

---

## EVALUACIÓN DEL ESTRÉS FÍSICO Y LA HEPATOPROTECCIÓN EN POLLOS DE ENGORDE

---

Vladimir Holguín Alvarado<sup>1</sup>, Patricia Alvarez Castro<sup>2</sup>, Juan Moreira Núñez<sup>3</sup>, Alex Zambrano Durango<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Tecnólogo Agrícola 1997, Ingeniero Agropecuario 2004

<sup>2</sup>Directora de Tesis. Médico Veterinario Universidad de Guayaquil 1987, Egresada en Master en Avicultura en la Universidad Agraria del Ecuador 2001.

<sup>3</sup>Médico Veterinario Universidad de Guayaquil 1979, Post grado Ganadería de leche del Trópico en el Instituto de Servicio en Ciencias Agropecuarias de la Habana, Cuba 1983

<sup>4</sup>Médico Veterinario Universidad Agraria del Ecuador 1993, Msc. Nutrición Animal 1997

### **RESUMEN**

Se evaluará el impacto que ejerce el estrés físico en pollos de engorde (300 broilers en total, 50% de cada sexo):

a) una maniobra de encierre (reduciéndoles espacio, mediante el uso de lonas) y captura, con posterior inversión de las mismas, operación repetida periódicamente hasta el final del ciclo de producción, para inducir cambios compatibles con el síndrome de estrés, y b) los efectos de la hepatoprotección continua con un suplemento comercial con acciones: lipotrópica, colerético-colagoga, y favorecedora de la regeneración hepática.

Con un modelo experimental factorial en bloques a dos vías, combinando dos niveles de ambos factores, se asignaran al azar a cuatro grupos experimentales cuatro tratamientos (1= con estrés y hepatoprotección, 2= con hepatoprotección, 3= con estrés y 4= control). Se utilizará el análisis de la varianza para los tratamientos en estudio entre los grupos midiendo parámetros productivos y parámetros bioquímicos. Además de relacionar estos últimos parámetros con el peso corporal de las aves.

### **INTRODUCCIÓN**

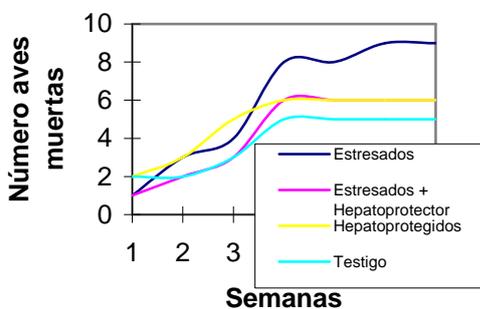
En la producción de pollos de engorde se han logrado importantes mejoras en la tasa de crecimiento y conversión alimenticia de las distintas líneas de aves a partir de la mejora genética y el ajuste simultáneo de los demás pilares de la producción (Buxadé Carbó 1988; Castello Llovet, 1993 y North, 1993). No obstante, estas aves presentan mayor susceptibilidad a los factores de tensión, pudiendo afectarse la salud productiva ocasionando frecuentemente la presentación de enfermedad clínica (Brake y Garlich, 1996; Leeson, 1991; Mitchell *et al.*, 1997; Scheifer, 1995 y Tejeda Perea *et al.* 1997).

Según la intensidad y duración de la agresión, los pollos pueden adaptarse sin afectar su rendimiento, sobrevivir sacrificando su nivel de productividad, o bien, en caso de que fracasen sus mecanismos de adaptación, pueden morir (Mendes *et al.* 1997; Monsi *et al.*, 1996; Nilipour, 1993 y Saylor, 1991). La suma de los efectos de varios tipos de tensiones y su grado de severidad provocan aumento del nivel de corticosterona en el plasma (principal secreción glucocorticoide del pollo) (Coles, 1986; Colusi, 1996; Kaneko, 1970; Kannan y Mench, 1996).

