



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Programa de doctorado: Biociencias y Ciencias
Agroalimentarias

**ESTUDIO DEL SISTEMA DE ATURDIDO POR
CO₂ EN PAVOS Y SU EFECTO EN EL
DESANGRADO Y PARÁMETROS
RELACIONADOS CON EL BIENESTAR
ANIMAL**

*Study of the stunning method by CO₂ on turkeys and
its effect on bleeding and welfare parameters*

DIRECTORES DE TESIS

FRANCISCO PEÑA BLANCO

CARMEN AVILÉS RAMÍREZ

DOCTORANDA

ANGELA M.^a GUIJARRO LORA

CÓRDOBA, 18 de diciembre de 2019

TITULO: *ESTUDIO DEL SISTEMA DE ATURDIDO POR CO2 EN PAVOS Y SU EFECTO EN EL DESANGRADO Y PARAMETROS RELACIONADOS CON EL BIENESTAR ANIMAL*

AUTOR: *Ángela María Guijarro Lora*

© Edita: UCOPress. 2020
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es>

Tesis presentada por Doña Ángela M.^a Guijarro Lora para optar al grado de Doctor por la Universidad de Córdoba gracias al programa de Doctores en Empresas cofinanciado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, el Ministerio de Economía y Competitividad, el Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3) y el Banco de Santander.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA





TITULO DE LA TESIS: Estudio del sistema de aturrido por CO₂ en pavos y su efecto en el desangrado y parámetros relacionados con el bienestar animal

DOCTORANDA: Ángela M.^a Guijarro Lora

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

El trabajo “Estudio del sistema de aturrido por CO₂ en pavos y su efecto en el desangrado y parámetros relacionados con el bienestar animal” elaborado por Dña. Angela M.^a Guijarro Lora se ha desarrollado en distintas etapas con arreglo de los principios que rigen el trabajo científico. Los resultados obtenidos constituyen un valioso aporte a la comprensión del efecto del aturdimiento de pavos por CO₂ en el desangrado y bienestar de estos animales.

Con los resultados obtenidos se ha publicado el trabajo “Effects of two CO₂ stunning methods on the efficacy of stunning and blood stress indicators of turkeys under commercial processing conditions” en la revista Journal of Applied Animal Welfare Science.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral

Córdoba, a 17 de diciembre de 2019

Fdo. Francisco Peña Blanco

Carmen Avilés Ramírez

AGRADECIMIENTOS

En este capítulo de mi tesis debo agradecer de manera especial y sincera a cada una de las personas y organismos que me han acompañado y permitido que este largo y duro camino haya llegado a su fin y que aquel proyecto que se inició con una simple propuesta de mejora en mi empresa se haya convertido en un amplio y profundo estudio.

De manera especial tengo que darles mi más sincero agradecimiento a mis padres, José y Carmen, quienes me han apoyado en todos los momentos, siempre dándome los mejores consejos y me han acompañado en cada etapa de mi vida. Gracias por haberme enseñado la importancia de los pequeños detalles, que las oportunidades que aparecen en la vida hay que tomarlas y afrontarlas con mucho valor. Siempre habéis sido para mí un gran ejemplo de lucha y constancia. A ti Papá, por el gran esfuerzo que siempre has hecho para darnos siempre todo lo que hemos necesitado y poder estar en este momento escribiendo estas palabras. Y Mamá, no tengo palabras para agradecer todo lo que me has enseñado, todas tus reflexiones que han hecho de mí una persona constante y con muchísimas inquietudes, siempre hay una posible mejora personal y profesional “hoy mejor que ayer, mañana mejor que hoy”. A mi pareja, Jago, un pilar fundamental hoy en día para mí, quien con su energía positiva y sus mensajes optimistas día a día me han permitido alcanzar la meta.

Debo agradecer de manera peculiar a mis profesores de tesis, Francisco Peña y Carmen Avilés, por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Os agradezco haberme facilitado en todo momento los medios necesarios para llevar a cabo las numerosas actividades planeadas a lo largo de toda la tesis. Agradecerles sus siempre atentas y rápidas respuestas a las numerosas inquietudes surgidas durante el desarrollo de este trabajo, lo cual se ha visto también reflejado en los resultados obtenidos. La distancia, el compaginar la tesis doctoral con el mundo laboral y el día a día ha sido un gran obstáculo que hemos tenido que superar por lo que tengo que reconocer y gratificar el enorme esfuerzo que ambos habéis hecho para formarme en el mundo de la investigación.

Merecen igualmente un afectuoso recuerdo mis compañeros de profesión, que son los verdaderos artífices de que todas nuestras pruebas hayan podido desarrollarse con éxito. Este desarrollo no hubiera sido posible sin la brillante guía de Iván González, por mantener todo el proceso controlado durante las numerosas pruebas realizadas, gracias por tus ideas e ingenios, siempre estando un paso por delante. Tu paciencia y experiencia

nos permitió adentrarnos en este proyecto de forma más manejable. A mi compañero Francisco Arispón, que fue el que me hizo partícipe de este gran proyecto y permitió que fuera creciendo personal y profesionalmente. A mi jefe, Alfonso Serrano, que siempre sus palabras hacen que se despierte en mi la faceta investigadora. Gracias por inculcarme día a día el ejemplo de esfuerzo y superación, por darme la oportunidad de seguir aprendiendo y formándome en el campo de la investigación.

Merecen también una afectuosa mención mis amigos, que son mi segunda familia y que han llevado de primera mano todo mi recorrido y me han dado palabras de apoyo y animo en cada momento. Que a pesar de la distancia que hemos sufrido para alcanzar mis objetivos siempre han estado a mi lado. Aquí te incluyo a ti, Ignacio Clemente, por tus numerosas llamadas y mensajes esperanzadores que hizo que esta etapa fuera más liviana.

Finalmente, debo agradecer al CEIA3, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, al Ministerio de Educación Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, al Ministerio de Economía y Competitividad, el Banco de Santander. por haber financiado el Programa de Doctores en Empresa a partir del cual fui inscrita para llevar a cabo mis estudios doctorales y a mi empresa por haber participado en dichos programas con la finalidad de ampliar la frontera del conocimiento del equipo humano que lo compone.

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	11
ÍNDICE DE FIGURAS	15
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	16
ÍNDICE DE TABLAS.....	17
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	20
RESUMEN.....	25
1. INTRODUCCIÓN	33
2. OBJETIVOS.....	39
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	43
3.1. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE PAVO EN EL MUNDO	43
3.2. CONSUMO NACIONAL DE CARNE DE PAVO	45
3.3. LA ESPECIE <i>MELEAGRIS GALLOPAVO</i>	47
3.3.1. ORIGEN E HISTORIA DEL PAVO	47
3.3.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	49
3.3.3. CLASIFICACIÓN RACIAL.....	50
3.4. DESARROLLO DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS.....	56
3.4.1. CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES.....	56
3.4.2. MANEJO EN GRANJA.....	63
3.5. MÉTODOS DE ATURDIMIENTO	72
3.5.1. ANTECEDENTES	72
3.5.2. ATURDIMIENTO ELÉCTRICO	73
3.5.3. ATURDIMIENTO POR GAS.....	77
3.5.4. ATURDIMIENTO A BAJA PRESIÓN ATMOSFÉRICA.....	79
3.6. BIENESTAR ANIMAL Y PARÁMETROS DE VALORACIÓN DEL BIENESTAR	79

3.6.1.	DEFINICIÓN DE BIENESTAR ANIMAL	79
3.6.2.	BIENESTAR DURANTE LA CRIANZA	83
3.6.3.	BIENESTAR DURANTE EL TRANSPORTE	85
3.6.4.	BIENESTAR DURANTE EL SACRIFICIO	85
3.6.5.	PARÁMETROS DE BIENESTAR ANIMAL (BIOMARCADORES)...	86
3.7.	RELACIÓN DE MARCADORES BIOLÓGICOS DE BIENESTAR ANIMAL CON LOS PARÁMETROS DE CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE...	89
3.8.	BENEFICIOS NUTRICIONALES PROCEDENTES DE ALIMENTOS FUNCIONALES: EL AJO	90
3.8.1.	INTRODUCCIÓN.....	90
3.8.2.	COMPUESTOS ACTIVOS DEL AJO	91
3.8.3.	MECANISMO DE ACCIÓN	94
3.8.3.1.	EFECTO ANTIPLAQUETARIO Y ANTITROMBÓTICO	94
3.8.3.2.	EFECTO HIPOCOLESTEROLEMIANTE.....	95
3.8.3.3.	EFECTO ANTIATEROGÉNICO.....	96
3.8.3.4.	EFECTO EN LA ACTIVIDAD FIBRINOLÍTICA.....	97
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	101
4.1.	POBLACIÓN ANIMAL.....	101
4.2.	ALIMENTACIÓN Y MANEJO.....	103
4.2.1.	FASE DE NACIMIENTO EN INCUBADORA.....	103
4.2.2.	FASE DE CRECIMIENTO EN GRANJAS DE RECRÍA	103
4.2.3.	FASE DE ENGORDE EN GRANJAS DE CEBO.....	104
4.2.4.	TRANSPORTE HACIA EL MATADERO	107
4.3.	FASE DE ATURDIMIENTO.....	107
4.5.	DEGÜELLO, DESANGRADO Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE	110

