

Relaciones entre el manejo antemortem, variables sanguíneas indicadoras de estrés y pH de la canal en novillos[#]

Relationships between ante-mortem handling, blood based stress indicators
and carcass pH in steers

V A Amtmann¹, C Gallo^{1*}, G van Schaik², N Tadich³

¹Instituto de Ciencia Animal y Tecnología de Carnes, ²Instituto de Medicina Preventiva, ³Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

SUMMARY

The relationship between blood variables indicating stress in steers before slaughter and variables that indicate quality of the meat was studied, using data taken from 420 Friesian steers of the same origin, age and weight that had been transported for 3, 6, 12, 16 or 24 hours, had 3, 6, 12 or 24 hours of lairage before slaughter, and had been slaughtered either in summer (fed with pasture) or in winter (fed with grass silage and grain). Blood samples were collected at the farm before transport to the slaughter house in order to determine packed cell volume (PCV), concentrations of glucose, β -hidroxibutirato, cortisol, and plasmatic activity of creatinfosokinase (CK). After slaughter, liver and muscle glycogen concentrations were determined and carcass pH was measured 24 hours post-mortem. The plasmatic activity of CK in blood collected before transport was the only variable that was significantly different between steers that produced carcasses with pH < 5.8 (normal) and pH \geq 5.8. The glucose and PCV values obtained from samples taken at the farm showed a low (< 50%) but significant correlation with pH value. A logistic regression showed that transport times \geq 16 hours and fasting times \geq 24 hours increase the probability of having meat with pH \geq 5.8. Steers slaughtered in summer had a higher risk of presenting carcasses with pH \geq 5.8 than those slaughtered in winter. It was concluded that it is not possible to predict the occurrence of carcasses with pH \geq 5.8 based on blood profiles of steers taken at the farm, but according to the logistic regression the journey and fasting times before slaughter, as well as slaughtering season, were preponderant factors in the occurrence of carcasses with pH \geq 5.8.

Palabras clave: novillos, transporte, pH, estrés.

Key words: steers, transport, pH, stress.

INTRODUCCION

Considerando el esquema de comercialización que se utiliza para el ganado bovino en Chile con largos tiempos de transporte y espera en ayuno previo a la faena (Gallo y col 1995), y las condiciones de manejo inadecuado antes del faenamiento (Gallo 1997), existe un alto riesgo de problemas de calidad de carne relacionados al estrés. El corte oscuro es uno de los problemas de calidad de carne que es provocado por estrés crónico previo al faenamiento; el estrés depleta las reservas de glucógeno muscular y disminuye la formación de ácido láctico, consecuentemente el pH después de la muerte permanece alto (\geq 5,8) en lugar de descender (<5,8) (Brown y col 1990). En Chile, el corte oscuro es un problema serio de calidad, que afecta entre un 5 y 10% de las canales (Gallo 1997); esto provoca pérdidas económicas por devolución de canales y rechazos para la exportación.

Existen al menos dos métodos para cuantificar el estrés en los animales: el análisis de su conducta y las

mediciones de diferentes variables en los tejidos y fluidos del animal (Shaw y Tume 1992). Según Moberg (1996), cambios fisiológicos asociados a estrés se relacionan con cambios en las concentraciones sanguíneas de cortisol, glucosa, ácidos grasos volátiles (β -hidroxibutirato) y volumen globular aglomerado (VGA), también señala indicadores enzimáticos como la creatinfosfoquinasa (CK). Por ello estas variables se utilizan como indicadores de estrés, especialmente cuando se están comparando valores previos y posteriores a un determinado manejo que se cree induce estrés, siempre que las comparaciones se hagan entre animales de características generales semejantes (edad, raza, sistema de crianza). Sin embargo, también en las canales de los animales destinados a producir carne se pueden observar y medir las consecuencias del estrés (Warriss 1990).

En Chile se han hecho varios estudios sobre los efectos de distintos manejos previos al faenamiento en las variables sanguíneas (Tadich y col 2000, Tadich y col 2005), y en forma separada se ha estudiado en los mismos animales el efecto de dichos manejos en la calidad de la carne (Sanhueza 1999, Lizondo 2000, Mencarini 2002). El objetivo del presente trabajo fue determinar la relación que existe entre las variables sanguíneas indicadoras de estrés

Aceptado: 08.03.2006.