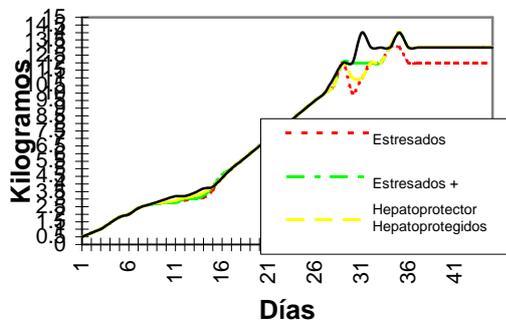
Durante la reacción de alarma, en las aves se liberan adrenalina, noradrenalina y corticosterona y se secreta un factor de liberación de ACTH (Knol, 1991; Rivier y Rivest, 1991; Sieguel, 1990).

Los estímulos que conducen a estrés crónico pueden facilitar (hipertrofia) o reducir (atrofia) la reactividad adrenocortical (Rivier y Rivest, 1991) y parte de la función de los glucocorticoides circulantes puede ser el mantenimiento de la reacción vascular a las catecolaminas. La medición sistemática de los niveles de estrés es importante para su determinación objetiva y consecuentes efectos en la productividad de las aves Tejeda Perea *et al.*(1997). En estos animales se emplean técnicas directas e indirectas; entre estas últimas se cuentan las hematológicas y la interpretación de los resultados en los análisis del suero sanguíneo para medir algunos niveles bioquímicos.

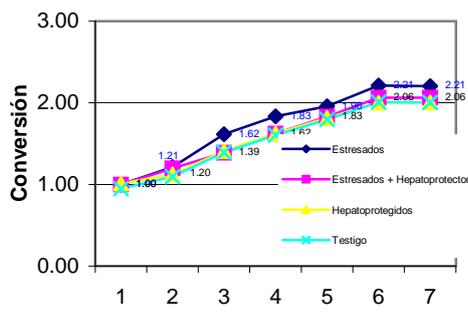
## CONTENIDO



**GRAFICO 1. MORTALIDAD SEMANAL**



**GRAFICO 2. CONSUMO DIARIO DE ALIMENTO**



**GRAFICO 3. CONVERSION ALIMENTICIA DE CADA TRATAMIENTO**

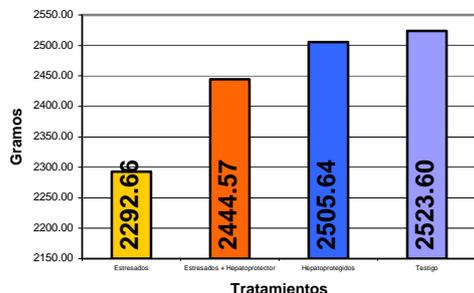
En este capítulo se presentan el comportamiento de las variables productivas y bioquímicas de cada tratamiento evaluado mediante el análisis estadísticos

La mortalidad en los cuatro tratamientos fue superior en las aves del G1 que registró 9 aves muertas correspondiendo al 12%, ya que éstas fueron inducidas al síndrome del estrés, no así ocurrió en los grupos 2, 3 que presentaron similares valores de 6 (8%), 6 (8%) aves muertas respectivamente y que estuvieron cerca del G4 que presentó 5 (6.67%) aves muertas. Ver Gráfico 1. Esto indicaría que el hepatoprotector en el G2 habría incidido en que el número de aves muertas no sea tan alta

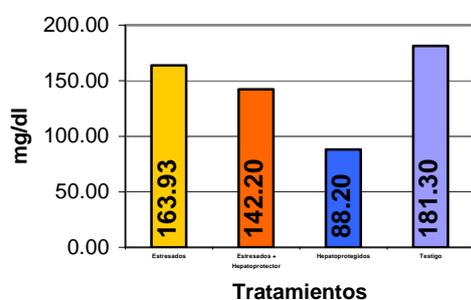
En cuanto al consumo de alimento, las aves del G4 consumieron 354,45g, éste valor fue superior a los otros grupos que registraron valores de 346,8g 348,25g y 333,7g pertenecientes a los grupos 2, 3 y 1 respectivamente. Como se podrá apreciar las aves del G1 tuvo un menor consumo a los grupos 2 y 3; y la diferencia mayor fue con las aves del G4. Ver gráfico 2.

