

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE CARNES

**RELACIONES ENTRE VARIABLES SANGUÍNEAS INDICADORAS DE ESTRÉS,
MANEJO ANTEMORTEM Y LA PRESENTACIÓN DE CORTE OSCURO EN
NOVILLOS.**

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

VANESSA ANDREA AMTMANN ROMERO

VALDIVIA-CHILE

2004

PROFESOR PATROCINANTE

Dra. Carmen Gallo Stegmaier

Nombre

Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

Dra. Gerdien van Schaik

Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Fernando Wittwer M.

Nombre

Firma

Dr. Santiago Ernst M.

Nombre

Firma

FECHA DE LA APROBACIÓN: 18 de Noviembre de 2004

A mis padres, por todo lo que me han
entregado en todos estos años.

INDICE

1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS	8
5. RESULTADOS	11
6. DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIONES	25
8. BIBLIOGRAFÍA	26
9. AGRADECIMIENTOS	32

1. RESUMEN

RELACIONES ENTRE VARIABLES SANGUÍNEAS INDICADORAS DE ESTRÉS, MANEJO ANTEMORTEM Y LA PRESENTACIÓN DE CORTE OSCURO EN NOVILLOS

El objetivo de este estudio fue determinar la relación que existe entre variables sanguíneas indicadoras de estrés obtenidas en novillos ante-mortem con variables indicadoras de calidad de la carne. Para esto se utilizó información de 6 tesis de grado de Licenciado en Medicina Veterinaria realizadas entre los años 1999-2002. Los datos correspondieron a 420 novillos Frisón Negro, de 457 kg promedio y de igual procedencia. Los novillos habían sido sometidos a diferentes tiempos de transporte (3,6,12,16,24 horas), tiempos de ayuno (3,6,12,24 horas) y distinta época de faena: diciembre-enero (alimentados con pradera) y julio-agosto (suplementados con ensilaje de pradera a discreción y avena). A todos se les había extraído muestras de sangre ante-mortem en 4 ocasiones (predio, post transporte, post ayuno, durante la sangría) obteniendo la concentración de los siguientes constituyentes sanguíneos: volumen globular acumulado, glucosa, β -hidroxibutirato, creatinfosfoquinasa, cortisol. Además, se habían obtenido las concentraciones de glucógeno hepático y glucógeno muscular y pH de las canales. Para el análisis estadístico se utilizó el programa computacional Statistix 8.0. Se separaron los novillos según el pH de sus canales, utilizando como diferenciación aquellos novillos que produjeron canales con $\text{pH} < 5,8$ (normales) y $\geq 5,8$ (corte oscuro) y se realizó la Prueba "t" para determinar si existía diferencia en los valores de las variables sanguíneas entre ambos grupos. Se usó la correlación de Pearson para ver la intensidad de asociación entre las variables sanguíneas y las de la canal, y para aquellas variables sanguíneas que presentaron en el predio una correlación significativa ($p < 0,05$) con pH, se les hizo un ANDEVA, para ver si es posible predecir el valor de pH de las canales, basándose en valores sanguíneos obtenidos de los novillos en el predio. Por último se realizó Regresión Logística, para aquellas variables sanguíneas del predio que presentaron una diferencia significativa en la Prueba "t" y los factores: tiempo transporte, tiempo ayuno y época.

La actividad de CK en el predio fue la única variable que presentó una diferencia ($p < 0,05$) entre novillos que produjeron canales con $\text{pH} < 5,8$ y $\geq 5,8$. La concentración de glucosa y VGA obtenidas en el predio mostraron una correlación significativa con pH, las cuales fueron débiles (menores a 50%) y en el ANDEVA éstas no fueron significativas ($p > 0,05$), en cambio sí lo fueron los tiempos de transporte, tiempos de ayuno y la época de faena. En la regresión logística se evidenció que tiempos de transporte mayores a 16 horas y ayunos sobre las 24 horas aumentan la probabilidad de presentar corte oscuro ($\text{pH} \geq 5,8$). Aquellos novillos faenados en verano resultaron con mayor riesgo de presentar corte oscuro.

De acuerdo a las asociaciones encontradas, se concluye que no es posible predecir la presentación de corte oscuro a partir de variables sanguíneas medidas en los novillos ante-mortem y que los tiempos de transporte, tiempos de ayuno y época de faena fueron de acuerdo a la regresión logística, factores preponderantes en la presentación de corte oscuro.

Palabras claves: novillos, transporte, ayuno, pH, estrés.

2. SUMMARY

RELATIONS BETWEEN BLOOD VARIABLES THAT INDICATE STRESS, ANTEMORTEM HANDLING AND DARK CUTTING IN STEERS.

The aim of the present study was to determine the relation between blood variables indicating stress in steers before slaughter and variables that indicate the quality of the meat after slaughter. The data came from six pregraduate thesis` from the Faculty of Veterinary Science conducted between 1999-2002 and corresponded to 420 Friesian steers with the same origin and a mean weight of 457 kg. The steers were transported for 3, 6, 12, 16, or 24 hours, had different fasting times (3, 6, 12, 24 hours), and were slaughtered at different seasons of the year. One group was slaughtered in December-January (fed with pasture) and the second group in July-August (fed with grass silage *ad libitum* and grain). Blood samples were collected: at the farm, after transport, after fasting and during slaughter when the animals were bled and the variables Volumen globular acumulado, glucose, β -hidroxibutirato, plasmatic activity of Creatinfosfoquinasa and cortisol were measured. In addition, liver and muscle glycogen and pH was obtained from the post-mortem meat during slaughter. The results were analyzed with the program Statistix 8.0. The carcasses from the steers were separated in two groups; normal (pH < 5.8) and dark cutting (pH \geq 5.8). Differences between means were assessed for statistical significance using Student's t test. The relationships between blood measurements and carcass variables were investigated by Pearsons correlation coefficients. The blood profiles from the samples taken at the farm that were significantly correlated with pH were analyzed with ANOVA to determine if it is possible to predict the pH values after slaughtering from the blood profiles taken at the farm. Finally, a logistic regression was used for the blood variables from the farm that presented a significant difference with the t test, and also the factors: transport time, fasting time, and season of slaughtering.

The plasmatic activity of CK from the samples taken at the farm was the only variable that was significantly different between carcasses with pH < 5.8 and pH \geq 5.8. The glucose and VGA from the samples taken at the farm showed a very low but significant correlation with pH (< 50%) but when corrected for transport and fasting time and season in an ANOVA they lost significance. The transport times, fasting times and season of slaughter were significantly related with pH in an ANOVA. The logistic regression showed that transport times over 16 hours and fasting times over 24 hours increase the probability of presentation of dark cutting in meat (pH \geq 5.8). The steers slaughtered in summer had a higher risk to present dark cutting than those slaughtered in winter, which may be associated with the different feeding practices in summer and winter.

From the study it was concluded that it is not possible to predict the presentation of dark cutting in meat at slaughter with blood profiles from steers ante-mortem. The logistic regression showed that transport times, fasting times, and season of slaughtering were preponderant factors in the presentation of dark cutting.

Keywords: steers, transport, fasting, pH, stress.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA

Considerando el esquema de comercialización que se utiliza para el ganado bovino en Chile con largos tiempos de transporte y ayuno (Gallo y col., 1995), y las condiciones de manejo inadecuado antes del faenamiento (Gallo y col. 2003a; Gallo y col. 2003b), existe un alto riesgo de problemas de calidad de carne relacionados al estrés (Gallo, 1997). El corte oscuro es uno de los problemas de calidad de carne que es provocado por estrés crónico previo al faenamiento; el estrés depleta las reservas de glucógeno muscular y disminuye la formación de ácido láctico, consecuentemente el pH después de la muerte permanece alto (superior a 5,8) en lugar de descender (<5,8) (Wirth, 1987; Brown y col., 1990). En Chile, el corte oscuro es un problema serio de calidad, que afecta entre un 5 y 10% de las canales (Gallo, 1997); esto provoca pérdidas económicas por devaluación de canales y rechazos para la exportación. La frecuencia de corte oscuro depende de factores tales como genotipo, sexo y edad del animal, estado nutricional, distancia de transporte, época del año, mezcla de ganado de distintas procedencias, predisposición genética, etc. (Sanz y col., 1996). El estrés que han sufrido los animales por los distintos manejos previos al faenamiento se puede cuantificar directamente en los animales o indirectamente según las características finales de sus canales.

3.2. METODOS PARA CUANTIFICAR ESTRÉS EN LOS ANIMALES

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. Forrest y col. (1979) definen el estrés como el ajuste fisiológico que tiene lugar durante la exposición de los animales a condiciones adversas.

Grandin (1997) señala como ejemplos de estrés psicológico (temor) a la restricción de espacio, el contacto con gente, la exposición a novedad (cuando el animal es confrontado con algo nuevo), y otros manejos, y como ejemplos de estrés físico: el hambre, sed, fatiga, lesión y temperaturas extremas. Esto explica que existen factores altamente adversos sin ser necesariamente dolorosos (Grandin, 1997).