4.6. DETERMINACIÓN DE INDICADORES SANGUÍNEOS DE BIENESTAR ANIMAL	111
4.6.1. DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE	112
4.6.2. DETERMINACIÓN DE LACTATO EN SANGRE	113
4.6.3. DETERMINACIÓN DE CORTISOL EN SANGRE.....	113
4.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO RESIDUAL EN SANGRE EN PIEZAS ANATÓMICAS	114
4.8. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD CÁRNICA.....	116
4.8.1. METODOLOGÍA PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS DE PECHUGAS.....	117
4.8.2. DETERMINACIÓN pH Y TEMPERATURA	118
4.8.3. DETERMINACIÓN DEL COLOR	119
4.8.4. DETERMINACIÓN CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA.....	120
4.8.4.1. DETERMINACIÓN DE LAS PÉRDIDAS POR GOTEO.....	120
4.8.4.2. DETERMINACIÓN DE LAS PÉRDIDAS POR COCINADO	120
4.8.5. DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA	121
4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	121
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	127
5.1. CAPÍTULO I: EFECTO DEL SISTEMA DE ATURDIMIENTO CON CO ₂ SOBRE EL NIVEL DEL DESANGRADO DE LAS PIEZAS ANATÓMICAS DE MAYOR VALOR COMERCIAL	127
5.2. CAPÍTULO II: EFECTO DEL SISTEMA DE ATURDIMIENTO CON CO ₂ , EL SEXO Y EL PESO SOBRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL BIENESTAR DURANTE EL SACRIFICIO DEL PAVO.....	139
5.3. CAPÍTULO III: RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE BIENESTAR Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE PAVO.....	157
5.4. CAPÍTULO IV: EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN ENRIQUECIDA CON AJO EN EL DESANGRADO DEL ANIMAL.....	165

6. CONCLUSIONES GENERALES	177
7. BIBLIOGRAFÍA.....	181
8. ANEXOS.....	199

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la producción mundial de carne fresca de pavo.	43
Figura 2. Evolución de producción de carne de pavo desde 2010 a 2017.....	44
Figura 3. Evolución anual del consumo nacional de miles de kg de carne fresca de pavo.	46
Figura 4. Esquema de la respuesta general del estrés.....	87
Figura 5. Reacción enzimática de la formación de Alicina.	93
Figura 6. Esquema de distribución de las analíticas de calidad cárnica realizadas sobre la pechuga de pavo.	118
Figura 7. Histograma del peso canal (kg) en el conjunto de pavos estudiados.	166
Figura 8. Histograma del peso canal (kg) de los pavos alimentados con una dieta comercial (grupo control).	167
Figura 9. Histograma del peso canal (kg) de los pavos alimentados con una dieta enriquecida con extracto de ajo (grupo experimental).	167
Figura 10. Histograma del contenido de glucosa en sangre del conjunto de pavos estudiados.	169
Figura 11. Histograma del contenido de glucosa en sangre en pavos alimentados con la dieta control.	169
Figura 12. Histograma del contenido de glucosa en sangre en pavos alimentados con una dieta enriquecida con ajo.	170
Figura 13. Histograma de distribución del contenido de lactato en sangre del conjunto de pavos estudiados.	171
Figura 14. Histograma del contenido de lactato en sangre de pavos alimentados con una dieta comercial.....	172
Figura 15. Histograma del contenido de lactato en sangre de pavos alimentados con una dieta enriquecida con extracto de ajo.	172

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Raza Bronceado americano.	50
Imagen 2. Raza Blanco de Holanda.....	51
Imagen 3. Raza Narragansett.....	51
Imagen 4. Raza negra	52
Imagen 5. Raza Ardesia.....	52
Imagen 6. Raza Blanco Beltsville.....	53
Imagen 7. Raza Rojo de Bourbon.....	53
Imagen 8. Raza Bronceado gigante.	54
Imagen 9. Raza Blanco gigante.	54
Imagen 10. Ajuste del comedero (izquierda) y del bebedero (derecha) en granja.	64
Imagen 11. Ilustración defectos durante el aturdimiento eléctrico en aves.	75
Imagen 12. Principales componentes de un aturdimiento eléctrico convencional.	76
Imagen 13. Glucómetro	112
Imagen 14. Analizador de lactato.	113
Imagen 15. Puntuación 0 en pechuga y contramuslos.....	115
Imagen 16. Puntuación 1 en pechugas y contramuslos.	115
Imagen 17. Puntuación 2 en pechugas y contramuslos.	115
Imagen 18. Puntuación 3 en pechugas y contramuslos.	116
Imagen 19. Puntuación 4 en pechugas y contramuslos.	116
Imagen 20. pHmetro portátil	118
Imagen 21. Espectrofotómetro portátil.....	119
Imagen 22. Texturómetro	121

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Empresas productoras de pavos a nivel mundial.....	45
Tabla 2. Clasificación taxonómica.	49
Tabla 3. Recomendaciones de piensos en función de la edad y sexo del animal.....	60
Tabla 4. Recomendaciones de la molienda, granulación y presentación de los piensos.	61
Tabla 5. Composición porcentual de materias primas para piensos.....	62
Tabla 6. Temperatura y humedad óptima para desarrollo de los pavos.	65
Tabla 7. Consumo diario aproximado de pienso, peso vivo, ganancia media diaria y FCR acumulado en pavo hembra por semanas.	69
Tabla 8. Consumo diario aproximado de pienso, peso vivo, ganancia media diaria y FCR acumulado en pavo macho por semanas.....	70
Tabla 9. Parámetros de aturdimiento eléctrico para pavos.....	74
Tabla 10. Principales compuestos azufrados del ajo y sus actividades biológicas.....	92
Tabla 11. Compuestos no azufrados del ajo y sus actividades biológicas.	92
Tabla 12. Parámetros de crecimiento de pavos machos de la estirpe BUT Premium en función de la edad. Fuente: Aviagen Turkeys.	101
Tabla 13. Parámetros de crecimiento de pavos hembras de la estirpe BUT Premium en función de la edad. Fuente Aviagen Turkeys.	102
Tabla 14. Composición de los piensos en la fase de recría y cebo.....	105
Tabla 15. Valores nutricionales del pienso suministrado en fase de recría y cebo.	106
Tabla 16. Concentración de CO ₂ y tiempo de aplicación en cada una de las recetas de aturdimiento para cada uno de los tres tipos comerciales estudiados.....	109
Tabla 17. Puntuación del tipo de reacción y síntomas tras aturdimiento.	110
Tabla 18. Puntuación del nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes, machos pequeños y hembras) según la receta de aturdimiento.	129
Tabla 19. Nivel de desangrado en pechuga. Prueba Chi ² para recetas de aturdimiento en conjunto y según los distintos tipos comerciales (machos grandes, machos pequeños y hembras).	133
Tabla 20. Puntuación del nivel de desangrado del contramuslo de pavos (machos grandes, machos pequeños y hembras según la receta de aturdimiento).	134

Tabla 21. Nivel de desangrado en contramuslo. Prueba Chi ² para recetas de aturdimiento en conjunto y según los distintos tipos comerciales (machos grandes, machos pequeños y hembras).	135
Tabla 22. Efectividad del aturdimiento con dos tipos de aturdimiento por CO ₂ en pavos B.U.T Premium.	140
Tabla 23. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi ² para la comparación de recetas.	141
Tabla 24. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de machos grandes.	141
Tabla 25. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de machos pequeños.	142
Tabla 26. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de hembras.	142
Tabla 27. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi ² para la comparación de tipo comercial.	143
Tabla 28. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi ² para la comparación de tipo comercial en la receta G1.	143
Tabla 29. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi ² para la comparación de tipo comercial en la receta G2.	143
Tabla 30. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO ₂ en pavos.	144
Tabla 31. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO ₂ según la receta G1 en pavos.	145
Tabla 32. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO ₂ según la receta G2 en pavos.	145
Tabla 33. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO ₂ en pavos.	146
Tabla 34. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO ₂ según la receta G1 en pavos.	147
Tabla 35. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO ₂ según la receta G2 en pavos.	147
Tabla 36. Medias mínimo cuadráticas de los niveles basales de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en sangre obtenidos en granja en función del tipo comercial.	147
Tabla 37. Medias mínimo cuadráticas de los niveles de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en sangre obtenidos en reposo tras el transporte desde la granja al matadero en función del tipo comercial.	149

Tabla 38. Medias mínimo cuadráticas de los niveles de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en sangre obtenidos tras el aturdimiento y degüello en función del tipo comercial.	151
Tabla 39. Efecto del procedimiento de aturdimiento por CO ₂ en los niveles sanguíneos de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en pavos.	152
Tabla 40. Estadísticos descriptivos de la canal y de la carne de 150 pavos B.U.T. Premium a 20 minutos (0), 24 horas (24h) y 7 días (7d) post-mortem.	157
Tabla 41. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la canal y de la carne de pavos aturdidos con CO ₂	158
Tabla 42. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne de pavos aturdidos con CO ₂	159
Tabla 43. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne de pavos aturdidos con CO ₂	160
Tabla 44. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne madurada durante 7 días de pavos aturdidos con CO ₂	161
Tabla 45. Valores medios del peso canal e indicadores sanguíneos de estrés (glucosa y lactato) en pavos machos grandes alimentados con una ración control o experimental (con ajo).	165
Tabla 46. Puntuación del nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes) según la dieta (control vs experimental).	173
Tabla 47. Efecto de la dieta (control vs experimental) en el nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes).	173
Tabla 48. Puntuación del nivel de desangrado de los contramuslos de pavos (machos grandes) según la dieta (control vs experimental).	174
Tabla 49. Efecto de la dieta (control vs experimental) en el nivel de desangrado de los contramuslos de pavos (machos grandes).	174

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ABEI: Amino-butil-etil-isoluminol

aC: Antes de Cristo.

ADP: Adenosín difosfato.

ATP: Adenosín trifosfato.

AVMA: American Veterinary Medical Association.

BUT: British United Turkey Limited

CE: Comisión Europea.

CEE: Comunidad Económica Europea.

CO: Monóxido de carbono.

CO₂: Dióxido de carbono.

CoA: Coenzima A.

DADS: Dialil disulfuro.

DAT: Dialilo

dC: Después de Cristo.

DDGS: Granos de destilería desecados con solubles

dL: Decilitro.

dm³: Decímetro cubico.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

E: Edad del animal en el momento del sacrificio.

EEUU: Estados Unidos.

EEG: electroencefalograma.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization.

FAWC: Farm Animal Welfare Council.

FEDNA: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

FITC: Fluoresceína isotiocianato.

g: Gramos.

G: Tipo de tratamiento en el aturdimiento y tiempo de desangrando de los animales.

HDL: Lipoproteína de alta densidad.

HPA: Hipotálamo-pituitaria-adrenocortical.

Hz: Hercio.

kg: Kilogramo.

Km: Kilómetro.