En cuanto al peso promedio registrado de cada tratamiento, fueron los siguientes: G1, 2298.38 g; G2, 2434.58 g; G3, 2502.68 g; y el G4 2511.19. Como es de apreciar, las aves del G4 presentan el mayor peso promedio que los otros grupos, pero cerca de estos estuvieron las aves del G3. EL

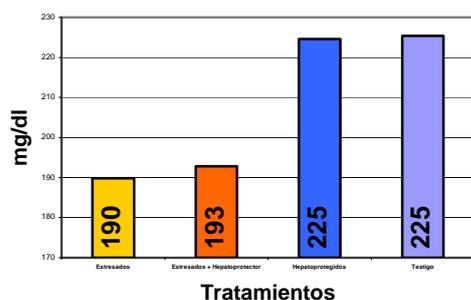
G4 fue superior a todos los grupos restantes en cada parámetro productivo evaluado y esto se confirma con la CA, donde el G4 de obtuvo 2.01; G3, 2.01; G2, 2.06 y el G1, 2.21. Esta última fue mayor y peor que la CA de los otros grupos. Ver gráfico 3



**GRAFICO 4. PESO A LOS 45 DIAS.**



**GRAFICO 5. CONTENIDO DE GLUCOSA**



**GRAFICO 6. CONTENIDO DE COLESTEROL**

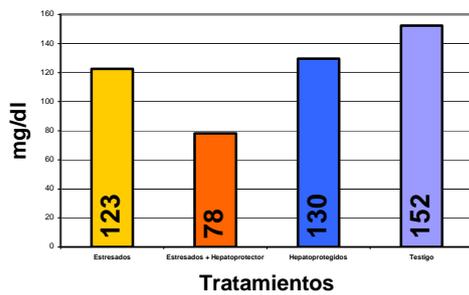
Además, los pesos medios de las aves de los grupos 2, 3 marcaron diferencias significativas con el G4, pero la mayor diferencia significativa estuvo entre el grupo de aves del G1 con respecto al G4. Esto confirmaría lo expuesto por Colusi (1996), Cunningham (1995) y Erlinger (1994) que durante las situaciones de estrés se produce una sobrecarga metabólica significativa, en el cual la capacidad funcional del hígado resulta trascendental en animales sometidos a elevadas exigencias de producción. El G2 no presentó diferencia significativa con respecto al G3, lo que significaría que el medicamento con los efectos lipotrópicos de cloruro de colina que contiene normaliza el metabolismo proteico brindando una protección del parénquima hepático. Ver gráfico 4..

El contenido de glucosa en los tratamientos fue para el G1 163,93 cuyo valor se aproxima al G4 que es de 181,30 y los valores 142,20 y 88,20 correspondieron a los grupos G2 y G3 respectivamente, si bien, el rango de este parámetro en el suero del ave es de 250 a 400 mg/dl, los experimentos presentaron valores inferiores a lo investigado (Ver tabla 3), se dice que cuando los valores superiores o inferiores al rango establecido indican que hay enfermedad Tietz (1986), queda por investigar ¿Cuál es el rango de glucosa en las aves broilers de nuestro medio?. También se dice que valores inferiores a 0.70 g/l en aves son un signo clínico grave Coles (1986) y

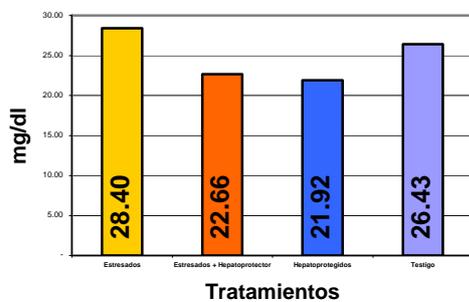
ninguno de los grupos presentó este valor.

El análisis de la varianza marco mayor diferencias significativas entre el G4 y los grupos 2 y 3, y también hubo diferencias significativas entre el G1 con los grupos 2 y 3 lo que indicaría que el contenido de glucosa sérica en las aves del G1 serían normales a pesar del estrés, no así en los grupos 2 y 3 que tuvieron valores medios por debajo de los anunciados, pero que no habrían estado comprometidos con alguna enfermedad, ya que los valores presentados por estos grupos no son inferiores a 0.70 g/l. y el extracto líquido de Cynara que contiene el hepatoprotector habría estimulado la

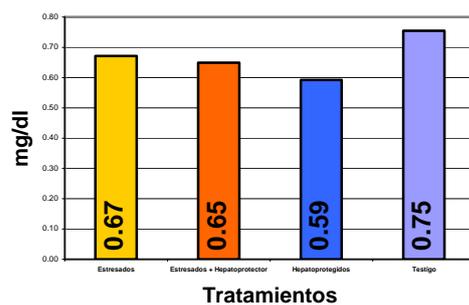
acción colerética y colagoga de la bilis para un mejor aprovechamiento de los nutrientes consumidos. Ver grafico 5.



