

## Modificaciones del peso corporal e indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo \*

Revidatti, F.A.<sup>1</sup>; Fernandez, R.J.<sup>1</sup>; Terraes, J.C.<sup>1</sup>; Sandoval, G.L.<sup>2</sup>; Esquivel de Luchi, P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Granja, <sup>2</sup> Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 54-03783-25753, E-mail: bioquim@vet.unne.edu.ar

### Resumen

**Revidatti, F.A.; Fernandez, R.J.; Terraes, J.C.; Sandoval, G.L.; Esquivel de Luchi, P.: Modificaciones del peso corporal e indicadores de estrés en pollos parrilleros sometidos a inmovilización y volteo.** Los corticoides segregados durante la respuesta de estrés se asocian generalmente con involución del sistema linforreticular (atrofia de timo, bolsa de Fabricio y bazo) e inmunosupresión más o menos prolongada. Adicionalmente, los valores absolutos y relativos de los componentes celulares de la sangre se alteran junto a algunas variables bioquímicas. Estos cambios son utilizados para la estimación del estrés en las aves. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de una maniobra de inmovilización por hacinamiento y volteo/inversión corporal realizada diariamente a lo largo de todo el ciclo, sobre algunas variables productivas y hematológicas en pollos parrilleros. Los tratamientos (A: aves tratadas con maniobra de estrés y B: controles) fueron asignados a un diseño en bloques al azar. Las diferencias significativas halladas en el peso vivo corporal ( $2.200 \pm 310$  y  $2.430 \pm 320$  g), peso del bazo ( $3,67 \pm 0,20$  y  $4,19 \pm 0,30$  g) y peso de la Bolsa de Fabricio ( $3,71 \pm 0,24$  y  $5,38 \pm 0,28$  g) entre los grupos A y el B respectivamente, sugieren la existencia de una respuesta de estrés en las aves tratadas. No se hallaron diferencias significativas en las variables bioquímicas analizadas (proteínas totales, albúmina, globulinas y relación albúmina/globulinas). En A, la menor relación heterófilos/linfocitos ( $p < 0,01$ ) se atribuye al acostumbramiento de las aves a la maniobra aplicada. Las modificaciones de las variables físico-productivas y morfológicas, contrastan con la ausencia de cambios en las variables bioquímicas analizadas, situación que se relacionaría con la naturaleza del estresor de tipo crónico aplicado en esta experiencia. Las mermas significativas halladas en el peso corporal, en el peso del bazo y en el peso de la bolsa de Fabricio en las aves sometidas a inmovilización e inversión corporal confirman que la misma actuó como un estresor.

**Palabras clave:** pollo parrillero, estrés, peso corporal, leucocitos, proteínas.

### INTRODUCCIÓN

Durante la respuesta de estrés, algunas actividades fisiológicas como crecimiento, reproducción y digestión, pueden cancelarse total o parcialmente, de manera que los recursos energéticos se orientan a cubrir las demandas de otros órganos, como el sistema nervioso central y los músculos esqueléticos<sup>18</sup>. Cuando el animal sufre desafíos de distintos tipos, los recursos asignados para crecimiento, reproducción y mantenimiento disminuyen ostensiblemente<sup>3</sup>.

Los incrementos de corticosterona plasmática que caracterizan a la respuesta de estrés de las aves, generalmente ejercen un efecto depresor sobre el sistema inmunológico<sup>16,28</sup>. El mal manejo durante las primeras semanas de vida, con frecuencia genera una respuesta

de estrés, que impide el buen desarrollo inmunológico de las aves<sup>10</sup>. Una regresión temprana de la bolsa de Fabricio es un indicador muy sensible de estrés en las aves jóvenes<sup>5</sup>.

Usualmente la hipertrofia adrenal coexiste con involución del sistema linfático. Incluye atrofia del timo, bolsa de Fabricio, bazo y páncreas<sup>9,30</sup>, así como inmunosupresión más o menos prolongada<sup>15</sup>, siendo más sensibles las aves de mayor tamaño y velocidad de crecimiento<sup>31</sup>.

Como la capacidad de respuesta a las vacunas se ve afectada, frecuentemente fracasan los planes de vacunación<sup>29</sup>. Los pesos proporcionales de los órganos linfoides primarios y su estudio histológico con frecuencia son utilizados para evaluar la respuesta vacunal en las aves<sup>8,12</sup>.