LDL: Lipoproteína de baja densidad.

m²: Metro cuadrado.

mA: Miliamperio.

MAPAMA: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

Min: Minutos.

Mm: milímetro

Mmol: Milimol.

N₂: Nitrógeno.

NH₃: Amoníaco.

NRC: National Research Council.

O₂: Oxígeno.

PAF: Factor activador de plaquetas.

PB: Proteína bruta.

Ppm: Partes por millón.

PSE: Pálida, blanda y exudativa.

RD: Real Decreto

Receptor GP: Glicoproteína.

RLU: Unidades Relativas de Luz.

S: Segundos.

Ton: Toneladas.

UE: Unión Europea.

UK: Reino Unido.

UNESCO: Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la
Cultura.

µg: Microgramo.

Fe: Hierro.

Cu: Cobre.

Zn: Zinc.

Mn: Manganese.

I: Iodo.

FCR: Feed Conversion Rate (factor de conversión).

RESUMEN

RESUMEN

La preocupación por el impacto de las prácticas ganaderas sobre el bienestar animal se ha incrementado en los últimos tiempos, iniciándose durante la industrialización y urbanización humana en el siglo XIX. El principal foco de atención en temas de bienestar animal de los medios públicos, políticas, científicos y organizaciones se ha centralizado en las producciones bajo condiciones industriales. A partir de estos hechos, han surgido diversas legislaciones y procedimientos que protegen y preservan las diversas prácticas durante todas las fases relacionadas con manejo del animal desde el nacimiento o eclosión hasta su sacrificio.

Numerosas medidas han sido exigidas por las autoridades para conseguir y asegurar una praxis de calidad en las diferentes granjas, mataderos y servicio logísticos por los que los animales han pasado.

A pesar del éxito de los programas de control implantados por las autoridades, existen diferentes etapas que son propensas a generar un mayor nivel de angustia y sufrimiento al animal. La fase de aturdimiento previa al sacrificio es una de las etapas críticas para el animal. Actualmente los objetivos de la comunidad científica están en validar los mejores sistemas de aturdimiento en cuanto al bienestar animal y posterior calidad de la canal y de la carne. El sistema de aturdimiento por gas desde que fue estudiado e incorporado a las líneas de sacrificio avícola ha aportado numerosos beneficios a la calidad cárnica. Esto se ha debido, entre otras cosas, a la mejora del bienestar animal durante esta fase.

Como parte de esta tesis doctoral y dada la preocupación por parte de la comunidad empresarial por la desvalorización económica de ciertas piezas suscitada por manejos ineficientes en etapas *antemortem*, se propone también ampliar el conocimiento de la relación que existe entre la calidad cárnica y el bienestar animal basándonos fundamentalmente en una de las etapas más estresantes para el individuo.

El principal objetivo perseguido durante el Capítulo 1 de la tesis fue evaluar el nivel de presencia de restos sanguíneos en las piezas de mayor valor comercial en función del tipo de aturdimiento que se realizó en los distintos tipos de animales. En el conjunto de animales estudiados, la nota más frecuente de desangrado de la pechuga fue 1 (presencia leve de sangre en las venas), con una calificación media de 1.9 y 2.2 para las recetas G1 y G2, respectivamente, si bien las diferencias no alcanzaron significación estadística. En

este estudio se comprobó que los mejores niveles de desangrado de la pechuga fueron obtenidos en aquellos animales en los que la efectividad del aturdimiento fue menos eficiente. Además, se observó que el grupo de machos gordos fue el que presentaba un peor nivel de desangrado en pechugas. La nota media de desangrado fue 2.1, 1.3 y 0.96 para machos grandes, machos pequeños y hembras respectivamente. Sin embargo, las diferencias no alcanzaron significación estadística.

En los contramuslos, la nota de desangrado más frecuente fue 1 (80.6%) para el conjunto de animales, así como en las dos recetas de aturdimiento utilizadas (80.0% y 81.3% para G1 y G2, respectivamente). La nota media de desangrado de los contramuslos fue 1.04 y 1.21 para las recetas G1 y G2, con tendencia a la significación estadística. La nota media de desangrado fue 1.48, 0.88 y 1.08 para machos grandes, machos pequeños y hembras, respectivamente. La receta tuvo influencia significativa sólo en el nivel de desangrado de los machos pequeños.

El segundo Capítulo de la presente tesis se centró fundamentalmente en observar el comportamiento del animal frente a los dos procedimientos de aturdimiento por CO₂ analizados. Igualmente, se determinaron los valores en sangre de los principales parámetros de estrés (glucosa, lactato y cortisol) en distintos momentos (en granja, en matadero tras el transporte y tras el sacrificio). En el conjunto de animales, el 12% quedaron conscientes o semiconscientes, el 76% de ellos fueron correctamente aturdidos (insensibilidad reversible), en tanto que el porcentaje de animales calificados con insensibilidad irreversible (muerte) fue del 12%. La receta G2 produjo un mayor porcentaje de animales correctamente aturdidos (81.3%) y muertos (16%) respecto a lo registrado en la receta G1 (70.6% y 8.0%, respectivamente), con diferencias significativas entre recetas. Cuando analizamos el efecto de la receta en el nivel de desangrado en cada uno de los tipos comerciales utilizados, comprobamos que las diferencias sólo alcanzaron significación estadística en los machos pequeños y hembras, no así en los machos grandes. El tipo comercial tuvo influencia significativa en el nivel de aturdimiento, con notas medias de 2.3, 1.96 y 1.7 para machos grandes, machos pequeños y hembras, respectivamente. En machos grandes se observaron un mayor porcentaje de animales correctamente aturdidos y muertos que en el resto de los tipos comerciales estudiados.

En granja se encontraron diferencias significativas en el nivel sanguíneo de glucosa y cortisol (significativamente menores en machos grandes con respecto al resto de los tipos

comerciales estudiados), mientras que tras el transporte y en la fase previa al sacrificio los machos grandes fueron los que presentaron el menor nivel de glucosa y las hembras el mayor contenido en lactato, no encontrándose diferencias significativas entre tipos comerciales en el nivel sanguíneo de cortisol. Tras el aturdimiento y degüello, hubo diferencias significativas entre los tres tipos comerciales para los parámetros de estrés estudiados: los machos grandes presentaron los niveles más altos de glucosa y cortisol, así como el de lactato si bien para este parámetro no hubo diferencias significativas con los machos pequeños. La receta de aturdimiento sólo tuvo efecto significativo en los niveles sanguíneos de cortisol, menor en los animales aturdidos con la receta G2.

En el Capítulo 3 se valoró la relación entre los parámetros de bienestar y la calidad de la carne. Igualmente, se evaluó la evolución de los principales parámetros de calidad de la carne con el tiempo de maduración. En general, se encontraron escasas relaciones significativas entre los parámetros sanguíneos de estrés y los de calidad de la carne tras el sacrificio y después de una semana de maduración.

Por último, en el cuarto Capítulo se analizó la influencia de la adición de ajo en la dieta sobre el nivel de desangrado de la pechuga y contramuslos de los tres tipos comerciales de pavos estudiados. Así mismo, se evaluó el nivel sanguíneo de parámetros de estrés (glucosa y lactato) en función de la dieta suministrada a los animales objeto de estudio. La dieta tuvo influencia significativa en el nivel de lactato (mayor en animales alimentados con la dieta experimental). En el conjunto de animales, las notas de desangrado de la pechuga más frecuentes fueron 1 (45.1%) y 2 (27.5%), con notas medias de 1.12 y 0.72 para el grupo de animales alimentados con la dieta control y experimental, respectivamente. En el análisis del nivel de desangrado de los contramuslos, las notas más frecuentes fueron 1 (64.7%) y 2 (21.6%), con notas medias de 0.84 y 0.74 para los animales alimentados con la dieta control y experimental, respectivamente. La alimentación no tuvo influencia significativa en el nivel de desangrado de los contramuslos.

SUMMARY

The human concern about the impact of livestock practices on animal welfare, originated during industrialization and urbanization processes in the 19th century, has grown in recent times. The main attention on animal welfare issues of public media, policies, scientists and organizations has been focused on production under industrial conditions. From these facts, various laws and regulations that protect and preserve practices during all steps related to animal management from birth or hatching to slaughter have emerged.

Numerous measures have been demanded by the authorities to obtain and ensure praxis of quality in the different farms, slaughterhouses and logistic services through which the animals have passed.

Despite the success of the control programs implemented by the authorities, there are different stages that are prone to generate a greater level of distress and discomfort to the animal. The stunning phase prior to slaughter is one of the critical stages for the animal. Currently the objectives of the scientific community are to validate the best stunning systems in terms of animal welfare and subsequent quality of the carcass and meat. The gas stunning system has brought numerous benefits to quality of meat since it was studied and incorporated into the poultry slaughter lines. This fact has been due, among other things, to the improvement of animal welfare during this phase.

As part of this doctoral thesis and given the concern of the business sector about the economic devaluation of certain pieces caused by inefficient management in *antemortem* stages, it is further proposed to broaden the knowledge of the relationship between meat quality and animal welfare based on one of the most stressful stages for the individual.

The main objective pursued during Chapter 1 of the thesis was to evaluate the level of presence of blood in the pieces of higher economic value depending on the stunning method that was performed at the different commercial categories of animals. For the population studied, the most frequent bleeding grade at the breast was 1 (slight presence of blood in veins), with an average rating of 1.9 and 2.2 for recipes G1 and G2, respectively, although the differences do not reach statistical significance. In this study it was found that the best bleeding grade at the breast was obtained in those animals in which the effectiveness of stunning was less efficient. In addition, it was observed that the category “large males” was the one that presented the worst bleeding grade at breast.

The average bleeding grade was 2.1, 1.3 and 0.96 for large males, small males and females respectively. However, the differences did not reach statistical significance.

The most frequent bleeding grade at thighs was 1 (80.6%) for all commercial categories, as well as in the both stunning recipes used (80.0% and 81.3% for G1 and G2, respectively). The average bleeding score at the thigh was 1.04 and 1.21 for recipes G1 and G2, with a tendency towards statistical significance. The average bleeding score was 1.48, 0.88 and 1.08 for large males, small males and females, respectively. The recipe had significant influence only on the bleeding degree of small males.