Según Grandin (1997), el temor es una emoción universal en el reino animal y un muy fuerte estresor, el cual es difícil de pronosticar porque depende de cómo el animal percibe el manejo, esto determinado por sus experiencias anteriores; así por ejemplo, los animales que se han criado en forma extensiva pueden tener más estrés psicológico que los criados intensivamente cuando se los carga o descarga durante el transporte. También hay factores

genéticos, según LeNeindre y col. (1995) el temperamento es un rasgo heredable en el ganado vacuno, que puede afectar la respuesta del animal al manejo. Ambos factores, experiencia y genética interactúan de manera compleja para determinar cuánto miedo va a tener el animal. Por esto los resultados de estudios de manejo y transporte son altamente variables. Así mismo Moberg (1996) señala que existe una gran variabilidad entre animales en cuanto a la respuesta biológica frente a un mismo factor, no existiendo una respuesta específica que caracterice a todos por igual.

Existen al menos dos métodos para cuantificar el estrés en los animales: el análisis de la conducta animal y las mediciones de diferentes variables en los tejidos y fluidos del animal (Shaw y Tume, 1992). Según Forrest y col. (1979) cambios fisiológicos asociados a estrés se relacionan con cambios en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, lactato, insulina, ácidos grasos volátiles (β - hidroxibutirato) y volumen globular aglomerado (VGA). También Moberg (1996) señala los mismos indicadores además de enzimas como la creatinfosfoquinasa (CK).

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 de los glucocorticoides al estrés 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 último autor señala que la respuesta a glucocorticoides es proporcional a la gravedad del estrés, así el estrés moderado da lugar a una menor producción de cortisol.

Para Shaw y Tume (1992) la determinación de la concentración sanguínea de cortisol es un buen indicador de estrés asociado con manejos como arreo, transporte y sacrificio de los animales. Así mismo Shaw y Tume (1992) señalan el cortisol como la principal hormona de la corteza adrenal secretada como respuesta a la liberación de hormona adenocorticotrófica (ACTH) por la hipófisis, siendo un buen indicador de estrés psicológico (Cockram y col., 1996).

Algunos estudios indican que en los bovinos las concentraciones de corticosteroides son erráticas (Caballero y Sumano, 1993); así es como Moberg (1996) considera que la concentración aumentada de cortisol sólo sería un indicador neuroendocrino primario; sin embargo, la mayoría de los investigadores siguen usando como indicador de estrés la determinación de cortisol plasmático (Crookshank y col, 1979; Warriss y col., 1984; Warner y col., 1986; Cooper y col., 1995; Horton y col., 1996).

Los carbohidratos de la dieta son en su mayoría polímeros de las hexosas, siendo las más importantes la galactosa, la fructosa y la **glucosa**. El principal producto de la digestión de los carbohidratos y principal azúcar circulante es la glucosa (Ganong, 1992). El glucógeno es la única forma de almacenamiento de glucosa en el cuerpo, a pesar que la glucosa puede ser sintetizada a partir de otros compuestos (Cunningham, 1994).

La concentración sanguínea de glucosa (glucemia) está determinada por el equilibrio entre la cantidad de glucosa que entra al torrente sanguíneo y la que sale de él. Las principales determinantes de la concentración de glucosa en la sangre son, por lo tanto, la ingestión de alimentos, la velocidad de entrada a las células musculares, al tejido adiposo y a otros órganos, así como la actividad glucostática del hígado. La síntesis a partir de los intermediarios del ciclo de Krebs y de la glucólisis es una parte importante de la homeostasis energética a la cual se le denomina gluconeogénesis (Cunningham, 1994). Este mismo autor señala que la mayor parte de la glucosa existente en los rumiantes se origina de la gluconeogénesis.

Uno de los efectos específicos de los glucocorticoides es la estimulación de la gluconeogénesis hepática, la cual involucra la conversión de los aminoácidos en carbohidratos. El resultado neto es el aumento de glucógeno hepático y una tendencia a incrementar la glucosa sanguínea (Cunningham, 1994). Es así como cualquier relación entre la glucosa y el estrés está mediada por las catecolaminas y/o glucocorticoides. Por esta razón, los niveles de glucosa circulante son un indicador indirecto de estrés (Shaw y Tume, 1992).

Una vez aumentada la concentración de glucosa sanguínea puede tardar dos días en regresar a los valores basales (Warriss y col., 1995). Por esta razón cualquier solución que se intente en el matadero para restituir el glucógeno será insuficiente, ya que se requerirá de un mayor tiempo. 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 β -hidroxibutirato (**β -HBA**) es uno de tres tipos de cuerpos cetónicos (acetona, ácido acetoacético y β -hidroxibutirato) (Kaneko, 1989). La concentración sanguínea de β -hidroxibutirato aumenta como respuesta a la falta de alimento durante el transporte y tarda de uno a dos días en regresar a los valores basales (Warriss y col., 1995).

El volumen globular acumulado (**VGA**) es un indicador de estrés influido por las concentraciones plasmáticas de las catecolaminas (Lister y col, 1981). Según Mitchel y col. (1988) el aumento del VGA puede deberse tanto a la salida de fluidos fuera del compartimiento vascular (deshidratación) como a una contracción esplénica; esto último por estimulación simpático-adrenal o por un aumento de las catecolaminas circulantes, así se liberan eritrocitos a la circulación.

Según Blood y Radostits (1992) existen dos causas principales de deshidratación; una es el consumo insuficiente de agua y otra la pérdida excesiva de la misma. Si la deshidratación es leve los valores de VGA no varían significativamente, y si es de mayor grado los valores de VGA pueden tardar hasta ocho días en retornar a valores basales (Warriss y col., 1995).

La actividad de la creatinfosfoquinasa (**CK**) sérica es otro indicador de estrés ampliamente utilizado en los animales (Lister y col., 1981). En el músculo esta enzima tiene por función dejar ATP disponible para la contracción, mediante la fosforilación de ADP desde creatinfosfato (Kaneko, 1989). Según Grandin y Tarrant (1993) el aumento de la actividad física se refleja en un aumento de la actividad de la CK plasmática. La enzima es liberada

desde el músculo esquelético como respuesta a cambios de la permeabilidad de la membrana celular (Warriss y col., 1995) y llega en pulsos a la circulación desde el tejido muscular dañado durante un ejercicio vigoroso o poco común (arreo, montas, peleas), o como resultado del daño producido por contusiones (Grandin y Tarrant, 1993).

Según Warriss y col. (1995) 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. Según Grandin y Tarrant (1993) en períodos de transporte de 4 a 24 horas, la actividad plasmática de 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. La actividad puede permanecer alta hasta por dos días, especialmente en los animales con tiempos de transporte más largos, pero retorna a valores normales dentro de los cinco días siguientes (Warriss y col., 1995).

3.3. EFECTO DEL ESTRÉS EN LAS CANALES

Las variables sanguíneas anteriormente señaladas se utilizan como indicadores de estrés, especialmente cuando se están comparando valores previos y posteriores a un determinado manejo que se cree induce estrés, siempre que las comparaciones se hagan entre animales de características generales semejantes (edad, raza, sistema de crianza, etc.). Sin embargo, también en las canales de los animales destinados a producir carne se puede observar y medir las consecuencias del estrés (Warriss, 1990).

Uno de los cambios post-mortem más significativos que sucede en el músculo, durante su conversión a carne, es el descenso del pH. Este, disminuye desde un rango de 7,5 a 6,5 en el músculo vivo, hasta valores de 5,5 aproximadamente; esto ocurre por degradación bioquímica del glucógeno muscular en ausencia de oxígeno (glicólisis anaeróbica) luego de la muerte del animal, produciéndose formación y acumulación de ácido láctico y descenso de pH en las fibras musculares (Forrest y col., 1979; Schmidt – Hebbel, 1984; Hofmann, 1988; Warriss, 1990). El estrés ante-mortem provoca consumo excesivo de glucógeno muscular, minimizando la cantidad de ácido láctico en el músculo post mortem e impidiendo con ello la caída natural del pH en este período. Brown y col. (1990) señalan que las canales con valores de $\text{pH} \geq 5,8$ presentan un problema de rápido deterioro cuando la carne es envasada al vacío y tienden a tener un color anormal.

El color final de la carne, está directamente asociado al contenido de glucógeno muscular antes de la matanza, a la baja de pH post mortem y al pH final logrado por el músculo (Schmidt- Hebbel, 1984; Prado y Maino, 1990). El pH elevado de la carne permite un mayor consumo de oxígeno a nivel mitocondrial (Ashmore y col., 1972) y la falta de oxígeno (glicólisis anaerobia) en los tejidos no permite la transformación de mioglobina en oximioglobina, presentando la carne una coloración oscura y un pH alto. Esta condición en el bovino se conoce como “ corte oscuro” (Forrest y col., 1979; Schmidt-Hebbel, 1984; Hofmann, 1988).

Según Hood y Tarrant (1980), el manejo previo al faenamiento sería una de las causas de mayor importancia en la presentación de corte oscuro en carnes bovinas, ya que el ganado sufre un estrés fisiológico y agotamiento de las reservas de glucógeno por inadecuadas condiciones de transporte, tiempo de ayuno o de espera muy prolongados y mezcla de lotes de animales en los corrales.