Es posible determinar el grado de respuesta de estrés entre animales controles y estresados a través del

\* Proyecto subsidiado por SGCYT-UNNE (PI 554).

análisis de las modificaciones del peso corporal y del peso de los órganos linfoides<sup>12</sup>. Los valores absolutos y relativos de los componentes celulares de la sangre son utilizados como indicadores en los cuadros de estrés agudo. La relación heterófilos/linfocitos (H/L) fue considerada por muchos autores como una variable con valor predictivo en las aves, hasta que fuera desarrollada y puesta a punto la medición de corticosterona plasmática<sup>26,27</sup>.

Ante situaciones de tensión, las aves muestran una respuesta difásica: en un principio se observa heterofilia y linfopenia, posteriormente heteropenia, linfocitosis, basofilia, monocitosis y trombocitosis<sup>4,24</sup>.

Debido a que las concentraciones de analitos sanguíneos (glucosa, proteínas plasmáticas y enzimas) reflejan el estado del medio interno<sup>2,4,6</sup>, los análisis bioquímicos son utilizados para estimar el estrés, síndrome donde se registran profundas modificaciones metabólicas y bioquímicas<sup>7,14</sup>. Sin embargo, el valor descriptivo y/o predictivo de estas variables depende de las características del estresor, de la respuesta del huésped y del contexto que enmarca dicho proceso<sup>14</sup>. En ciertas circunstancias (estrés crónico) estas variables no tendrían un comportamiento claro, en cuyo caso la atrofia de los órganos linfoides primarios constituiría una mejor evidencia del estrés, al perdurar durante mayores lapsos<sup>26</sup>.

Considerando esos aspectos, en la presente investigación se utilizaron ambos grupos de variables, morfológicas y bioquímicas/hematológicas, con el objetivo de analizar su comportamiento en pollos parrilleros comerciales sometidos a una maniobra compatible con un estresor de tipo crónico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos experimentales se realizaron en un galpón semiabierto de un establecimiento avícola cercano a la Ciudad de Corrientes (Argentina), que lleva a cabo la producción a piso con cama de cáscara de arroz. Se trabajó con 3 lotes de pollos parrilleros de la línea Ross ( $n = 50$  c/u; 150 en total, 50 % de cada sexo), que registraron un peso promedio inicial de  $42 \pm 2$  g.

Al comienzo del ciclo de producción (día 0), las aves fueron divididas al azar en 2 grupos experimentales (A: tratados y B: controles) de 25 pollos cada uno. En el grupo A se practicó diariamente y durante todo el ciclo (45 días) una maniobra de inmovilización y volteo/inversión corporal, descrita por otros autores como inductora de incrementos en las concentraciones plasmáticas de corticosterona<sup>22</sup>. La inmovilización se logró con la captura e introducción de las aves en una jaula en condiciones de hacinamiento, en la cual permanecieron durante 15 minutos. En ese lapso, las jaulas se invirtieron dos veces en forma manual, permaneciendo en esta posición durante un minuto.

Al momento del sacrificio (yugulación sin insensibilización) se registró el peso vivo corporal (PV), peso del bazo (PB) y peso de la bolsa de Fabricio (PF),

utilizando una balanza electrónica digital. A partir de muestras de sangre entera, antes de las dos horas de la extracción, se obtuvieron sueros para la determinación espectrofotométrica de proteínas totales y albúmina, que se efectuaron mediante las técnicas del biuret y bromosulfonftaleína respectivamente (reactivos Wiener Lab.). La concentración de globulinas séricas se calculó por diferencia entre proteínas totales y albúmina, determinándose por cálculo la relación albúmina/globulinas. La relación heterófilos/linfocitos se determinó por recuento de 200 células en frotis sanguíneos coloreados con May Grünwald–Giemsa.

Con un modelo experimental en bloques anidados (lotes, tratamientos, sexos), se asignaron al azar a dos grupos los dos tratamientos, los cuales fueron repetidos en tres oportunidades (tres lotes). Dada la fuerte injerencia que el sexo ejerce sobre algunas de las respuestas aquí estudiadas, especialmente sobre peso corporal, peso de la bolsa de Fabricio y peso del bazo, este factor fue incorporado como fuente de variación en el modelo de análisis estadístico, a fines de lograr un mejor control del error experimental, razón por la cual no se efectuaron inferencias respecto de esta variable. Los datos estadísticos fueron obtenidos informáticamente con el software Statistix. Se aplicó análisis de la varianza (ANOVA) en bloques al azar y el análisis post-ANOVA se efectuó por contrastes ortogonales. Se evaluaron las diferencias de las variables dependientes entre tratamientos, considerando límite un nivel de significancia del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores promedio y el desvío estándar de las variables analizadas se muestran en la Tabla 1.

