.
- Lay DC Jr, TH Friend, CL Bowers, KK Grissom and OC Jenkins. 1992. A comparative physiological and behavioural study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. *J Anim Sci* 70, 1121-1125.
- Lay D, M Wilson. 2001. Physiological indicators of stress in domestic livestock. *Symposium on Concentrated Animal Feeding Operations Regarding Animal Behavior, Care, and Well-Being*, Indiana, Pp. 1-25.
- Mench, JA. 2000. The Biology of Animal Stress. En: Moberg GP, JA Mench (eds). *Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. CAB International, Wallingford, UK, Pp. 56-83.
- Meyer D, J Harvey. 2000. El laboratorio en Medicina Veterinaria. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina.
- Mellor DJ, CJ Cook, KJ Stafford. 2000. Quantifying some responses to pain as a stressor. En: Moberg GP, Mench JA (eds.) *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. CAB International, Wallingford, UK, Pp. 171-199.
- Mitchell G, M Hattingh, M Ganhao. 1988. Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *Vet Rec* 123, 201-205.
- Moberg GP. 1987. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J Anim Sci* 65, 1228-1235.
- Moberg GP. 2000. Biological response to stress: Implications for animal welfare. En: Moberg GP, Mench JA (eds.). *The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare*. CAB International, Wallingford, UK, Pp. 1-22.
- Montané J. 2002. Valoración del estrés de captura, transporte y manejo en el corzo (*Capreolus*

- capreolus*). Efecto de la acepromacina y de la cautividad. *Tesis Doctoral*, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Nwe TM, E Hori, M Manda, S Watanabe. 1996. Significance of catecholamines and cortisol levels in blood during transportation stress in goats. *Small Rumin Res* 20, 129-135.
- Oyarce J. 2005. Concentraciones sanguíneas de indicadores de estrés en novillos en reposo y transportados durante 12 horas vía terrestre. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Parker AJ, GP Hamlin, CJ Coleman, LA Fitzpatrick. 2003. Dehydration in stressed ruminants may be the result of a cortisol-induced diuresis. *J Anim Sci* 81,512-519.
- Radostits OM, CC Gay, DC Blood, KW Hinchcliff. 2000. *Veterinary Medicine. A textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. WB Saunders, Pp. 1819-1834.
- Schwerter MC. 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 período Primavera-Verano. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Selye H. 1954. *Fisiología y patología de la exposición al stress*. Ed. Científico Médica, Barcelona.
- Selye H. 1973. The evaluation of the stress concept. *Am Sci* 26, 901-946. Citado por Caballero S, H Sumano. 1993. Caracterización del estrés en bovinos. *Arch Med Vet* 25, 15-29.
- Shaw FD, RK Tume. 1992. The Assessment of Pre-slaughter and Slaughter Treatments of Livestock by Measurement of Plasma Constituents. *Meat Sci* 32, 311-329.
- Smith B. 2002. *Large Animal. Internal Medicine*. 3<sup>th</sup> Edition. Ed. Mosby, Inc.
- Tadich N, M Alvarado, C Gallo. 1999. Efecto de 3, 6, 12 y 24 horas de transporte terrestre continuo sobre algunas variables indicadoras de estrés en bovinos. *XXIV Reunión Anual de SOCHIPA*, Temuco, Chile. Pp. 81-82.
- Tadich N. 2004. Claudicaciones en la vaca lechera y su relación con el bienestar. *Resúmenes Seminario: Producción Animal de Calidad Contemplando Bienestar Animal*, Valdivia, Chile, Pp. 32-39.
- Tadich N, C Gallo, H Bustamante, M Schwerter, G Van Schaik. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livest Prod Sci* 93, 223-233.