The second Chapter of this thesis focused primarily on observing the animal's behavior against the two CO₂ stunning methods analyzed. Likewise, blood values of the main stress parameters (glucose, lactate and cortisol) were determined at different times (on farm, at the slaughterhouse after transport and after slaughter). For the entire population, the 12% were conscious or semi-conscious, the 76% of them were correctly stunned (reversible insensitivity), while the percentage of animals with irreversible insensitivity (death) was the 12%. The G2 recipe produced a higher percentage of correctly stunned (81.3%) and dead (16%) animals than what it was recorded for the G1 recipe (70.6% and 8.0%, respectively), with significant differences between recipes. When we analyze the effect of the recipe on the level of bleeding for each commercial category used, we found that the differences only reached statistical significance in small males and female turkeys, but not in large males. The commercial category had a significant influence on the stunning degree, with average score of 2.3, 1.96 and 1.7 for large males, small males and females, respectively. In large males, a higher percentage of animals were correctly stunned and killed than in the remain commercial categories studied.

Significant differences were found in blood glucose and cortisol level at farm (significantly lower in large males than in the remain commercial categories studied), while after transport and the pre-slaughter stage, large males were the ones who presented the lowest glucose level and the females the highest lactate content, without finding significant differences between commercial categories in the blood level of cortisol. There were significant differences between the three commercial categories for the stress parameters studied after the stunning and beheading: large males had the highest glucose and cortisol levels, as well as lactate levels, although for this parameter there were no

significant differences with the small males. The stunning recipe only had a significant effect on cortisol blood levels, and was lower for animals stunned with the G2 recipe.

In Chapter 3, the relationship between welfare parameters and meat quality was assessed. Likewise, the evolution of the main parameters of meat quality with ageing time was evaluated. In general, few significant relationships were found between blood stress parameters and meat quality parameters after slaughter and after a week of ageing.

Finally, in Chapter 4 the influence of the addition of garlic in the diet on the level of bleeding of the breast and thigh of the three commercial categories of turkeys studied was analyzed. Likewise, the blood level of stress parameters (glucose and lactate) was evaluated according to the diet supplied to the animals under study. The diet had a significant influence on the level of lactate (higher in animals fed the experimental diet). In the group of animals, the most frequent breast bleed notes were 1 (45.1%) and 2 (27.5%), with average scores of 1.12 and 0.72 for the group of animals fed with the control and experimental diet, respectively. In the analysis of the level of bleeding of the thigh, the most frequent scores were 1 (64.7%) and 2 (21.6%), with average scores of 0.84 and 0.74 for animals fed the control and experimental diet, respectively. The diet had no significant influence on the bleeding level of the thigh.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, el punto de venta de productos alimenticios era el pequeño comercio que ofrecía al consumidor piezas troceadas y envasadas en el acto. El cambio de los hábitos de compra de los consumidores, influenciados por los cambios en el estilo de vida en los últimos tiempos, junto a la creciente tendencia en formatos de venta tipo loncheados y en porciones ha generado un aumento de la cuota de mercado de esta gama de productos ofrecida en las grandes superficies. La producción de este tipo de productos ha crecido en 2018 un 1.9 % en comparación con el año anterior.

Para las empresas es fundamental controlar los factores que afectan a la decisión de compra de los productos que ofertan a los consumidores. Uno de estos factores de decisión viene determinado por el aspecto físico del alimento expuesto en el lineal de conservación. Por tanto, la calidad visual y primera impresión del alimento debe ser vital, por lo que las empresas ponen todos sus esfuerzos en conseguir atraer y persuadir al consumidor en el acto de compra del producto que suministra.

Los consumidores cada vez son más exigentes, y la presencia de coágulos o restos de sangre en el producto final supone una de las principales causas de rechazo por el consumidor en el caso de la carne fresca de pavo. Los problemas en el desangrado de la canal constituyen uno de los factores desencadenantes de este grave defecto que para el consumidor provoca el rechazo a la hora de la compra, eligiendo aquellas piezas en las que presente una mejor calidad visual y no aparezcan restos de sangre.

La empresa es consciente de que las pérdidas económicas, por un inadecuado desangrado del animal, son bastante elevadas, por lo que es fundamental conocer en profundidad cada uno de los factores que afectan al correcto desangrado del animal. La merma generada por la devaluación de piezas de alto valor comercial con restos sanguíneos genera un alto interés de estudio.

Son numerosas las empresas que consideran este defecto un punto de control crítico dentro de sus estándares de calidad y por ello establecen criterios y procedimientos para detectar estas incidencias antes de poner su producto a la venta. De esta forma seleccionan la materia prima utilizada evaluando el contenido de sangre de las diferentes piezas, de forma que no pueda afectar al producto final. Las mermas generadas por el rechazo del

producto (lonchas, filetes, taqueado) afectado con motas de sangre supone unas pérdidas económicas muy importantes para la empresa.

Dada la repercusión y la importancia que tiene todo lo anteriormente descrito, es primordial hallar las causas de un inadecuado o no completo desangrado del animal y establecer las bases de las mejoras que pueden realizarse para erradicar el problema.

Las bases científicas que describen el manejo del sector avícola, particularmente, el de los pavos, son escasas para fundamentar una solución a la problemática planteada en las diversas empresas de este sector. Es por ello, que el reconocimiento de las buenas prácticas de manejo de esta población permitirá un avance y crecimiento de la rentabilidad del sector.

La presencia de hematomas, roturas de alas, dislocaciones, rozaduras en la epidermis, presencia de plumas, insuficiente desangrado, características que reducen la calidad de las piezas, pueden reducirse con correctos hábitos de manejo de los animales en las diferentes etapas de su ciclo productivo.

La actual tendencia ecologista animalista que los consumidores van exigiendo al mercado ha hecho que, cada vez sean más las empresas que incluso certifican sus buenas prácticas de manejo de los animales a lo largo de toda la cadena basadas en la observación del animal para evaluar los 4 principios: adecuada alimentación, buen alojamiento, buena salud y comportamiento apropiado.

Por todo lo anteriormente descrito, surge la necesidad de conocer la influencia de las diferentes variables como la evaluación postmortem del nivel de estrés generado durante el aturdimiento con distintos fases porcentajes de gases (Gerritzen et al., 2000), así como la dieta enriquecida con ajo (Chan et al., 2007) y el tipo comercial (Damaziak et al., 2017) en el correcto desangrado del animal y consiguiente valoración comercial de la canal y piezas cárnicas. La **hipótesis** de la presente tesis por tanto será que todos estos factores puedan influir sobre el bienestar y la calidad de la canal y la carne.

El **propósito** principal que se persigue durante todo el desarrollo de la tesis doctoral consiste en valorar el nivel de estrés del animal generado por las condiciones de aturdimiento gaseoso en diferentes tipos comerciales de pavo (pavo grande, pavo pequeño, pavita), comprobar la relación existente entre estrés y calidad de la canal y de

la carne, así como evaluar la eficacia de la alimentación con compuestos enriquecidos procedentes del ajo sobre el desangrado de las canales.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. Evaluar en los distintos tipos de pavos comerciales la influencia del sistema de aturdimiento con CO₂ sobre la eficacia del desangrado de las piezas de mayor valor económico como son la pechuga y el contramuslo.
2. Evaluar en los distintos tipos de pavos comerciales la efectividad y el efecto del procedimiento de aturdimiento por CO₂ sobre los niveles sanguíneos de los principales parámetros indicadores de estrés.
3. Evaluar la relación entre parámetros indicadores de estrés durante el aturdimiento con dióxido de carbono en la calidad final de la canal y de la carne de pavo.
4. Evaluar la influencia de una dieta para pavos adicionada con compuestos activos del ajo (*Allium sativum*) en el nivel de desangrado de las piezas de mayor valor comercial como son la pechuga y el contramuslo.

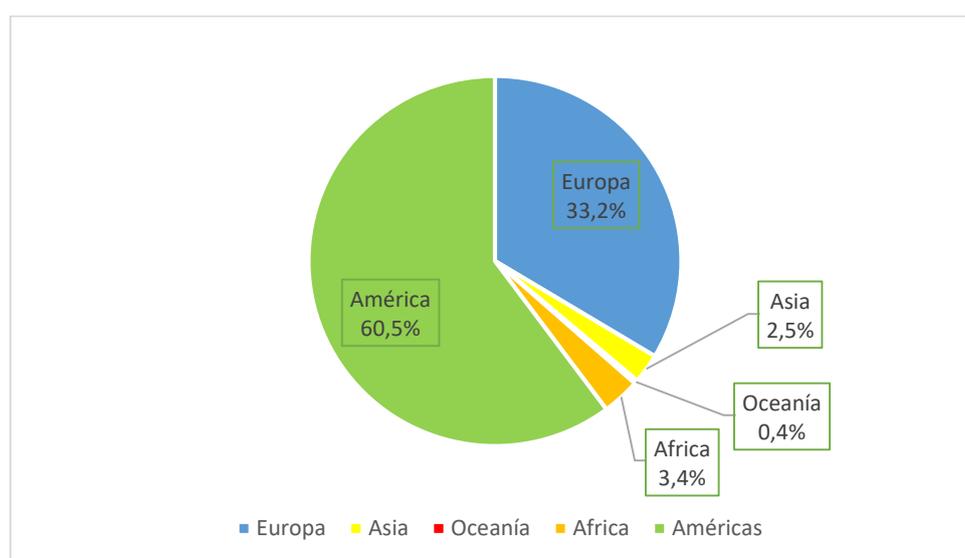
REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. IMPORTANCIA DE LA PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE PAVO EN EL MUNDO

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2019), la producción mundial de carne de pavo ha aumentado de forma significativa en los últimos años alcanzando en 2017 un volumen de 5.948.197 toneladas.