Los menores valores de peso corporal, peso del bazo y peso de la bolsa de Fabricio registrados en las aves tratadas, coinciden con hallazgos de otros investigadores que destacan que dichas mermas constituyen una de las características más constantes en los cuadros de estrés a largo plazo mediados por corticosterona<sup>18</sup>, en los cuales se pierden importantes cantidades de proteína corporal<sup>13</sup>. En tal sentido, cabe destacar que entre A y B no se hallaron diferencias significativas en el consumo acumulado de alimento, por lo cual los menores pesos de A deberían atribuirse a otra causa.

Corticosterona actúa sobre el metabolismo intermedio de proteínas, hidratos de carbono y lípidos, provocando su utilización como fuente de energía para la resistencia a la agresión<sup>1,2,4</sup>. En otros trabajos se registraron mermas de hasta un 20% en el peso corporal y un 40% del peso de la bolsa de Fabricio en pollos inoculados con ACTH en forma continua durante 7 días; la ganancia de peso cayó a un 30% en el inicio, llegó a un 80% en la mitad del período considerado y se mantuvo en un 23% una semana post-administración<sup>26</sup>. La recuperación de la proteína muscular y del peso corporal requieren de un período de tiempo prolongado para su completo restablecimiento<sup>26</sup>.

**Tabla 1.** Valores obtenidos en aves sometidas a estrés (A) y controles (B).

variable	A	B
peso corporal (g)	2.200 ± 310 <sub>a</sub>	2.430 ± 320 <sub>b</sub>
peso del bazo (g)	3,67 ± 0,20 <sub>a</sub>	4,19 ± 0,30 <sub>b</sub>
peso de la bolsa de Fabricio (g)	3,71 ± 0,24 <sub>a</sub>	5,38 ± 0,28 <sub>b</sub>
relación peso bolsa de Fabricio/peso corporal	1,69 ± 0,10 <sub>a</sub>	2,23 ± 0,12 <sub>b</sub>
proteínas totales (g/dl)	4,00 ± 0,12 <sub>a</sub>	3,86 ± 0,08 <sub>a</sub>
albúmina (g/dl)	1,66 ± 0,04 <sub>a</sub>	1,63 ± 0,03 <sub>a</sub>
globulinas (g/dl)	2,34 ± 0,09 <sub>a</sub>	2,23 ± 0,06 <sub>a</sub>
relación albúmina/globulinas	0,69 ± 0,01 <sub>a</sub>	0,74 ± 0,01 <sub>b</sub>
relación heterófilos/linfocitos	0,97 ± 0,06 <sub>a</sub>	1,11 ± 0,06 <sub>b</sub>

En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La menor cantidad de proteína somática podría atribuirse, además, a la inhibición de la síntesis de proteína en tejidos periféricos, especialmente en órganos linfoides y tejidos óseo, muscular y conjuntivo, con disminución de la captación extrahepática de aminoácidos<sup>13, 25</sup>. Estos efectos han sido observados también en cultivo de células musculares de pollo<sup>23</sup>.

Al relacionar parámetros productivos con indicadores de estrés, en pollos parrilleros se pudo comprobar que el ayuno de dos días en dos semanas consecutivas, provocó un aumento significativo en la relación heterófilos/linfocitos en la primera semana respecto al ayuno de la segunda semana<sup>21</sup>. Los valores ideales de esta relación serían inferiores a 0,45 y se incrementarían durante la fase aguda del estrés debido a las acciones de adrenalina y noradrenalina<sup>20</sup>. La relación heterófilos/linfocitos presenta oscilaciones muy grandes y se elevaría a más de 0,62 en situaciones tales como la exposición a temperaturas mayores de 30°C, alteraciones del orden social o durante el transporte en camión por más de tres horas<sup>20</sup>. Se registraron descensos significativos en la tasa de linfocitos en pollos machos expuestos durante 4 h a 40°C, con humedad del 60%, en un tanque de metal con ayuno previo de 20 h<sup>17</sup>.