En Chile se han hecho varios estudios sobre los efectos de distintos manejos previos al faenamiento en las variables sanguíneas (Alvarado, 1999; Schwerter, 2001; Bustamante, 2001), y por otra parte también se ha estudiado el efecto de dichos manejos en la calidad de la carne (Lizondo, 2000; Mencarini, 2002; Sanhueza, 1999). Es decir, existen datos de un mismo animal en cuanto a variables sanguíneas indicadoras de estrés (VGA, glucosa, β -HBA, CK, cortisol) obtenidas en distintos momentos ante-mortem (en el predio, antes del transporte, después del transporte y en el matadero), y de la canal (pH, glucógeno muscular, glucógeno hepático) posterior a la faena. Dado lo anterior, parece interesante analizar estos datos en forma conjunta y determinar si hay relación entre ellos. La hipótesis es que se puede predecir, a partir de variables sanguíneas en el animal ante mortem, la calidad que se obtendrá en la canal en términos de pH y presentación de corte oscuro. Para probar la hipótesis se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Determinar la relación que existe entre variables sanguíneas indicadoras de estrés obtenidas en novillos ante-mortem y variables indicadoras de calidad de la carne.

Objetivos específicos

- Determinar y comparar los promedios de los valores de variables sanguíneas indicadoras de estrés determinadas en el predio, post transporte, post ayuno y sangría de novillos cuyas canales presentaron corte oscuro ($\text{pH} \geq 5,8$) y aquellas que fueron normales ($\text{pH} < 5,8$).

- Determinar la intensidad de la asociación existente entre los valores de las variables sanguíneas indicadoras de estrés de muestras tomadas en el predio, post transporte, post ayuno y sangría con las variables de calidad de la canal.

- Determinar en qué proporción la varianza del pH es influenciada por algunas de las variables estudiadas.

- Determinar las variables estudiadas que influyen en mayor medida como factores de riesgo o de protección, en la presentación de corte oscuro.

- Determinar el efecto del manejo ante-mortem (tiempos de transporte, tiempos de ayuno y época) en la presentación de corte oscuro.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

La información para este estudio se obtuvo de diversos experimentos de transporte y ayuno de bovinos correspondientes a tesis de grado de Licenciado en Medicina Veterinaria, llevadas a cabo en los Institutos de Ciencia y Tecnología de Carnes y Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, realizadas entre los años 1999-2002 (Alvarado, 1999; Sanhueza, 1999; Lizondo, 2000; Schwerter, 2001; Bustamante, 2001; Mencarini, 2002). Todas estas tesis formaron parte de los proyectos FONDECYT 1980062 “Efectos del transporte y ayuno previo al sacrificio sobre la producción cuantitativa y cualitativa de la carne en bovinos” y 1010201 “Efecto de diferentes condiciones de transporte, ayuno y manejo de bovinos previo al faenamiento, sobre el bienestar animal y la calidad de la carne”.

Se recolectaron en total antecedentes de 420 novillos, aunque no se tenía el 100% de las variables en consideración para todos los animales. Éstos correspondían a novillos de raza Frisón Negro, de similar peso (457 kg en promedio), edad por cronometría dentaria (DL, 2D) y de la misma procedencia (predio de Río Bueno).

Se construyó una base de datos utilizando una planilla electrónica Excel 5.0 considerando la información disponible sobre las siguientes variables:

4.1.1. N° del animal: Todos los novillos se encontraban individualmente identificados con autocrotal.

4.1.2. Época de faena: De los novillos utilizados, unos correspondían a experimentos realizados en verano (diciembre- enero), en que eran alimentados sólo con pradera, y otros en invierno (julio-agosto), cuya alimentación era con 4 kg de avena aplastada y ensilaje de pradera a discreción.

4.1.3. Tiempos de transporte: Los novillos habían sido sometidos a diferentes tiempos de transporte (3 – 6 – 12 – 16 – 24 horas), con una densidad de carga de 500 kg/m² en promedio y usando camiones de similar estructura.

4.1.4. Tiempos de ayuno: Inmediatamente posterior al transporte en la planta faenadora (siempre la misma), los novillos habían sido sometidos a diferentes tiempos de reposo en ayuno (3 – 6 – 12 – 24 horas), recibiendo solamente agua *ad libitum* hasta el momento de su beneficio.

4.1.5. Constituyentes sanguíneos: A todos estos novillos se les había extraído muestras de sangre en el predio, inmediatamente después del transporte, posterior al ayuno, y a la sangría, y se tenían los valores de los siguientes constituyentes sanguíneos:

4.1.5.1. Volumen globular acumulado (VGA), expresado en % y determinado mediante microhematocrito.

4.1.5.2. Concentración glucosa, expresado en mmol/L y su determinación se hizo sobre la base del procedimiento de la prueba para la glucosa GOD-PAP, sin deproteinización.

4.1.5.3. Concentración β -hidroxibutirato (β -HBA), expresado en mmol/L y el método utilizado fue una técnica enzimática, en la cual, el β -HBA es oxidado por NAD⁺.

4.1.5.4. Actividad de creatinfosfoquinasa (CK), expresado en U/L y se determinó mediante un método UV-cinético.

4.1.5.5. Concentración cortisol, expresado en ug/dl y el método utilizado para su determinación fue mediante radioinmunoensayo (RIA).

4.1.6. Valores de la canal: De los mismos novillos se tenían las concentraciones de:

4.1.6.1. Glucógeno hepático (μ mol/g) medido inmediatamente (dentro de una hora) post mortem.

4.1.6.2. Glucógeno muscular (μ mol/g) medido inmediatamente (dentro de una hora) post mortem.

4.1.6.3. El valor de pH medido en el músculo *Longissimus thoracis* a las 24 horas post mortem.

4.2. MÉTODOS

La base de datos fue importada al programa computacional STATISTIX 8.0 donde se verificó la normalidad de las variables mediante la prueba Shapiro- Wilk Test, resultando las variables CK y cortisol sin una distribución normal. Los datos se normalizaron con logaritmo natural (Ln) para CK y raíz cuadrada para cortisol (sqrt).

Para todas las pruebas se consideró un nivel de confianza de 95%.

Se separaron los datos en dos grupos, novillos que produjeron canales con un pH inferior a 5,8 (normales) y aquellos con canales de pH igual o superior a 5,8 (corte oscuro). Se tomó este valor según lo que establecen autores como Tarrant y Sherinton (1980), Wirth (1987), Barriada (1995), Beltrán y col. (1997), y Schobitz (1998) como límite para poder

envasar la carne al vacío. Esta variable dicótoma se definió como pH_C, a la cual se le asignó valor 0 cuando el pH era menor a 5,8 y valor 1 cuando el pH era mayor o igual a 5,8. Se realizó la Prueba “t” para comparar los promedios (desviación estándar) de los constituyentes sanguíneos y de la canal de ambos grupos y obtener el nivel de significancia de esta diferencia.

Mediante la correlación de Pearson, la cual se aplica para medir la intensidad de la asociación entre dos variables, se determinaron los coeficientes de correlación, entre las variables sanguíneas (β -HBA, glucosa, CK, VGA, cortisol) y las de la canal (pH, glucógeno hepático, glucógeno muscular).

Para aquellas variables sanguíneas que presentaron en el predio una correlación significativa ($p < 0,05$) con pH se les hizo un Análisis de Varianzas ANDEVA, para poder determinar cuánto es lo que influyen las variables estudiadas en el **valor de pH** de las canales, basándose en valores sanguíneos obtenidos de los novillos en el predio.

Para realizar la siguiente prueba estadística se obtuvo variables de múltiple categoría con transporte de 6, 12, 16, 24 horas y ayuno de 6, 12, 24 horas, las que se compararon con transportes y ayunos de 3 horas (base). Además a la variable época se le asignó un valor 1 cuando correspondía a invierno y 0 a verano.

Por último se realizó Regresión Logística, para aquellas variables sanguíneas del predio que presentaron una diferencia estadísticamente significativa en la Prueba “t”, y los factores: tiempo transporte, tiempo ayuno, época, obteniendo un modelo que permite saber la **probabilidad de la presentación de corte oscuro** basándose en los distintos tiempos de transporte, de ayuno, y la época.

5. RESULTADOS

En la tabla 1 se aprecia que los novillos que presentaron en sus canales un pH post mortem superior ó igual a 5,8 tenían valores promedio de glucógeno muscular ($p < 0,001$) y hepático ($p < 0,05$) menores que aquellos cuyas canales tuvieron un pH inferior a 5,8.

Tabla 1. Promedios (\pm D.E) y significancia estadística de las diferencias entre promedios para glucógeno muscular y hepático, y para constituyentes sanguíneos indicadores de estrés, tomados en el predio, posterior al transporte, posterior al ayuno, y en la sangría de novillos que produjeron canales con $pH < 5,8$ y $\geq 5,8$.