**GRAFICO 7. CONTENIDO DE TRIGLICERIDOS**



**GRAFICO 8. CONTENIDO DE ACIDO URICO**



**GRAFICO 9. CONTENIDO DE CREATININA**

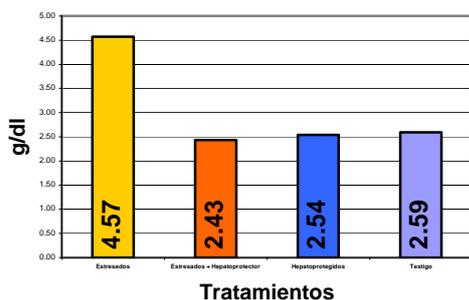
Los valores del contenido de colesterol de las aves de los grupos 3 y 4 marcaron mayores diferencias significativas con respecto a los grupos 1 y 2 a pesar que estas dos últimas están en el rango de 100 a 200 mg/dl que indica la tabla 3. de esta manera se puede decir que el estrés físico no habría bloqueado la producción de esteroides en el tejido hepático del ave; no así en el G3 donde los valores fueron similares al testigo y superior al rango establecido, con ello cabría pensar que hubo colesterosis debido al contenido de sustancias lípidas en el medicamento hepatoprotector y/o en el alimento. Ver gráfico 6.

También hubo diferencias significativas en todos los grupos a excepción de los grupos 1 y 3 en lo referente al contenido de triglicéridos, el rango normal de este parámetro en las aves es de 50 a 120, según la tabla 3, lo que indicaría que el estrés en el G1 habría producido un mal funcionamiento en el metabolismo lípido o hiperlipoproteinemia.

En el G2 se presentaron valores que están dentro del rango establecido para este parámetro, lo que se confirmaría lo expuesto por Colusi (1996) que indica, que el suplemento hepático por contener cloruro de colina contribuye en la regeneración de este tejido cuando ha sido sometido a distintos niveles de estrés. En el G3 estos valores fueron similares al del G1, que sería causa de las sustancias lípidas que contiene el medicamento y que no fueron utilizadas debido a que no hubo estrés. Ver grafico 7.

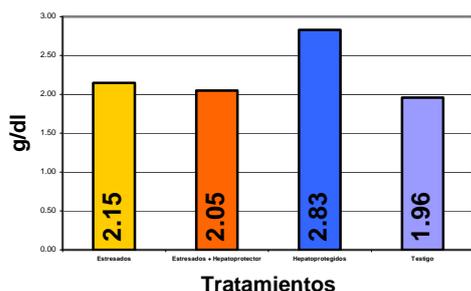
En cuanto al G4 que presentó valores superiores al resto de grupos por lo que se debería investigar el contenido de triglicéridos séricos en aves en nuestro medio.

El contenido de Urea en el G1 marco diferencia significativa con respecto al G4 y mayor diferencia significativa con los otros grupos, ya que la alteración metabólica que se habría producido en estas aves no habría permitido el normal funcionamiento del sistema suprarrenal para eliminar este ácido. Los grupos 2 y 3 que no presentaron diferencias significativas cabría pensar que el constituyente extracto líquido de Cynara del hepatoprotector regula las funciones metabólicas suprarrenal . Ver grafico 8.



**GRAFICO 10. CONTENIDO DE PROTEÍNAS TOTALES**

En el G2 también habría ocurrido lo mismo pero que fue regenerándose por el efecto del Extracto líquido de Cynara que posee el hepatoprotector. Y el G3 mantuvo estos niveles porque este medicamento mantiene en equilibrio el metabolismo similar al de las aves controladas. Ver gráfico 9.

