

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



"EVALUACIÓN DEL ESTRÉS DE SACRIFICIO EN BOVINOS
MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE INDICADORES INDIRECTOS
DE ESTRÉS EN DOS CENTROS DE MATANZA DIFERENTES"

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

P. Biol. Carmen Cecilia Gómez Rodiles

DIRECTOR: JUAN MANUEL MORENO MARTÍNEZ
ASESOR: JACINTO BAÑUELOS PINEDA

LAS AGUJAS, NEXTIPAC, ZAPOPAN, JALISCO. JULIO DE 1997.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**C. CARMEN CECILIA GOMEZ RODILES
P R E S E N T E.**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis " **EVALUACION DEL ESTRES DE SACRIFICIO EN BOVINOS MEDIANTE LA DETERMINACION DE INDICADORES INDIRECTOS DE ESTRES EN DOS CENTROS DE MATANZA DIFERENTES**" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis al M.V.Z. **JUAN MANUEL MORENO MARTINEZ**.

**A T E N T A M E N T E
" PIENSA Y TRABAJA "**

Las Agujas, Zapopan, Jal., Febrero 24 de 1997



**M. EN C. ARTURO OROZCO BAROCIO
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION**



**M. EN C. JOSÉ LUIS NAVARRETE HEREDIA
SECRETARIO DEL COMITE DE TITULACION**

c.c.p. M.V.Z. **JUAN MANUEL MORENO MARTINEZ**.- Director de Tesis.
c.c.p. El expediente del alumno.
AOB/JLNH/memn*

**M. en C. ARTURO OROZCO BAROCIO
PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE TITULACIÓN DE LA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
P R E S E N T E :**

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó la pasante: **CARMEN CECILIA GÓMEZ RODILES**. Código: 080644655, con el título: "EVALUACIÓN DEL ESTRÉS DE SACRIFICIO EN BOVINOS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE INDICADORES INDIRECTOS DE ESTRÉS EN DOS CENTROS DE MATANZA DIFERENTES", consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fecha de exámenes de tesis y profesional respectivos.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva dar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., a 13 de Marzo de 1997.



M.V.Z. Juan Manuel Moreno Martínez.
DIRECTOR DE TESIS



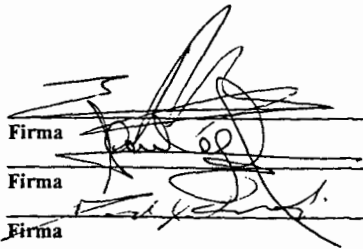
Dr. Jacinto Bañuelos Pineda
ASESOR DE TESIS

SINODALES

1. **Dr. Emilio Ribes Iñesta**

2. **M.V.Z. Miguel Carbajal**

2. **M.V.Z. Ma. de Jesús Rimoldi R.**



Firma
Firma
Firma

**“EVALUACIÓN DEL ESTRÉS DE SACRIFICIO EN BOVINOS
MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE INDICADORES
INDIRECTOS DE ESTRÉS EN DOS CENTROS DE MATANZA
DIFERENTES”.**

Autor:

Carmen Cecilia Gómez Rodiles

Director:

MVZ. Juan M. Moreno Martínez

Asesor:

Dr. MVZ. Jacinto Bañuelos Pineda

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Morfofisiología Veterinaria de la División de Ciencias Veterinarias del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

RESUMEN

El manejo inadecuado de los animales, su transporte, la mezcla de animales y las condiciones extremas de temperatura previos al sacrificio de los bovinos da como resultado un estado de estrés en el animal. Esto a su vez desencadena un cúmulo de respuestas fisiológicas que tienen que ver con el desarrollo de características indeseables en las carnes de los animales para abasto. Por otro lado, la determinación de algunos parámetros indirectos en suero de animales sacrificados permite evidenciar la intensidad del estrés provocado. De tal manera, el presente estudio tuvo como propósito evaluar el estrés en bovinos durante su sacrificio. Para dicho propósito se colectaron un total de 100 muestras de sangre completa de bovinos macho encastados de cebú al momento de su sacrificio. 50 muestras eran provenientes del Rastro Municipal de Guadalajara (RMG) y las restantes muestras de bovinos que fueron sacrificados en la Empacadora Ganadera de Occidente S.A. (EGOSA). Las muestras fueron transportadas inmediatamente al Laboratorio de Morfofisiología Veterinaria del C.U.C.B.A., donde fueron centrifugadas y colocadas en congelación mientras se determinaba su pH, concentración de glucosa y de transaminasa glutámico oxalacética o aspartato amino transferasa (TGO/AST). Los valores séricos de pH obtenido de animales sacrificados en el RMG tuvieron un promedio de 8.4, mientras que en los sueros de los animales sacrificados en EGOSA fue de 8.3. Estos valores resultaron alcalinos en comparación a valores normales en bovinos. La glucosa sérica resultó marcadamente elevada, registrándose 112.9 mg/100 ml en animales sacrificados en el RMG y 164.36 mg/100 ml para los animales de EGOSA. Cabe señalar que la diferencia entre estos valores resultó significativa a una $p < 0.05$. Con relación a los niveles de TGO/AST, esta enzima tuvo un valor de 97.8 U/L en animales del RMG y de 91.8 U/L en animales de EGOSA, valores que resultaron dentro del rango reportado como normal para bovinos (43.3 a 110.2 U/L). Se concluye que la determinación de estos parámetros

indirectos como indicadores de estrés, pueden ser útiles para dar cuenta diferentes tipos de estrés a que puede someterse un animal. Así mismo son necesarios estudios adicionales incorporando variables diversas como raza, humedad y temperatura para cada época del año, condiciones de manejo y medio ambientales propias de nuestra región.

I N D I C E:

	PAGINA
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
JUSTIFICACION.....	18
HIPOTESIS.....	20
OBJETIVO GENERAL.....	20
OBJETIVOS PARTICULARES.....	20
MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS Y DISCUSION.....	25
CONCLUSIONES.....	40
BIBLIOGRAFIA.....	41

INTRODUCCION

ANTECEDENTES:

El concepto de estrés se ha utilizado para designar el cúmulo de respuestas fisiológicas que se desencadenan en un organismo como resultado de la interacción con su medio ambiente, lo que propicia la posibilidad de mantener un equilibrio fisiológico (Dantzer y Mormedè, 1980; Dantzer, 1984; Fraser, 1980).

En la actualidad, el término estrés se suele utilizar de manera indiscriminada en el campo no solo de la Fisiología, sino también en el de la Medicina y la Psicología. Esto puede conducir a confusiones, ya que se considera que el término se aplica a un parámetro o a un sistema de reacciones orgánicas, y no a una serie de procesos amplios y heterogéneos (Dantzer y Mormedè, 1980; Fraser, 1980).

El término de estrés fue utilizado por primera vez por Hans Selye en 1936, y se empleaba para designar la respuesta fisiológica inespecífica que se desencadena en un individuo con la finalidad de preparar al organismo a enfrentar el cúmulo de estímulos variados y heterogéneos que se presentan al interactuar con su medio ambiente (Selye, 1936).

Selye, un año antes (ver Selye, 1935), obtuvo los primeros conocimientos sobre el estrés, durante el transcurso de un estudio endocrinológico, al observar que al inyectar un extracto ovárico sin purificar en ratas, se producían en ellas una serie de reacciones que no se asocian con la función de dicha glándula; entre estos efectos observó la presencia de úlceras gastrointestinales, aumento del volumen de la corteza adrenal e involución de los órganos linfoides. Así mismo, en otros estudios,

Selye observó que la inyección de una amplia gama de sustancias extrañas al organismo desencadenaba el mismo tipo de cambios orgánicos (Selye, 1936; 1973).

A partir de sus observaciones, Selye pudo concluir que ante un estímulo desagradable el organismo responde de una manera similar. Posteriormente, el autor añadió una nueva dimensión a estos trabajos al demostrar que la exposición de un individuo a cualquier agente nocivo desencadenaba simultáneamente la activación de la corteza adrenal con la aparición concomitante de úlceras gastrointestinales y la disminución de peso del timo y de los órganos linfáticos que interviene en la lucha contra las infecciones. Hallazgos que han sido corroborados en las dos últimas décadas (p.e., Dantzer y Mormedè, 1980; Olson y cols., 1980; Pieleka y cols., 1992; Pfeiffer, 1992).

Selye, denominó "*Síndrome General de Adaptación*" (SGA) a la respuesta cortico-adrenal que se desencadena en el organismo ante una situación estresante (Dantzer y Mormedè, 1980; McDonald, 1987; Sapolski, 1990).

Todos los factores a los que se puede enfrentar un individuo y que son capaces de desencadenar esta respuesta orgánica, se les denomina "factores estresantes o estresores" (Dantzer, 1984; Fraser, 1975; Sapolski, 1990; Lefcourt, 1986).

Por lo que en el año de 1936, Hans Selye considera el funcionamiento de las glándulas adrenales como las responsables de la respuesta de estrés, debido a la liberación en la sangre de hormonas esteroides (cortisol o corticosterona) a través de la corteza adrenal. Estas hormonas son las responsables de la respuesta clásica de estrés, que él denominó "*Síndrome General de Adaptación*" (SGA) (Abilay y cols, 1973; Conte y cols., 1993; Dantzer y Mormedè, 1980; Fraser, 1980; Niesgoda y cols., 1993)

Desde el punto de vista histórico, la respuesta orgánica desencadenada en un organismo ante lo que hoy denominamos "*factor estresante*", fue observada por Darwin y publicada en su obra "*La Expresión de las Emociones en el Hombre y los*

Animales", al señalar que una amplia gama de estímulos, distintos entre sí, desencadenaban signos comunes. Por ejemplo, el cuerpo puede temblar por miedo, por efecto de la ira, durante la exposición al frío, tras la fatiga o debido al efecto de varias enfermedades (Fraser, 1980).

En el año de 1911, Cannon y De la Paz ofrecieron una explicación fisiológica a éste evento demostrando que, cuando un animal era acosado por un depredador o enemigo natural, se desencadena la liberación de una hormona, la adrenalina, a la circulación sanguínea induciendo los ajustes necesarios para una respuesta inmediata al peligro en forma de "huida ó lucha".(Cannon y De la Paz , 1911; Conner y cols., 1971; Fraser, 1980; McDonald, 1987; Dantzer y Mormedè, 1981; Niezgodá y cols., 1993).

Este tipo de respuesta fue llamada "*Reacción de Urgencia de Cannon*" (RUC), la cual desencadena la activación conjunta del sistema nervioso simpático (SNS) y de la médula adrenal. Durante la RUC, un estímulo puede desencadenar la liberación de noradrenalina (NA) a partir de las terminaciones nerviosas del SNS (una parte pasa a sangre) y la activación de la médula adrenal a partir de la cual se liberan a la circulación las hormonas adrenalina (A) y NA (fig.1). Estas hormonas estimulan una serie de respuestas metabólicas entre las que se pueden mencionar el aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, la redistribución del flujo sanguíneo principalmente a músculos y cerebro, incremento del aporte energético por la activación de la glucogenólisis y gluconeogénesis en hígado y músculo estriado y cardíaco, vasoconstricción periférica, dilatación de las pupilas (midriasis), entre otros (Conner y cols., 1971; Dantzer y Mormedè, 1980; Dantzer, 1984; Williams., 1984; Conte y cols., 1993).

La reacción de urgencia propuesta Cannon y el síndrome general de adaptación de Selye. constituyen los dos sistemas principales mediante los cuales el organismo reacciona para hacer frente a las agresiones (Dantzer y Mormedè, 1980).

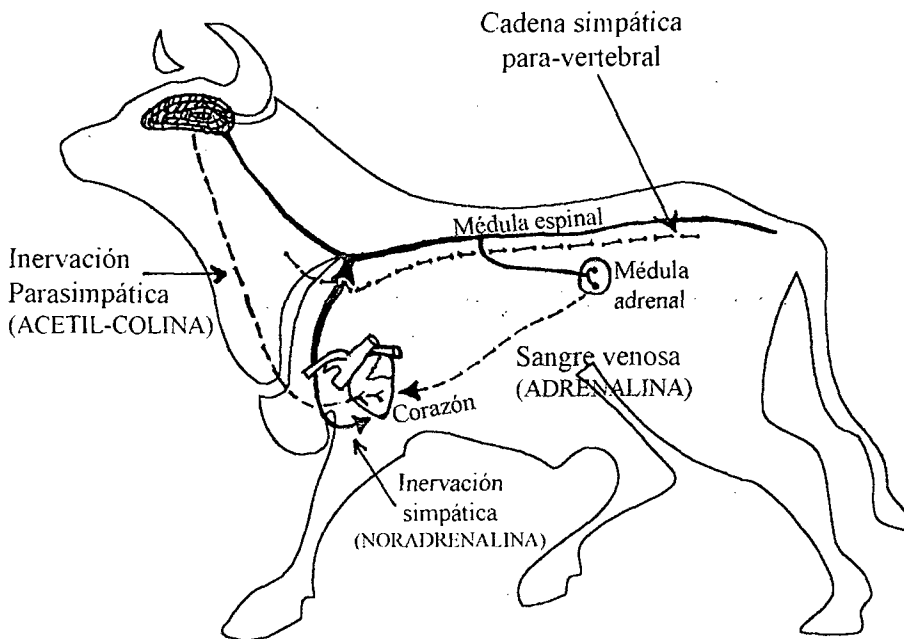


Fig. 1 Esquema de la organización de la innervación autónoma. El sistema neuro-vegetativo inerva el conjunto de las formaciones efectoras del organismo distintas de las fibras de los músculos esqueléticos, y en particular de las glándulas endocrinas como la médula adrenal representada en éste esquema y las vísceras como el corazón. Cada órgano recibe una doble inervación, simpática (fibras que salen de la médula espinal entre las últimas vértebras cervicales y las primeras lumbares) y parasimpática, de localización cráneo-pelvíana. Las vías eferentes de estos dos sistemas comprenden dos neuronas sucesivas; una neurona preganglionar y una neurona postganglionar. La médula adrenal está inervada únicamente por las fibras preganglionares del sistema nervioso simpático. Observar que en caso de activación simpática, cada órgano va a estar sometido a la acción conjunta de la noradrenalina liberada por las terminaciones simpáticas y de la adrenalina liberada en la sangre por la médula-adrenal (Dantzer y Mormedè, 1980).