[#] Proyectos FONDECYT 1980062 y 1010201.

* cgallo@uach.cl

obtenidas en los novillos antemortem y las variables indicadoras de calidad de la carne, y cuantificar el efecto de los manejos realizados antemortem (tiempos de transporte, tiempos de espera en matadero y época de faena) sobre la presentación de pH elevado en las canales. La hipótesis planteada fue que, a partir de variables sanguíneas determinadas en los novillos en el predio antes de la carga y transporte, se puede predecir la calidad que se obtendrá en la canal en términos de pH.

MATERIAL Y METODOS

La información se obtuvo de 6 tesis para obtener el grado de Licenciado en Medicina Veterinaria (Alvarado 1999, Sanhueza 1999, Lizondo 2000, Schwerter 2001, Bustamante 2001, Mencarini 2002) realizadas entre los años 1999-2002 en la Universidad Austral de Chile, que formaron parte de los proyectos de investigación FONDECYT 1980062 y 1010201. A partir de dichos trabajos se analizaron los antecedentes existentes de 420 novillos Frisón Negro y sus cruza, enviados a faena con similar edad (1,5 a 2,5 años), similar peso (457 kg promedio) y de igual procedencia. De los novillos utilizados, unos habían sido faenados en verano (diciembre-enero), alimentados durante la engorda final sólo a pastoreo en pradera natural, y otros en invierno (julio-agosto), cuya alimentación durante la engorda final había sido con ensilaje de pradera a discreción más 4 kg/d de avena aplastada por animal. Los novillos habían sido sometidos a diferentes tiempos de transporte (3, 6, 12, 16 o 24 horas), con una densidad de carga de 500 kg/m² en promedio y usando dos camiones de características estructurales similares. Una vez en el matadero, después del transporte, los novillos habían sido sometidos a diferentes tiempos de espera en los corrales de la planta (3, 6, 12 o 24 horas), sin alimentación, sólo con agua *ad libitum*. A todos estos novillos se les habían extraído muestras de sangre en el predio, inmediatamente antes de ser cargados en el camión de transporte, y se tenían los valores de los siguientes constituyentes sanguíneos: volumen globular acumulado (VGA, %), concentración de glucosa (mmol/L); concentración de β -hidroxibutirato (β -HBA, mmol/L); actividad de creatinfosfoquinasa (CK, en U/L) y concentración de cortisol (μ g/dl), obtenidos como se indica en Tadich y col (2000). De los mismos novillos se tenían las concentraciones de glucógeno hepático (μ mol/g) y muscular (*Longissimus thoracis*, μ mol/g) en muestras obtenidas dentro de una hora postmortem, como se señala en Gallo y Lizondo (2000) y el valor de pH, medido en el músculo *Longissimus thoracis* (entre la 9^a y 10^a costillas) a las 24 horas postmortem.

ANALISIS ESTADISTICO

Se preparó una base de datos que fue importada al programa computacional STATISTIX 8.0, donde se