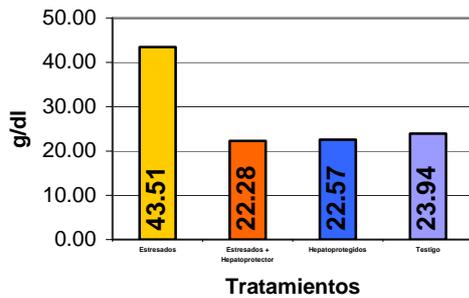


**GRAFICO 11. CONTENIDO DE ALBÚMINAS**

Los valores medios del contenido de creatinina estuvieron dentro del rango de medida que es de 0.5 a 1.3 mg/dl según la tabla 3, pero el análisis de la varianza marcó mayores diferencias significativa entre el G4 y los otros grupos, y entre los grupos 1, 2 y 3 no presentaron diferencias significativas, lo que indicaría que a pesar de tener estos valores que están dentro del rango, hubo mayor actividad metabólica muscular debido a la inducción de estrés que tuvieron las aves del G1 y además habría sido causa de la destrucción muscular. En

El contenido de proteínas totales, que según la tabla 3, el rango es de 3 – 5 g/dl, se diría que el valor medio del G1 está en el rango establecido y ello significaría que estas aves estuvieron sanas y el estrés no habría perjudicado este nivel serológico y que los valores medios de los otros grupos estarían en un nivel bajo que indicaría la presencia de una hipoalbumemia y con ello enfermedades hepáticas, nefróticas, infecciones agudas y mal nutrición. Tasas menores de 3 g/dl de proteína totales indican

usualmente hipoalbumemia Coles (1986). Pero esto sería contradictorio para los grupos medicados (G1 y G2) y ello equivaldría a decir que el hepatoprotector no habría funcionado y con respecto al testigo no habrían sido un modelo de comparación con el resto de los grupos.

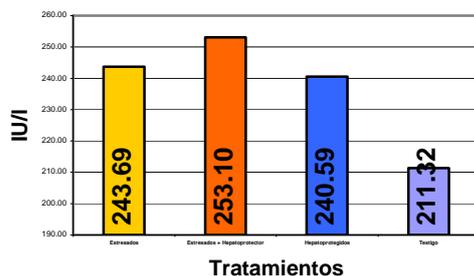


**GRAFICO 12. CONTENIDO DE GLOBULINAS**

anticuerpos.

El G2 presentó diferencias significativas con respecto a los grupos 3 y 4, por lo que habría ocurrido alteración metabólica en estas aves, pero el medicamento hepatoprotector lo habría regulado. El G3 no presentó diferencias significativas con el G4, esto confirmaría que las propiedades de este producto ayudan a mantener en equilibrio el metabolismo de las aves. Ver gráfico 10.

El contenido de albúmina que es la más abundante en el suero, el G3 marcó mayores diferencias significativas a los otros grupos, esto indicaría que el hepatoprotector ha sido transportado por esta proteína y con ello mantuvo el equilibrio metabólico del animal. Aunque el G1 tuvo diferencias significativas con respecto al G4 se podría pensar que el estrés no altera el nivel de esta proteína en el suero, pero en el siguiente análisis del contenido de globulinas se concretaría esta información, en el caso del G2 el hepatoprotector no habría sido distribuido eficazmente por la albúmina limitado por el estrés. Ver gráfico 11.

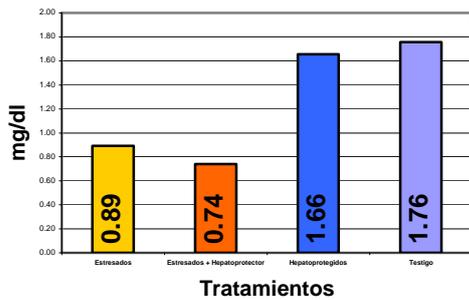


**GRAFICO 13. CONTENIDO DE TRANSAMINASA OXALACETICA (TGO)**

propiedades Extracto liquido de Cynara y Cloruro colina que lo constituyen habría regenerado los tejidos de algunos órganos afectados. Ver gráfico 12.