Sin embargo, la acción de cada uno de estos mecanismos está relacionada a diferentes estadios de estrés, es decir, la RUC es debida a la activación del sistema nervioso simpático médula adrenal como respuesta a estrés agudo, y su acción dura sólo unos minutos, en contraste, el síndrome general de adaptación de Selye se relaciona con la respuesta cortico-adrenal y el consecuente aumento en la secreción de cortisol, lo cual se asocia a un - estrés crónico (Minton, 1994; Munksgaard y Simonsen, 1996).

Una gran cantidad de factores ambientales o de manejo pueden desencadenar la activación del eje simpático-médula adrenal, y del eje hipotalámico-pituitario-adrenocortical (HPA) responsables de la RUC y, del SGA respectivamente. Por ello, la noción de condición estresante recientemente se ha relacionado con el grado de actividad secretoria de las glándulas adrenales; en otras palabras, con el incremento en la actividad secretoria de cortisol o corticosterona, o menos frecuentemente, con el incremento de las concentraciones plasmáticas de adrenalina y noradrenalina, las cuales son consideradas como indicativos de una condición estresante. Por ejemplo, mayores concentraciones de estas hormonas (en comparaciones con los basales), se puede interpretar como más estresante (Dantzer y Mormedè, 1981; Owens y Nemeroff, 1991; Minton, 1994; Munksgaard y Simonsen, 1996).

La hormona adrenocorticotropa (ACTH) es el principal regulador de la secreción de síntesis de cortisol. En su momento, la secreción de ACTH puede ser regulada por una variedad de péptidos, pero principalmente por la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) y por la vasopresina (VP; arginina-vasopresina en la mayoría de especies mamíferos de granja, y la lisina-vasopresina en cerdos). El papel de cada uno de estos péptidos en la secreción de la ACTH aún no se ha estudiado extensivamente, aunque se sabe que la VP no es tan potente como la CRH en su habilidad para estimular la secreción de ACTH (fig.2) (Owens y Nemeroff, 1991; Pradier y cols., 1986; Familiar y cols., 1989; Liu y cols., 1990;

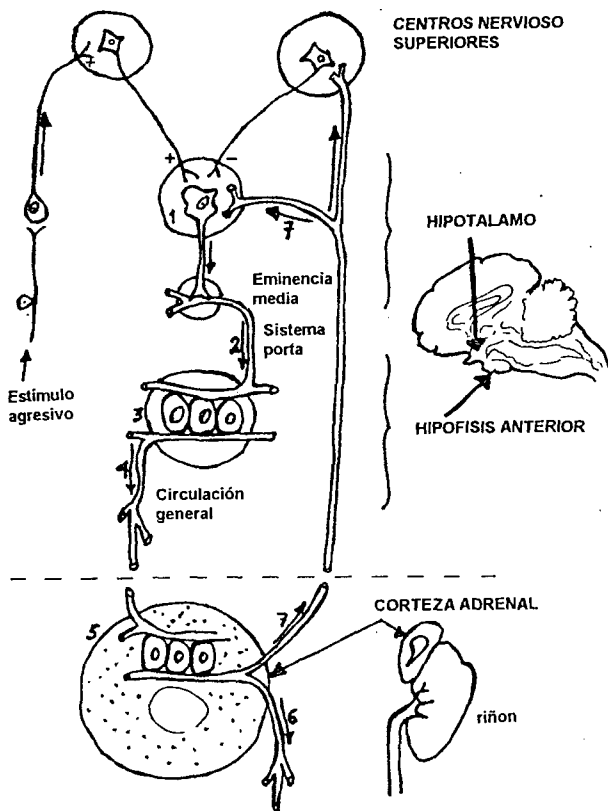


Fig. 2. Control hipotálamo-hipofisario de la corteza adrenal. Tras la percepción del estímulo agresivo, las células neuro-secretoras del hipotálamo son activadas; ellas envían (1) por un sistema vascular especializado, el sistema porta (2), un factor de liberación llamado "Factor liberador de la corticotropina" (CRF), el cual activa la síntesis y la liberación de la hormona Adrenocorticotropa (ACTH), a partir de las células de la hipófisis anterior (3). A continuación la ACTH es vertida a la circulación general (4); llega a la corteza adrenal (5) donde estimula la síntesis y la liberación de hormonas glucocorticoides. Estas son transportadas por la corriente circulatoria (6) hasta sus órganos-blancos y al mismo tiempo ejercen una influencia de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo y los centros nerviosos superiores (7), mediante la cual se regula la producción de CRF y de ACTH (según Levine, 1971).

Munksgaard y Simonsen, 1996). Las neuronas parvocelulares del núcleo paraventricular son las responsables de la secreción y síntesis de la CRH y de la VP (Whitnall, 1993). Este factor, a su vez, estimula a la adenohipófisis para producir la hormona adrenocorticotropica (ACTH), que llega por la vía torrente sanguíneo a la corteza adrenal y estimula la liberación de glucocorticoides (cortisol o corticosterona) (Morisse y Huonnic, 1988; Conte y cols., 1993; Munck y cols., 1984; Munksgaard y Simonsen, 1996).

El estímulo de la vía hipófisis-corteza adrenal en el curso del estrés, va acompañada por una disminución del funcionamiento de todos los sistemas endócrinos no participantes directamente en la respuesta contra la agresión; de manera tal que la secreción de tiroestimulina (TSH), hormona del crecimiento (STH) y de las gonadestimulinas (FSH y LH) se encuentran disminuidas (Abilay y Johnson, 1973; Dantzer y Mormedè, 1981; McDonald, 1987; Wohlt y cols., 1994).

Durante el desarrollo de la respuesta al estrés, la liberación de glucocorticoides favorece la síntesis de azúcares a partir de sustancias no glúcidas como proteínas y lípidos (gluconeogénesis) y ellos disminuyen la concentración de glucógeno hepático. El consecuente aumento del índice de glucemia facilita las reacciones vasomotoras de los vasos sanguíneos en presencia de adrenalina y noradrenalina, junto con el incremento de la frecuencia cardiaca y respiratoria, vasoconstricción periférica, aumento de la coagulación sanguínea, disminución del número de linfocitos y eosinófilos, aumento de la irrigación muscular y, además, produce efectos anti-inflamatorios, retraso en el proceso de cicatrización, disminución de la capacidad de respuesta a las infecciones y la producción de inmunoglobulinas, regresión de los órganos linfoides, disminución de la capacidad reproductiva y aparición de úlceras gastrointestinales (Eichinger y Blumm 1988; Ames y cols., 1970; Morisse y Huonnic, 1988; Pfeiffer, 1992; Pieleka y cols., 1992; Munck y cols., 1984; Wohlt y cols., 1994; Minton y cols., 1995).

El proceso arriba descrito se desarrolla en tres fases:

Reacción de Alarma: en la que participa el Sistema Nervioso Simpático.

Fase de Resistencia: en el curso de la cual el organismo encuentra un nuevo estado de equilibrio, aunque la acción agresora continúe.

Fase de Agotamiento: se presenta cuando toda la energía de adaptación del organismo ha sido agotada bajo la acción prolongada del agente agresor y ante la incapacidad de adaptación del individuo (Dantzer y Mormedè, 1980; Dantzer, 1984; Sapolski, 1990; Gershon y Rieder, 1992).

Esta serie de cambios fisiológicos pueden producirse no solo por factores agresivos del medio ambiente (condiciones extremas de temperatura, humedad, y velocidad del viento etc.), sino también por la interacción hombre-animales que se da a través de las manipulaciones a las que son sometidos estos últimos bajo condiciones de tipo intensiva, a saber prácticas de destete, vacunación, descornado, aislamiento, agrupamiento de animales, traslado para pastoreo, ordeña etc., en las cuales se busca la productividad del animal aprovechando al máximo los espacios reducidos sin tomar en cuenta la capacidad adaptativa y el confort del animal (Leach y cols., 1977; Warris y cols., 1984; Dantzer y Mormedè, 1980; Minton, 1994; Lefcourt y Elsasser, 1995; Munksgaard y Simonsen, 1996; Wohlt y cols., 1994; Minton y cols., 1995; Booth y cols., 1996).

Entre los factores estresantes derivados del manejo continuo del ganado y que pueden actuar de forma acumulativa, se encuentran los siguientes:

ORIGEN DEL ESTRÉS

MANEJO

FACTOR ESTRESANTE

Nivel nutricional deficiente
 Sistema de manejo inadecuado
 Exposición a variables ambientales extremas
 Higiene deficiente
 Manipulaciones inadecuadas

ESPACIO	Densidad social (hacinamiento) Orden jerárquico Superficie por cabeza Aislamiento y restricción de alimento
SUJECIÓN	Controles severos (pesebre, anillos nasales) Sistema de sujeción especial. Sistemas de alojamiento restrictivo (Dantzer, 1984; Fraser, 1980).

También se sabe que los animales para abasto pueden sufrir otro tipo de estrés, en particular antes de su sacrificio, ya que los animales deben enfrentar una serie de estímulos estresantes que pueden estar relacionados directamente con el proceso de conversión de sus tejidos en alimento; entre éstos se incluyen la selección y agrupamiento de animales, pesaje, ayuno, el transporte, la carga y descarga de los camiones o vagones, temperaturas elevadas, baño y la conducción al canal de sacrificio. Todos estos factores están implicados directamente en la calidad de la carne, además que existen otros factores que también influyen en este aspecto como los factores climáticos, el equipamiento, la capacidad técnica del personal participante, entre otros (Morberg, 1975; Leach y cols., 1977; Dantzer y Mormedè, 1980; Gradin, 1983; Wajda y Wichlacz, 1994; Apple y cols 1995).

Es conocido que en los rastros municipales de nuestra región, el problema de estrés de sacrificio en animales de abasto se ve agravado por algunas irregularidades de manejo entre las que se pueden enumerar maltrato innecesario a los animales, alojamiento carente de lugares sombreados suficientes, utilización de chicharras para conducirlos a la zona de degüelle y el tránsito de los animales a través de canales de conducción muy estrechos (dentro de los cuales los animales pueden sufrir una serie de lesiones antes de ser insensibilizados) y el empleo de métodos de insensibilización poco adecuados o mal utilizados.

De acuerdo con las normas sanitarias de nuestro país, antes del degüelle el animal debe ser insensibilizado para mitigar el sufrimiento del sacrificio, práctica

que en muchos rastros no se lleva a cabo, o bien, cuando se emplea, el personal que lo realiza no se encuentra debidamente capacitado en la elección y utilización del método más adecuado de insensibilización (Forrest y Hedrick, 1975; Gradin, 1981; Gradin, 1983; Norma Oficial Mexicana para el Proceso Sanitario de la Carne, 1994).

MÉTODOS DE INSENSIBILIZACIÓN:

Antes de describir los métodos de insensibilización más comúnmente utilizados, es conveniente mencionar que el término insensibilización se refiere a la disminución de la capacidad sensitiva de un animal con la finalidad de disminuir el dolor.

De acuerdo con la Asociación Nacional para la Aplicación de Leyes de Protección a los Animales, A.C., la correcta utilización de los aparatos eléctricos o mecánicos para insensibilizar antes del sacrificio a los animales de consumo, son en beneficio de la seguridad del trabajador, del menor sufrimiento de los animales, del avance técnico de nuestro país y de una economía positiva en dinero, esfuerzo y tiempo.

Como quiera que sea, Temple Gradin (1981) menciona que un buen método de insensibilización debe impedir que un animal experimente dolor o sensación antes de ser izado y sacrificado. Por tal motivo, en los Estados Unidos, en el continente Europeo y en otros países del orbe se ha establecido la utilización de tres métodos básicos de insensibilización que se clasifican como indolores y por tanto humanitarios, son el pistolette de perno cautivo (con o sin penetración), el electroshock (electronarcosis), y anestesia con bióxidos de carbono.

Estos métodos se basan en el siguiente principio:

Electronarcosis: Consiste básicamente en hacer pasar corriente eléctrica a través del cerebro por medio de unas pinzas provistas de electrodos y colocadas a cada lado de la cabeza, entre las órbitas oculares y la base de las orejas; para esta acción

se utiliza corriente alterna de 60 a 90 voltios durante un tiempo mínimo de 5 segundos.

Narcosis por Gas Carbónico: Se consigue manteniendo los animales durante un minuto, aproximadamente, en un contenedor en el cual se libera una mezcla entre 60 y 80% de gas carbónico y aire.

Pistoleta de perno cautivo: Hay dos tipos de insensibilizadores mecánicos: el de perno cautivo con penetración y sin penetración. Ya sea con presión de aire o de cartucho sin bala (Dantzer y Moemedé, 1980; Forrest y Hedrick, 1975; Gradin, 1981; Asociación Nacional para la Aplicación de Leyes de Protección a los Animales A.C.).