verificó la normalidad de las variables mediante la prueba Shapiro-Wilk Test, resultando las variables CK y cortisol sin una distribución normal; los datos se normalizaron con logaritmo natural (Ln) para CK y raíz cuadrada para cortisol (sqrt). Se separaron los datos en dos grupos, los correspondientes a novillos que produjeron canales con un pH inferior a 5,8 (normal) y aquellos con canales de pH igual o superior a 5,8 ($\text{pH} \geq 5,8$). Esta variable dicótoma se definió como pH_C, a la cual se le asignó valor 0 cuando el pH era menor a 5,8 y valor 1 cuando el pH era mayor o igual a 5,8. Se realizó la Prueba "t" de Student para comparar los promedios de los constituyentes sanguíneos y de las variables obtenidas en las canales de ambos grupos y obtener el nivel de significancia de esta diferencia. Mediante la correlación de Pearson, se determinaron los coeficientes de correlación, entre las variables sanguíneas (β -HBA, glucosa, CK, VGA, cortisol) tomadas en el predio y las de la canal (pH, glucógeno hepático, glucógeno muscular). Por último se realizó Regresión Logística, para lo cual se obtuvieron variables de múltiples categorías con transportes de 6, 12, 16, 24 horas y espera en ayuno de 6, 12, 24 horas, las que se compararon con transportes y esperas de 3 horas (base). Además, a la variable época se le asignó un valor 1 cuando correspondía a invierno y 0 a verano. Se realizó esta prueba para aquellas variables sanguíneas que presentaron una diferencia estadísticamente significativa en la Prueba "t" de Student, y los factores: tiempo transporte, tiempo ayuno, época. Para todas las pruebas se consideró un nivel de confianza de 95%.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro 1 se observa que las canales que a las 24 horas postmortem presentaron $\text{pH} \geq 5,8$ tuvieron una concentración promedio de glucógeno muscular de 14,9 μ mol/g, que fue menor ($P < 0,001$) que en las canales con pH normal, cuya concentración de glucógeno muscular fue de 34,5 μ mol/g. Esta diferencia confirma la mayor movilización de glucógeno a consecuencia del estrés, en los animales que produjeron canales de $\text{pH} \geq 5,8$ y concuerda con los resultados de otros autores (Warriss 1984, Brown y col 1990, Warriss 1990, Immonen y col 2000). Sin embargo, el valor promedio de 14,9 μ mol/g de glucógeno muscular para canales con $\text{pH} \geq 5,8$, si bien concuerda con lo obtenido por Lizondo (2000) y Mencarini (2002) para los mismos animales, está muy por debajo de lo indicado por Brown y col (1990), quienes señalan que concentraciones de glucógeno muscular menores a 27,7 μ mol/g ya indican una alta probabilidad de encontrar canales con corte oscuro, considerando como tales aquellas canales que tuvieron $\text{pH} \geq 6,0$. Sanz y col (1996) en estudios realizados en dos razas bovinas (Brown Swiss y Pirenaico) encontraron que las canales normales tenían valores promedio de glucógeno muscular de 53,3 μ mol/g, mientras que aquellas con corte oscuro tenían

Cuadro 1. Valores de algunos constituyentes sanguíneos obtenidos previo al transporte y de glucógeno muscular (GM) y hepático (GH) postmortem, en novillos que produjeron canales con pH < 5,8 y ≥ 5,8.

Values of some blood constituents obtained before transport, and liver (GH) and muscle glycogen (GM) values in steers producing carcasses with pH < 5,8 and ≥ 5,8.

VARIABLES	pH < 5,8		pH ≥ 5,8		SIGNIFICANCIA P
	n	n=339 PROMEDIO ± DE	n	n = 81 PROMEDIO± DE	
EN LA CANAL:					
GM (μmol/g)	239	34,5 ± 15,7	66	14,9 ± 13,0	0,0000
GH (μmol/g)	239	118,3 ± 150,8	66	87,9 ± 65,9	0,0176
EN SANGRE :					
VGA(%)	336	34,4 ± 3,8	79	34,6 ± 3,6	0,6547
GLUCOSA(mmol/L)	337	4,2 ± 0,5	79	4,2 ± 0,4	0,4881
β-HBA (mmol/L)	331	0,3 ± 0,1	78	0,3 ± 0,1	0,3673
CORTISOL(μg/dl)*	290	1,4 ± 0,5	46	1,5 ± 0,5	0,2837
CK(U/L)**	336	5,5 ± 0,5	79	5,7 ± 0,4	0,0008

* raíz cuadrada de cortisol (sqrt).

** logaritmo natural de CK (ln).

17,8 μmol/g, las que consideraron con un pH > 6,0. Los valores de glucógeno obtenidos en el presente estudio son inferiores, sobre todo, para las canales normales, a pesar de que los autores antes mencionados fueron menos estrictos con el valor de pH. Estas bajas concentraciones de glucógeno muscular registradas en las canales del presente estudio pueden explicarse de dos maneras: escasas reservas energéticas iniciales o gasto excesivo.