VARIABLES		n	pH < 5,8	n	pH \geq 5,8	SIGNIFICANCIA p
			n=339		n= 81	
			PROMEDIO \pm D.E		PROMEDIO \pm D.E	
CANAL	GLUCÓGENO MUSCULAR (μ mol/g)	239	34,5 \pm 15,7	66	14,9 \pm 13,0	0,0000
	GLUCÓGENO HEPÁTICO (μ mol/g)	239	118,3 \pm 150,8	66	87,9 \pm 65,9	0,0176
PREDIO	VGA(%)	336	34,4 \pm 3,8	79	34,6 \pm 3,6	0,6547
	GLUCOSA(mmol/L)	337	4,2 \pm 0,5	79	4,2 \pm 0,4	0,4881
	β -HBA (mmol/L)	331	0,3 \pm 0,1	78	0,3 \pm 0,1	0,3673
	CORTISOL(ug/dl)*	290	1,4 \pm 0,5	46	1,5 \pm 0,5	0,2837
	CK(U/L)**	336	5,5 \pm 0,5	79	5,7 \pm 0,4	0,0008
POST TRANSPORTE	VGA(%)	334	35,5 \pm 4,5	79	36,1 \pm 4,1	0,2745
	GLUCOSA(mmol/L)	333	5,8 \pm 1,1	80	5,7 \pm 1,3	0,5625
	β -HBA(mmol/L)	334	0,2 \pm 0,2	78	0,2 \pm 0,1	0,0626
	CORTISOL(ug/dl)*	287	1,6 \pm 0,6	46	1,3 \pm 0,5	0,0110
	CK(U/L)**	333	6,2 \pm 0,7	80	6,7 \pm 0,8	0,0000
POST AYUNO	VGA(%)	101	39,8 \pm 4,2	11	38,2 \pm 4,6	0,2417
	GLUCOSA(mmol/L)	105	5,0 \pm 0,1	12	4,9 \pm 0,6	0,6461
	β -HBA(mmol/L)	99	0,2 \pm 0,1	11	0,2 \pm 0,1	0,6723
	CORTISOL(ug/dl)*	103	1,7 \pm 0,4	12	1,5 \pm 0,4	0,1909
	CK(U/L)**	105	6,1 \pm 0,7	12	6,6 \pm 0,7	0,0121
SANGRÍA	VGA(%)	281	37,7 \pm 4,0	65	37,8 \pm 3,1	0,7546
	GLUCOSA(mmol/L)	283	7,2 \pm 2,8	64	7,1 \pm 2,8	0,8572
	β -HBA(mmol/L)	282	0,2 \pm 0,1	65	0,3 \pm 0,1	0,0003
	CORTISOL(ug/dl)*	234	1,9 \pm 0,5	31	2,1 \pm 0,5	0,0944
	CK(U/L)**	283	6,2 \pm 0,6	65	6,7 \pm 0,7	0,0000

* raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

** logaritmo natural de CK (ln).

De los promedios de los valores de constituyentes sanguíneos obtenidos en el predio, sólo se observa una diferencia ($p < 0,001$) en la actividad de CK en animales que produjeron canales de pH superior ó igual a 5,8 en comparación con aquellas de pH inferior a 5,8. En las variables restantes no se encontraron diferencias significativas.

De las variables sanguíneas obtenidas posterior al transporte, se puede inferir que los novillos que produjeron canales con pH superior ó igual a 5,8 tuvieron una mayor actividad plasmática promedio de CK ($p < 0,001$) y una menor concentración de cortisol ($p < 0,05$), en relación con canales con pH inferior a 5,8.

Para las variables tomadas en los novillos posterior al ayuno en la planta faenadora, sólo la CK presentó nuevamente una actividad ($p < 0,05$) mayor en aquellos que produjeron canales de pH superior ó igual a 5,8 en comparación con canales de pH inferior a 5,8.

Para aquellas variables obtenidas al momento de la sangría, con igual nivel de significancia en la diferencia de los promedios ($p < 0,001$), la concentración sanguínea de β -HBA y la actividad de CK de novillos que produjeron canales con pH superior ó igual a 5,8, fueron mayores en relación con aquellos que presentaron un pH inferior a 5,8.

De la tabla 2 se tiene que las variables sanguíneas tomadas en el predio y que se asocian con el pH ($p < 0,05$) son la concentración de glucosa, la cual presenta una correlación positiva pero débil de un $r = 0,11$ y VGA, el cual tiene una correlación negativa y también débil de un $r = -0,11$.

Tabla 2. Valores de correlación de Pearson (r) y su significancia (p) entre variables sanguíneas indicadoras de estrés tomadas en el predio y variables de la canal en novillos.

Variables Sanguíneas	Variables de la Canal		
	pH n = 326	Glucógeno hepático ($\mu\text{mol/g}$) n = 217	Glucógeno muscular ($\mu\text{mol/g}$) n = 217
β -HBA(mmol/L)			
r	-0,09	0,05	0,23
p	0,09	0,50	0,00
Glucosa1(mmol/L)			
r	0,11	0,14	0,16
p	0,04	0,03	0,02
CK(U/L)*			
r	0,04	-0,05	-0,09
p	0,45	0,44	0,19
VGA(%)			
r	-0,11	-0,01	0,29
p	0,04	0,88	0,00
Cortisol(ug/dl)**			
r	0,04	0,04	0,11
p	0,52	0,58	0,09

* logaritmo natural de CK (ln).

** raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

La glucosa presenta una correlación de carácter débil, positiva de $r = 0,14$ con glucógeno hepático ($p < 0,05$).

El β -HBA, glucosa, VGA, muestran asociaciones débiles y positivas de $r = 0,23$ $r = 0,16$ y $r = 0,29$ respectivamente con glucógeno muscular ($p < 0,05$).

Tabla 3. Valores de correlación de Pearson (r) y su significancia (p) entre variables sanguíneas indicadoras de estrés tomadas posterior al transporte y variables de la canal en novillos.

Variables Sanguíneas	Variables de la Canal		
	pH n = 330	Glucógeno hepático ($\mu\text{mol/g}$) n = 219	Glucógeno muscular ($\mu\text{mol/g}$) n = 219
β -HBA(mmól/L)			
r	0,08	-0,01	0,15
p	0,14	0,93	0,02
Glucosa(mmól/L)			
r	-0,05	0,13	0,16
p	0,40	0,06	0,01
CK(U/L)*			
r	0,02	-0,07	-0,07
p	0,70	0,33	0,28
VGA(%)			
r	-0,09	-0,05	0,22
p	0,10	0,45	0,00
Cortisol($\mu\text{g/dl}$)**			
r	-0,11	-0,07	-0,10
p	0,05	0,28	0,15

* logaritmo natural de CK (ln).

** raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

En la tabla 3 se aprecia que sólo la concentración de cortisol presenta una asociación con el pH ($p < 0,05$), con un valor r de -0,11 la cual es negativa y débil.

No hubo correlaciones significativas ($p < 0,05$) entre las variables sanguíneas medidas posterior al transporte y el glucógeno hepático.

En el caso del glucógeno muscular nuevamente fueron las concentraciones de β -HBA, glucosa, y VGA ($p < 0,05$) las que presentaron asociaciones débiles y positivas de $r = 0,15$ $r = 0,16$ y $r = 0,22$ respectivamente.

Tabla 4. Valores de correlación de Pearson (r) y su significancia (p) entre variables sanguíneas indicadoras de estrés tomadas posterior al ayuno en el matadero y variables de la canal en novillos.

Variables Sanguíneas	Variables de la Canal		
	pH n = 103	Glucógeno hepático ($\mu\text{mol/g}$) n = 103	Glucógeno muscular ($\mu\text{mol/g}$) n = 103
β -HBA(mmol/L)			
r	-0,04	-0,01	0,20
p	0,72	0,96	0,04
Glucosa(mmol/L)			
r	0,02	0,28	0,05
p	0,86	0,00	0,60
CK(U/L)*			
r	0,21	-0,06	-0,14
p	0,03	0,52	0,16
VGA(%)			
r	-0,10	0,11	0,35
p	0,33	0,25	0,00
Cortisol(ug/dl)**			
r	-0,29	0,16	0,14
p	0,00	0,11	0,17

* logaritmo natural de CK (ln).

** raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

En la tabla 4, se puede observar que de las variables tomadas después del ayuno, la actividad de la CK presenta una asociación positiva con el pH ($p < 0,05$) de $r = 0,21$. También la concentración de cortisol muestra una asociación negativa y débil de un $r = -0,29$ ($p < 0,001$).

Sólo la concentración de glucosa tiene un valor r significativo ($p < 0,05$) con el glucógeno hepático, el cual es débil y positiva, de 0,28.

En cuanto a las asociaciones significativas con el glucógeno muscular ($p < 0,05$); la concentración de β -HBA muestra una asociación positiva y débil de $r = 0,20$ y el VGA una correlación de $r = 0,35$ de carácter débil y positiva.

Tabla 5. Valores de correlación de Pearson (r) y su significancia (p) entre variables sanguíneas indicadoras de estrés tomadas en la sangría y variables de la canal en novillos.

Variables Sanguíneas	Variables de la Canal		
	pH n = 264	Glucógeno hepático ($\mu\text{mol/g}$) n = 153	Glucógeno muscular ($\mu\text{mol/g}$) n = 153
β -HBA (mmol/L)			
r	0,09	-0,08	0,04
p	0,15	0,33	0,58
Glucosa (mmol/L)			
r	0,02	0,10	0,09
p	0,77	0,22	0,27
CK (U/L)*			
r	0,25	-0,06	-0,34
p	0,00	0,46	0,00
VGA (%)			
r	-0,10	-0,07	0,21
p	0,12	0,39	0,01
Cortisol (ug/dl)**			
r	-0,05	-0,19	0,04
p	0,43	0,02	0,61

* logaritmo natural de CK (ln).

** raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

Como se ve en la tabla 5, sólo la actividad de CK presenta una asociación con el pH ($p < 0,05$), que es de carácter débil y positiva de $r = 0,25$.

La concentración de cortisol muestra una asociación significativa ($p < 0,05$) con el glucógeno hepático de tipo negativa y débil de $r = -0,19$.

La actividad de la CK presenta una correlación significativa ($p < 0,05$) con el glucógeno muscular, la cual es negativa y débil con un valor de $r = -0,34$. También el VGA presenta una asociación significativa ($p < 0,05$), de tipo débil, positiva y con un valor de $r = 0,21$.

Como se ve en la tabla 6, la concentración de glucosa y el valor del VGA no explican una parte significativa de la varianza de pH (0,3%). Los tiempos de transporte y ayuno, y la época, en cambio explican una parte significativa de esta varianza (10%).

Tabla 6. Análisis de Varianzas para pH con tiempo de transporte, tiempo de ayuno, época y variables sanguíneas que en el predio tuvieron correlación significativa con pH: glucosa, VGA.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Varianza	MS	F	P
Tiempo transporte	4	1,21	0,3	4,3	0,00
Tiempo ayuno	3	1,12	0,4	5,3	0,00
Época	1	0,83	0,8	11,8	0,00
Glucosa	1	0,09	0,1	1,3	0,26
VGA	1	0,01	0,0	0,1	0,77
Error	402	28,4	0,07	-	-
Total	412	31,66	-	-	-

Como se puede apreciar en la tabla 7, con 16 hrs. de transporte los novillos tienen 3,6 veces más probabilidad ($p < 0,05$) de tener un pH mayor a 5,8 que con 3 hrs de transporte (base). De igual manera novillos transportados por 24 hrs. tienen 5,4 veces más probabilidad ($p < 0,05$) de tener en sus canales un pH superior a 5,8 en comparación con los transportados por 3 hrs.

El transporte por 6 y 12 hrs. no mostró diferencia con los de 3 hrs de transporte ($p > 0,05$).

Según los resultados de la tabla 7, después de 24 hrs. de ayuno en reposo en matadero, posterior al transporte, los novillos tienen 9,4 veces más probabilidad ($p < 0,05$) de tener un pH mayor a 5,8 que después de 3 hrs. de ayuno. El ayuno por 6 y 12 hrs. no presentó diferencia significativa con el ayuno por 3 hrs ($p > 0,05$).

Novillos faenados en verano mostraron 3,03 veces más probabilidad de tener un pH mayor a 5,8 que los que fueron faenados en invierno ($p < 0,05$).

El valor de CK en sangre, tomado en el predio, no permite predecir si ese novillo tendrá un pH mayor de 5,8 en su canal ($p > 0,05$).

Tabla 7. Regresión Logística para la presentación de canales de $\text{pH} \geq 5,8$ (corte oscuro) con tiempo de transporte, tiempo de ayuno y época como variables exploratorias y la variable sanguínea CK obtenida en el predio.

Variables	Coefficiente de Regresión	Error	Nivel de Significancia	Razón de disparidad	95% Intervalo de Confianza
constante	-3,5	1,75	0,05	-	-
3 hrs. transporte	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
6 hrs. transporte	0,71	0,54	0,19	2,04	0,70 - 5,93
12 hrs. transporte	-0,54	0,78	0,49	0,59	0,13 - 2,72
16 hrs. transporte	1,27	0,33	0,00	3,6	1,86 - 6,85
24 hrs. transporte	1,7	0,49	0,00	5,4	2,09 - 14,06
3 hrs. ayuno	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
6 hrs. ayuno	0,5	0,71	0,49	1,63	0,70 - 5,93
12 hrs. ayuno	0,71	0,58	0,22	2,03	0,65 - 6,38
24 hrs. ayuno	2,24	0,65	0,00	9,4	2,63 - 33,62
Invierno	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.	Ref.
Verano	1,12	0,3	0,00	3,03	1,69 - 5,56
CK*	0,17	0,29	0,56	1,19	0,67 - 2,11

* logaritmo natural de CK (ln).

6. DISCUSIÓN

El glucógeno muscular es el principal sustrato metabólico responsable de la acumulación de ácido láctico post-mortem y de la normal disminución del pH final de la carne (Immonen y col., 2000). En este trabajo se obtuvo en las canales con pH superior a 5,8 (corte oscuro) un valor promedio de glucógeno muscular de 14,9 $\mu\text{mol/g}$ el cual fue menor ($p < 0,001$) al valor de canales con pH inferior a 5,8 (normales), que fue de 34,5 $\mu\text{mol/g}$ (tabla 1). Esta diferencia se debería a una disminución del glucógeno muscular antes de la muerte, por mayor movilización de energía a consecuencia del estrés, lo cual hace que el pH muscular después de la muerte no baje en forma adecuada (Apple y col., 1995; Immonen y col., 1999).

Este valor promedio de 14,9 $\mu\text{mol/g}$ de glucógeno muscular para canales con $\text{pH} \geq 5,8$ si bien concuerda con lo obtenido por Lizondo (2000) y Mencarini (2002) para los mismos animales, está muy por debajo de lo indicado por Brown y col. (1990), quienes señalan que concentraciones de glucógeno muscular menores a 27,7 $\mu\text{mol/g}$ ya indican una alta probabilidad de encontrar canales con corte oscuro (considerando como tales los que tuvieron $\text{pH} \geq 6,0$). En estudios realizados en dos razas bovinas (Brown Swiss y Pirenaico) obtuvieron valores promedio de glucógeno muscular de 53,3 $\mu\text{mol/g}$ en aquellas canales con $\text{pH} < 6,0$ y 17,8 $\mu\text{mol/g}$ para aquellas con corte oscuro (que consideraron con un pH mayor a 6,0), (Sanz y col., 1996). Comparando estos valores con los obtenidos en el presente estudio se puede ver que los del presente son inferiores, sobre todo para las canales normales, y a pesar de que ellos fueron menos estrictos con el valor de pH que consideraron normal. Estos valores tan bajos de glucógeno muscular pueden explicarse de dos maneras: escasas reservas energéticas iniciales o gasto excesivo. Según McVeigh y Tarrant (1982), la alimentación ofrece alguna protección contra la depleción de glucógeno muscular, por lo que es posible que estos animales estén presentando un déficit de reserva energética ya en el predio, que los predispone a tener finalmente una canal con menor glucógeno muscular. Por otra parte el mayor tiempo de transporte y de ayuno, en comparación a los trabajos de Immonen y col. (1999) provoca un mayor gasto de energía que los hace también más susceptibles a la presentación de corte oscuro.

Respecto a las reservas energéticas Tarrant y Sherington (1980) señalan que la intensidad de respuesta al estrés está influenciada por la naturaleza glucogénica de la ración y por lo tanto puede también estar relacionada con la época del año. También Muir y col. (1998) indican que la alimentación de novillos con pasto, produce en la canal valores de pH más elevados que la alimentación con grano; además, sugieren que novillos alimentados sólo con pasto son más susceptibles a estrés que los que recibieron grano debido a que tienen menor contacto con la gente. Esto concuerda con lo que indica Grandin (1997), que la menor experiencia que tienen los novillos con los humanos es la que posteriormente los hace más temerosos y por ende más susceptibles al estrés. Esto puede explicar la diferencia encontrada en este estudio entre ambas épocas, ya que los novillos de invierno tuvieron mayor contacto

con gente debido al confinamiento y recibieron avena más ensilaje; los de verano sólo estuvieron en pradera y tuvieron menos contacto con personas; probablemente fue por ello que este último grupo presentó valores de glucógeno muscular más bajos, más susceptibilidad al estrés y consecuentemente más corte oscuro. Esto concuerda con lo observado en la tabla 7, donde se aprecia que aquellos novillos faenados en verano tienen 3,03 veces más probabilidad de tener un pH mayor a 5,8 que los faenados en invierno ($p < 0,05$) y en el cuadro 6, donde la época explica una parte significativa de la varianza del pH final de la canal.

También Palacio y col. (1999) observaron una influencia negativa del sacrificio de novillos en verano, y Mencarini (2002) encontró valores de glucógeno muscular más elevados en novillos faenados en invierno, alimentados con avena y ensilaje que en verano (alimentados sólo con pradera). Es así como Immonen y col. (2000), señalan que una forma de prevenir la depleción de glucógeno muscular y la posterior alza de pH post-mortem es aumentar el porcentaje de energía en la ración, lo que debería realizarse 2 semanas previo al sacrificio.