En cuanto a la producción mundial de carne de pavo (2017) por continentes, EEUU. produjo un total de 3.600.282 Tm de carne de pavo, liderando el mercado con una producción del 60.5% de la producción mundial. A Estados Unidos de Norteamérica le sigue Europa con un 33.2% de la producción mundial, siendo Alemania con 465.598 Tm, Francia con 404.032 Tm, Italia con 308.625 Tm y España con 197.887 Tm producidas. El resto de los continentes representa un pequeño volumen en el conjunto, ya que África tiene una producción de únicamente 202.558 Tm, Asia 148.743 Tm y Oceanía 23.495 Tm.

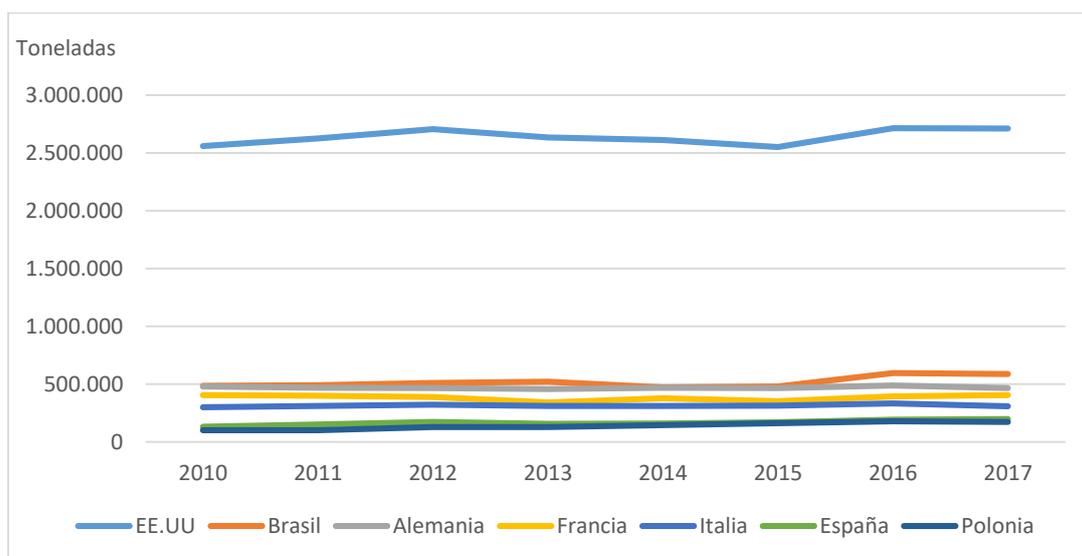


(Fuente: FAO, 2019)

Figura 1. Distribución de la producción mundial de carne fresca de pavo.

La producción de carne de pavo en Estados Unidos desde el año 2010 al año 2017 ha tenido un incremento de 152.564 Tm, lo que supone un porcentaje de aumento 5.96% y alcanzando una cifra de 2.712.772 kg en el último año. EE.UU. es el país con mayor tradición de producción, comercio y consumo de pavo, formando este alimento parte de los hábitos de consumo de los estadounidenses. Incluso el pavo se convierte en un símbolo gastronómico en este país siendo mundialmente reconocido el famoso día de Acción de Gracias por el elevado consumo de este producto (Montoya et al., 2015).

De los 7 países punteros en producción mundial de carne de pavo, el país con mayor incremento productivo ha sido Polonia con un crecimiento del 71.45%, situándose en una producción de 171.445 kg en 2017. España le sigue en cuanto a crecimiento con un 52.96%, seguido de Brasil con un 20.86% y EE. UU. con un incremento del 5.96%. Sin embargo, Francia siendo el cuarto país productivo a nivel mundial, ha reducido levemente la producción en 2017 frente al 2010 obteniendo unas cifras productivas de 404.032 kg en el último año del periodo señalado. España ha sido uno de los países en los que se ha producido un incremento gradual de la producción anual de pavo en el periodo 2013 - 2017. El resto de los países anteriormente comentados han tenido ligeros descensos en algunos de los años de la franja comentada. La evolución de la producción de carne de pavo de los principales países productores a nivel mundial se encuentra gráficamente expresada en la Figura 2.



(Fuente: FAO, 2019)

Figura 2. Evolución de producción de carne de pavo desde 2010 a 2017.

Las empresas que encabezan la producción de carne de pavo a nivel mundial se encuentran reflejadas en la Tabla 1 (MAPAMA, 2014). Butterball LLC, situada en Carolina del Norte (EE. UU.), es la empresa que lidera la producción avícola de pavo con un 8.95% de la cuota productiva.

Tabla 1. Empresas productoras de pavos a nivel mundial.

EMPRESA	PAÍS	UNIDADES/AÑO	%
Butterball LLC	EE. UU.	49.242.424	8.95%
Jennie-O Turkey Store	EE. UU.	48.484.848	8.82%
Cargill Turkey & C Meats	EE. UU.	37.878.788	6.89%
LCD	Francia	20.800.000	3.78%
BRF Brasil Foods, S.A.	Brasil	19.272.000	3.50%
Farbest Foods 1	EE. UU.	18.712.121	3.40%
Heidemark	Alemania	16.640.000	3.03%
AIA	Italia	14.040.000	2.55%
Tyson Foods	EE. UU.	12.045.455	2.19%
Perdue Farms INC.	EE. UU.	11.325.758	2.06%
Procavi	España	10.700.000	1.95%
Kraft Foods	EE. UU.	10.606.061	1.93%
Amadori	Italia	9.900.000	1.80%
Bernard Matthews	Reino Unido	9.600.000	1.75%
Virginia Poultry G. Coop	EE. UU.	9.469.697	1.72%
Resto		251.282.848	45.69%

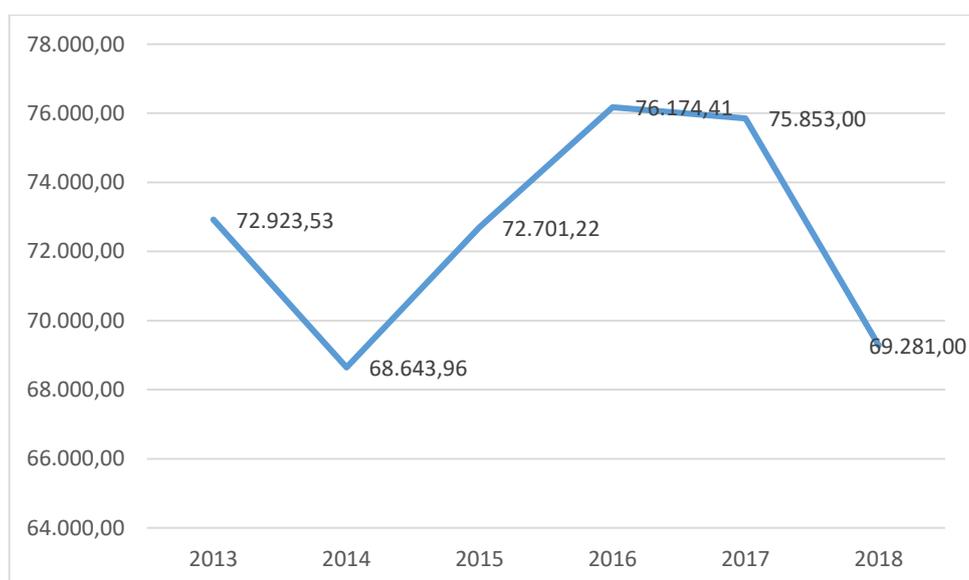
(Fuente: MAGRAMA, 2014; Watt Poultry 2014)

3.2. CONSUMO NACIONAL DE CARNE DE PAVO

Actualmente, la cría de aves para producción de carne es una de las actividades ganaderas más importantes de nuestro país. La producción de carne de pavo ha experimentado un crecimiento continuado durante las últimas décadas, proliferando explotaciones avícolas con distintas orientaciones y especializaciones dentro del sector.

Hasta hace unos años, el consumo de pavo en España estaba directamente relacionado con celebraciones y festividades, especialmente en la época de Navidad. Esta situación ha cambiado dado que los hábitos alimentarios que se están adquiriendo van encaminados a conseguir dietas más saludables y equilibradas. La carne de pavo se caracteriza principalmente por tener un bajo poder calórico siendo una de las carnes con menor porcentaje de grasa por lo que cubre las necesidades nutricionales que el mercado está demandando.

Según los datos estadísticos ofrecidos por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA), el consumo de carne de ave fresca ha aumentado en 2018 de 33.1 a 34.2 kg/habitante/año con respecto al año anterior (MAPAMA, 2019). Sin embargo, tras varios años de esplendor, el consumo de carne fresca de pavo se ha visto disminuido considerablemente durante el último año. Desde el año 2013 hasta el 2017 ha habido un incremento del consumo de carne de pavo del 4%. No obstante, en el periodo del 2017 al 2018, los hogares españoles han consumido un total de 6.6 Tm menos de carne de pavo que el año anterior, lo que supone un consumo per cápita de 1.52 kg con respecto a 1.68 kg en el 2017 (MAPAMA, 2019). La evolución del consumo nacional de carne fresca de pavo se presenta en la Figura 3.



(Fuente: MAPAMA, 2019)

Figura 3. Evolución anual del consumo nacional de miles de kg de carne fresca de pavo.

Respecto a la producción ganadera del año 2017, hay que destacar que en España se han producido un total de 4.298.893 Tm de carne de cerdo, frente a 1.317.487 Tm de pollo, 643.861 Tm de vacuno y 197.887 Tm de carne de pavo, mientras que la producción nacional de carne de ovino y caprino generó un total de 115.114 Tm y 10.713 Tm, respectivamente (FAOSTAT, 2019). Por tanto, la carne de pavo se ha convertido en la cuarta explotación ganadera del sector cárnico.

3.3. LA ESPECIE *MELEAGRIS GALLOPAVO*

3.3.1. ORIGEN E HISTORIA DEL PAVO

Todas las fuentes bibliográficas confirman que el pavo es originario de Centro América, donde era conocido con el nombre de Guajolote (*Meleagris gallopavo gallopavo*), cuyo significado parece ser “gran monstruo”. Esta ave era reconocida por unos 20 tipos de nombres diferentes, tales como; chompipe, cócono, gallina de papada, gallo de la India, guanajo, turkey, turquía, totollín, entre otros.