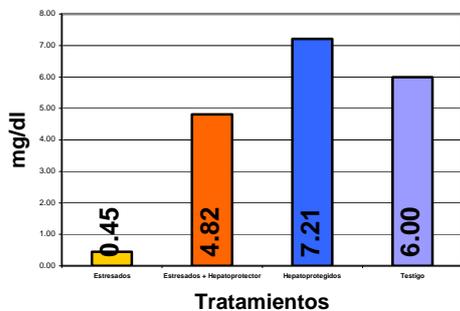
Entonces, se emplea el análisis de variancia, en el que se encuentran mayores diferencias significativas entre el G1 y los otros grupos, lo que indicaría que los valores medios altos en el G1 se debieron a una hiperproteinemia causada por la deshidratación (Arad y Marder1983) o a un incremento de globulinas Coles (1986), esto significaría que las aves del G1 no estuvieron bebiendo agua lo suficiente y/o la inducción al estrés al que fueron sometidos hizo que produjeran globulinas y a la vez ayudar al sistema inmunológico en la producción de

Se confirma lo presentado en el párrafo del contenido de proteínas totales, donde el contenido de globulinas del G1 indicaría que hubo una elevada actividad metabólica en el sistema inmunológico que sería provocado por el estrés a la que fueron sometidas estas aves, ya que el elevado nivel de globulina indica que se han presentado algunos agentes extraños que han causado enfermedad y para respuestas a estos se producen anticuerpos. El G2 mantuvo valores medios muy cercanos a los grupos 3 y 4 y esto indicaría que el hepatoprotector con las



**GRAFICO 14. CONTENIDO DE BILIRRUBINA TOTAL**

G3, el medicamento aumentó los niveles de TGO debido a que el medicamento contiene sustancias lípidas que habrían causado cierto daño en el tejido cardiaco. Ver gráfico 13.

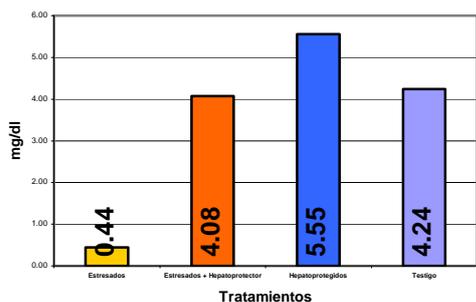


**GRAFICO 15. CONTENIDO DE BILIRRUBINA (DIRECTO)**

Otra de las actividades metabólicas en las aves, es la que efectúa la enzima Transaminasa Oxalacetica. Los valores medios altos TGO en los grupos G1, G2, G3 indicarían que las aves han sufrido daños en los tejidos musculares, hepáticos y cardiacos. Para el caso del G1, se produjeron estos daños causando perdidas de masa muscular y que repercutieron en el peso. En el G2 se diría que también hubo daño en tejido muscular, pero el efecto del medicamento con sustancias de Extracto liquido de Cynara habría regenerado dicho tejido, en cambio en el

Los valores medios del contenido de bilirrubina total en el suero del G1 y G2 fueron inferiores al G4, lo que indicaría que el estrés no permitiría el normal funcionamiento del hígado y es por eso que los niveles de bilirrubina total serían bajos, así lo confirma el análisis estadístico para esta variable, en cambio hepatoprotector en el G3 habría ayudado con las sustancias de Extracto liquido de Cynara a regular la acción colerética colagoga en la bilis del ave por lo que no tuvo diferencia significativa con respecto al control. Ver gráfico 14.

Por medio del método directo, la bilirrubina sérica del G1 tuvo valores medios inferiores con respecto a los demás grupos, lo que se ratificaría que el estrés sería la causa de la reducción y destrucción del tejido hepático. El G2 fue el segundo valor menos bajo con respecto al control, lo que corrobora que el tejido hepático fue desgastándose por causa del estrés, pero que tuvo una respuesta favorable en la que se habría regenerado por efecto de la sustancia del Extracto liquido de Cynara que contiene el hepatoprotector. En cambio el G3 que mostró valores superiores al G4, lo que indicaría que le