El punto de aplicación del disparo para todas las especies, exceptuando cerdos, aves y animales pequeños, es atrás de la nuca, sobre el bulbo raquídeo, siempre y cuando el disparo no se propine en la primera vértebra de la columna.

La correcta elección del sitio de aplicación del método mecánico de insensibilización va a depender de la raza, talla y edad del animal. En bovinos, por ejemplo, se debe utilizar exclusivamente el método mecánico. En éste se trazan dos líneas imaginarias que comienzan en el nacimiento de los cuernos, cruzándose para terminar en el ángulo externo de los ojos. Un centímetro arriba de donde se cruzan se aplicará el disparo. Para bovinos de razas mayores, como cebúes, lo mejor es disparar inmediatamente en medio (abajo del puente óseo de los cuernos, en la nuca), que es exactamente la zona externa del bulbo raquídeo, dirigiendo el cañón del pistoleta a la boca del animal. Si el disparo se efectúa un centímetro más abajo de la zona señalada sólo se logrará el efecto de la puntilla, es decir, solamente se inmovilizará al animal (Asociación Nacional para la Aplicación de Leyes de Protección a los Animales A.C.).

Otro método muy generalizado, pero no considerado como humanitario, es "la puntilla" o rejón, de origen hispano, el cual casi siempre se aplica a nivel de las primeras vértebras de la columna del animal. Este método no se considera apropiado, ya que no cuenta con la suficiente fuerza para penetrar la base ósea del cerebro en la nuca y no destruye los centros cerebrales nerviosos que integran el

dolor, por lo que sólo se inmoviliza al animal, pero sin lograr la completa inconsciencia (Dantzer y Mormedè, 1980; Forrest, 1968; Gradin, 1981; Asociación Nacional para la Aplicación de Leyes para Protección a los Animales, 1988).

Por ésta razón, la utilización de la puntilla o rejón no es un método recomendable, ya que sólo inmoviliza al animal (Forrest, 1968; Dantzer y Mormedè, 1980; Gradin, 1981; Leach y cols., 1977; Klont y cols., 1994). Si tomamos en cuenta que los mecanismos fisiológicos de estrés son los mismos antes y después de la insensibilización del animal, es de esperarse que la liberación de adrenalina (A) pueda verse incrementada, lo que a su vez puede afectar directamente la calidad de la carne. Por ello debe optarse por un método de insensibilización que induzca un mínimo de secreción de A.

Es bien sabido que las condiciones que acompañan al proceso de sacrificio, tales como la transportación de los animales para abasto a los centros de matanza, las condiciones ambientales (la exposición a temperaturas elevadas), el manejo a que se somete a los animales, el cambio de ambiente y otros factores de perturbación desencadenan una respuesta fisiológica activa en el animal. Esta respuesta fisiológica es debida al incremento en la secreción y liberación de adrenalina, la cual actúa principalmente sobre músculo estriado estimulando la glucólisis para aportar la energía necesaria para hacer frente al estrés (Hamm, 1960; Leach y cols., 1977; Offer y Knight, 1988; Lescourt y cols, 1986; Lay y cols., 1992a; Apple. y cols., 1995; Klont y Lambooy, 1995).

La elevación en los niveles de catecolaminas propicia anomalías en el músculo (carne) que pueden evolucionar dando origen al "síndrome de las carnes pálidas y exudativas" (PSE), el cual se desarrolla preferentemente en especies porcinas. Así mismo, puede presentarse el "síndrome del oscurecimiento y rigidez de la carne" (DCC), que afecta a todas las especies de carnicería, aunque los mayores problemas se presentan en la carne de bovino (Dantzer y Mormedè, 1980; Smith y cols., 1992; Eichinger y Blumm, 1988).

El síndrome del oscurecimiento de la carne está asociado a la elevación pH muscular y a la marcada disminución del glucógeno almacenado en músculo. Si las

reservas de glucógeno se agotan antes del sacrificio, se desencadena un intenso desdoblamiento de ATP antes de la muerte del animal. La rigidez cadavérica aparece casi inmediatamente. En estas condiciones, la alcalinización del pH muscular inhibe la acción de las enzimas intracelulares. Por la exención de éstas, la carne no madura y permanece rígida y dura al mismo tiempo que oscurece y da como resultado un pH final elevado y consecuentemente la proliferación de gérmenes se ve favorecida (Hamm, 1960; Bendall y Wismer-Pedersen, 1962; Dantzer y Mormedè, 1980; Warris y cols., 1990; Offer y Knight, 1988; Offer, 1991).

Por otra parte, el síndrome exudativo de la carne se presenta cuando aún existen concentraciones importantes de glucógeno antes del sacrificio del animal. De esta manera que tras el sacrificio, la glicólisis postmortem en músculo esquelético aumenta debido a la activación catecolaminérgica, lo que da como resultado una rápida disminución de glucógeno y la acumulación de ácido láctico (lactato) en músculo (Forrest y cols., 1968; Topel, 1972; Kolczak y Kraeling, 1986; Klont y cols., 1993). Este incremento del metabolismo energético, provoca una ligera elevación en la temperatura postmortem del músculo, que va aunado a la disminución rápida del pH, y provocando la activación precoz de las enzimas intracelulares, lo que a su vez ocasiona la desnaturalización de proteínas musculares. Estas proteínas retienen el agua de constitución de la célula, lo que da como resultado la apariencia blanduzca, pálida y exudativa de la carne (Dantzer y Mormedè, 1980; Terrant, 1989).

Para poder valorar qué tan agresivo puede ser el estrés en un animal y su posible repercusión, por ejemplo, en la calidad de la carne, se pueden tomar en cuenta las variantes de la concentración de las hormonas responsables de la respuesta clásica de estrés (adrenalina, noradrenalina y glucocorticoides principalmente cortisol), cuya determinación en suero o plasma es considerada como criterio directo para la evaluación del estrés, es decir, el mayor aumento sobre las concentraciones basales de éstas hormonas se puede interpretar como mayor estrés (Minton, 1994).

En nuestro contexto, es frecuente que la determinación práctica de estas hormonas se vea dificultada por razones técnicas y/o metodológicas, ya que se requiere equipo especializado y de alto costo y los reactivos empleados en su determinación son de difícil acceso en nuestro medio, motivo por el cual se tiene que recurrir a métodos indirectos alternativos que nos reflejen dicha actividad hormonal (Dantzer y Mormedè, 1980; Dantzer y Mormedè, 1981; Conte y cols., 1993; Niezgodà, 1993).

Los métodos indirectos consisten en la determinación de ciertos metabolitos resultantes de la cascada hormonal desencadenada como respuesta al estrés, además de cambios en algunas constantes fisiológicas del animal propiciadas por las hormonas liberadas durante la respuesta estresante. Entre los criterios indirectos más frecuentemente evaluados por los investigadores para evidenciar la activación del eje hipotalámico-pituitario médulo-adrenal se pueden mencionar la determinación de la frecuencia cardíaca; cambios en la presión arterial; glucemia; variaciones en la fórmula sanguínea (eosinopenia); peso de las glándulas adrenales; disminución del colesterol adrenal; y la presencia de úlceras gástricas (Eichinger y Blumm, 1988; Conte y cols., 1993; Dantzer y Mormedè, 1980; McDonald, 1987; Morisse y Huonnic, 1988; Niezgodà y cols., 1993; Smith y Dobson, 1990).

Otros criterios indirectos que pueden evidenciar la activación del eje hipotalámico-pituitario cortico-adrenal en un estado de estrés, es la elevación de enzimas séricas de origen tisular, reflejo de una hiperfunción de los órganos implicados en la respuesta energética al estrés (músculo estriado y cardíaco, hígado y riñón). Entre estas enzimas podemos mencionar la aldosa, creatinquinasa, lactato deshidrogenasas, transaminasa glutámico oxalacética o aspartato-amino-transferasa y la transaminasa glutámica-pirúvica (Dantzer y Mormedè, 1980; Michell y Heffron, 1982; Klont y cols., 1993).

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tiene el propósito de evaluar el estrés inferido a bovinos durante su sacrificio en dos centros de matanza diferentes, empleando para esto algunos parámetros de medición del tipo

“indicadores indirectos de estrés”. Estos indicadores indirectos son: la determinación de la concentración sérica de glucosa, la concentración sérica de la transaminasa gultámica oxalacética o también conocida como aspartato-amino-transferasa (TGO/AST) y la medición del pH sérico.

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MÉRIDA, YUC. MÉX.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El manejo inadecuado de los animales, el ejercicio físico, el transporte, la mezcla de animales de diferentes procedencias y las condiciones extremas de temperaturas (sobre todo el calor) previos al sacrificio, pueden desencadenar el aumento del metabolismo muscular antes y después del sacrificio del animal, dando como resultado carnes de baja calidad y de apariencia desagradable (Dantzer y Mormedè, 1980; Terrant, 1989; Offer, 1991; Lay y cols. 1992a; Dantzer, 1984).

Para evitar el desarrollo de características indeseables en las carnes de los animales para abasto, es obligatoria la observación de normas de sanitarias y "humanitarias" para el sacrificio y manipulación de los animales y de sus carnes (Norma Oficial Mexicana para el Proceso Sanitario de la Carne, 1994; Asociación Nacional para la Aplicación de Leyes de Protección a los Animales, 1988).

En nuestro medio, pese a que existe un marco normativo para el sacrificio de los animales, en muchas ocasiones no se emplea el método de insensibilización apropiado (para cada especie se debe elegir el método de insensibilización adecuado) o bien, el método seleccionado es el apropiado, pero el matancero no cuenta con experiencia en el empleo de dicho método. Esto trae como consecuencia el desencadenamiento de una respuesta al estrés de sacrificio en los animales antes de su muerte y con ello el detrimento en la calidad de las carnes. Aunque el método de insensibilización sea el adecuado y se emplee correctamente, no siempre libera completamente al animal del estrés del sacrificio sino que en ocasiones, solo reduce su respuesta al mismo en comparación con el desangrado sin insensibilización (Forrest y Hedrick, 1975; Leach y cols. 1977; Dantzer y Mormede, 1980; Gradin, 1981; Warris y cols., 1984; Terrant, 1989; Klont y Lambooy, 1995).

La eficacia del proceso de insensibilización de los animales de abasto durante el sacrificio está, por tanto, en relación directa a las propiedades y composición del músculo. La intensidad estresante del proceso se ve reflejada en el músculo por la cantidad de glucógeno perdido; por ejemplo, los animales sangrados sin el empleo de una técnica de insensibilización previa presentan una disminución considerable del glucógeno almacenado en hígado y músculo, en comparación con los animales sangrados bajo aturdimiento, los cuales muestran una utilización importante de glucógeno. Sin embargo, no resulta tan elevada como en el caso de los animales sacrificados sin la utilización de algún método de insensibilización (Hamm, 1960; Bendall y Wismer-Pedersen, 1962, Dantzer y Mormedè, 1980; Offer y Knight, 1988; Offer, 1991; Wajda y Wichlacz, 1994).

Como sabemos, la principal fuente de energía muscular está dada por la oxidación de glucógeno fabricado in situ o en el hígado (glucólisis aerobia), el cual es degradado a gas carbónico y agua, los cuales, a su vez, son movilizados por la sangre para ser desechados. Por el contrario, la respuesta fisiológica que se desencadena durante un estado de estrés, ocasiona que éste proceso se altere, lo que propicia la activación de la vía anaerobia para la movilización del glucógeno (glucólisis anaerobia). Por esta vía, el glucógeno es oxidado incompletamente y da lugar a la formación de ácido láctico. Cabe señalar que durante el sacrificio del animal, la movilización del ácido láctico se ve interrumpida por la sangría, lo que conduce a un descenso dramático del pH muscular a las 24 horas posteriores al sacrificio. A su vez, la caída de pH muscular, produce desnaturalización de las proteínas, las cuales retienen el agua almacenada en la célula haciendo que la carne se torne blanduzca, pálida y exudativa (que se presenta preferentemente en cerdos) (Dantzer y Mormedè, 1980; Terrant, 1989; Offer y Knight, 1988, Offer 1991; Klont y cols., 1993).

Por otra parte, cuando se presenta retraso en el descenso del pH muscular debido a que las reservas de glucógeno fueron movilizadas casi totalmente antes del

sacrificio, las carnes muestran una coloración oscura y su capacidad en la retención de agua se ve disminuida, por lo que las carnes se presentan rígidas y oscuras (síndrome del oscurecimiento de la carne) (Dantzer y Mormedè, 1980; Forrest y cols., 1968; Apple y cols., 1995).

Los cambios anteriormente descritos, pueden propiciar un efecto negativo en la calidad de la carne, no solo por su apariencia desagradable, sino también por que conforme transcurre el tiempo la desnaturalización de proteínas se agrava propiciando el desarrollo bacteriano. Esto favorece su deterioro y disminuye su capacidad de almacenamiento (Dantzer y Mormedè, 1980 Forrest y Hedrick, 1975). Además, las carnes pueden disminuir su capacidad de emulsificación y propiedades ligantes, lo que las hace no aptas para su posterior industrialización. Esto puede provocar pérdidas económicas, ya que estas carnes son poco rentables y consideradas como de mala calidad (Smith G.M., 1976; Forrest y Hedrick, 1975; Leach. y cols., 1977; Offer y Knight, 1988; Wajda y Wichlacz, 1994)

En el rastro municipal de Guadalajara, la práctica relacionada con el manejo y sacrificio de los animales para abasto se ve en ocasiones acompañada de maltrato innecesario, comúnmente golpes, y la utilización de "chicharra" o puntillas para forzar a los animales a entrar al canal que los conduce a la zona de degüelle, trayecto durante el cual los animales pueden sufrir lesiones antes de ser insensibilizados, lo que contribuye a agravar el problema descrito anteriormente.