Los principales fósiles encontrados se hallaron en el norte y centro de México y en el sur de Estados Unidos. Los fósiles del centro de México datan del 800-100 a.C., pero no se ha podido identificar si proceden de animales domesticados o salvajes (Thornton et al., 2012). El pavo era conocido 500 años antes del descubrimiento de América por los europeos, y fue domesticado por los Mayas y los Aztecas, aunque parece haber cierta discrepancia en cuanto al lugar de inicio de los primeros centros de domesticación. Ciertos estudios indican que fue en la primera mitad del Periodo Clásico (200-1000 dC) cuando se realizó la domesticación del pavo. Uno de los factores determinantes para la domesticación del pavo salvaje fue el desarrollo de la agricultura, fuente de alimento y agua (Canul et al., 2011).

Los pavos no solo eran una fuente de alimento para los mayas, sino que también eran usados como importantes ofrendas de sacrificio. Sus plumas, huesos y otros subproductos se usaban para producir medicinas, abanicos, herramientas, instrumentos musicales y adornos personales (Thornton et al., 2012).

Los pavos domésticos de América Latina procedían del *Meleagris gallopavo gallopavo*, considerada la especie salvaje de México. Esta subespecie fue traída a Europa y Norteamérica, que, junto con otra salvaje, *Meleagris gallopavo sylvestris*, fue cruzada dando lugar a todos los pavos comerciales que hoy día se conocen (Canul et al., 2011). Por tanto, los pavos domésticos de América Latina proceden exclusivamente de *Meleagris gallopavo*, mientras que el resto proceden del cruce de *Meleagris gallopavo* x *Meleagris gallopavo sylvestris* (Crawford, 1992).

Los primeros pavos que llegaron al continente europeo lo hicieron a mediados del siglo XVI (1519) a través de España, distribuyéndose posteriormente a otros países. Fueron los misioneros Jesuitas los responsables de ello y los primeros que comenzaron a domesticar el pavo en España al que llamaban “gallina de indias”. Según algunos autores, el rey Fernando el Católico ordenó que, en todos los barcos procedentes de las Américas, debían cargar 5 pavos machos y 5 pavos hembras, lo que permitió una expansión rápida por todo el continente (Sañudo, 2013).

En Inglaterra, los pavos se introdujeron en 1521 a través de Turquía. Este puede ser el hecho por el cual pueda ser debido la denominación de este animal como “Turkey” (Cántaro et al., 2010).

3.3.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

En la Tabla 2 se presenta la clasificación taxonómica de las distintas subespecies de pavos que encontramos hoy en día.

Tabla 2. Clasificación taxonómica.

CATEGORÍA	TAXA	DESCRIPCIÓN
Reino	Animalia	Animales: Sistemas multicelulares que se nutren por ingestión.
Subreino	Bilateria	Bilaterales: Simetría bilateral.
Infrareino	Deuterostomia	Boca adulta es por neoformación.
Filo	Chordata	Cordados: Animales con médula espinal, o cordón nervioso.
Subfilo	Vertebrata	Vertebrados: Cordados con columna vertebral.
Infrafilo	Gnathostomata	Vertebrados con mandíbulas.
Superclase	Tetrapoda	Tetrápodos: Cuatro extremidades.
Clase	Aves	Aves: Vertebrados con plumas.
Subclase	Neornithes	Aves Verdaderas: Vértebras de la cola fundidas.
Superorden	Neognathae	Aves del Vuelo.
Orden	Galliformes	Gallos y aves afines.
Familia	Phasianidae	Gallos.
Subfamilia	Meleagridinae	Pavos.
Género	Meleagris	Pavos.
Especie	Gallopavo	Pavo Común.
Subespecie	Gallopavo	sur de México.
	Silvestris	centro y este de Estados Unidos.
	Mexicana	montañas de la meseta este y central de México.
	Intermedia	del norte de Texas al centro-este de México.
	Osceola	Florida
	Merriami	oeste de Estados Unidos.

(Fuente: Integrated taxonomic information system)

3.3.3. CLASIFICACIÓN RACIAL.

La FAO reconoce actualmente 78 razas diferentes de pavos, siendo las más importantes; el Bronceado americano, el Blanco de Holanda, el Narragansett, el Negro, el Slate, el Blanco de Beltsville, el Rojo de Bourbon, el bronceado gigante y el blanco gigante (Sañudo, 2013).

Bronceado americano. Esta raza es caracterizada porque físicamente tienen una gran semejanza con el pavo salvaje. Sus ejemplares se distinguen del resto de los pavos por el tamaño que alcanzan y la calidad de su carne. Los machos llegan a alcanzar unos 15-18 kg de peso y las hembras suelen pesar 10 kg.



(Fuente: <https://www.granjasantaisabel.com/>)

Imagen 1. Raza Bronceado americano.

Su estatura puede alcanzar hasta 1.10 metros, una longitud corporal de unos 60 centímetros y una envergadura que oscila entre 1.50 y 2.00 metros. Sus colores negro rojizo con reflejos rojo-verdoso en el cuello, pecho, grupa y parte inferior del abdomen, plumas blancas en alas, negras con periferia blanca en la cabeza y rojizas con reflejos azules en la parte superior del cuello, lo caracteriza. El pico es blanco amarillento; el iris de los ojos es castaño oscuro y la piel es blanca, pero puede amarillear con una alimentación adecuada. A cierta edad le aparece al pavo un fleco de cerdas en el pecho, a modo de pincel, al que se le llama “escobeta” o “corbata” (Sañudo, 2013; Bonilla y Díaz 1988).

Blanco de Holanda. Todo su plumaje es blanco a excepción de un mechón negro que le aparece en el pecho. El pico es blanco amarillento, el iris de los ojos es castaño oscuro y la piel es blanca. Tiene un peso de unos 10-15 kg en machos y 6-8 kg en hembras, mucho menor que en el Bronceado de América. Su explotación es la más considerada debido a sus plumas blancas (Bonilla y Díaz, 1988).



(Fuente:<https://misanimales.com/>)

Imagen 2. Raza Blanco de Holanda

Narragansett. Esta raza tiene su origen en Rhode Island, Estados Unidos. Tiene similitudes con el pavo Bronceado Americano, pero sin el bronceado y tonos rojos verdosos que lo caracterizan. Los principales colores de sus plumajes son negro, gris acerado mezclado con barras blancas. Las plumas del cuello son gris-pardo, recubren las negras; en la cola, son negras con bordes blancos; y en el pecho, son de color gris, también recubren a las negras; y en el dorso, son grises. Los tarsos son de color rojo-oscuro; el iris es marrón oscuro y la piel es blanca. Las hembras son más claras, con salpicaduras grises sobre el pecho y el abdomen. Esta raza de pavo produce una carne de alta calidad (Sañudo, 2013).



(Fuente: Wikipedia)

Imagen 3. Raza Narragansett

Raza negra. El plumaje es negro metálico con reflejos verdosos, tanto en machos como en hembras. El pico es gris oscuro; el iris de color muy oscuro; los tarsos con de tonalidad oscura (jóvenes) y rojo claro (adultos); la piel es blanca. Probablemente fueron los pavos negros los primeros que llegaron a España dado que se consideraban una rareza. Esta raza de pavos se desarrolló en Europa procedente de pavos de Reino Unido y los países mediterráneos (Sañudo, 2013).



(Fuente: Wikipedia)

Imagen 4. Raza negra

Ardesia (slate). Tanto en machos como en hembras, el color es gris pizarroso; el pico es gris; los tarsos son rojo claro, en adultos; el iris es de color marrón oscuro. Esta raza de peso medio reconocida en 1874, nunca se ha utilizado con fines productivos (Bonilla y Díaz 1988; Llamas, 2005).



(Fuente: <https://razasdeanimales.pro/>)

Imagen 5. Raza Ardesia

Blanco de Beltsville. El pavo de Beltsville fue seleccionado en EE.UU. y se reconoció como variedad en 1951. El tamaño de esta raza es pequeño, siendo unos 8 kg de media en machos y 4 kg en hembras. Su capacidad transformadora de alimentos en carne y su resistencia es bastante buena. Este animal posee aptitudes propicias para la reproducción y gran precocidad. Posee una alta producción de huevos, alta fertilidad y gran porcentaje de nacimientos en huevos incubados. Su plumaje es completamente blanco con “corbata” negra. Tonos rojizos son destacados en la cabeza de esta raza (Brant, 1998).



(Fuente: <https://www.granjasantaisabel.com/>)

Imagen 6. Raza Blanco Beltsville

Rojo de Bourbon. Esta raza desarrollada en Buff (Turquía), tiene un tamaño medio de 15 kg en machos y 10 kg en hembras. Presenta todo el cuerpo de color rojo-castaño, a excepción de la cola y las alas, que suelen ser blancas. En el pecho lleva plumas negras. La cabeza es de color marrón cambiando a rojizo-azulado. La hembra tiene colores semejantes, pero sin bordes blancos. La piel es blanca con variaciones amarillentas. Esta raza no se suele utilizar para la producción comercial (Bonilla y Díaz 1988; Llamas, 2005; Sañudo, 2013).



(Fuente: <https://www.granjasantaisabel.com/>)

Imagen 7. Raza Rojo de Bourbon

Bronceado gigante (de doble pechuga). Es la raza más grande y popular. El macho adulto llega a pesar hasta 20-25 kg, mientras las hembras 18 kg. Originario de U.U.EE. y se caracteriza por tener un plumaje similar al bronceado americano, cabeza de color rojizo, aunque varían a blanco-azulado. Posee una tonalidad bronceada en la parte del cuello. El pico es oscuro en su base y claro en la punta; los ojos son pardo-oscuros. Anatómicamente son más pesados por lo que las patas y el cuello son bastante robustos. La capacidad reproductora es limitada en ambos sexos por lo que se precisa de inseminación artificial para la producción de huevos (Bonilla y Díaz 1988; Llamas, 2005; Sañudo, 2013).



(Fuente: <https://criadeaves.com/>)

Imagen 8. Raza Bronceado gigante.