Los valores promedios obtenidos para el glucógeno hepático (tabla 1) fueron de 87,9 $\mu\text{mol/g}$ para canales con $\text{pH} \geq 5,8$ (corte oscuro) y de 118,3 $\mu\text{mol/g}$ para aquellas canales con $\text{pH} < 5,8$ (normales) y esta diferencia fue significativa ($p < 0,05$). En cambio Mencarini, (2002) obtuvo en las canales con $\text{pH} \geq 5,8$ un valor promedio de 92,42 $\mu\text{mol/g}$ y para aquellas con un pH inferior a 5,8 un valor promedio de 95,68 $\mu\text{mol/g}$, no encontrando una diferencia entre ambos. Lo que sí destaca en los valores obtenidos en ambos estudios es la gran desviación estándar para esta variable y esto podría ser un obstáculo para poder predecir la presentación de corte oscuro basándose en el glucógeno hepático. Hay que recordar que, cuando la ingestión de energía metabolizable se halla muy por debajo de las necesidades del animal como en el ayuno prolongado (transporte y reposo en matadero), el glucógeno hepático es degradado y el hígado contribuye con glucosa al torrente sanguíneo (Ganong, 1992).

El hecho que la actividad de la CK aumente (tabla 1) se debería al esfuerzo que realizan los animales para mantener la postura en un vehículo en movimiento, lo que les causa gran fatiga muscular y además contusiones; como resultado la CK es liberada producto de un cambio de permeabilidad en las membranas celulares y llega a la circulación desde el tejido muscular dañado, provocando el aumento de su actividad plasmática (Warriss, 1990; Warriss y col., 1995; Knowles y col., 1997; Knowles, 1999). El aumento sostenido en todos los muestreos (tabla 1) puede deberse a su alta vida media, ya que según Warriss y col. (1995) su actividad permanece alta hasta por dos días, y retorna a valores normales dentro de los cinco días siguientes.

Llama la atención la diferencia encontrada en los valores de CK en el predio, en que los novillos que presentaron corte oscuro posteriormente, ya tenían esta variable aumentada. Considerando lo señalado por Voisinet y col. (1997) , quienes encontraron que el ganado con temperamento más excitable produce más incidencia de corte oscuro que aquellos con temperamento más calmo y también Grandin (1997) quien ha observado que dentro de una misma raza, los animales magros y delgados, con huesos finos, son mucho más propensos a entrar en pánico o a ponerse nerviosos que los animales de esqueleto más pesado, el mayor valor promedio de CK encontrado ya en el predio en los novillos que posteriormente presentaron corte oscuro podría ser indicativo de los novillos más estresables. Esto también podría explicar por qué la actividad de la CK fue en los muestreos post transporte, ayuno y sangría, siempre significativamente superior en los novillos que produjeron canales con $\text{pH} \geq 5,8$ (tabla 1).

El temperamento es un rasgo heredable en el ganado vacuno, que parece ser estable a lo largo del tiempo y que puede afectar la respuesta del animal al manejo (LeNeindre y col, 1995). Interactúa de manera compleja con las experiencias de manejo previas y el aprendizaje que haya tenido el animal, determinando la forma en que éste reaccionará durante un procedimiento particular de trabajo. Existen diferencias de temperamento entre las distintas razas ganaderas y también dentro de cada una de ellas; el ganado de temperamento muy excitable puede tener más dificultades para adaptarse a procedimientos indoloros reiterados que el ganado de temperamento más calmo. Los dos tipos de animales pueden tener reacciones fisiológicas y psicológicas diferentes ante el mismo procedimiento. Los animales de temperamento calmo pueden adaptarse más fácilmente, y sufrir menos estrés, cuando se los somete a tratamientos reiterados de manejo, en tanto que los animales de temperamento muy excitable pueden sufrir cada vez más estrés a medida que los tratamientos se repiten (Grandin, 1997). Esto también puede ser la explicación de que la concentración de β -HBA fue significativamente mayor ($p < 0,001$) en aquellos novillos que produjeron canales con un pH superior a 5,8 en la sangría (tabla 1), en relación con los otros, a pesar que ambos grupos recibieron igual tipo de manejo.

Sin embargo, a pesar de lo encontrado en la prueba “t” (tabla 1), en las correlaciones se puede ver que la CK tomada en el predio y post transporte (tablas 2-3) no presenta una asociación significativa con el pH de la canal, y posterior al ayuno y a la sangría (tablas 4-5) las asociaciones son muy bajas (todas menores a un 50%). Esto indicaría que no existe una relación directa entre CK en el predio y el pH en la canal. Más aún, en la regresión logística se evidenció que el valor de CK tomado en el predio en definitiva no influye en la probabilidad ($p > 0,05$) de tener un pH mayor a 5,8 (tabla 7). El hecho que la CK no haya resultado un buen predictor de corte oscuro se debería a la influencia preponderante encontrada para el tiempo de transporte, de ayuno y la época en la presentación de corte oscuro, ya que en la regresión logística (tabla 7) se corrige por estos factores, no así en la prueba “t” (tabla 1), y lo otro es la baja correlación que presentó la CK con el pH de la canal la cual tampoco fue significativa (tabla 2).

Generalmente los animales que muestran signos de una excitación conductual presentan niveles de cortisol más altos que los animales tranquilos (Grandin, 1999), lo cual no ocurrió en este estudio ya que aquellos que tuvieron corte oscuro presentaron valores más bajos de cortisol post transporte (tabla 1). También Cockram y Corley (1991), encontraron que a medida que el ganado era golpeado en mayor número de ocasiones con un tubo de plástico, menores eran las concentraciones plasmáticas de cortisol. Los autores manifiestan que este resultado fue inesperado y no dan una explicación para ello. De acuerdo a Warriss y col. (1995), esto se debería a que los animales al adaptarse a ser transportados, disminuyen sus valores plasmáticos de cortisol; esto se produciría porque el cortisol deja de ser producido y además comienza a ser eliminado por el organismo, dado que su vida media es de aproximadamente 60 minutos (Cunningham, 1994). Además es posible que el tiempo que transcurrió entre los estímulos y la obtención de la muestra pudo haber sido insuficiente o demasiado largo para que se evidenciara un aumento del cortisol en la sangre. Por esto sería interesante realizar muestreos seriados desde la aplicación del estímulo hasta varias horas después. Oyarce (2002), * tomó muestras cada 3 horas durante el transporte y encontró que en las primeras 6 horas la concentración de cortisol aumentaba (de 0,91 ug/dl a 3,54 ug/dl) para posteriormente disminuir a las 12 horas (1,85 ug/dl).

De acuerdo con el análisis de varianza (tabla 6) no será posible predecir el valor del pH de la canal basándose en variables sanguíneas tomadas en el predio, ni siquiera las que resultaron significativas en las correlaciones como VGA y glucosa. En cambio sí fueron significativos los efectos del tiempo de transporte, tiempo de ayuno, y la época. Estos resultados concuerdan con autores como Hood y Tarrant (1980), los cuales afirman que el manejo previo al faenamiento sería una de las causas de mayor importancia en la presentación de “corte oscuro” en carnes bovinas, ya que el ganado sufre un estrés fisiológico y agotamiento por inadecuadas condiciones de transporte, y tiempos de ayuno muy prolongados. También Wythes y col. (1981), señalan que el tiempo de transporte es el factor que afecta en mayor medida la calidad de la carne debido a su influencia sobre el pH muscular.

Según Monin (1988) y Warriss (1990) el transporte de los animales desde el predio al matadero es un factor muy importante de estrés que repercute tanto sobre la calidad organoléptica de la carne, como su aptitud higiénica y de conservación. Así mismo Gallo (1996) expresa que las operaciones destinadas al faenamiento de reses de abasto son un importante eslabón que influye en la calidad de la carne en Chile, especialmente si se tiene en cuenta que la mayor parte del ganado que se faena se traslada en pie por enormes distancias, desde los centros de producción hacia los centros de consumo y luego son dejados en reposo en ayuno por largas horas (Gallo y col., 1995). Durante estos manejos los animales son expuestos a condiciones adversas, tales como peligro, ambiente molesto, fatiga, calor, frío, luz, restricciones de espacio y otras, estímulos que son percibidos por los sentidos desencadenando estrés.

*Memoria de Título en ejecución (comunicación personal). Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. UACH.

Palma y Gallo (1991) y Gallo y col. (2003b) también indican que entre las causas de mayor importancia a las cuales se asocia la presentación de “corte oscuro” en Chile, están aquellas que tienen relación directa con el tiempo de transporte y el tiempo de ayuno. Más aún, Gallo y Lizondo (2000) encontraron que el transporte prolongado (16 horas) frente al transporte corto (3 horas) tiene efectos negativos sobre el contenido de glucógeno muscular y sobre la calidad de la carne medida a través de su pH, igualmente esto ocurrió al aumentar el tiempo de ayuno después del transporte.

Se puede observar en la tabla 7, que con 16 y 24 horas de transporte, los novillos tienen respectivamente 3,6 y 5,4 veces más probabilidad ($p < 0,05$) de presentar corte oscuro que con 3 horas, no así para 6 y 12 horas. Esto coincide con Shorthose (1980) quien determinó que la incidencia de altos valores de pH se incrementa con el mayor tiempo que pasa de la salida del predio al matadero. También Gallo y col. (2003b) encontraron valores de pH significativamente mayores en transportes largos (16 horas) con relación a los cortos (3 horas).