En otros rastros, como los tipo inspección federal, donde el manejo de los animales es mas apropiado y las normas de sanidad vigiladas con mas rigor, también se pueden presentar problemas como los descritos previamente, ya que los animales, en general, tienen que enfrentar otro tipo de estímulos estresantes antes de su sacrificio y consecuentemente desarrollar el problema ya citado. Entre estos se pueden mencionar las condiciones medio ambientales (niveles de humedad y

condiciones extremas de temperatura), el transporte, la mezcla de animales de hatos diferentes, los ruidos y el cambio de ambiente entre otros.

JUSTIFICACIÓN

Como anteriormente se mencionó, el propósito del presente trabajo va orientado a evaluar el estrés inferido en bovinos durante su sacrificio en dos centros de matanza diferentes, los cuales realizan el sacrificio de los animales con ciertas variantes en su ejecución. Esta evaluación se llevará a cabo mediante la determinación de algunos indicadores indirectos de estrés que nos muestre alteraciones metabólicas producidas en el animal durante su sacrificio.

La determinación de la intensidad del estrés tiene importancia debido a que el estrés tiene una relación directa sobre la calidad de la carne. Por ejemplo, la carne de baja calidad, además de su aspecto desagradable y textura indeseable, presentan una mayor susceptibilidad al desarrollo bacteriano (a pH próximo a 6.0 o 6.5), se presenta disminución de su estabilidad, se observa pérdida de su capacidad de almacenamiento y emulsificación, etc. Estas anomalías se desarrollan principalmente en animales que han sufrido un estado de estrés agudo antes de su sacrificio, el cual se puede agravar debido a una práctica de manejo antemortem inadecuada del animal y/o una técnica de matanza no apropiada (Smith, 1976; Leach y cols., 1977; Forrest y Hedrick, 1975; Gradin, 1981; Kolczak y Kraeling, 1986; Terrant, 1989; Smith y Dobson, 1990; Klont y Lambooy, 1995).

En nuestro medio, las irregularidades más frecuentemente observadas pueden ser maltrato a los animales, un método de insensibilización inadecuadas o mal utilizado, falta de higiene durante el proceso de matanza y, en ocasiones, animales sacrificados sin antes haber sido completamente insensibilizados. Todos estos factores desencadenan una cascada de eventos metabólicos a partir de los cuales se acelera la movilización de las reservas energéticas del animal, evento mediante el cual se obtienen metabolitos que nos pueden evidenciar la intensidad

de la respuesta fisiológica del animal ante éstos estímulos desagradables, lo que finalmente viene a repercutir en la calidad de la carne.

Por otro lado, la determinación de algunos parámetros indirectos en el suero de los animales sacrificados permite evidenciar la intensidad del estrés de sacrificio provocado a los animales y de esta manera poder sugerir alternativas para mitigar o evitar los factores nocivos durante el sacrificio de bovinos y con esto disminuir las pérdidas económicas producidas por la baja calidad de las carnes.

Para este estudio fueron seleccionados algunos indicadores indirectos de estrés que pueden ser medidos en el suero obtenido a partir de sangre colectada de los animales en el momento de su sacrificio. Estos indicadores comprenden la determinación de concentraciones séricas de glucosa y transaminasa glutámico oxalacética o aspartato-amino-transferasa (TGO/AST), además del pH del mismo suero. Con estos datos podemos evaluar el "estrés de sacrificio" sin recurrir a los indicadores directos de estrés (cuantificación de las hormonas que nos evidencian la activación del eje simpático médulo-adrenal y del eje hipotalámico-pituitario cortico-adrenal), pues estos resultan ser de difícil implementación en nuestro medio debido al elevado costo y dificultad de adquisición de equipo y reactivos.

HIPÓTESIS

El sacrificio de bovinos provoca un estado de estrés que puede verse agudizado por el manejo inadecuado durante su práctica y dado que los cambios metabólicos desencadenados por el estrés pueden ser medidos a través de indicadores indirectos, tales como pH, glucosa y TGO/AST, entonces su variación será proporcional a la intensidad del estrés.

OBJETIVOS

GENERAL:

Evaluar mediante indicadores indirectos de estrés, tales como niveles de glucosa, concentraciones de TGO/AST (transaminasa glutámico oxalacética) y pH séricos, la intensidad del estrés inferido en bovinos durante el proceso de sacrificio.

PARTICULARES:

- 1.- Determinar las variaciones de glucosa, pH y TGO/AST séricos que se presentan por el sacrificio de bovinos en cada centro de matanza.
- 2.- Comparar los indicadores indirectos obtenidos a partir de los sueros colectados de animales sacrificados bajo condiciones particulares en ambos centros de matanza.

BOVINOS MACHOS ADULTOS ENCASTADOS DE CEBU

RASTRO MUNICIPAL

RASTRO T.I.F.

OBTENCION DE SANGRE COMPLETA
Y SEPARACION DE SUERO POR
CENTRIFUGACION

pH SERICO

GLUCOSA SERICA
ORTO-TOLUIDINA

TGO/AST
EN SUERO

ANALISIS ESTADISTICO
MEDIANTE T DE "STUDENT"
A UNA $P < 0.05$

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se colectaron un total de 100 muestras de sangre de bovinos machos encastados de cebú, 50 de las cuales se obtuvieron de animales en el momento de sacrificio en las instalaciones del Rastro Municipal de Guadalajara (RMG). Las restantes 50 muestras se tomaron de bovinos sacrificados en la Empacadora Ganadera de Occidente S.A. (EGOSA), que es un rastro tipo inspección federal (T.I.F). Estas muestras fueron utilizadas como grupo de comparación.

El total de las muestras de sangre se tomaron directamente de la herida del animal en el momento del degüello y se colectaron en tubos de ensaye sin anticoagulante para ser transportadas inmediatamente después.

Se realizaron un total de 4 visitas a los centros de sacrificio, obteniendo un mínimo de 25 muestras y un máximo de treinta en cada una de ellas. Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente en un lapso no mayor a 1 hora, a las instalaciones del Laboratorio de Morfofisiología de la División de Ciencias Veterinarias del C.U.C.B.A. Las muestras fueron centrifugadas a 1500 r.p.m. durante 5 minutos para la obtención de los sueros, y después se etiquetaron y almacenaron a temperatura de congelación durante un lapso no mayor a 30 días para la posterior determinación de pH, glucosa y TGO/AST séricas.

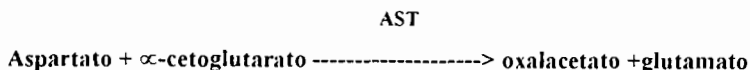
La determinación del pH se efectuó directamente en el suero con un potenciómetro (pH-meter INDUMEX M822 Carl Zeiss). La determinación de la concentración de glucosa en suero se realizó mediante el método de O-Tolouídina de (MERCK). Esta prueba se fundamenta en la reacción de la O-Tolouídina con las aldohexosas en ácido acético para formar un complejo color verde azulado estable y de intensidad proporcional a la concentración de este azúcar. Esta prueba se aplicó a cada una de las muestras de suero de ambos grupos. Además, se preparó un

patrón y un blanco para cada bloque de 10 muestras. Para esto se colocaron 0.02 ml del suero correspondiente en un tubo de ensayo, a los cuales después se les agregó 2 ml de reactivo de coloración. Por otro lado, a cada tubo patrón se le colocó 0.02 ml de solución patrón de glucosa (10 mg/100 ml) y 2 ml de reactivo de coloración y, por último, a los tubos blanco se les colocó solamente 2 ml del reactivo de coloración. Después de agitar brevemente las preparaciones, se incubaron a baño María a una temperatura entre 95 y 100°C durante 8 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación, se pasaron inmediatamente a un recipiente con agua fría y se efectuó la lectura de sus extinciones en un espectrofotómetro Carl Zeiss PM2 DL, a una longitud de onda de 630 nm y un filtro entre 576 a 650 nm en una cubeta de 1cc de espesor. Antes de efectuar las lecturas, se calibró el aparato con el blanco y se procedió a obtener las Extinciones correspondientes a ambos grupos y a los patrones y, posteriormente se calcularon las concentraciones de glucosa en suero de ambos grupos sustituyendo los valores correspondientes en la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de glucosa} = \frac{\text{Epr} \times 100}{\text{Ep}} \text{ mg/100 ml}$$

Epr = Extinción del problema. Ep = Extinción del patrón

La determinación de TGO/AST en suero se llevó a cabo mediante una técnica basada en la siguiente secuencia de reacciones:



El oxalacetato que se obtiene reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidrazina, de lo que resulta el oxalacetato de hidrazona que es un complejo color café y de intensidad proporcional a la actividad de la AST.

El procedimiento para obtener las concentraciones de TGO/AST, de cada una de los sueros, se realizó de la siguiente manera:

Se preparó un tubo problema y un blanco para cada muestra, a los que se les agregó 0.5 ml de sustrato para TGO/AST, el cual se incubó a baño María durante 5 min. a 37°C. Transcurrido este tiempo, añadimos a cada tubo problema 0.1 ml del suero problema, omitiendo este paso en los blancos. Ambos grupos de muestras fueron incubados a baño María por otros 30 min. y, una vez que se completo el tiempo, se adicionó a cada tubo (problema y blanco) 0.5 ml de 2,4-dinitrofenil hidrazina (reactivo de coloración), se mezcló brevemente y se agregó a cada blanco 0.2 ml del suero correspondiente y se dejaron reposar (ambos grupos) por lapso de 20 min. a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se agregaron a cada tubo problema y blanco 5 ml de una solución de Hidróxido de Sodio al 0.4 N, se agitaron brevemente las preparaciones y se dejaron reposar a temperatura ambiente entre 10-30 min. Transcurrido este tiempo, se midieron las extinciones en el espectrofotómetro antes mencionado.

Las lecturas de las extinciones se efectuaron a una longitud de onda de 546 nm. El aparato se calibró a cero de extinción con agua destilada y posteriormente se corrió el blanco con el cual se calibró a cero de nuevo y efectuado lo anterior se corrió problema correspondiente y se obtuvieron las extinciones. Cuando las extinciones de los problemas sobrepasaron los 0.260 a 546 nm, se repitió el proceso anterior con el suero diluido 1:5 (1+4) en solución salina fisiológica y se multiplicó el resultado por 5 para corregir la dilución.

Las extinciones obtenidas en el espectrofotómetro se convirtieron a su concentración en (U/L) por medio de la tabla estándar siguiente:

Extinciones	Método convencional U/L
0.02	3
0.04	6
0.06	10
0.08	14
0.10	18
0.12	23
0.14	28
0.16	34
0.18	41
0.20	50
0.22	60
0.24	72
0.26	86

Los datos obtenidos a partir de las muestras se analizaron estadísticamente mediante la prueba de "T" de student a un nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sacrificio de bovinos para abasto va acompañado de una serie de factores desagradables para el animal, los cuales pueden estar presentes incluso antes de su insensibilización. Estos factores incluyen manipulaciones de carga y descarga, transporte, la exposición a un nuevo ambiente, mezcla de animales de hatos diferentes, el ruido, movimiento del vehículo, hambre, sed y condiciones climatológicas que pueden afectar la calidad de la canal.

Con relación al transporte empleado para conducir a los animales (bovinos) a los centros de matanza, tanto los Tipo Inspección Federal (EGOSA) como el Rastro Municipal de Guadalajara (RMG), en general puede decirse que es inadecuado. En su mayoría se efectúa principalmente en camionetas o tortons que no han sido parcialmente adaptados para este tipo de actividad.

Antes de ser colocados en los camiones de transporte, los animales son bañados con agua corriente. Esto ocasiona que la cama sobre la que son transportados (paja o aserrín) se humedezca y, además, a esto se suma que durante el transporte se puede presentar acumulación de calor producto de la transpiración, lo que da como resultado una condición de sofocamiento durante el transporte.

Durante el traslado, los animales pueden enfrentar factores de perturbación como son: la exposición a un nuevo ambiente, el ruido y los movimientos del vehículo, hambre y sed en trayectos prolongados y un marcado hacinamiento y como consecuencia de esta práctica se presenta pérdida de peso en los animales, el cual puede variar de 1.5 a 8% del peso de partida (Czyrek, 1967; Dantzer, 1970; Hartmann y cols., 1973; Pierson y cols., 1976; Dantzer y Mormedè, 1981; Hutchesen y Cole, 1986).

La pérdida de peso se puede presentar por las siguientes razones: pérdida de peso por excretas (heces, orina), evaporación cutánea y respiratoria o bien, por pérdidas fisiológicas debido a la movilización de reservas energéticas para enfrentar las condiciones agresivas que se presentan durante el transporte (Dantzer y Mormedè.

1980).

En casos mas severos se puede presentar la muerte a consecuencia de las altas temperaturas (situación que se agrava durante el verano), y de las manipulaciones que acompañan la carga y descarga de los animales (Dantzer, 1976; Beede y Collier, 1986; Gonyou, 1986).