- Tarrant PV, T Grandin. 1993. Cattle Transport. En: Grandin T (ed.). *Livestock handling and transport*. Wallingford, Oxon, UK, Pp. 151-174.
- Tarumán JB. 2006. Frecuencia de presentación y características de las contusiones en canales ovinas y su relación con el transporte. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- von Borell EH. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J Anim Sci* 79 (E. Suppl.), E260-E267.
- Warriss PD, SC Kesting, SN Brown, LJ Wilkins. 1984. Recovery from mixing stress in young bulls. *Meat Sci* 10, 53-68.
- Warris PD, EA Bevis, EA Brown, JG Sabih. 1989. The relationships between glycogen stores and muscle ultimate pH in commercially slaughtered pigs. *Brit Vet J* 145, 242.
- Warriss PD. 1990. The handling of cattle preslaughter and its effects on carcass and meat quality. *Appl Anim Behaviour Sci* 28,171-186.
- Warriss PD, SN Brown, TG Knowles, SC Kestin, JE Edwards, SK Dolan, AJ Phillips. 1995. Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *Vet Rec* 136, 319-323.
- Wilson BW, PS Nieberg, RJ Buhr, BJ Kelly, FT Shultz. 1990. Turkey muscle growth and focal myopathy. *Poult Sci* 69, 1553-1562.
- Wittwer F, H Böhmwald. 1983. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

## 8. ANEXOS

**Anexo 1.** Análisis de los valores de los constituyentes sanguíneos obtenidos en corderos cateterizados en reposo.

<b>Dato</b>	<b>VGA (%)</b>	<b>Leucocitos (mil/μl)</b>	<b>Glucosa (mmol/L)</b>	<b>Lactato (mmol/L)</b>	<b>β-OHB (mmol/L)</b>	<b>CK (U/L)</b>	<b>Cortisol (μg/dL)</b>
<b>Media</b>	36,6	9,5	3,9	0,7	0,3	180	0,9
<b>Mediana</b>	37	9,2	3,4	0,7	0,27	160	0,8
<b>DE</b>	2,22	2,08	1,36	0,31	0,11	76,5	0,4
<b>Varianza</b>	4,9	4,3	1,9	0,1	0,01		0,2
<b>Coef de Variación</b>	0,06	0,22	0,35	0,44	0,36	0,43	0,45
<b>Rango</b>	32,2-41	5,4-13,6	2,62-7,59	0,36-1,56	0,05-0,49	92-445	0,2-1,76

**Anexo 2.** Valores referenciales de los constituyentes sanguíneos reportados por la literatura, para la especie.

<b>Autor</b>	<b>VGA %</b>	<b>Leucocitos miles/μl</b>	<b>Glucosa mmol/L</b>	<b>Lactato mmol/L</b>	<b>B-OHB mmol/L</b>	<b>CK U/L</b>	<b>Cortisol μg/dL</b>
<b>Wittwer y Böhmwald 1983</b>	27-45	4-12	2,6-4,9	-	-	-15	-
<b>Kaneko 1997</b>	-	-	2,78-4,44	1-1,33	-	-	-
<b>Radostits y col 2000</b>	27-45	4-12	1,7-3,6	1-1,3	0,47-0,63	-	1,4-3,1
<b>*Laboratorio UACH</b>	26-38	-	2,4-4,4	-	0,20-0,60	<40	-
<b>Smith 2002</b>	27-45	4-12	-	-		100-547	-