Asimismo Mencarini (2002) observó promedios superiores de pH con transportes de 16 horas; en general, en las tesis aquí utilizadas (Lizondo, 2000; Mencarini, 2002; Sanhueza, 1999), se encontró que con mayor tiempo de transporte y de ayuno aumentaron los casos de corte oscuro. Actualmente el Reglamento de Transporte de Ganado bovino destaca el hecho que los animales no deben ser transportados por más de 24 horas consecutivas (Chile, 1993); sin embargo de acuerdo a los datos obtenidos, este tiempo aún es muy prolongado y resulta perjudicial para la calidad de la carne.

También el efecto del tiempo de reposo en matadero fue importante. De hecho con 24 horas de ayuno posterior al transporte (a pesar del tiempo diferente de transporte) los novillos tienen 9,4 veces más probabilidad ($p < 0,05$) de presentar canales con $\text{pH} \geq 5,8$ (corte oscuro) (cuadro 7). Esto corrobora lo dicho por Palma y Gallo (1991) y Gallo y col. (2003b) que a medida que aumenta el tiempo de reposo aumenta la presentación de corte oscuro en bovinos. De hecho Novoa (2003) encontró que los pH de la canal eran más bajos y había menos problemas de corte oscuro con la faena dentro de 1 hora de llegados los novillos a la planta faenadora que con 12 horas de reposo.

El tiempo de reposo actualmente estipulado en el Reglamento de Mataderos es de mínimo 12 horas (Chile, 1994) y el Reglamento Sanitario de los Alimentos señala un mínimo de 6 horas y un máximo de 48 horas (Chile, 1997). A pesar de esta reglamentación se sabe que la espera en el matadero generalmente supera las 12 horas (Gallo y col., 1995). Teniendo en cuenta los resultados de este trabajo sería necesario fijar un reposo inferior al señalado, ya que después de 12 horas de espera existe tanto una tendencia a la disminución del peso de las canales obtenidas, como un efecto negativo en la calidad de la carne, aumentando la incidencia de valores de pH altos (igual o mayor a 5,8) y consecuentemente la incidencia de canales con corte oscuro (Gallo y col., 2003b).

Si bien resulta fácil justificar por qué el transporte, el tiempo de ayuno y la época (a través de su efecto en la pradera y la suplementación necesaria) explican una parte significativa de la varianza del pH (tabla 6), la mayor proporción de la varianza del pH se debe al “error”. Estos serían los otros factores en conjunto no analizados y la capacidad de responder propia del animal. Sin embargo, según Warriss y Knowles, (1993) esta capacidad propia de cada animal para responder al estrés, dependerá de la magnitud y de la duración del agente estresante. Moberg (1996), indica que existen dos problemas al momento de utilizar estas respuestas como forma de medición a) diferentes factores estresantes producen diferentes respuestas biológicas en el mismo animal y b) aún cuando el factor estresante es el mismo, la respuesta varía entre individuos. Pero si bien estas respuestas biológicas son altamente variables, son también según Moberg (1996) la clave para determinar el grado de estrés presente en nuestros animales.

Considerando lo anterior, las investigaciones para evaluar bienestar animal durante un manejo deberían contener, además de medidas fisiológicas, otras de conducta tales como intento de escape, emitir vocalizaciones, tornarse agresivo, hiperactivo, patadas, entre otras, las cuales en este estudio no se consideraron y por ende, sería interesante considerarlas en un trabajo posterior. Así una nueva forma de estudiar bienestar animal sería la de abordar el conocimiento de sus reacciones y emociones; identificar a partir de situaciones que se saben estresantes nuevos indicadores que servirán, a su vez, para detectar, confirmar o controlar situaciones de estrés (Fernández, 2003).

Es posible concluir que para disminuir la presencia de carnes con pH alto y corte oscuro sería aconsejable que los transportes y ayunos sean menos prolongados y menos estresantes. Los tiempos prolongados de transporte y ayuno provocan además de estrés, pérdidas cuantitativas por destare, contusiones y pérdidas de peso de la canal, mencionados en varios estudios (Tadich y col., 2000; Gallo y col., 2000; Tadich y col., 2003). La relación encontrada entre corte oscuro y época del año podría atribuirse a la alimentación que reciben los novillos en las distintas épocas y por lo tanto debería darse importancia a la energía de la ración entregada a los novillos en las últimas semanas de engorda, ya que ésta otorgaría la reserva energética que en definitiva protegería o predispondría ya al salir del predio, a los animales a presentar corte oscuro. Aunque la respuesta al estrés es muy variable y dependiente de la capacidad de cada animal para responder, resulta evidente que si el agente estresante actúa por largo tiempo (transporte y ayuno prolongado) el efecto encontrado será mayor aunque su capacidad propia de responder sea baja o alta.

Finalmente se rechaza la hipótesis del estudio concluyéndose que no es posible predecir la probabilidad de la presentación de corte oscuro basándose en las variables sanguíneas indicadoras de estrés tomadas en el predio, sino que son los tiempos de transporte, ayuno y la época los que influirían mayormente en la calidad final de la carne.

7. CONCLUSIONES

- Existen diferencias significativas en los promedios de CK (en todos los muestreos), cortisol (post transporte), β -HBA (sangría), entre los novillos cuyas canales presentaron corte oscuro ($\text{pH} \geq 5,8$) y aquellas que fueron normales ($\text{pH} < 5,8$).
- Si bien se encontró una asociación entre glucemia y VGA, en el predio, y pH de la canal; al incorporar los tiempos de transporte, tiempos de ayuno y época éstas perdieron importancia de manera significativa.
- Una alta proporción de la varianza del pH es producto del conjunto de otras variables que en este estudio no fueron tomadas.
- Los tiempos de transporte de 16 y 24 horas, y los ayunos de 24 horas aumentan el riesgo de presentación de canales con corte oscuro y por tanto deberían evitarse.
- Los novillos faenados en invierno tienen menos riesgo de presentar canales con corte oscuro que los que son faenados en verano.
- De acuerdo a los resultados obtenidos no es posible predecir, a partir de variables sanguíneas en el animal ante-mortem, la calidad que se obtendrá en la canal en términos de pH y presentación de corte oscuro.

8. BIBLIOGRAFÍA

ALVARADO, M.A. 1999. Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés por transporte, en bovinos. Tesis de Grado, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

APPLE, J.K., M.E. DIKEMAN, J.E. MINTON, R.M. McMURPHY, M.R. FEDDE, D.E. LEITH, J.A. UNRUH. 1995. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen depletion, and incidence of dark-cutting longissimus muscle in sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 2295.

ASHMORE, C.R., W. PARKER, L. DOERR. 1972. Respiration of mitochondria isolated from dark-cutting beef: postmortem changes. *J. Anim. Sci.* 34: 46-48.

BARRIADA, M. 1995. Variables que determinan la calidad de la canal y de la carne en vacuno. *Bovis.* 66: 95-111.

BELTRÁN, J.A., I. JAIME, P. SANTOLARIA, C. SAÑUDO, P. ALBERTI, P. RONCALES. 1997. Effect of stress-induced high postmortem pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat. Science.* 45: 201-207.

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

BROWN, S., E. BEAVIS, P. WARRIS. 1990. An estimate of the incidence of dark cutting beef in the United Kingdom. *Meat Science.* 27: 249- 258.

BUSTAMANTE, H. 2001. Determinación del efecto de diferentes tiempos de ayuno y transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos en el periodo otoño-invierno. Tesis de Grado, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

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

CHILE. 1993. Ministerio de Agricultura. Reglamento General de Transporte de Ganado y Carne Bovina. Decreto N° 240. Publicado en Diario Oficial del 20 de Septiembre de 1993.

CHILE. 1994. Ministerio de Agricultura. Reglamento sobre funcionamiento de mataderos, cámaras frigoríficas y centrales de desposte y fija equipamiento mínimo de tales establecimientos. Decreto N° 342 Publicado en Diario Oficial del 22 de enero de 1994.

CHILE. 1997. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Decreto N° 977 Publicado en Diario Oficial del 13 de mayo de 1997.

COCKRAM, M.S., K.T.T. CORLEY. 1991. Effect of pre-slaughter handling on the behaviour of beef cattle. *Bv. 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 behavioural and physiological responses of lambs during and after transport. *J. Anim. Sci.* 62: 461- 477.

COOPER, C., A.C.O. EVANS, S. COOK, N.C. RAWLINGS. 1995. Cortisol, progesterone and β - 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. México.

FERNÁNDEZ, M. 2003. Parámetros para medir el estrés de los animales. http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2003/12/16/9904_print.php. Consultado agosto 2004.

FORREST, C.J., E.D. ABERLE, H.B. HENDRICK, M.D. JUDGE, R.A. MERKEL. 1979. Fundamentos de la ciencia de la carne. Ed. Acribia, Zaragoza.

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 SOCHIPA, Coquimbo, Chile. En: Resúmenes de la 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.

GALLO, C. 1997. Efectos del manejo pre y postfaenamiento en la calidad de la carne. III Jornadas Chilenas de Buiatría, Osorno, Chile.

GALLO, C., G. LIZONDO. 2000. Efectos de diferentes tiempos de ayuno antes del sacrificio sobre el contenido de glucógeno muscular y hepático y el pH final de la canal en novillos. XX Congreso Nacional de Medicina Veterinaria, 25-27 octubre, Santiago, Chile.