Los largos tiempos de ayuno (debidos tanto al transporte como a la espera en matadero), que reflejan la realidad nacional (Gallo y col 1995), provocarían en los novillos un alto gasto de energía que los haría más susceptibles a la presentación de corte oscuro. Sin embargo, según McVeigh y Tarrant (1982), también es importante la alimentación previa al envío a faena, ya que puede ofrecer alguna protección contra la depleción de glucógeno muscular. Los resultados encontrados sugieren que es posible que los animales hayan presentado desde el predio una baja reserva energética, lo que sumado al alto gasto energético durante el ayuno y transporte prolongado representó un mayor riesgo de presentar canales con bajo glucógeno muscular postmortem que en los estudios de referencia. Al respecto, Muir y col (1998) indican que la alimentación de novillos con pasto produce en la canal valores de pH más elevados que la alimentación con grano; además, sugieren que novillos alimentados sólo con pasto son más susceptibles a estrés que los que reciben grano. Dicha susceptibilidad no sería sólo debida a una menor reserva energética, sino que además los novillos a pastoreo tienen en general menor manejo y contacto con el hombre. De acuerdo con Grandin (1997), la menor experiencia de los novillos con los humanos es la que posteriormente los hace más temerosos y, por ende, más susceptibles al estrés. Todo lo anterior puede explicar la diferencia encontrada en este estudio entre ambas

épocas, ya que los novillos de invierno tuvieron mayor contacto con personas debido al confinamiento en un patio de alimentación y recibieron avena más ensilaje; mientras que los de verano sólo se alimentaron de pradera y tuvieron menos contacto humano; esto podría explicar por qué este último grupo presentó más susceptibilidad al estrés, concentraciones de glucógeno muscular más bajas y, consecuentemente, más canales con pH ≥ 5,8. Esto concuerda con lo observado en el cuadro 2, donde se aprecia que aquellos novillos faenados en verano tuvieron 3 veces más probabilidad de tener un pH ≥ 5,8 que los faenados en invierno (P < 0,05).

Immonen y col (2000) señalan que una forma de prevenir la depleción de glucógeno muscular y la posterior presentación de canales con pH elevado es aumentar el porcentaje de energía en la ración, lo que debería realizarse 2 semanas previo al sacrificio. Por lo tanto, este sistema podría usarse como una medida tendiente a prevenir la presentación de canales con pH elevado, especialmente si los animales son transportados por períodos largos.

Llama la atención en el cuadro 1 la diferencia encontrada en términos de la actividad plasmática de CK en el predio, observando que los novillos que presentaron pH elevado posteriormente ya tenían dicha actividad aumentada. Voisinet y col (1997) indican que en el ganado con temperamento más excitable se produce más incidencia de corte oscuro, o canales con pH elevado, que en aquellos con temperamento más calmo; también Grandin (1997) señala que dentro de una misma raza los animales magros y delgados, con huesos finos, son mucho más propensos a entrar en pánico o a ponerse nerviosos que los animales de esqueleto más pesado. El mayor valor promedio de CK encontrado ya en el predio en los novillos que posteriormente presentaron canales con pH ≥ 5,8

Cuadro 2. Regresión logística de la actividad sanguínea de CK en predio, tiempo de transporte (h trans), tiempo de espera en matadero (h ayuno) y época del año, asociadas a canales con pH $\geq 5,8$ en novillos.

Logistic regression of the blood activity of CK at the farm, transport time (h trans), lairage time (h ayuno) and season, associated with carcasses with pH $\geq 5,8$ in steers.

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

* logaritmo natural de CK (ln).

podría ser indicativo de los novillos más estresables. Sin embargo, a pesar de lo encontrado en la prueba "t" de Student (cuadro 1), en el análisis de correlaciones la actividad de CK tomada en el predio no presentó una asociación ($P > 0,05$) con el pH de la canal. Las variables sanguíneas que mostraron asociaciones significativas ($P < 0,05$) fueron glucosa y VGA, sin embargo, las asociaciones fueron débiles con valores de $r = 0,11$ y $r = -0,11$ respectivamente. Esto indicaría que no existe una relación directa entre las variables tomadas en el predio y las de la canal. Más aún, en la regresión logística se evidenció que el valor de CK tomado en el predio en definitiva no influye en la probabilidad ($P > 0,05$) de tener un pH $\geq 5,8$ (cuadro 2). El hecho que la CK no haya resultado un buen predictor de la presentación de pH elevado en las canales se debería a la influencia preponderante encontrada para el tiempo de transporte, de espera en ayuno y la época en la presentación de este problema, ya que en la regresión logística (cuadro 2) se corrige por estos factores.