\*Laboratorio de Patología Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

**Anexo 3.** Valores individuales obtenidos de VGA (%).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	38	38	38	40	38	40*	38	38	36	35	33	34	33	33
2	39	37	39	36	36	37	37	37	36	37	34	34	35	33
3	37	34	38	34	34	33	32	34	34	33	34	39	34	40
4	41	38	37	39	39	40	38	40	38	40	38	37	39	35
5	37	36	33	36	34	33	33	33	32	33*	39*	31*	33*	42*
6	38	39	38	39	38	37	37	35	37					
7	38	35	33	35	37	37	37	35	34	35	35	34	40	33
8	34	37	34	34	35	34	34	34	34	34	32	32	35	31
9	41	40	37	38	39	41	38	40	37	39	38	37	37	36
10	37	38	39	38	37	38	37	36	36	34	33	30	32	32
<b>Prom</b>	<b>38,0</b>	<b>37,2</b>	<b>36,6</b>	<b>36,9</b>	<b>36,7</b>	<b>36,7</b>	<b>36,1</b>	<b>36,2</b>	<b>35,4</b>	<b>35,9</b>	<b>34,6</b>	<b>34,6</b>	<b>35,6</b>	<b>34,1</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 4.** Valores individuales obtenidos para el recuento de Leucocitos (mil/ $\mu$ l).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	12,4	13,2	11,2	11,2	10,0	10*	10,8	12,0	8,8	9,2	9,2	14,0	12,0	10,8
2	10,0	12,0	7,6	8,0	7,6	5,6	7,2	8,4	7,2	6,4	8,0	9,2	8,8	7,6
3	15,2	14,4	13,2	12,8	10,8	11,2	11,2	11,2	11,6	10,8	8,0	13,2	8,8	9,6
4	12,8	12,4	10,8	10,0	12,0	12,0	11,6	12,4	10,4	10,4	6,0	13,6	11,2	12,8
5	12,0	11,6	9,6	10,4	8,4	8,0	10,4	11,2	8,8	8,8*	8*	10,4*	12*	11,2*
6	10,0	10,8	8,0	9,2	7,6	7,2	7,2	8,0	8,0					
7	8,8	9,6	6,4	7,2	5,6	6,4	6,4	7,6	6,8	7,2	13,6	7,6	7,6	10,0
8	8,8	9,2	7,6	7,2	9,2	8,0	10,0	7,2	9,6	10,4	11,6	10,4	11,2	9,6
9	11,6	9,6	9,2	9,6	9,2	8,4	8,8	10,4	7,6	8,8	8,4	9,2	7,6	8,8
10	10,4	10,4	8,8	7,6	7,6	7,2	6,8	8,8	7,2	9,2	11,2	7,2	8,0	9,8
<b>Prom</b>	<b>11,2</b>	<b>11,3</b>	<b>9,2</b>	<b>9,3</b>	<b>8,8</b>	<b>8,2</b>	<b>9,0</b>	<b>9,7</b>	<b>8,6</b>	<b>9,1</b>	<b>9,5</b>	<b>10,6</b>	<b>9,4</b>	<b>9,9</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 5.** Valores individuales obtenidos para la concentración plasmática de Glucosa (mmol/L).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	3,37	4,20	5,53	3,41	2,82	6,46*	2,57	2,82	3,20	3,20	3,34	3,14	3,07	3,08
2	3,54	3,46	3,59	5,30	3,15	3,59	2,98	3,10	3,23	3,48	3,45	3,47	3,17	2,91
3	3,91	4,75	6,83	4,00	3,37	3,21	3,14	3,24	3,13	3,67	3,79	3,77	3,16	3,41
4	3,39	5,38	3,53	6,92	3,08	3,43	2,78	2,98	3,37	2,99	3,29	3,31	3,29	3,33
5	2,95	3,28	6,46	4,30	2,95	2,95	3,19	3,03	3,24	3,09*	6,93*	6,76*	3,31*	3,36*
6	3,33	6,21	8,77	4,05	3,10	3,44	2,75	3,08	3,02					
7	3,59	3,72	5,31	6,01	3,50	3,12	2,77	3,20	3,49	3,10	3,79	3,61	3,94	3,07
8	3,36	5,38	7,64	6,50	3,73	3,48	3,08	2,95	3,13	3,24	3,79	3,74	3,45	3,12
9	3,11	6,38	6,40	6,89	2,80	2,76	2,55	3,06	3,67	2,97	3,31	3,37	3,16	3,15