GALLO, C., S. PÉREZ, C. SANHUEZA, J. GASIC. 2000. Efectos del tiempo de transporte de novillos previo al faenamiento sobre el comportamiento, las pérdidas de peso y algunas características de la canal. *Arch. Med. Vet.* 32: 157- 170.

GALLO, C., A. ALTAMIRANO, H. URIBE. 2003a. Evaluación del bienestar animal durante el manejo de bovinos previo al faenamiento en una planta faenadora de carnes. Congreso de Buiatría. Pucón, Chile.

GALLO, C., G. LIZONDO, T. KNOWLES. 2003b. Effects of journey and lairage time on steers transported to slaughter in Chile. *Vet. Rec.* 152: 361-364.

GANONG, W.F. 1992. Fisiología Médica. Ed. Manual Moderno. 13ª Edición.

GRANDIN, T., V. TARRANT. 1993. Livestock handling and transport. CAB Int., U.K.

GRANDIN, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J. Anim. Sci.* 75: 249- 257.

GRANDIN, T. 1999. “Acostumbrar no agitar”: Los bovinos y equinos de temperamento excitable deben ser presentados gradualmente a las experiencias nuevas. *Beef* 14-16.

HOFMANN, K. 1988. El pH, una característica de la calidad de la carne. *Fleischwirtschaft, español* 1: 13-18.

HOOD, D.E., P.V. TARRANT. 1980. The problem of dark- cutting in beef. Martinus Nijhoff. The Hague. Holanda.

HORTON, THE LATE G.M.J., J.A. BALDWIN, S.M. EMANUELE, J.E. WOHLT, L.R. MCDOWELL. 1996. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. *J. Anim. Sci.* 62: 49- 66.

IMMONEN, K., D.M. SCHAEFER, E. PUOLANNE, R.G. KAUFFMAN, E.V. NORDHEIM. 1999. The relative effect of dietary energy density on repleted and resting muscle glycogen concentrations. *Meat Science* 54: 155-162.

IMMONEN, C., M. RUUSUNEN, K. HISSA, E. PUOLANNE. 2000. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Science* 55: 25-31.

KANEKO, J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Ed. Academic Press. 4ª Edición.

KNOWLES, T. G., P.D. WARRISS, S.N. BROWN, J.E. EDWARDS, P.E. WATKINS, A. J. PHILLIPS. 1997. Effects on calves less than one month old of feeding or not feeding during road transport of up to 24 hours. *Vet. Rec.* 140: 116-124.

KNOWLES, T.G. 1999. A review of the road transport of cattle. *Vet. Rec.* 144: 197-201.

LE NEINDRE, P., G. TRILLET, J. SAPA, F. MÉNISSIER, J.N. BONNET, J.M. CHUPIN. 1995. Individual differences in docility of Limousin cattle. *J. Anim. Sci.* 73: 2249.

LISTER, D., N.G. GREGORY, P.D. WARRIS. 1981. Developments in meat science. Applied Science Publishers, London.

LIZONDO, G.R. 2000. Efectos de diferentes tiempos de transporte y ayuno sobre las pérdidas de peso y características de la canal en novillos. Primavera – verano Tesis de Grado, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

McVEIGH, J.M., P.V. TARRANT. 1982. Glycogen content and repletion rates in beef muscle, effect of feeding and fasting. *J.Nutr.* 112: 1306-1314.

MENCARINI, I. 2002. Efecto de dos densidades de carga y dos tiempos de transporte sobre el contenido de glucógeno hepático y muscular, pH y color de la carne en bovinos. Memoria de Título, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

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. 1996. Stress and its measurement in domestic animals. A review of behavioural and physiological studies under field and laboratory situations. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine.* 24: 179-210.

MONIN. 1988. Stress d' abattage et qualités de la viande. *Rec. Méd. Vét.* 16410: 835- 842.

MUIR, P.D., J.M. BEAKER, M.D. BROWN. 1998. Effects of forage and grain- based feeding systems on beef quality. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 41: 623-635.

NOVOA, H. 2003. Efectos de la duración y las condiciones del reposo en ayuno previo al faenamiento de los bovinos sobre las características de la canal. Memoria de Título, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

PALACIO, J., P. SANTOLARIA, S. GARCÍA- BERENGUER, D. RODES, C. ACEÑA, M. GASCÓN, J.A. ANGEL, J.C. LLES, B. LOBERA, I. MARTÍN-MAESTRO, F. BAYO, L. TIL. 1999. Factores de estrés previos al sacrificio y su repercusión sobre el pH final de las canales en ganado vacuno. *ITEA* 20: 14-16.

PALMA, V., C. GALLO. 1991. Identificación de factores condicionantes de carnes de corte oscuro (D.F.D.) en bovinos. En: Resúmenes XVI Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA), Valdivia, Chile: 91.

PRADO, R., M. MAINO. 1990. Efecto del manejo pre y post matanza sobre la calidad de la carne bovina. *Revista Tattersall* 68: 10-11.

SANHUEZA, C.A. 1999. Efectos del tiempo de transporte sobre el contenido de glicógeno muscular y hepático, pH, color, fuerza de cizalla y capacidad de retención de agua en la carne de novillos Tesis de Grado, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

SANZ, M.C, M. VERDE, T. SAEZ, C. SAÑUDO. 1996. Effect of breed on the muscle glycogen content and dark cutting incidence in stressed young bulls. *Meat Science*. 43: 37- 42

SCHMIDT- HEBBEL, H. 1984. Carne y productos cárnicos su tecnología y análisis. Fundación Chile. Santiago. Chile.

SCHOBITZ, R. 1998. Aspectos que influyen sobre la calidad y el tiempo de vida útil de la carne empacada al vacío. *Informativo sobre carne y productos cárneo, edición especial N°23*: 124- 127.

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 primavera- verano. Tesis de Grado, Fac. Cs. Vet., Univ. Austral de Chile, Valdivia, Chile.

SELYE, H. 1954. Fisiología y patología de la exposición al estrés. Ed. Científico Médica, Barcelona.

SHAW, F.D., R.K TUME. 1992. The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents. A review of recent work.. *Meat Science* 32: 311- 329.

SHORTHOSE, W.R. 1980. Factors affecting the incidence of dark cutting meat. III Simposio nacional de ciencia y tecnología de carnes. Buenos Aires. Citado por: **WYTHES, J.R., R.J. ARTHUR, P. THOMPSON, G. WILLIAMS, J. BOND. 1981.** Effect of transporting cows various distances on liveweight, carcass traits and muscle pH. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 21: 557-561.

TADICH, N., C. GALLO, M. ALVARADO. 2000. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables indicadores de estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 32: 171-183.

TADICH, N., C. GALLO, R. ECHEVARRÍA, G. van SHAIK. 2003. Efecto del ayuno durante dos tiempos de confinamiento y de transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos. *Arch. Med. Vet.* 35: 171- 185.

TARRANT, P.V., J. SHERINGTON. 1980. An investigation of ultimate pH in the muscle of commercial beef carcasses. *Meat Science* 4: 287-297.

VOISINET, B.D., T. GRANDIN, F. O'CONNOR, J.D. TATUM, M.J. DEESING. 1997. Bos Indicus-Cross Feedlot Cattle with Excitable Temperaments have Tougher Meat and a Higher Incidence of Borderline Dark Cutters. *Meat Science* 46: 367-377.

WARNER, R.D., G.A. ELDRIDGE, C.G. HALPIN, J.L. BARNETT, C.G. HALPIN, 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.

WARRIS, P.D., S.C. KESTING, S.N. BROWN, L.J. WILKINS. 1984. Recovery from mixing stress in young bulls. *Meat Science* 28: 171- 186.

WARRISS, P.D. 1990. The handling of cattle pre- slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Appl. Anim. Beh. Sci.* 28: 171-186.

WARRISS, P.D., T.G. KNOWLES. 1993. Welfare aspects of broiler transport in The United Kingdom. En: *Livestock Environment IV*. American Society of Agricultural Engineers, St Joseph, Michigan, 547.

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.

WIRTH, F. 1987. Tecnología para la transformación de carne de calidad anormal. *Fleischwirtschaft español.* 1: 22- 28.

WYTHES, J.R., R.J. ARTHUR, J.M. THOMPSON, G.E. WILLIAMS, J.H. BOND. 1981. Effect of transporting cows various distances on liveweight, carcass traits and muscle pH. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 21: 557-561.

9. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos los que de alguna manera contribuyeron en hacer posible este trabajo y especialmente a:

Dra. Carmen Gallo Stegmaier, por todo su apoyo, material facilitado y el tiempo que me dedicó.

Dra. Gerdien van Schaik, por la paciencia y el tiempo que me entregó a pesar de la distancia.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A Emilio le quiero agradecer por sus palabras de apoyo, su ayuda y también por su paciencia.

A Elke por su gran disposición en ayudarme en todo.

A todas aquellas personas que están y estarán siempre a mi lado quiero darles las gracias de todo corazón porque los logros son mucho mejores cuando los puedes compartir.

También debo agradecer de forma muy especial a Dios y a la vida que me ha entregado demasiado.