Al arribar a su destino, es deseable que los animales sean desembarcados en corrales de descanso para su habituación por un lapso mínimo de 24 h y un máximo de 72 h antes de su sacrificio. De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM) del Proceso Sanitario de la Carne (1994), el tiempo de reposo podrá reducirse a la mitad del mínimo señalado cuando el ganado provenga de lugares cuya distancia sea menor de 50 Km.. En los rastros que muestreamos en este estudio, se observó que ésta práctica esta condicionada a la demanda del producto, es decir, si la demanda de carne es alta los animales son sacrificados inmediatamente después del desembarque o transcurridas algunas horas.

En cuanto a la conducción de los animales a la zona de matanza, esta se efectúa a través de una manga o rampa de conducción, la cual se va angostando conforme el animal se acerca a la zona de insensibilización y degüelle. Durante este trayecto, de aproximadamente 100 m de longitud, se presentan interacciones entre los animales, lo que frecuentemente ocasiona enfrentamientos agresivos (peleas) entre machos dominantes y el rezago de machos subordinados. hecho que provoca congestionamientos en la rampa de conducción. La práctica común, en éstos casos, es la utilización de descargas eléctricas ("chicharras") o de puntillas, con las cuales se les pica a los animales en los costados para forzarlos a avanzar por la rampa. Así mismo, cuando el animal se ve impedido para avanzar (en la mayoría de los casos por fractura de alguno de los miembros), o permanece postrado próximo a la zona de matanza, es frecuente el empleo de la técnica del descabelle para sacrificar al animal. Una vez realizada ésta práctica el animal es colgado por una de sus extremidades posteriores a una de las cadenas del tren de conducción para ser transportado a la zona de degüelle y desangrado.

Así mismo la NOM del Proceso Sanitario de la Carne (1994), menciona que la insensibilización del animal se debe hacer utilizando un método "humanitario" (que no produzca sufrimiento innecesario al animal). Esta norma establece la utilización de la pistola de "perno cautivo" que puede ser neumática o hidráulica con la cual se efectúa un disparo en

la parte superior del hueso frontal del animal, como un método "humanitario" de insensibilización (para especies grandes de ganadería). También se autoriza el uso de electricidad o cualquier otro método autorizado por la secretaría correspondiente. Sin embargo, el reglamento no es claro ya que no establece con precisión que otros métodos de insensibilización pueden considerarse humanitarios o si el uso aún frecuente de la puntilla sea un método apropiado de insensibilización.

De cualquier manera y tomando en consideración el reporte de Dantzer y Mormedè en 1976, cualquier método de insensibilización utilizado puede tener un efecto negativo en la calidad de la carne, más importante aún que el sacrificio sin insensibilización. En el cerdo, por ejemplo, la utilización del pistoleta de percutor cautivo, es muy nocivo para la calidad de la carne ya que la evolución postmortem del pH muscular va dirigido hacia la acidificación del músculo, lo que ocasiona el reblandecimiento y la apariencia exudativa de la carne (Dantzer y Mormedè, 1976).

Según datos reportados por Terrant en 1989, lo anterior puede ser consecuencia de las condiciones de manejo y factores ambientales que enfrenta el animal justo antes del sacrificio y que afectan el metabolismo del músculo. El incremento en el metabolismo energético puede propiciar un relativo aumento en la temperatura postmortem del músculo y una disminución del pH debido al desdoblamiento anaerobio del glucógeno almacenado, lo cual desencadena la desnaturalización de las proteínas musculares y una disminución en la repulsión electrostática entre miofilamentos y el aumento en la relajación de los filamentos delgados, lo que propicia la retención del agua de constitución de la fibra muscular y la subsecuente apariencia pálida, blanda y exudativa de la carne (síndrome exudativo de la carne), que se

presenta particularmente en cerdos (Hamm, 1960; Bendall y Wismer-Pedersen, 1962; Offer y Knight, 1988; Offer, 1991).

Si por el contrario, las reservas de glucógeno muscular son mínimas al momento del sacrificio, la caída del pH se demora propiciando un pH final elevado. Esto favorece el oscurecimiento, rigidez y resequedad en la carne (síndrome del oscurecimiento de la carne), el cual se presenta preferentemente en la carne de bovinos (Hall y cols., 1944; Terrant, 1981).

La duración de la jornada de sacrificio y la hora de inicio de la matanza, varía de rastro a rastro y tiene relación directa con la demanda del producto. Si la demanda de carne es alta, la matanza se prolonga durante todo el día, y cuando la demanda es baja, generalmente la matanza se efectúa en las mañanas (entre las 9:00 y 11:00 horas).

En la zona metropolitana de Guadalajara, se observa una considerable elevación de la temperatura ambiente durante las semanas comprendidas entre abril y junio. En la matanza (de 7 a 12 horas) la temperatura oscila entre 17 y 35 °C, de ahí que gran parte de los animales tengan que enfrentar temperaturas elevadas antes de su sacrificio. La elevación de la temperatura puede desencadenar una respuesta fisiológica por parte del animal mediante la síntesis y liberación de catecolaminas plasmáticas, ya que la termoregulación y sudoración, al menos para bovinos, esta bajo control catecolaminérgico (Dantzer y Mormiedè, 1976). Además, se sabe que la adrenalina (A) y noradrenalina (NA) son secretadas en toda las circunstancias que requieran de una respuesta activa del organismo, esto para favorecer la movilización de reservas energéticas (azúcares), a efecto de que el animal pueda hacer frente a las agresiones del ambiente (Frankenhäuser, 1975; Axerol y Reisine, 1984; Booth y cols., 1996; Conner y cols., 1971; Minton, 1994).

pH SÉRICO.

Los valores séricos para pH obtenidos en las sueros de animales sacrificados en el Rastro Municipal de Guadalajara (RMG) mostraron un promedio de 8.4 (± 0.05),

casi similares a los niveles de pH séricos obtenidos de los sueros de animales sacrificados en el rastro Tipo Inspección Federal (TIF), los cuales presentaron un promedio de 8.3 (± 0.17) (cuadro 1). Al analizar estadísticamente ambos valores no se encontró diferencia significativa entre ambos ($p < 0.05$). Por el contrario, cuando comparamos los valores obtenidos de nuestro estudio con los reportados en la literatura como "normales" para bovinos en condiciones estandar, (Kolb, 1974), observamos que nuestros valores fueron ligeramente mas elevados (alcalinos) (fig.3).

Con relación a la discrepancia de nuestros datos, podemos decir que alteraciones de tipo ácido-base en bovinos sometidos a estrés fueron ya descritas por Dale y Brody en 1954 y Schneider y cols., en 1986, al reportar que el estrés térmico puede incluir desbalance ácido-base en sangre. En sus estudios mencionan el incremento del pH sanguíneo y disminución de la presión parcial del CO_2 , además de aumento en la concentración de bicarbonato en sangre, indicativo de alcalosis respiratoria de origen térmico.

De cómo el estrés calórico puede afectar el equilibrio ácido-base sanguíneo, se ha mencionado que éste interrumpe la homeostasis del ganado, lo que desencadena una serie de reacciones fisiológicas encaminadas a regular el equilibrio térmico del animal. Estas reacciones incluyen la reducción en la ingesta de alimento (con el propósito de disminuir el metabolismo y su consecuente producción de calor), la redistribución del aporte sanguíneo, el incremento en la evaporación y la pérdida de calor mediante el aumento de la transpiración y frecuencia respiratoria (Tucker y cols., 1994; Sánchez y cols., 1994).

VALORES DE pH EN SUERO

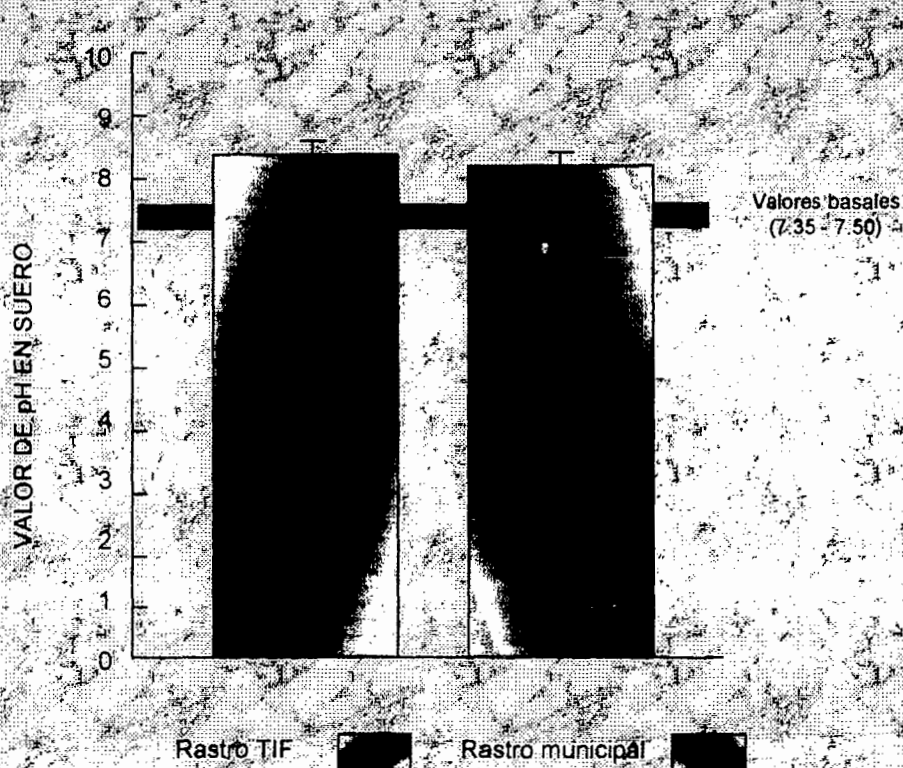


Fig. 3- Muestra los valores promedio para pH obtenido de suero de bovinos al momento de su sacrificio, así como los valores basales reportados.

Con el incremento en la frecuencia respiratoria, la expiración del CO_2 rebasa la proporción de su formación en el cuerpo y la presión parcial del CO_2 (pCO_2) de la sangre disminuye. Esto crea un déficit de ácido carbónico y como consecuencia la presencia de alcalosis respiratoria (Tucker y cols., 1994; Sánchez y cols., 1994).

En 1988, Schneider y cols. describieron el esquema normotérmico del estado ácido-base de vacas lactantes en un estudio de medio ambiente cambiante. En su estudio, simularon condiciones de estrés calórico natural y lo compararon con un sistema de manejo que incluía la presencia y ausencia de lugares sombreados en condiciones naturales. Efectuaron mediciones en sangre y orina y algunas mediciones fisiológicas cada hora, durante 26 h continuas. Los parámetros que se tomaron en cuenta incluían la medición de la temperatura rectal, frecuencia respiratoria, composición de gases en sangre y pH sanguíneo. Para ambos modelos los resultados obtenidos indicaron estrés calórico. Durante el periodo más caliente del día, en ambos experimentos, las vacas presentaron alcalosis. En estas el pH de sangre y orina fue elevado (indicativo de alcalosis). La pCO_2 y HCO_3 en sangre disminuyó conforme aumentó la

temperatura. Durante la parte fría del día, el pH de sangre y orina de las vacas sometidas a estrés calórico resultó disminuido de su contraparte termoneutral, y el HCO_3 sanguíneo fue más bajo. En ambos experimentos (en presencia y en ausencia de sombras), las vacas mostraron signos de alcalosis respiratoria durante las horas de estrés calórico.

Estos datos nos sugieren que los bovinos son extremadamente sensibles al calor, independientemente de si están expuestos a radiación solar o si están resguardados en lugares sombreados. Armstrong (1994), sugiere que independientemente de la presencia o ausencia de lugares sombreados, existen otros factores ambientales que pueden influir en el incremento de la temperatura dando como resultado una temperatura neta que él denomina "efectiva", dentro de las cuales se incluyen: temperatura del aire, humedad

relativa, velocidad del viento y radiación solar. La elevación de la temperatura efectiva desencadena una respuesta fisiológica en el animal para frente frente al calor (respuesta al estrés calórico).

Armstrong en 1994, encontró que temperaturas superiores a los 27 °C en combinación con sistemas de baja humedad sobrepasan la zona de confort térmico en ganado lechero, lo que ocasiona un estado de estrés calórico. Otros autores, como Spain y Spiers (1996), mencionan que el límite superior de confort térmico en bovinos jóvenes es de 25 °C y que variaciones pequeñas de temperatura (1 a 2 °C) pueden desencadenar una condición de estrés calórico.

GLUCOSA SÉRICA.

Los valores séricos obtenidos para glucosa en animales sacrificados en el RMG registraron una media de 112.9 mg/100 ml (± 10.95), mientras que el valor medio para glucosa en los animales sacrificados en el rastro TIF fue de 164.36 mg/100 ml (± 15.59) (cuadro 1). La diferencia existente entre ambas medias fue significativa a una $p < 0.05$. Es interesante hacer notar que ambos valores de glucosa sérica se encontraron incrementados aproximadamente en 100% en comparación a los reportados para bovinos en la literatura, los

cuales se encuentra en un rango de 40-60 mg/100 ml (Kolb, 1978; Boyd, 1984) (fig.4). Este hallazgo sugiere una marcada hiperglicemia en los animales sometidos a sacrificio en comparación con los animales en condiciones estándares.

Los resultados obtenidos para glucosa en nuestro estudio concuerdan con los reportados por Klont y cols. (1995), los cuales muestran la presencia de hiperglicemia en animales sometidos a estrés antes de su sacrificio.