Blanco gigante. Esta raza es originaria de los Estados Unidos. Se caracteriza porque presenta cambios en su plumaje de bronceado a blanco. La cabeza es blanca, aunque también puede variar a roja. Posee barba negra. Es una raza pesada, llegando a alcanzar entre 8-9 kg en hembras y 15-20 kg en machos. Producen mucha más carne de pechuga, por lo que comercialmente son muy usados para producción cárnica (Bonilla y Díaz, 1988; Llamas, 2005).



(Fuente: <https://townlinehatchery.com/>)

Imagen 9. Raza Blanco gigante.

A pesar de la variedad considerable de razas de pavos existentes, la mayor parte de pavos que se destinan a consumo humano son híbridos comerciales y descienden del Blanco de Holanda. Los híbridos comerciales son los pavos completamente blancos que podemos encontrar, normalmente, en las carnicerías. Algunas razas tradicionales se obtuvieron por el cruce de pavos domésticos con ejemplares de pavos salvajes; este es el caso del Bronceado de América, pero la mayoría se han obtenido a partir de la selección artificial (Bonilla y Díaz, 1988). Entre los objetivos de selección genética para producir pavos en sistemas comerciales destacan cualidades como rápido crecimiento, buen índice de conversión alimenticia, precocidad (madurez temprana), valores elevados para la relación carne/hueso, vitalidad y supervivencia destacables. El color del plumaje y la belleza del animal no desempeñan ya un papel importante. De ahí que se prefiere clasificar los animales por su peso antes que por razas; estas últimas se dividen en razas pequeñas, medias y pesadas.

La selección genética ha originado los híbridos comerciales que hoy en día son generalmente utilizados para la ganadería intensiva. Los animales procedentes de los cruces genéticos destacan por sus cualidades productivas antes mencionadas. En el mundo avícola se habla más de líneas comerciales que de razas y el nombre corresponde a la empresa que las produce. Estos híbridos comerciales han provocado la desaparición de algunas de las razas locales presentadas anteriormente.

Actualmente las líneas comerciales que se conocen mundialmente son “Hybrid”, “B.U.T” y “Nicolas”. Dentro de las líneas comerciales Hybrid encontramos Hybrid converter, Hybrid Grade Maker, Hybrid XL e Hybrid Optima. En la gama de B.U.T. (British United Turkeys) se encuentra B.U.T Big 9, B.U.T. Big 6 y B.U.T. Premium. Nicolas 300 y Nicolas 700 pertenecerían a la línea comercial Nicolas. Las gamas comerciales B.U.T. y Nicolas son suministradas por la compañía proveedora de genética avícola Aviagen, mientras que la línea comercial Hybrid es suministrada por la compañía holandesa Hendrix.

La compañía de Aviagen Turkey actualmente es la principal proveedora de crías de pavo en todo el mundo. Posee diversos programas de mejora genética para mejora del rendimiento del animal adaptado en los diferentes ambientes de crecimiento. Por otro lado, Hendrix es una empresa dedicada a la crianza de múltiples especies, siendo la sede de Hybrid Turkey la destinada a la distribución de genética y crianza del pavo.

Los objetivos de selección genética en los que se centra hoy en día la línea de pavos B.U.T. Premium (Aviagen, Hybrid) son los siguientes:

- Eficiencia de utilización del alimento. El gasto en alimentación supone el mayor porcentaje en cuanto a los costes de producción. La transformación del alimento en peso corporal es uno de los factores prioritarios para la selección. La tasa de conversión alimenticia es uno de los factores claves a la hora de seleccionar una línea genética.

- Madurez temprana.

- Rendimiento de la carne en pechuga. La pechuga es la pieza de mayor valor comercial y por tanto con altos precios de venta, es por ello por lo que el desarrollo de la pechuga es un objetivo primordial a la hora de la selección.

- Anomalías en el esqueleto. Una alta tasa de crecimiento provoca una deficiencia en el desarrollo de los huesos, por lo que suele aparecer una alta incidencia de anomalías en las patas y esqueleto. La selección vela por estas deficiencias para intentar minimizarlas.

- Crecimiento en una amplia gama de condiciones.

3.4. DESARROLLO DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS

3.4.1. CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES

La alimentación durante la fase de crecimiento está completamente diseñada para que el animal disponga de todos los nutrientes necesarios para su completo desarrollo. Supone en torno al 60-70% del coste de la producción por lo que la dieta debe estar ajustada correctamente para su óptimo aprovechamiento.

Los alimentos compuestos son diseñados para que el animal mantenga todas las necesidades cubiertas en cada fase de crecimiento y desarrollo del animal. La administración del alimento se realiza “*ad libitum*” por lo que el animal puede saciarse en cualquier momento. En pavo, a diferencia del pollo, en un animal que tiene más

dificultades de adaptación al medio en los primeros estadios de vida y presenta mayor tendencia al canibalismo.

Existen abundantes estudios sobre la utilización de materias primas para la alimentación de los diferentes estadios de crecimiento del animal, pero dicha bibliografía no abarca todos los ingredientes por lo que se recomienda realizar tablas nutricionales propias en función de la raza del animal (FEDNA, 2002).

Energía

Los animales requieren energía para su crecimiento y mantenimiento de su homeostasis. En estos casos, los carbohidratos procedentes de cereales como el trigo, avena, arroz, maíz y algunas grasas y aceites son la base fundamental. Existe una limitación en la capacidad de digestión de las grasas especialmente en los pavos de menor edad.

Los requerimientos energéticos en los pavos varían dependiendo de la edad, del sexo y por tanto la capacidad digestiva del animal. Hasta las 10 semanas hembras y machos tienen el mismo programa de alimentación, pero a partir de esta edad los piensos que usan ambos son los mismos pero el tiempo de uso es más reducido en el caso de las hembras (FEDNA, 2018). Además, en este punto hay que considerar los objetivos productivos siempre teniendo en cuenta que altos índices de transformación en las primeras etapas de crecimiento puede tener también implicaciones negativas en el animal como son los problemas musculoesqueléticos en las patas (FEDNA, 2015).

En las 6 primeras semanas se estima una necesidad energética entre 2.850 a 3.220 kcal/kg de pienso, 2.850 a 3.350 entre 6 y 12 semanas, 2.850 a 3.450 entre 12 y 16 semanas y de más de 3.200 a partir de esta edad (FEDNA, 2002).

Proteínas

Las necesidades proteicas a la hora de formular un pienso varían en función de la edad del animal, la línea genética, el sexo y de los objetivos en cuanto a crecimiento, eficiencia alimentaria y calidad final de la canal (FEDNA, 2002; FEDNA, 2015).

Actualmente los estudios realizados sobre pavos son escasos, por lo que la formulación nutricional está basada en las bases científicas realizadas en pollos, realizando en ellas pequeños ajustes para pavos (FEDNA, 2015).

Las fuentes proteicas procedentes de los cereales, harinas de soja, pescado y otros compuestos, aportan los aminoácidos encargados de la construcción de los tejidos musculares. La calidad de la proteína viene dada por la digestibilidad y la proporción de aminoácidos esenciales, tales como lisina, metionina, cisteína, triptófano, arginina, valina e isoleucina. La digestibilidad de las diferentes materias primas está condicionada a la especie y a la edad del animal (FEDNA, 2015).

La mayor parte de los especialistas en nutrición animal utilizan la lisina como referencia para formular el resto de los aminoácidos en función de ella. Sin embargo, las necesidades de este aminoácido varían en función de cada autor. Las recomendaciones según NRC (1994) son de 1.60% en las 4 primeras semanas de vida, 1.50% en las siguientes 4 semanas, 1.30% en las 4 siguientes y 1% a partir de las 12 semanas. Además, las necesidades de los aminoácidos se basan principalmente en favorecer el rendimiento de la pechuga, que es la parte más valorada de la canal del pavo, es por ello por lo que se requieren niveles superiores de lisina. Niveles muy altos de este aminoácido provocan cambios en el pH digestivo que pueden llegar a causar problemas a nivel gastrointestinal (FEDNA, 2018).

A parte de la lisina, existen otros aminoácidos de importancia en la dieta como son la metionina, encargada de la síntesis de proteínas, enzimas y otros aminoácidos y la treonina que forma parte de los enzimas y jugos gástricos.

Se estima que las necesidades en lisina del pavo son un 5.4% de la proteína hasta las 8 semanas de vida y de 5.1% posteriormente. En cambio, la concentración del resto de aminoácidos es variable en función de la edad del animal, 35-40% en metionina, 64-68% en aminoácidos azufrados, 62-65% en treonina y 17-17.5% en triptófano (FEDNA, 2002).

Grasas

La adición de grasa en la dieta del pavo resulta imprescindible a partir de una edad dadas las altas necesidades energéticas de este animal. Ciertos autores han demostrado que, a partir de la séptima semana de vida, las grasas son más fácilmente asimiladas dado que la actividad de las lipasas del páncreas e hígado son realmente activadas a partir del día 42 (FEDNA, 2015). No obstante, son los ácidos grasos insaturados los seleccionados para las etapas de iniciación dado su mejor coeficiente de digestión. Sin embargo, otros autores

indican que el pavo es capaz de asimilar correctamente cualquier tipo de grasas (Sell & Owings, 1984; Blair y Potter, 1988; FEDNA, 2002).

Macrominerales

Calcio y fósforo son nutrientes relacionados directamente con el crecimiento, desarrollo de huesos, salud de las patas, función nerviosa y sistema inmune. La correcta dosis de estos nutrientes es fundamental para evitar problemas articulares. La cantidad de calcio, la edad del animal y la fuente de fósforo puede comprometer a la correcta absorción del fósforo, punto a tener en cuenta en la formulación de los piensos de las primeras edades (FEDNA, 2015).

Sodio, potasio y cloro son necesarios para el desarrollo de las funciones metabólicas. Bajas dosis afectan a la ingesta alimenticia consecuencia de un bajo crecimiento y valores anormales del pH de la sangre. Altas dosis implican niveles altos de ingesta de agua (FEDNA, 2002). Parece haber una relación entre el aumento de la humedad de las camas, peso final del animal, el índice de conversión y la presencia de dermatitis plantar cuando la relación entre cloro y sodio (2:1) no es la recomendada (FEDNA, 2015).