Gallo y col (1995) expresan que las operaciones destinadas al faenamiento de reses de abasto influyen en la calidad de la carne en Chile, especialmente si se considera que la mayor parte del ganado que se faena se traslada en pie por grandes distancias, desde los centros de producción hacia los centros de consumo y luego son

mantenidos en reposo con ayuno por largas horas. Gallo y col (2003) indican que, entre las causas de mayor importancia a las cuales se asocia la presentación de pH elevado en las canales en Chile, están aquellas que tienen relación directa con el tiempo de transporte y el tiempo de espera en matadero. Se puede observar en el cuadro 2 que con 16 y 24 horas de transporte los novillos tienen respectivamente 3,6 y 5,4 veces más probabilidad ($P < 0,05$) de presentar canales con pH $\geq 5,8$ que con 3 horas. Esto coincide con Gallo y col (2003), quienes encontraron valores de pH significativamente mayores en transportes largos (16 horas) con relación a los cortos (3 horas). Si bien actualmente el Reglamento de Transporte de Ganado bovino vigente señala que los bovinos no deben ser transportados por más de 24 horas consecutivas (Chile 1993), de acuerdo a los datos obtenidos, este tiempo aún es muy prolongado y resulta perjudicial para la calidad de la carne, sin mencionar los efectos sobre el bienestar animal (Tadich y col 2000).

También el efecto del tiempo de reposo en matadero fue importante. Con 24 horas de espera en ayuno posterior al transporte (irrespectivamente del tiempo de transporte previo) los novillos mostraron 9,4 veces más probabilidad ($P < 0,05$) de presentar canales con pH $\geq 5,8$ (cuadro 2). Esto corrobora los resultados de Gallo y col (2003), en el sentido que, a medida que se alarga el tiempo de reposo en matadero, aumenta la presentación de corte oscuro en bovinos, situación que es más grave si el transporte previo también ha sido prolongado. Por otra parte, Tadich y col (2005) concluyen que tiempos de reposo de 12 o 24 horas no tienen efecto beneficioso desde el punto de vista de recuperación de los constituyentes sanguíneos ni de bienestar animal. Más aún, Novoa (2003) encontró que los valores de pH de la canal eran más bajos y había menos casos de corte oscuro cuando la faena se realiza dentro de una hora de llegados los novillos a la planta faenadora, que con reposos de 12 horas.

En la práctica generalmente se observa que la espera en el matadero supera las 12 horas (Gallo y col 1995). Teniendo en cuenta los resultados de este trabajo y otros anteriores de los mismos autores, parece recomendable, además de acortar los tiempos de transporte al máximo, reducir los tiempos de reposo, ya que después de 12 horas de espera existe tanto una tendencia a la disminución del peso de las canales obtenidas como un efecto negativo en la calidad de la carne, aumentando la incidencia de valores de pH $\geq 5,8$ y consecuentemente el problema de canales con corte oscuro (Gallo y col 2003). El tiempo de reposo actualmente estipulado en el nuevo Reglamento de Mataderos (Chile 2004) y el Reglamento Sanitario de los Alimentos (Chile 1997) es de mínimo 6 horas, por lo cual reglamentariamente es factible, y desde el punto de vista de calidad de carne recomendable, reducir las esperas en el matadero al mínimo.