VALORES DE GLUCOSA EN SUERO

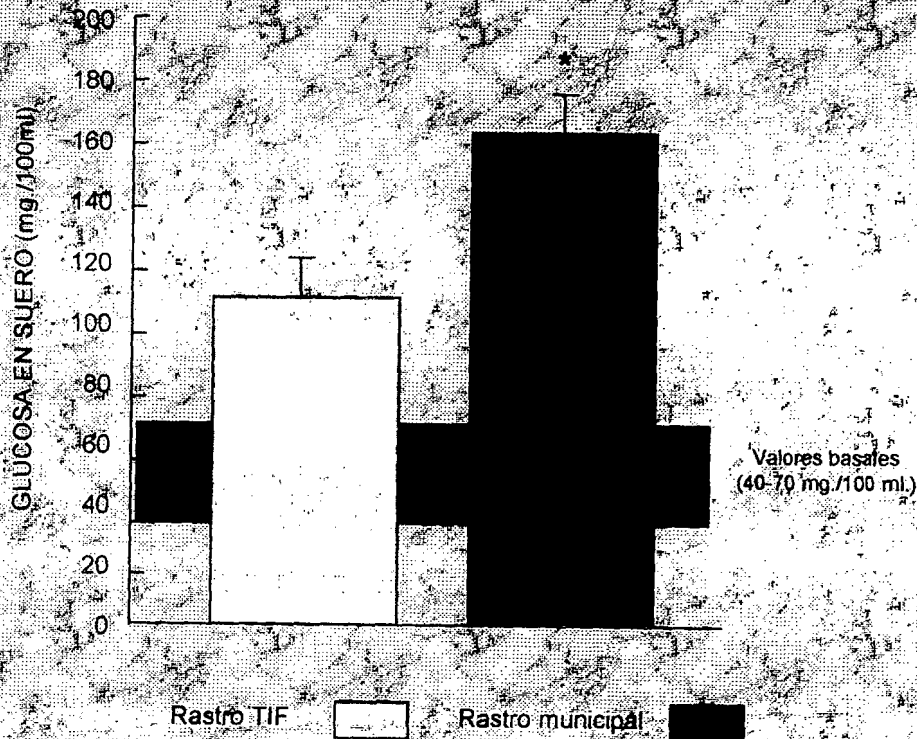


Fig. 4- Muestra los valores promedio de glucosa sérica en bovinos al momento de su sacrificio, y su relación con los valores basales reportados para bovinos. El asterisco indica diferencia significativa a una $p < 0.05$.

De manera similar, Ruloffson y cols., (1988) reportaron la presencia de hiperglicemia en bovinos (toros) sometidos a estrés de transporte y sacrificio. Así mismo, encontraron una estrecha relación entre el aumento de las concentraciones séricas de glucosa y el aumento en las concentraciones de adrenalina (A) en sangre. Eichger y Blum (1988), también reportaron incremento en la liberación de A y NA en bovinos sometidos a estrés de transporte y sacrificio.

También los trabajos de Kvetnanski y cols. (1978) mencionan que las condiciones de inmovilización y restricción que acompañan al transporte de bovinos, el transporte mismo y el manejo a que son sometidos los animales antes del sacrificio, provocan el aumento de las concentraciones sanguíneas de NA. Por su parte, McVein y Terrant (1983) reportaron que el estrés de transporte y el estrés térmico pueden desencadenar una respuesta predominantemente catecolaminérgica en bovinos.

Adicionalmente, datos obtenidos por Lefcourt y Elsasser (1995) indican que la magnitud en la liberación de A o NA, o de ambas, es dependiente de la intensidad del estímulo, del tipo de estímulo, de la experiencia previa del animal a diferentes estímulos y de su capacidad de percepción. De tal manera que el aumento en las concentraciones sanguíneas de estas hormonas puede ser indicativo de la intensidad del estrés.

Por otra parte, Warris y cols. (1989) analizaron la respuesta metabólica de animales sometidos a diferentes condiciones experimentales, tales como mezcla de animales de familias diferentes, transporte y sacrificio de hembras en estro, determinando que estas condiciones se encuentran estrechamente relacionadas con la disminución de las reservas del glucógeno

almacenado, principalmente en músculo e hígado y el aumento en la liberación de catecolaminas.

Para explicar estos cambios, puede mencionarse que el aumento de la síntesis y liberación de catecolaminas, y la subsecuente movilización de las reservas energéticas (glúcidos), es un reflejo significativo de la activación de los nervios simpáticos, solo que

esta respuesta se presenta por periodos muy cortos de tiempo. Esto en relación con datos obtenidos por Whitby y cols., (1961), que mencionan que la vida media de NA es de 3 minutos en sangre.

En cuanto a la liberación de A ante un estímulo adverso, ésta es una respuesta algo más prolongada. La A al ser liberada de médula adrenal a la circulación actúa sobre músculo estriado y cardiaco principalmente, favoreciendo la liberación de glucosa por activación de la glucogénesis (Axerol y Reisine, 1984; Lefcourt y Elsasser, 1995).

En términos más generales, esta respuesta fisiológica del animal obedece a la activación del eje hipotalámico-médulo-adrenal con la finalidad de capacitar al animal para enfrentar al agente estresor mediante la modificación de su actividad cardiovascular y de producción energética (respuesta de urgencia de Cannon o "*fight or flight*") (Dantzer y Mormedè, 1983; Apple y cols., 1995).

La manera en que las catecolaminas favorecen la liberación de glucosa inicia con la activación de la enzima glucógeno fosforilasa en músculo esquelético, la cual acelera el proceso de glucogénesis (Terrant, 1989). Este mismo autor afirma que la activación del mecanismo responsable de la excesiva glucogénesis antemortem puede traer como consecuencia el oscurecimiento de la carne (Síndrome del oscurecimiento de la carne) y que es dependiente de la especie. McVeigh y Terrant (1983) y Terrant (1989), mencionan que la contracción muscular puede ser el principal mecanismo responsable de la excesiva glucogénesis antemortem en bovinos.

De esta manera, la hiperglicemia observada en nuestro estudio puede ser la respuesta típica inducida durante el estrés por incremento de la secreción médulo-adrenal de A (Cryer, 1980). La adrenalina sobre el músculo estimula la producción acelerada de glucosa por la activación de la glucogénesis.

El mecanismo mediante el cual se da este tipo de hiperglicemia lo explican Although Exton y cols. (1971), y Sherline y cols. (1972), quienes demostraron que la adrenalina puede estimular la liberación de glucosa hepática y muscular a través de la

activación de los receptores alfa y beta-adrenérgicos en músculo y células hepática. Terrant (1989), mencionó que la estimulación de la glucogénesis muscular está regulada por la enzima glucógeno fosforilasa misma que es activada por el aumento en los niveles de catecolaminas o por el aumento en la contracción muscular o por la acción conjunta de ambos.

Sin embargo, es posible existan otros mecanismos Pero puede haber otros mecanismos que pueden producir hiperglicemia y que pueden estar relacionados con nuestro estudio, asunto que es indispensable abordarlo. Tal es el caso de la liberación de energía a partir de fuentes no glúcidas (lípidos y proteínas), lo cual será discutido más adelante en este trabajo.

En términos generales se ha aceptado que la elevación de los niveles plasmáticos normales de glucosa trae como consecuencia, en condiciones normales, la liberación de insulina a partir del páncreas, con la finalidad de auxiliar al organismo a alcanzar su estado de normoglicemia. Booth y cols. (1996), reportaron que al inducir hiperglicemia a los animales de su modelo experimental, mediante realimentación tras haber sido sometidos al estrés de restricción de alimento, alcanzaron un estado de normoglicemia a las 24 h. Esto debido a que la producción media de insulina fue aumentada en relación al aumento de las concentraciones séricas de glucosa, lo cual representa un mecanismo que ayuda a mantener los niveles normales de glucosa.

Sin embargo, la concentración sérica de glucosa en los animales muestreados en nuestro estudio mostraron una hiperglicemia marcada, hecho que concuerda a lo reportado por Apple y cols. (1995), quienes encontraron que en ovejas sometidas a estrés de restricción de alimento y aislamiento (RIS), la hiperglicemia no disminuyó en respuesta a la elevación de la concentración de insulina, lo que al parecer contradice lo antes mencionado. No obstante, Apple y cols. (1995) mencionan que la hiperglicemia no disminuye en respuesta al aumento de la liberación de insulina debido a la presencia de un cierto grado de resistencia periférica a esta hormona.

La causa exacta de por qué los niveles de glucosa se mantienen elevados, pese al incremento en la secreción de insulina, es aún desconocida. Algunos autores como Richter y cols. (1982), han tratado de responder a este cuestionamiento proponiendo que la glucosa que se transporta en las células musculares, puede ser incrementada por el aumento en la contracción del músculo, aunque esto no explica la hiperglicemia sostenida. Por otra parte, Clarenburg, en 1992, propuso que la elevación en las concentraciones séricas de glucosa puede deberse a la transformación hepática del lactato y de la alanina y/o glicerol en glucosa.

Por resultados obtenidos a partir de otro trabajo de Clarenburg (1992), y de Apple (1995), fue posible determinar que el aumento en la liberación de insulina, como respuesta al aumento en la concentración sérica de glucosa por efecto de una situación de estrés, induce un incremento en la liberación de A, la cual tiene como consecuencia un efecto hiperglicemiante.

En el presente trabajo, no medimos las concentraciones séricas de A e insulina debido a las dificultades metodológicas y económicas que representa el montar estas técnicas, pero sabemos por trabajos realizados por Apple y Dikeman (1995) que una situación de estrés es capaz de propiciar el incremento en la liberación, no solo de A, sino también de insulina y que a pesar de ello, el efecto hiperglicemiante continúa (Apple y Dikeman, 1995).

La anterior información y, además, la factibilidad que representa el determinar las concentración sérica de glucosa, nos permitió seleccionar a este metabolito como indicador indirecto de la activación del eje simpático-médulo-adrenal (reacción de *urgencia de Cannon*), lo que permite al animal hacer frente a una situación desfavorable (Dantzer, 1976).

TGO/AST SÉRICA.

En el presente trabajo, también determinamos la concentración sérica de la enzima transaminasa glutámica oxalacética o aspartato amino transferasa (TGO/AST), de la cual obtuvimos los siguientes valores; en los animales sacrificados en el RMG se obtuvo una media de 97.8 U/l (± 11.49), mientras que el valor medio obtenido para los animales sacrificados en el rastro TIF fue de 91.8 U/l (± 10.49) (cuadro 1). El análisis estadístico comparativo entre ambas medias mostró que no hubo una diferencia significativa entre ambas concentraciones ($p < 0.05$). Cabe mencionar que los valores reportados como normales por Boyd J.W. (1984), oscilan dentro de un rango muy amplio, en el límite inferior marcan 43.3 U/l y 110.2 U/l para el límite superior (fig.5).

Con relación a determinaciones de TGO/AST en situaciones de estrés, Minton y Apple (1995) reportaron incremento en la producción de esta enzima como respuesta al estrés de aislamiento y restricción (RIS) en ovejas y, estrés térmico o de transporte en bovinos. Estos datos son similares con los reportados por el mismo Apple y cols. en 1990, donde observaron aumento de TGO en ovejas.

El empleo de la medición de las concentraciones de esta enzima como indicador de estrés, puede ser polémico. Numerosos investigadores han relacionado el incremento de TGO sérico con algunas patologías relacionadas con infarto al miocardio o hepatitis. Por lo que la determinación de la concentración en suero de esta enzima, era utilizada para diagnosticar la presencia de enfermedades cardíacas o hepáticas (Wada y Kamiike, 1990). Sin embargo, Apple y cols. (1993), determinaron que el aumento sérico de TGO, presente durante el RIS, puede reflejar daño en músculo esquelético bastante mas que para hígado o músculo cardíaco, ya que los resultados obtenidos a partir de su modelo de estrés mostraron elevación del pH de carcas de animales al sacrificio y el consecuente oscurecimiento de las carnes.

De acuerdo con Apple y cols. (1994), el significado fisiológico del incremento de las concentraciones de TGO puede estar asociado a diferentes tipos de estrés (de

VALORES PARA AMINOTRANSFERASA EN SUERO

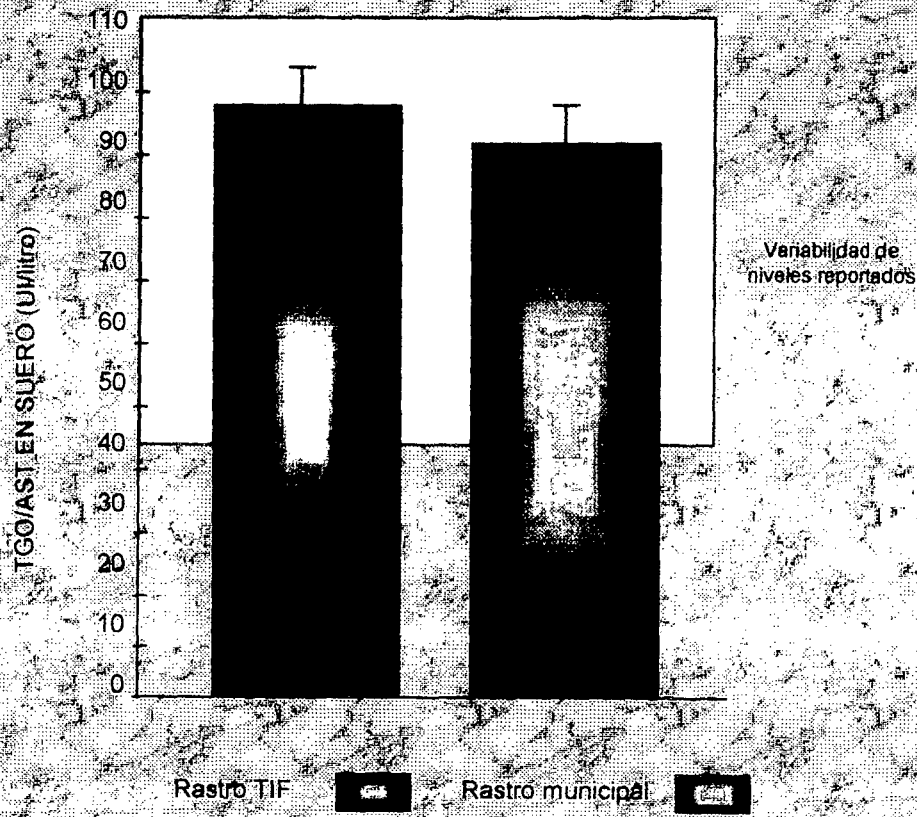


Fig. 5- Muestra los valores promedio para la enzima TGO/AST en suero de bovinos al momento de su sacrificio y su relación con los valores basales.

restricción en ovejas, de privación de alimento o de transporte en ganado bovino, entre otros), aunque el mecanismo a través del cual se da este fenómeno aún no es muy claro.