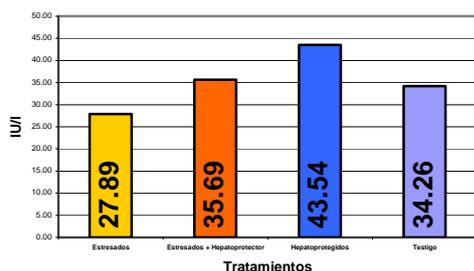
**GRAFICO 16. CONTENIDO DE BILIRRUBINA (INDIRECTO)**

hepatoprotector con las sustancias antes dicha mantiene un metabolismo hepático superior y eficiente que las aves controladas. Ver gráfico 15

El método indirecto del contenido de bilirrubina, los valores medios registrados de cada tratamiento fueron similares a la técnica directa, de esta manera despejando cualquier duda cuyos valores del G1 fue inferior a la de los demás grupos, seguida por el G2 que tuvo valores

similares al G4, y por último el G3 fue superior a todos los grupos. Ver gráfico 16.

En cuanto al contenido de Gamma Glutamil Transpeptidasa, el G1 tubo valores medios inferiores con respecto al G4 lo que significa que las reacciones que participan en el metabolismo hepático sean estas enzimas, aminoácidos, etc. se habrían reducido por causa del estrés, y el desgaste de este tejido se confirma con los otros análisis estadísticos que se han realizado en otras variables del presente trabajo, así mismo el G2 presento valores similares al G4 lo que indicaría que existió desgaste y regeneración del tejido hepático en estas aves. En cambio, el G3 fue muy superior al G4 y de esta manera se asumiría que el efecto del hepatoprotector garantizan el desarrollo hepático en el ave. Ver gráfico 17.



**GRAFICO 17. CONTENIDO DE GAMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA (GGT)**

Este trabajo investigativo comprende la relación entre el peso y las variables bioquímicas consideradas para este estudio en cada uno de los tratamientos, ya que los pesos de las aves registraron diferencias significativas y además por ser el principal parámetro de importancia económica. Por esta razón se la ha denominado variable dependiente, Y. y las variables bioquímicas variables independientes, X.

Para este principio se aplicó el modelo Matriz de correlación, el cual muestra los coeficientes simples en todas las variables. En las aves estresadas hubo una moderada correlación entre el peso y el contenido de triglicéridos, y entre el peso y el contenido de albúminas. Las demás correlaciones entre las variables bioquímicas no interesan, ya que se aislaría el tema tratado a un campo más complejo.

Para el primer caso se asume que los triglicéridos aumentan debido a las tensiones provocadas por el estrés en el animal, estos niveles se incrementan desordenadamente cuando las aves ganan peso produciéndose una hiperlipoproteinemia. En cuanto la relación entre peso y contenido de albúmina, también hubo una correlación moderada, que indica que los niveles de albúmina aumentan para ayudar al crecimiento de los tejidos y como también tiene función de almacenar proteínas estructurales, las fue utilizando para que las aves ganen peso.

En el grupo de las aves estresadas y hepatoprotégidas no marcó correlación alguna ni fuerte ni moderada entre los pesos y las variables bioquímicas, esto sería por el efecto del hepatoprotector no habría incidido ni más ni menos que el estrés al que fueron sometidas las aves.

La relación entre el peso y el contenido de albúmina fue moderada en el grupo de las aves hepatoprotégidas, ya que la albúmina ayudo a transportar con eficiencia al medicamento y de esta manera permitió el normal funcionamiento del metabolismo hepático, cardiaco y muscular.

Al igual que las aves del G2 no se presentaron correlaciones entre el peso y las variables bioquímicas en el grupo testigo, con ello se indicaría que el medicamento hepatoprotector no altera los niveles bioquímicos en las aves inducidas a las estresadas, pero si ayuda a combatir este tipo de tensión y mantiene los mismos parámetros que las aves testigo.

El análisis económico que se realizó en este estudio, se demuestra en la siguiente tabla, indicando que el tratamiento 1 obtuvo una rentabilidad de costo de 11.59%, siendo la más baja, seguida por los valores de 13.25%, 16.61% y 31.43% que corresponden a los tratamientos 2, 3 y 4 respectivamente, de esta manera queda establecido que el G4 fue el mejor.