10	3,84	4,01	7,44	5,48	2,97	3,46	2,98	3,33	3,05	3,54	4,56	3,73	3,46	3,11
<b>Prom</b>	<b>3,44</b>	<b>4,68</b>	<b>6,15</b>	<b>5,29</b>	<b>3,15</b>	<b>3,27</b>	<b>2,88</b>	<b>3,08</b>	<b>3,25</b>	<b>3,27</b>	<b>3,67</b>	<b>3,52</b>	<b>3,34</b>	<b>3,15</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 6.** Valores individuales obtenidos para la concentración plasmática de Lactato (mmol/L).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	0,82	0,72	1,23	0,42	0,40	1,78*	0,47	0,66	0,71	0,47	0,37	0,32	0,23	0,39
2	0,61	0,49	0,72	0,40	0,40	0,43	0,94	0,47	0,84	0,33	0,36	0,35	0,28	0,22
3	1,30	0,82	0,97	0,51	0,47	0,48	0,56	0,43	0,48	0,52	0,83	0,61	0,37	0,72
4	0,60	0,91	1,08	0,38	0,38	0,45	0,35	1,19	1,03	0,44	0,41	0,39	0,36	0,86
5	1,06	1,11	1,50	0,52	0,70	0,50	0,66	0,66	0,79	0,47*	1,36*	0,59*	0,37*	0,6*
6	1,13	1,11	1,27	0,66	0,38	0,66	0,38	0,56	0,74					
7	1,02	1,23	1,12	0,56	0,31	0,52	0,51	0,59	0,70	0,47	0,65	0,40	0,37	0,32
8	0,83	1,26	1,60	0,57	0,44	0,95	0,46	0,58	0,67	0,31	0,32	0,35	0,38	0,39
9	1,15	0,75	0,79	0,45	0,40	0,46	0,40	0,59	0,76	0,51	0,66	0,51	0,36	0,76
10	1,30	1,58	0,99	0,90	0,37	0,87	0,51	0,50	0,62	0,37	0,60	0,34	0,27	0,42
<b>Prom</b>	<b>0,98</b>	<b>1,00</b>	<b>1,13</b>	<b>0,54</b>	<b>0,43</b>	<b>0,59</b>	<b>0,52</b>	<b>0,62</b>	<b>0,73</b>	<b>0,43</b>	<b>0,53</b>	<b>0,41</b>	<b>0,33</b>	<b>0,51</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 7.** Valores individuales obtenidos para la concentración plasmática de  $\beta$ -OHB (mmol/L).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	0,31	0,28	0,37	0,20	0,21	0,44*	0,18	0,25	0,31	0,26	0,33	0,18	0,29	0,9*
2	0,32	0,23	0,31	0,19	0,21	0,34	0,25	0,27	0,41	0,40	0,26	0,21	0,28	0,15
3	0,24	0,25	0,24	0,17	0,15	0,15	0,13	0,15	0,17	0,28	0,37	0,34	0,31	0,32
4	0,30	0,35	0,27	0,25	0,16	0,27	0,31	0,18	0,31	0,30	0,44	0,31	0,47	0,35
5	0,38	0,27	0,36	0,21	0,27	0,20	0,26	0,22	0,25	0,26*	0,38*	0,21*	0,33*	0,19*
6	0,71	0,28	0,44	0,30	0,43	0,71	0,20	0,28	0,37					
7	0,18	0,47	0,57	0,33	0,21	0,21	0,17	0,24	0,25	0,71	0,38	0,31	0,15	0,23
8	0,23	0,34	0,50	0,33	0,23	0,42	0,10	0,19	0,25	0,15	0,32	0,22	0,16	0,35
9	0,38	0,34	0,36	0,30	0,31	0,30	0,21	0,35	0,48	0,37	0,31	0,37	0,37	0,44
10	0,27	0,27	0,38	0,24	0,22	0,12	0,21	0,16	0,34	0,35	0,34	0,31	0,27	0,27
<b>Prom</b>	<b>0,33</b>	<b>0,31</b>	<b>0,38</b>	<b>0,25</b>	<b>0,24</b>	<b>0,30</b>	<b>0,20</b>	<b>0,23</b>	<b>0,31</b>	<b>0,35</b>	<b>0,34</b>	<b>0,28</b>	<b>0,29</b>	<b>0,30</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 8.** Valores individuales obtenidos para la actividad enzimática de CK (U/L).