Otros investigadores hallaron diferencias significativas en la relación heterófilos/linfocitos en pollos parrilleros, en los días 0, 4 y 8 de vida (0,44; 0,50 y 0,63 versus 0,31; 2,63 y 1,18 en testigos y tratados con ACTH respectivamente), concluyendo que dicha variable es útil en los cuadros de estrés agudo<sup>26</sup>. Siendo el miedo un factor estresante, los resultados variables en la respuesta al transporte y manejo de animales (p.ej. maniobras de pre-sacrificio), pueden deberse a diferentes niveles de estrés psicológico, que coexisten con ayuno y otras restricciones<sup>14</sup>, contacto con personas y exposición a situaciones nuevas<sup>19</sup>. Cuando son hacinados, los animales entrenados o habituados al hacinamiento tendrían niveles de corticosteroides inferiores y un comportamiento más calmo que aquellos animales criados a campo. En el primer caso, el hacinamiento es percibido como un factor neutral, mientras que en el segundo la novedad puede disparar un intenso miedo<sup>19</sup>. Las experiencias previas desarrollan la capacidad de aprendizaje y permiten reconocer situaciones ya vividas, aumentando las posibilidades de adaptación<sup>11</sup>,

de tal manera que las aves manipuladas frecuentemente de forma suave, serían menos excitables y más fáciles de manejar posteriormente<sup>19</sup>. Estas observaciones coinciden con el comportamiento observado en la relación heterófilos/linfocitos del presente trabajo, ya que las aves tratadas (manipuladas frecuentemente) presentaron al momento de la faena menores valores que los controles. En estas últimas, se desencadenaría una respuesta adrenérgica, que explicaría sus tasas más altas.

A pesar del conocido efecto que los corticosteroides poseen sobre el metabolismo nitrogenado, en el presente trabajo no se hallaron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de proteínas totales ni de las fracciones proteicas analizadas. Independientemente de la intensidad y duración del estrés, otros autores obtuvieron similares resultados en la tasa de proteínas totales de aves estresadas<sup>26</sup>.

En conclusión, las mermas significativas de peso corporal, peso del bazo y peso de la bolsa de Fabricio registradas en las aves sometidas a inmovilización e inversión corporal a lo largo del ciclo de producción, confirman que dicha maniobra actuó como un estresor. Asimismo, ponen de manifiesto el impacto negativo que serían capaces de provocar operaciones a las que con frecuencia son sometidas las aves en condiciones de campo (vacunaciones, despique, registros de peso, traslados en jaula, maniobras de presacrificio) y la necesidad de reducirlas al mínimo.

#### Abstract

**Revidatti, F.A.; Fernandez, R.J.; Terraes, J.C.; Sandoval, G.L.; Esquivel de Luchi, P.: Modifications of body weight and stress indicators in broilers submitted to immobilisation and a looking-up maneuver.** Corticoids secreted during stress response are associated, in general, to the involution of the lymphoreticular system (thymus, spleen and bursa of Fabricius atrophy) and immunosuppression. Additionally, absolute and relative alterations of blood cellular components and some biochemical variables may be present. These changes are considered for the estimation of stress level in chickens. Effects of the immobilisation, confinement and a looking-up maneuver in broilers over some productive and hematological variables are evaluated. Treatments (A: treated with stressor and B: control) were assigned randomly. Significant differences observed for body weight (2200±310 and 2430±320 g), spleen weight (3.67±0.20 and 4.19±0.30 g) and bursa of Fabricius weight (3.71±0.24 and 5.38±0.28 g) between A and B groups, suggest the existence of a stress response in treated animals. There were not significant differences in the biochemical variables (total protein, albumin, globulin and albumin/globulin ratio). The low

heterophil/lymphocytes relation ( $p < 0.01$ ) registered for group A could be related to the adaptation of the birds to the maneuver. Modifications of physical-productive and morphologic variables contrast with the absence of changes in the biochemical variables, but such situation would keep relation with the chronic nature of the stressor used in this experience. Significant reductions of body weight, spleen and bursa of Fabricius weights indicate that immobilisation and looking-up maneuver have stressor properties.