Además, estos mismos autores han descartado la posibilidad de que el incremento de TGO observado en su modelo de estrés sea el resultado de un estado patológico por parte del animal, o que este aumento sea inducido por el incremento del cortisol como respuesta al estrés (Apple y cols., 1994).

De igual manera, Mitchell y Heffron (1982), utilizaron la medición de enzimas plasmáticas como creatinin-fosfatasa (CPK), lactato-deshidrogenasa (LDH), transaminasa-glutámica-oxalacética o aspartato-amino-transferasa (TGO/AST) y transaminasa-glutámico-pirúvica (GPT) como indicadores de resistencia al estrés y no como indicadores de un estado patológico. Basándose en estos exámenes, se considera como resistente al estrés a aquellos animales (cerdos) cuya actividad para CPK fue inferior a 50 U/L y la LDH menor a 300 U/L después de 5 minutos de restricción, el resto de las enzimas no deben mostrar aumentos significativos. (Kólczak y Kraeling, 1986).

Sin embargo, nosotros utilizamos la medición de las concentraciones séricas de TGO como un criterio indirecto que nos ayude a evidenciar un estado de estrés, tal como lo reporto Dantzer en (1980). En este estudio, Dantzer menciona que las elevaciones de los valores de algunas enzimas séricas de origen tisular, entre las que se encuentran la aldosa, creatininquinasa (CK), creatininfosfatasa (CPK), lactato-deshidrogenasa (LDH), transaminasa glutámica-oxalacética (TGO/AST) y la transaminasa glutámico-pirúvica (TGP), reflejan una hiperfunción de los órganos que intervienen directamente con el metabolismo energético.

Debemos aclarar que la valoración de las concentraciones de éstas enzimas, tiene una relación menos estrecha para evidenciar la activación simpático-cortico-adrenal desarrollada como respuesta a un estado de estrés, en comparación con la determinación de las hormonas implicadas directamente en esta respuesta (A, NA o glucocorticoides entre otras), pero si nos ayuda como parámetro para evidenciar un

estado de estrés (Dantzer y Mormedè, 1980).

En nuestro estudio, seleccionamos la determinación de TGO/AST para evidenciar estrés por la razón de que ésta enzima tiene su origen en órganos implicados directamente con el metabolismo energético (corazón, músculo esquelético, hígado y riñón). El resto de las enzimas, que mencionamos anteriormente, nos evidencian actividad solo en uno u otro

órgano, por lo que su determinación no resultaba práctica para el cumplimiento de los objetivos que nos planteamos al inicio de este trabajo.

Esta enzima cataliza las reacciones de transaminación, a través de las cuales se produce piruvato a partir de la alanina, oxalacétato a partir del aspartato y α -cetoglutarato a partir del ácido glutámico. El α -cetoglutarato puede converger junto con los metabolitos provenientes de la degradación de los carbohidratos y de las grasas al ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Murray y cols., 1994).

Todos los miembros principales de éste ciclo, desde el citrato hasta oxalacetato, son potencialmente glucogénicos y pueden dar origen a una producción neta de glucosa en el hígado o en el riñón (Murray y cols., 1994).

Sabemos, por trabajos de otros autores, que un estado de estrés prolongado puede propiciar la movilización de energía a partir de fuentes no glúcidas, como las proteínas, pero para que los amino ácidos provenientes de las proteínas puedan cumplir con dicha función deben ser desaminadas inicialmente. Por ello, creemos que la valoración de las concentraciones séricas de TGO/AST nos puede reflejar aumento de la actividad glucogénica. El desdoblamiento de amino ácidos a carbohidratos aunado a la movilización catecolaminérgica de carbohidratos puede explicar la hiperglicemia que encontramos en el suero de los animales muestreados.

Por lo tanto, aunque en nuestro estudio los valores para TGO/AST resultaron dentro del rango normal, si es notorio que el promedio obtenido, así como su error

estándar, se encontraban en la parte alta de este rango. Esto nos sugiere la realización de estudios adicionales utilizando éste indicador como parámetro en la determinación de estrés, además de incorporar al estudio razas de animales (bovinos) de nuestra localidad y en condiciones de manejo y de medioambiente propias de la región con la finalidad de establecer un parámetro referencial de constantes fisiológicas y séricas para bovinos en nuestras condiciones particulares, ya que no se cuenta con este tipo de información.

Finalmente, a continuación se presenta el resumen de los datos obtenidos en el presente estudio:

	RMG	TIF
pH	8.4	8.3
GLUCOSA	112.9	164.36
TGO/AST	97.8	91.8

Cuadro 1. Resultados de los niveles séricos de pH, glucosa y transaminasa glutámico oxalacética o aspartato amino transferasa. Las unidades de glucosa están representadas en miligramos por cada 100 ml y las unidades para la transaminasa están representadas en unidades internacionales por litro.

CONCLUSIONES

1. Las condiciones de manejo adicionalmente a las condiciones ambientales a las que se someten los bovinos, tanto del Rastro Municipal como TIF, representan un estímulo estresante antemortem para los animales, lo cual se evidencia por la elevación en las concentraciones séricas de pH, glucosa y TGO/AST que encontramos en los animales.
2. La alcalosis sérica cuantificada de los animales muestreados para ambos rastros, pudo haber tenido su origen en una respuesta activa a estrés térmico, muy probablemente “estrés calórico”.
3. El nivel elevado de glucosa sérica encontrado en los animales, puede evidenciar la activación del eje simpático-médula adrenal como respuesta a una situación crítica de estrés (*Reacción de Urgencia*), la cual refleja que, en ambos rastros, el manejo antemortem que recibieron los animales fue captado como una situación desagradable.
4. La concentración elevada de la enzima TGO/AST, puede reflejar la movilización de reservas energéticas a partir de sustancias no glucidas (proteínas). Lo cual se puede interpretar como una respuesta a una situación de estrés crónico, dado que la movilización de proteínas o grasa se desencadena una vez que las reservas de carbohidratos se han movilizado abundantemente. Ambas situaciones, la respuesta activa por movilización de reservas glucidas, y la respuesta pasiva por la movilización de proteínas tienen un efecto hiperglicemiante, lo que probablemente ayudó al animal a enfrentar las condiciones de estrés antemortem a que se vio sometido.
5. Por último, podemos concluir que la determinación de los niveles séricos de pH, glucosa y TGO/AST nos puede servir como indicativo de diferentes tipos de estrés a que puede someterse un animal, en éste caso a las diferentes exigencias físicas a que puede someterse un animal, en éste caso a las diferentes exigencias físicas a que fueron sometidos los bovinos de este estudio a que pueden manifestarse de manera acumulada (estrés de transporte estrés térmico, estrés de manejo, estrés de hacinamiento y estrés por condiciones ambientales en general).

B I B L I O G R A F I A

1. - Abilay T.A. and Johnson.S.S. (1973). The effects of acute heat (45°C) exposure on plasma cortisol and progesterona response of Zebú and Highland heifers. *Phillippine Journal of Veterinary and Animal Sciences*. November, 8(9): 84-94.
2. - Ames D.R., Nellor J.E. and Adams T. (1970). Energy balance during heat stress in sheep. *Journal of Animal Science*. Vol. 32 (4): 784-787.
3. - Apple J.K., Minton J.E., Parsons K.M. and Unruh J.A. (1993). Influence of repeates restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretions, electrolytes, and other blood constituents of sheep. *J. Anim. Sci*. 71: 71.
4. - Apple J.K. (1994). Effects of physical or emotional stressors on endocrine and blood metabolite status, muscle glicogen metabolism, and the incidence of the dark-cutting condition in the longissimus muscle of sheep. Ph. D. Dissertation. Kansas State University, Manhattan.
5. - Apple J.K., Dikeman M.E., Minton J.E., McMurphy R.M., Fedde M.R., Leith D.E. and Unruh J.A. (1995). Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. *J. Anim. Sci*. 73: 2295-2307.
6. - Armstrong D.V. (1994). Symposium: Nutrition and heat stress. Heat stress interaction with shade and cooling . *J. Dairy Sci*. Vol. 77: 2044-2050.
7. - Asociación Nacional para la Aplicación de las Leyes para Protección de los animales A.C. (1988). Cd. México D.F.
8. - Axerol J. and Reisine T.D. (1984). Stress hormones: Their interaction and regulation. *Science (Wash DC)* 224: 452.
9. - Beede D.K. and Collier R.J. (1986). Potential nutritional strategies for intensively managed cattle durin thermal stress. *J. Anim. Sci*. 62: 543-554.
- 10.- Bendall J. and Wismer-Pedersen J. (1962). Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. *J. Food Sci*. 27: 144.
- 11.- Booth P.J., Cosgrove J.R. and Foxcroft G.R. (1996). Endocrine and metabolic responses to realimentation in feed-restricted prepubertal gilts: associations among gonadotropins, metabolic hormones, glucose, and uteroovarian development. *J. Anim. Sci*. 74: 840-848.

- 12.- Boyd J.W. (1984). The interpretation on serum biochemistry test result in domestic animals, veterinary clinical pathology veterinary practice publishing Co., Vol. XIII, No. II.
- 13.- Cannon W.B. and De la paz D. (1911). Emotional stimulation of adrenal gland. Amer. J. Physiol. 27, 64-70.
- 14.- Clarenburg R. (1992). Physiological chemistry of domestic animals. Mosby-Year Book St. Louis, M.O.
- 15.- Conner R.L., Viernikos-Danellis J. and Levine S. (1971). Stress, fighting and neuroendocrine function. Nature, 234. 564-566.
- 16.- Conte D.B., Guillaume V., Grino M., Boudouresque F., Magnon E., Cataldi M. and Oliver C. (1993). Stress. Neuroendocrine aspects. Encephale. 19(1): 143-146.
- 17.- Cryer P.E. (1980). Physiol and pathophysiology of the human sympathoadrenal neuroendocrine system. N. Engl. J. Med. 303: 439.
- 18.- Czyrek. S. (1967). Analisis os losses in connection whith transport of slaughter pigs. Med. Wet. 23, 141-148.
- 19.- Dale H.E. and Brody S. (1954). Thermal stress and acid-base balance in dairy cattle. Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 562.
- 20.- Dantzer R. (1970). Etude des pertes de poids subies par des porcelets au cours de tranports. Ann Rech. vét. I, 179-187.
- 21.- Dantzer R. (1976). Environment and behaviour in husbandry. Folia Vet. Latina, 6, 76-90.
- 22.- Dantzer R. and Mormedè, P. (1980). El stress en la cría intensiva del ganado. 1a. edición. editorial Acribia, (España). 15-63.
- 23.- Dantzer R. and Mormede P. (1981). Pituitary-adrenal consequences of adjunctive activies in pigs. Horm. Behov. 15: 386.
- 24.- Dantzer R. (1984). Stress en los animales de cría intensiva. Mundo Científico 31(1): 244-255.
- 25.- Eichinger H. and Blumm J.W. (1988). Epinephrine and norepinephrine related tos cardiorespiratory and metabolic changes in calves during physical exercise. Horm. Metac. Res. 20: 738.