Aunque la respuesta al estrés es muy variable y dependiente de la capacidad de cada animal para responder, resulta evidente que si el agente estresante actúa por largo tiempo (transporte y ayuno prolongados) el efecto encontrado será mayor, sea alta o baja la capacidad individual de respuesta de cada animal. Por ello, mientras más largos son los tiempos de transporte y ayuno, mayores probabilidades existen de presentar estrés, afectar negativamente el bienestar de los animales, que ocurran pérdidas de peso de la canal, contusiones y efectos negativos en la calidad de la carne (Gallo y col 2000, 2003; Tadich y col 2000, 2003, 2005). En futuros estudios sería interesante analizar el tiempo de transporte y espera en forma conjunta, así como sus posibles interacciones. En cuanto a la relación encontrada en este estudio entre presentación de pH $\geq 5,8$ y época del año, ello permite plantear una nueva hipótesis en relación a la importancia de la preparación de los animales previo al transporte y faena: la energía de la ración entregada a los novillos en las últimas semanas de engorda puede otorgar la reserva energética que en definitiva protegería o predispondría a los animales a presentar canales con pH elevado.

RESUMEN

Se investigó la relación que existe entre variables sanguíneas indicadoras de estrés obtenidas en novillos ante-mortem con variables indicadoras de calidad de la carne, utilizando información de 420 novillos Frisón Negro, de similar peso y edad, y de igual procedencia, que habían sido sometidos a diferentes tiempos de transporte (3, 6, 12, 16, 24 horas), tiempos de espera en matadero (3, 6, 12, 24 horas) y habían sido faenados en verano (alimentados con pradera) o en invierno (suplementados con ensilaje de pradera y avena). De estos novillos se obtuvieron muestras de sangre en el predio, antes del transporte a matadero, para determinar volumen globular acumulado (VGA), concentraciones de glucosa, cortisol y β -hidroxibutirato, y actividad plasmática de creatinfosfoquinasa (CK). Durante la faena se obtuvieron las concentraciones de glucógeno hepático y muscular y el pH de las canales a las 24 horas post-mortem. La actividad plasmática de CK en el predio fue la única variable que presentó diferencia ($P < 0,05$) entre novillos que produjeron canales normales y con pH $\geq 5,8$. La concentración de glucosa y VGA obtenidas en el predio mostraron correlaciones significativas con pH ($P < 0,05$), aunque débiles (menores a 50%). En la regresión logística se evidenció que tiempos de transporte ≥ 16 horas y ayunos ≥ 24 horas aumentan la probabilidad de presentar canales con pH $\geq 5,8$ y que aquellos novillos faenados en verano tienen mayor riesgo de presentar este problema. Se concluye que no es posible predecir la presentación de canales con pH $\geq 5,8$ a partir de variables sanguíneas medidas en los novillos en predio y que, de acuerdo a la regresión logística, los tiempos de transporte, tiempos de espera en ayuno y época de faena fueron factores reponderantes en la presentación de canales con pH $\geq 5,8$.

AGRADECIMIENTOS

Los datos reportados corresponden a tesis de grado que formaron parte de los proyectos FONDECYT 1980062 y 1010201. Los autores expresan sus agradecimientos al productor señor Carlos Sommer, a la empresa de transportes del señor José Muñoz y a todo el personal de la Planta Procesadora de Carnes del Sur, FRIVAL S.A., por las facilidades otorgadas y la colaboración prestada en la realización de los experimentos que dieron origen a esta publicación.