Cordero	Reposo									Transporte				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	218	327	252	161	217	201*	199	189	211	159	189	154	160	176
2	168	246	302	104	167	123	131	118	134	134	134	110	156	106
3	363	666*	342	169	225	243	196	209	190	201	203	173	173	162
4	256	225	316	129	158	156	202	158	151	168	150	149	139	175
5	503	289	230	158	204	151	164	185	186	151*	150*	147*	145*	153*
6	158	132	307	127	183	159	151	137	136					
7	104	170	117	87	115	101	91	105	93	95	120	94	228	226
8	469	164	197	180	179	124	98	139	107	132	130	127	104	117
9	141	255	103	122	141	119	98	122	127	138	129	121	159	143
10	214	156	187	129	180	166	151	124	154	114	143	121	123	137
<b>Prom</b>	<b>259</b>	<b>218</b>	<b>235</b>	<b>137</b>	<b>177</b>	<b>149</b>	<b>148</b>	<b>149</b>	<b>149</b>	<b>143</b>	<b>150</b>	<b>131</b>	<b>155</b>	<b>155</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

**Anexo 9.** Valores individuales obtenidos para la concentración plasmática de Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ).

<b>Cordero</b>	<b>Reposo</b>									<b>Transporte</b>				
	Día 1			Día 2			Día 3			0 h	2 h	4 h	8 h	12 h
1	0,57	1,48	0,58	0,43	1,29	4,75*	1,54	1,77	0,87	2,35	1,26	1,46	1,15	0,77
2	0,52	0,34	0,28	1,39	0,81	0,29	0,62	1,00	0,25	0,43	0,69	0,55	0,90	0,64
3	0,77	0,98	0,93	0,18	1,46	0,51	0,45	0,44	0,79	0,76	1,50	0,43	0,67	1,23
4	0,72	0,38	0,22	1,23	0,83	0,65	0,21	0,28	0,95	1,06	1,56	0,90	2,12	3,82
5	0,80	0,98	0,90	0,19	1,50	0,63	0,92	0,46	1,00	0,7*	6,08*	2,4*	1,08*	0,39*
6	0,58	0,34	1,16	1,48	0,44	1,69	1,40	1,04	1,44					
7	0,70	0,56	0,90	0,63	1,30	0,70	1,17	1,67	0,80	0,62	1,80	1,64	1,89	0,68
8	0,89	1,46	1,80	1,45	1,01	1,17	0,69	1,61	1,31	1,31	2,69	0,95	1,19	2,65
9	0,67	1,25	1,00	0,38	0,60	1,71	1,32	0,53	0,55	2,09	1,40	1,29	1,09	1,50
10	0,81	1,46	1,57	1,04	1,21	0,73	0,41	0,49	1,13	0,75	0,63	0,53	0,68	0,32
<b>Prom</b>	<b>0,70</b>	<b>0,92</b>	<b>0,93</b>	<b>0,84</b>	<b>1,05</b>	<b>0,90</b>	<b>0,87</b>	<b>0,93</b>	<b>0,91</b>	<b>1,17</b>	<b>1,44</b>	<b>0,97</b>	<b>1,21</b>	<b>1,45</b>

\* Indica datos que no fueron incluidos en el análisis estadístico para evitar sesgos.

## 9. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo. De manera especial a:

- ❖ Mi madre y hermanas, que a pesar de la distancia siempre supieron mantener presente su apoyo y cariño.
- ❖ Dres. N. Tadich y C. Gallo, gracias por la orientación, cariño y confianza depositada.
- ❖ Carlos, Sofía, Marcela y Anita por la compañía y apoyo durante la realización de este proyecto.
- ❖ Al Proyecto FONDECYT 1050492 por el financiamiento de esta tesis.