- 26.- Escamilla A.L. (1966). El cerdo: Su cría y explotación. 1a. edición, editorial S.E.C.S.A. (México).
- 27.- Exton J., Ribinson G., Sutherland E. and Park C. (1971) Studies on the role of adenosine 3', 5'-monophosphate in the hepatic actions of glucagon and catecholamine. *J. Biol. Chem.* 246: 6166.
- 28.- Familiari M., Smith A.I. and Funder J.W. (1989). Arginine vasopressin is a much more potent stimulus to ACTH release from ovine anterior pituitary cells than ovine corticotropin releasing factor. I. In vitro studies. *Neuroendocrinology* 50: 152.
- 29.- Forrest J.C., Will J.A., Schmidt G.R., Judge M.D. and Briskey E.J. (1968). Homeostasis in animals (*Sus domesticus*) during exposure to a warm environment. *J. Appl. Physiol.* 24: 33.
- 30.- Forrest J.C. and Hedrick V. (1975). Fundamentos de ciencia de la carne. 1a. edición, editorial Acribia. (España). 17-65.
31. Frankenhaeuser M. (1975). Experimental approaches to study of catecholamines and emotion. In Levi L-I (ed.) *Emotions, their parameters and measurement*. Raven Press, New York., pp. 209-234.
- 32.- Fraser A.F. (1980). Comportamiento de los animales de granja. Capítulo 27. "El stress en el manejo del animal". 2a. edición, editorial Acribia. (España). 235-242.
- 33.- Gershon E.S. and Rieder R.O. (1992). Transtornos principales de la mente y del cerebro. *Investigacion y Ciencia.* 194: 86-95.
- 34.- Gonyou W.H. (1986). Assessment of comfort and well-being in farm animals. *J. Anim. Sci.* 62: 1769-1775.
- 35.- Gradin T. (1981). Que es la matanza sin dolor? Métodos de insensibilización mecánica y eléctrica para el ganado de abasto. *El Campo.* Año LVII. No. 1071: 3-14.
- 36.- Gradin T. (1983). Welfare requirements of handling facilities. Farm animal housing and welfare. Seminar in the CEC Programme of Coordination of Research on Animal Welfare, Aberdeen, Scotland: 28-30, 1982. Edited by Baxter, M. R.: MacCormac, J. A. D. J. 36-44.
37. Hall J.I., Latscher E.C. and Mackintosh L.D. (1944). Characteristics of dark-cutting beef. Survey and preliminary investigations. Part IV. *Kansas Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* 58.

38. Hamm R. (1960). Biochemistry of meat hydration *Adv. Food Res.* 10: 355.
- 39.- Hartmann H., Meyer H., Steinbach G. and Finger B. (1973). Zur Reaktion des kalber-organismus auf tranpotbelastungen. *Mh. Vet. Med.*, 28, 647-665.
- 40.- Hutcheson D.P., Cole N.A. and McLoren J.B. (1986). Management of transit-stress syndrome in cattle: Nutritional and environmental effects. *J. Anim. Sci.* 62: 555-560.
- 41.- Klont R.E., Lambooy E. and Van Logtestijn J.G. (1993). Effect of preslaughter anesthesia on muscle metabolism and meat quality of pigs of different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.* 71: 1477.
- 42.- Klont R.E., Lambooy E. and van Logtestijn J.G. (1994). Effect of dantrolene treatment on muscle and meat quality of anesthetized pigs of different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.* 72: 2008-2016.
- 43.- Klont R.E. and Lambooy E. (1995). Influence of preslaughter muscle temperature on muscle metabolism and meat quality in anesthetized pigs of different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.* 73: 96-107.
- 44.- Klont R.E. and Lambooy E. (1995). Effects of preslaughter muscle exercise on muscle metabolisms and meat quality studied in anesthetized pigs of different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.* 73: 108-117.
45. Kolb. E. (1978). *Fisiología Veterinaria*. 1a. edición, editorial Acribia (España).
- 46.- Kolczak T. and Kraeling R. (1986). Susceptibility to stress, postmortem muscle metabolism and meat quality of pigs after modification of the fluid volume of the vascular and extravascular spaces. *J. Anim. Sci.* 62: 646-659.
- 47.- Lay D.C., Friend T.H. Jr., Bowers C.L., Grisson K.K. and Jenkins O.C. (1992a). A comparative physiological and behavioral study of freeze and hot-iron branding using dairy cows. *J. Anim. Sci.* 70: 1121.
48. Kvetnansky R., Sun L., Kake R., Thoa N., Torda T. and Kopin J. (1978). Effect of handling and forced immobilization on rat plasma levels of epinephrine, norepinephrine, and dopamine- β -hidroxilase. *Endocrinology* 103: 1868.
- 49.- Leach T.M., Morwton H.E. and Wilkins L.J. (1977). Identifying the causes of stress in bulls slaughtered for meat. UK, Meat Research Institute: Biennial Report 1975-1977.

- 50.- Lefcourt A.M. (1986). Usage of the term "Stress" as it applies to cattle. *Flemish Vet. J.* 55: 258.
- 51.- Lefcourt A.M. and Elsasser T.H. (1995). Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to stress of Weaning. *J. Anim. Sci.* 73: 2669-2676.
- 52.- Liu J.P., Robinson P.J., Funder J.W. and Erigler D. (1990). The biosynthesis and secretion of adrenocorticotropin by the ovine anterior pituitary is predominately regulated by arginine vasopressin (AVP). Evidence that protein kinase C mediates the action of AVP. *J. Biol. Chem.* 265: 14136.
- 53.- Mc.Donald A.P. (1987). *Veterinaria: "Reproducción y Endocrinología".* 2a. edición, editorial Interamericana. (México). 128-131.
- 54.- McVeigh J. and Terrant P.V. (1983). Effect of propranolol on muscle glycogen metabolism during social regrouping of young bulls. *J. Anim. Sci.* 56: 71.
- 55.- Minton J.E. (1994). Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *J. Anim. Sci.* 72: 1891-1899.
- 56.- Minton J.E., Apple J.K., Patsons K.M. and Blecha K. (1995). Stress-associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restrain and isolation stress. *J. Anim. Sci.* 73: 812-817.
- 57.- Mitchell G. and Heffron J.J.A. (1982). Porcine stress syndromes. In: C.O. Chichester (Ed.) *Advances in Food Research* Vol. 28. p. 167. Academic Press. New York.
- 58.- Morberg G.P. (1975). Effect of environment and management stress on the Dairy cow. *Journal of Dairy Sci.* Col. 59(9): 1618-1622.
- 59.- Morisse J.P. and Huonnic D. (1988). Stress in the calf. *Recueil-de-Medecine-Veterinaire*, 164:10, 85985.
- 60.- Munck A., Guyre P. and Holbrook. N.J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev.* 5: 25.
- 61.- Munksgaard L. and Simonsen B. (1996). Behavioral and pituitary adrenal-axis responses of dairy cows to social isolation and deprivation of lying down. *J. Anim. Sci.* 74:769-778.

- 62.- Murray K., Mayes A., Granner K. and Rodwell W. (1994). *Bioquímica de Harper*. 13a. edición, editorial Manual Moderno, (México). 190-210.
- 63.- Niezgodna J., Bobek S., Wronska K., Fortuna D. and Wierzechos E. (1993). Response of symphatho adrenal axis and adrenal cortex to short term restraint in sheep. *Zentralbl. Veterinar Med. A.* 40(8): 631-638.
- 64.- Nyberg L. and Lunstrom K. (1988). Efeccts of transport on concentrations of cortisol, corticosteroid-binding globulin and glucocorticoid receptors in pigs with different halothane genotypes. *J. Anim. Sci.* 66: 1201-1211.
- 65.- Offer G. and Knight P. (1988). The structural bais of water-holding in meat. Part. 2: Drip losses. In: R. Lawrie (De). Elsevier Applied Science, London. *Developments in Meat Science-4*, p. 173.
- 66.- Offer G. (1991). Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Sci.* 30: 157.
- 67.- Olson, D.P., Papasion, C.J. and Ritter, R.C. (1980). The effects of cold on neonatal calves II. Absorption of calostr al immunoglobulins. *Can. J. Comp. Med.* 44: 19-23.
- 68.- Owens M. and Nemeroff C. (1991). Physiology and pharmacology of corticotropin releasing factor. *Pharmacol. Rev.* 43: 425.
- 69.- Pfeiffer C.J. (1992). A Review of spontaneous ulcer disease in domestic animals: chickens, horses, and swine. *Acta. Physiol. Hung.* 80 (1-4): 149-58.
- 70.- Pieleka Z., Hanaliik J. and Jakiel A. (1992). Vegetative nervous systems contribution to the development of the stress induced gastric ulcer. *Pol. Tyg. Lek.* 11-25; 46(45-47): 865-868.
- 71.- Pierson, R.E., Jensen R., Brady P.M., Horton D.P. and Christie R.M. (1976). Bulling among yearling feedlot steers. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 169: 521.
- 72.- Pradier P.M., Davicco M.J., Safwate A., Tournaire C., Dalle M., Barlet J.P. and Delost P. (1986). Plasma adrenocorticotrophin, cortisol and aldosterone responses to ovine corticotrophin-releasing factor and vasopressin in sheep. *Acta Endocrinol.* 111: 93.
- 73.- Puri S., Ray A., Chakrararti A.K. and Sen P. (1994). Role of dopaminergic mechanisms in the regulation of stress responses in experimental animals. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48(1): 53-56.

- 74.- Richter E.A., Garetto L.P., Goodman M.N. and Ruderman N.B. (1982). Muscle glucose metabolism following exercise in the rat increased sensitivity to insulin. *J. Clin. Invest.* 69: 785.
- 75.- Rizza R.A., Cryer P.E., Haymond M.W. and Gerich J.E. (1980). Adrenergic mechanisms for the effects of epinephrine on glucose production and clearance in man. *J. Clin. Invest.* 65: 682.
- 76.- Rulofson R., Brown D. and Bjur R. (1988). Effects of blood sampling and shipment to slaughter on plasma catecholamine concentrations in bulls. *J. Anim. Sci.* 66: 1223.
- 77.- Sanchez W.K., McGuire M.A. and Beede D.K. (1994). Macromineral nutrition by heat stress interactions in dairy cattle: Review and original research. *J. Dairy Sci.* 77: 2051-2079.
- 78.- Sapolski R.M. (1990). Stress in the wild. *Sci. Am.* 262(1): 106-113.
- 79.- Schneider P.L., Beede D.K. and Wilcox C.U. (1986). Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress. *J. Dairy Sci.* 69: 99.
- 80.- Schneider P.L., Beede D.K. and Wilcox C.U. (1988). Nyctohemral patterns of acid-base status, mineral concentrations and digestive function of lactating cows in natural or heat stress environments. *J. Anim. Sci.* 66: 112, 116.
- 81.- Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. (1994). Norma Oficial Mexicana, NOM-009-ZOO. Proceso Sanitario de la Carne. Diario oficial (primera sección). 39-44.
- 82.- Selye H. (1936). A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature.* 138. 32-33.
- 83.- Selye H. (1973). The evolution of the stress concept. *Amer. Scient.* 61. 692-699.
- 84.- Sherline P., Lynch A. and Glinzman W. (1972). Cyclic AMP and adrenergic receptor control of rat liver glycogen metabolism. *Endocrinology* 91: 68.
- 85.- Smith G.M. (1976). Sire breed effects on economic efficiency of a terminal-cross beef production system. *J. Anim. Sci.* 43: 1163.
- 86.- Smith R.F. and Dobson, H. (1990). Effect of preslaughter experience on behavior, plasma cortisol and muscle pH in farmed red deer. *Veterinary Record.* 126(7): 155-158.

- 87.- Smith G.C., Savell J.W., Clayton R.P., Field T.J., Griffin D.B., Hale D.S., Miller M.F., Montgomery T.H., Morgan J.B., Tatum J.D. and Wise J.W. (1992). Improving the consistency and competitiveness of beef- A Blueprint for total quality management in the fed-beef industry. The final report of the National Beef Quality Audit.-1991. National Cattlemen's ssoication, Englewood, CO.
- 88.- Spain J.N. and Spiers D.E. (1996). Effects of supplemental shade on thermoregulatory response of calves to heat challenge in a hutch environment. *J. Dairy Sci.* 79(4): 639-646.
- 89.- Terrant P.V. (1989). Animal behaviour and environment in the dark-cutting condition in beef-a review. *Irish J. Food Sci. Tech.* 13: 1.
- 90.- Terrant P.V. (1989). The effects of handling, transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs. A review *Ir. J. Food Sci. Technol.* 13: 79.
- 91.- Topel D.G. (1972). A review of animal physiology and the porcine stress syndrome in relation to meat quality. In: R. Cassens, F. Giesler and Q. Kolb (Ed.) *The Proceedings of the Pork Quality Symposium*. Univ. Of Wisconsin, Madison.. p 26.
- 92.- Tucker W.B., Shin I.S., Hogue J.F., Ascum M., Adams G.D., Vankoevering M.T., Vernon R.K. and Cummings K.R. (1994). Natural sodium sesquicarbonate fed for an entire lactation: Influence on performance and acid-base status of dairy cow. *J. Dairy Sci.* 77(10): 3111-3117.
- 93.- Wada H. and Kamiike W. (1990). Aspartate aminotransferase isozymes and their clinical significance. In: Z-I. Ogita and C.L. Markert (Ed.) *Isozymes: Structure, Function, and use in Biology and Medicine*. Wiley-Liss, New York. p. 853.
- 94.- Wajda S. and Wichlacz H. (1994). Slaughtering bulls immediately after transport. *Fleischwirtschaft.* 64(3): 343-345.
- 95.- Warris P. D., Kestin S.C., Brown S.N. and Wilkins L.J. (1989). The time requiered for recovery from mixing stress in young bulls and the prevention of dark cutting beef. *Meat-Science*, 10:1, 53-58.
- 96.- Whitby L.G., Axelrod G.J. and Weil-Malherbe H. (1961). The fate of ³H-norepinephrine in animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 132:193.
- 97.- Whitnall M.H. (1993). Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasin hormone neurosecretory system. *Prog. Neurobiol.* 40:573.

- 98.- Williams R.H. (1984). Tratado de Endocrinología. 6a. edición, editorial Interamericana (México). 201-320.
- 99.- Wohlt J.E., Allyn M.E., Zajac P.K. and Katz S.L. (1994). Cortisol increases in plasma of Holstein Heifer calves from handling and method of electrical dehorning. J. Dairy Sci. 77: 3725-3729.