Entonces el modelo a copiar según este estudio sería el G4, pero este solo sería representativo en parvadas pequeñas, ya que en grandes parvadas como ocurre en la avicultura industrial donde están expuestas a diferentes factores que provocarían estrés no se tendrían estos valores de rentabilidad. En cuanto a los grupos 2 y 3 que tuvieron valores leves superiores de rentabilidad de costo comparados con el G1, este margen económico si sería un valor representativo en la avicultura industrial. A continuación se presenta la tabla 1, que corresponde a la rentabilidad de costo en cada uno de los experimentos.

**TABLA 1.**  
**RENTABILIDAD DE COSTOS DE CADA TRATAMIENTO.**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Ingresos</b>	<b>280.33</b>	<b>325.22</b>	<b>334.32</b>	<b>340.32</b>
<b>Costo total</b>	251.22	287.17	286.70	258.93
<b>Ingresos netos</b>	29.11	38.05	47.62	81.39
<b>Rentabilidad costo</b>	<b>11.59%</b>	<b>13.25%</b>	<b>16.61%</b>	<b>31.43%</b>
A= Estresados, B= Estresados + Hepatoprotector, C= Hepatoprottegidos, D= Testigo.				

**Fuente:** Autor del estudio

## **CONCLUSIONES**

1. El estrés físico alteraría el metabolismo del animal, ya que los resultados del grupo 1 tuvieron perdida de peso, elevadas concentraciones de triglicéridos, glucosa y colesterol, TGO, proteínas totales, albúmina y globulinas; y bajas concentraciones de bilirrubina y GGT
2. El medicamento hepatoprotector en este estudio mantendría los niveles bioquímicos en un 6 a 9% superior a las aves estresadas y así ayudaría en el normal funcionamiento fisiológico del animal y esto se ratificaría en el peso obtenido, muy próximo al peso de las aves testigo.

3. Este medicamento hepatoprotector al no ser utilizado para controlar el estrés, elevaría las concentraciones de colesterol por contener sustancias lípidas. Las albúminas ayudarían a transportar con eficiencia el medicamento para que cumpla con la respectiva función metabólica.
4. La rentabilidad de costos para la avicultura que sería representada por el G2 daría una esperanza en el uso de hepatoprotectores para contrarrestar el estrés y por ello sería necesario realizar estudios en estos productos.
5. Las conversiones de alimento y mortalidad fueron elevadas en las aves estresadas; similares en las aves estresadas-hepatoprotegidas y hepatoprotegidas. Y éstas a la vez muy cerca a las aves controladas o testigo. Lo que indicaría que este producto hepatoprotector no permitiría una elevada tasa de mortalidad y esto debería confirmarse en otros estudios, similar con mayor número de aves que las consideradas en este estudio
6. Se debería reducir el manipuleo excesivo de equipos y materiales que se utilizan en la avicultura moderna, ya que esto provoca ruido y alarma de peligro en las aves causando estrés.
7. El uso de medicamentos hepatoprotector que ayudan a la regulación hepática se debe extender en avicultura probando otras sustancias regeneradoras del tejido hepático para este fin y además seguir realizando investigaciones en esta área y analizando otras variables bioquímicas.

## **REFERENCIAS**

1. Blair, M.E. 1993. La vitamina B3 en la nutrición avícola. *Avicultura Profesional.*, 10: 158-160.
2. Brake, P. y Garlich. 1996. Manejo para controlar la Ascitis. *Avicultura Profesional.* 14: 22-25.
3. Buxadé Carbó, C. 1988. *El pollo de carne.* Ed. Mundiprensa. Segunda Edición.
4. Castelló Llovet, J.A. 1993. *Construcciones y Equipos Avícolas.* Ed. Real Escuela de Avicultura. Barcelona, España.
5. Colusi, A. 1996. Un nuevo mecanismo para la salud productiva: hepatoprotección continua. *Av. Empresarial.* 2: 8-10.
6. Cunningham, J.G. 1995. *Fisiología Veterinaria* Ed. Interamericana. México.
7. Espinet, R.G. 1987. Los «stress»- Su naturaleza Sus reacciones. *Vet. Argentina* IV: 882- 888.
8. Walpole & Myers. *Probabilidad y Estadística.* Cuarta edición. México 1994.