REFERENCIAS

- Alvarado MA. 1999. Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés por transporte en bovinos. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Brown S, E Beavis, P Warris. 1990. An estimate of the incidence of dark cutting beef in the United Kingdom. *Meat Sci* 27, 249-258.
- Bustamante H. 2001. Determinación del efecto de diferentes tiempos de ayuno y transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos en el periodo otoño-invierno. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Chile. 1993. Ministerio de Agricultura. Reglamento General de Transporte de Ganado y Carne Bovina. Decreto N° 240. Publicado en Diario Oficial del 20 de septiembre de 1993.
- Chile. 2004. Ministerio de Agricultura. Reglamento sobre estructura y funcionamiento de mataderos, cámaras frigoríficas y centrales de desposte y fija equipamiento mínimo de tales establecimientos. Decreto N° 61 Publicado en Diario Oficial del 6 de octubre de 2004.
- Chile. 1997. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Decreto N° 977 Publicado en Diario Oficial del 13 de mayo de 1997.
- Gallo C. 1997. Efectos del manejo pre y postfaenamiento en la calidad de la carne. En: Sociedad Chilena de Buiatría (eds) *III Jornadas Chilenas de Buiatría*, Pp 26-52.
- Gallo C, X Carmine, J Correa, S Ernst. 1995. Análisis del tiempo de transporte y espera, destare y rendimiento de la canal de bovinos transportados desde Osorno a Santiago. XX Reunión Anual SOCHIPA, Coquimbo, Chile. En: *Resúmenes de la XX Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal*, Pp 205-206.
- Gallo C, G Lizondo. 2000. Efectos de diferentes tiempos de ayuno antes del sacrificio sobre el contenido de glucógeno muscular y hepático y el pH final de la canal en novillos. *Resúmenes del XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria*, 25-27 de octubre, Santiago.
- Gallo C, S Pérez, C Sanhueza, J Gasic. 2000. Efectos del tiempo de transporte de novillos previo al faenamiento sobre el comportamiento, las pérdidas de peso y algunas características de la canal. *Arch Med Vet* 32, 157-170.
- Gallo C, G Lizondo, T Knowles. 2003. Effects of journey and lairage time on steers transported to slaughter in Chile. *Vet Rec* 152, 361-364.
- Grandin T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci* 75, 249-257.
- Immonen C, M Ruusunen, K Hissa, E Puolanne. 2000. Bovine muscle glycogen concentration in relation to finishing diet, slaughter and ultimate pH. *Meat Sci* 55, 25-31.
- Lizondo G. 2000. Efectos de diferentes tiempos de transporte y ayuno sobre las pérdidas de peso y características de la canal en novillos primavera-verano. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- McVeigh JM, PV Tarrant. 1982. Glycogen content and repletion rates in beef muscle, effect of feeding and fasting. *J Nutr* 112, 1306-1314.
- Mencarini I. 2002. Efecto de dos densidades de carga y dos tiempos de transporte sobre el contenido de glucógeno hepático y muscular, pH y color de la carne en bovinos. *Memoria de Titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Moberg GP. 1996. Stress and its measurement in domestic animals. A review of behavioural and physiological studies under field and laboratory situations. *Adv Vet Sci Comp Med* 24, 179-210.
- Muir PD, JM Beaker, MD Brown. 1998. Effects of forage and grain-based feeding systems on beef quality. *N Z J Agric Res* 41, 623-635.

- Novoa H. 2003. Efectos de la duración y las condiciones del reposo en ayuno previo al faenamiento de los bovinos sobre las características de la canal. *Memoria de Titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Sanhueza CA. 1999. Efectos del tiempo de transporte sobre el contenido de glucógeno muscular y hepático, pH, color, fuerza de cizalla y capacidad de retención de agua en la carne de novillos. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Sanz MC, M Verde, T Sáez, C Sañudo. 1996. Effect of breed on the muscle glycogen content and dark cutting incidence in stressed young bulls. *Meat Sci* 43, 37-42.
- Schwerter MC. 2001. Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas variables indicadoras de estrés, en bovinos sometidos a diferentes tiempos de transporte terrestre y ayuno en primavera-verano. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Shaw FD, RK Tume. 1992. The assessment of pre-slaughter and slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents. A review of recent work. *Meat Sci* 32, 311-329.
- Tadich N, C Gallo, M Alvarado. 2000. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables indicadores de estrés en bovinos. *Arch Med Vet* 32, 171-183.
- Tadich N, C Gallo, R Echeverría R, G van Schaik G. 2003. Efecto del ayuno durante dos tiempos de confinamiento y de transporte terrestre sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en novillos. *Arch Med Vet* 35, 171-185.
- Tadich N, C Gallo C, H Bustamante, M Schwerter, G van Schaik. 2005. Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livest Prod Sci* 93, 223-233.
- Voisinet BD, T Grandin, F O'Connor, JD Tatum, MJ Deesing. 1997. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. *Meat Sci* 46, 367-377.
- Warriss PD. 1984. The behaviour and blood profile of bulls which produce dark cutting meat. *J. Sci Food Agric* 35, 863-868.
- Warriss PD. 1990. The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Appl Anim Beh Sci* 28, 171-186.