**Key words:** broiler, stress, body weight, leukocytes, proteins.

## REFERENCIAS

1. **Angulo Chacon I.** 1987. Observaciones sobre nutrición en las aves en países de clima cálido. *Orient. Avic.* 127: 24–29.
2. **Arad Z, Marder W.** 1983. Serum electrolyte and enzyme responses to heat stress and dehydration in the fowl (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 74 A: 449–453.
3. **Beilharz RG, Luxford BG, Wilkinson JL.** 1993. Quantitative genetics and evolution: is our understanding of genetics sufficient to explain evolution?. *J. Anim. Breed. Gen.* 110: 161–170.
4. **Bogin E, Weisman Y, Friedman Y.** 1981. The effect of heat stress on the levels of certain blood constituents in chickens. *Refuah Vet.* 38: 3–8.
5. **Butcher G, Miles R, Nilipour A.** 1991. El sistema inmune aviar. *Ind. Avic.* 38 : 14–17.
6. **Cantoni RA, Ricciardino MA.** 1980. Perfiles metabólicos en aves. *Orient. Avic.*, edición especial.
7. **Carsia RV, Harvey S.** 2000. Adrenals. In: *Sturkie's Avian Physiology*, 5<sup>th</sup> ed., Academic Press, San Diego.
8. **Cubillos A, Salazar P, Stewart-Brown B.** 1996. Estudio de protección de vacuna contra Gumboro frente a cepas locales según procesamiento de imágenes e índice morfológico bursal. *Memorias del Tercer Seminario de Actualización Avícola de AMEVEA*, Colón, Argentina, conferencia N° 2.
9. **Cunningham JG.** 1995. *Fisiología Veterinaria*, Interamericana, México, p. 716.
10. **Dekich MA.** 1992. Influencia del manejo de los pollitos sobre el estado de salud y la mortalidad. *Avic. Prof.* 9: 187–194.
11. **Denenberg BH.** 1969. *The effects of early experiences in the behaviour of domestic animal*, 2<sup>nd</sup> ed., Bailliere-Tindall, Londres, p. 95–130.
12. **Dohms J, Saif M.** 1984. Criteria for evaluating immunosuppression. *Avian Dis.* 28: 305–310.
13. **Edens FW, Siegel HS.** 1975. Adrenal response in high and low ACTH response lines of chickens during acute heat stress. *Gen. Comp. Endocrinol.* 25: 64–73.
14. **Elrom K.** 2000. Handling and transportation of broilers: welfare, stress, fear and meat quality. *J. Vet. Med.* 55: 1–11.
15. **Espinete RG.** 1987. Los “stress” – Su naturaleza – Sus reacciones. *Vet. Arg.* 4: 882–888.
16. **Freeman BM.** 1980. A stress hormone in the domestic fowl. *Res. Vet. Sci.* 28: 389–390.
17. **García JA, Sutirin A, Taboada P, Gutierrez M.** 1992. La utilización de ayuno para proteger los pollos de ceba del stress por calor. *Rev. Cub. Cs. Avic.* 19: 14–18.
18. **García-Belenguer S, Mormede P.** 1993. Nuevo concepto de estrés en ganadería: psicología y neurobiología de la adaptación. *Investig. Agric.* 8: 87–107.
19. **Grandin T.** 1988. Stress et manipulation des animaux. *Rec. Med. Vet.* 164: 13–21.
20. **Gross WB.** 1989. Factors affecting chicken trombocyte morphology and the relationship with heterophil:lymphocyte ratios. *Br. Poultry Sci.* 30: 919–925.
21. **Gross WB, Siegel PB.** 1985. Effects of initial and second periods of fasting on heterophil/lymphocyte ratios and body weight. *Avian Dis.* 30: 345–346.
22. **Kannan G, Mench JA.** 1996. Influence of different handling methods and crating periods on plasma corticosterone concentrations in broilers. *Br. Poultry Sci.* 37: 21–31.
23. **Klasing KC, Jarrell VL.** 1985. Regulation of protein degradation in chick muscle by several hormones and metabolites. *Poultry Sci.* 64: 694–699.
24. **Maxwell MH.** 1992. The fine structure of broiler chicken blood cells, with particular reference to basophil, after severe heat stress. *Comp. Haem. Int.* 2: 190–200.
25. **Odedra BR, Bates PC, Millward DJ.** 1983. Time course of the effect of catabolic doses of corticosterone on protein turnover in rat skeletal muscle and liver. *Biochem. J.* 214: 617–627.
26. **Puvadolpirod S, Thaxton JP.** 2000. Model of physiological stress in chickens. 1. Responses parameters. *Poultry Sci.* 79: 363–369.
27. **Satterlee DG, Abdullah RB, Gildersleeve RP.** 1980. Plasma corticosterone radioimmunoassay levels in the neonate chick. *Poultry Sci.* 59: 900–905.
28. **Siegel BP.** 1990. Poultry stress, immunity interactions are analysed. *Poultry Dig.* 35: 38–42.
29. **Slinger SJ.** 1985. Nutrición, stress y enfermedades de las aves. *Orient. Avic.* 107: 36–42.
30. **Thaxton JP, Siegel HS.** 1972. Immunodepression in young chickens by high environmental temperature. *Poultry Sci.* 49: 202–205.
31. **Urrutia S.** 1997. El broiler del año 2001. *Avicult. Prof.* 15: 23–28.