Micronutrientes

Los micronutrientes actúan en todas las funciones metabólicas, por lo que la suplementación de estos en el complemento alimenticio es fundamental. La combinación y dosis de estos va a depender de las materias primas que se usen como base. Las necesidades en cuanto a micronutrientes se ven incrementadas en los primeros estadios de crecimiento del animal. La vitamina E y A junto a Fe, Cu, Zn, Mn, I y Se son los principales micronutrientes que suplementados en los piensos compuestos. (FEDNA, 2002)

Programas de alimentación

Para conseguir los objetivos de crecimiento, se suelen utilizar diferentes programas de alimentación adecuándolos a los requerimientos del animal según su fase de crecimiento.

La mayoría de los programas de alimentación recomiendan al menos el uso de 6 tipos de pienso que comienzan a diferenciarse según el sexo en la séptima semana de vida del animal (Tabla 3). A partir de esta fecha, los pavos machos cambian de pienso cada tres semanas, mientras que las hembras lo hacen cada dos (FEDNA, 2015).

Actualmente, la industria cárnica sacrifica animales con peso menor al que pueden alcanzar, 12-15 kg en machos y 7-9 kg en hembras, por lo que con 4 tipos de piensos debe ser suficiente para alcanzar el peso objetivo. En estos casos, los machos son sacrificados con 115 a 122 días mientras que las hembras requieren de 100 a 107 días (FEDNA, 2015).

Tabla 3. Recomendaciones de piensos en función de la edad y sexo del animal.

TIPO DE PIENSO	MACHOS	HEMBRAS
Pienso 1 y 2	Semana 1-6	Semana 1-6
Pienso 3	Semana 7-9	Semana 7-8
Pienso 4	Semana 10-12	Semana 9-10
Pienso 5	Semana 13-15	Semana 11-12
Pienso 6	Semana 16-18	Semana 13-14

La presentación del pienso y calidad del grano son factores imprescindibles a tener en cuenta para una correcta alimentación del pavito en las primeras semanas de vida. En esta etapa de la vida, el pienso debe tener una granulometría fina en forma de migajas y conforme va creciendo usar una presentación en forma de grano. En la Tabla 4 se pueden observar las recomendaciones del formato de presentación del pienso en función de las semanas de vida del animal. Nixey (1982) determinó que un pienso con una adecuada granulometría puede mejorar hasta un 5-10% el peso del animal antes del sacrificio. Una correcta granulación del pienso puede aportar al animal diversos beneficios ya que promueve la hidrólisis proteica mejorando la digestibilidad de este, ayuda a la liberación de grasas intracelulares facilitando la disponibilidad de dicho nutriente para el animal. De igual forma, la granulación permite romper estructuras celulares de compuestos como la hemicelulosa en cuyo interior hay nutrientes de interés por el animal. Otros parámetros utilizados en las granuladoras como son la humedad y presión permiten la gelatinización del almidón, facilitando su hidrólisis y absorción en el aparato digestivo del animal. De igual forma la temperatura y presión favorece la inhibición de compuestos antinutritivos, deshabilitando su actividad (Nixey, 1982).

Tabla 4. Recomendaciones de la molienda, granulación y presentación de los piensos.

EDAD (semana)	PRESENTACIÓN	GRANULACIÓN (mm)	MOLIENDA (mm)
0-2	Miga	Mínimo, 60-75%, 1.5 > P < 2.5 Máximo, 5-10%, P < 0.5	Mínimo, 70-85%, 0.5 > P < 1.5
3-4	Miga	Mínimo, 75-90%, 2.5 > P < 3.5 Máximo, 5-10%, 1 > P < 2	Mínimo, 80-90%, 1.5 > P < 2.5
5-7	Gránulo	Diámetro; 3.5-4.5%, 4 ≥ L ≤ 6 Máximo, 10% P ≤ 2.5	Mínimo, 80-90%, 2 > P < 3
>8	Gránulo	Diámetro, 3.5-4.5%, 6 ≥ L ≤ 10, Máximo 10% P ≤ 2.5	Mínimo, 80-90%, 2 > P < 3

L= Longitud, P = tamaño de partícula o de pienso

(Fuente: FEDNA, 2015)

Tabla 5. Composición porcentual de materias primas para piensos.

EDAD	0-4 SEMANAS	5-10 SEMANAS	11-20 SEMANAS
Avena	5	8	15
Cebada	15	25	35
Centeno	5	10	15
Maíz	40	50	55
Trigo	40	55	65
Triticale	15	25	35
Sorgo	6	15	25
Haba de soja tostada	15	15	10
Haba de soja extrusionada	20	20	10
Harina de soja, 47% PB	30	35	30
Harina de soja, 44% PB	30	35	30
Harina de colza	3	5	8
Semilla de girasol	3	7	8
Harina de girasol, 30% PB	4	6	8
Harina de girasol, 36% PB	5	8	9
Guisante	6	11	15
Harina de pescado, 65% PB	6	3	⁻¹
Hidroliz. de mucosa intestinal	4	2	⁻¹
DDGS maíz	4	7	11
DDGS trigo	4	6	10
DDGS cebada	3	5	9
DDGS sorgo	0	4	8
Harinilla de trigo	10	15	20
Salvado	5	8	10
Harina galleta	5	9	11
Raicilla de malta	3	6	8
Cascarilla girasol	2	3	4
Cascarilla avena	3	4	5
Cascarilla soja	3	4	6
Manteca	4	5	7
Grasa de ave	4	5	7
Sebo	2	3	5
Aceite de soja/girasol	5	5	4
Aceite de palma	2	4	5
Aceite de pescado	3	2	-
Glicerina	2	3	3

¹ Restricción basada en precio.

(Fuente: FEDNA, 2018)

Agua

El complemento alimenticio debe ser acompañado de un aporte hídrico al animal. El componente mayoritario de cualquier animal es el agua, en el caso de los pavos supone en torno a 75%, por lo que cualquier alteración en la ingesta de agua puede tener efectos perjudiciales en el crecimiento y desarrollo del animal.

Los pavos suelen beber en pequeñas cantidades y por lo tanto lo hacen con gran frecuencia. Es muy importante que todos los bebederos contengan el agua en unas correctas condiciones higiénicas y permanezcan siempre llenos. El agua debe ser clara, limpia e inodora. Agua muy fría o muy caliente puede alterar la ingesta, por lo que se recomienda vaciar las líneas para asegurar que el agua siempre sea fresca. La contaminación del agua es un problema común en las granjas por lo que siempre se recomienda el uso de agua clorada con unos 3-5 ppm de cloro.

Existen diferentes tipos de bebederos en función del grado de desarrollo del animal, por lo que es importante seleccionar el tipo correcto para que el agua siempre sea accesible para el pavo (Cántaro et al., 2010; Hybrid, 2019a).

3.4.2. MANEJO EN GRANJA

La producción y manejo de los pavos se puede dividir en diferentes fases dependiendo del estadio de desarrollo del animal. En los primeros estadios de vida del pavito, las condiciones de temperatura, intensidad de luz, relación luz/oscuridad y la adaptación de comederos y bebederos para estimular la alimentación del animal debe estar muy controlada (FEDNA, 2015).

Para optimizar los programas de crianza del pavo, por norma general se separan los animales por sexo. Si hubiera que mezclar los dos sexos en una misma granja se recomienda que se encuentren divididos físicamente dentro de la misma.

Las granjas destinadas a la crianza de los pavos suelen tener unos 1.500 m² y la densidad de animales difiere en función del sexo del animal y el estadio del ciclo productivo. Se pueden diferenciar, por tanto, granjas de recria y granjas de cebo.

En cuanto a las instalaciones y equipamiento de ambas granjas son bastante similares. Todas las granjas disponen de comederos y bebederos colocados a lo largo de las mismas. Dichos dispositivos son ajustables, por lo que, van siendo modificados en función de la altura y desarrollo del animal. El correcto llenado y ajuste de los comederos y bebederos hacen que el agua y el pienso sea más apetecible. Los bebederos si no se ajustan adecuadamente pueden provocar pérdidas de agua que influyen en la degradación de la cama además de la pérdida del apetito del animal. Se recomienda además que los comederos y bebederos se vayan llenando poco a poco para que el pavito disponga siempre de alimento fresco y apetitoso. El comedero debe quedar vacío al menos una vez al día para evitar la acumulación de partículas finas en el pienso (Hybrid, 2019b).



(Fuente: Hybrid, 2019b)

Imagen 10. Ajuste del comedero (izquierda) y del bebedero (derecha) en granja.

Cada una de las granjas posee silos de almacenamiento de agua y pienso. Además, están dotadas de sistema de ventilación de forma que se renueve siempre y cuando sea necesario el aire en el interior de estas. Igualmente, el sistema de control de temperatura mantiene una temperatura óptima en cada estadio del año. El calor es repartido por toda la nave gracias a diversas mangas.

El sistema de iluminación es completamente natural, ya que poseen ventanas a lo largo de toda la nave (Cántaro et al., 2010), aunque las granjas modernas ya incluyen un sistema de iluminación artificial. La casa comercial Hendrix recomienda durante el primer día del pavito en la granja proporcionar 24 horas de luz y desde el segundo al séptimo día disminuir una hora de luz por día hasta tener las 18 horas diarias de exposición de luz.

Acondicionamiento de la nave

Antes de la llegada de la nueva camada, las naves son sometidas a unas actividades de limpieza y desinfección realizadas tras la salida de los animales de la camada anterior. Posteriormente se realiza el acondicionamiento de las instalaciones para recibir a los nuevos pavos. Para ello se prepara la nave repartiéndose virutas secas a lo largo de toda la superficie y se reparten los bebederos y comederos a lo largo de la misma. La nave debe estar precalentada en torno a unos 30°C para la llegada de los pavitos. (Hybrid, 2019b)

La temperatura es uno de los parámetros que se controlan a lo largo de toda la crianza del pavo. En la Tabla 6 se indican los valores óptimos de temperatura y humedad en granjas sin calor radiante a lo largo de toda la crianza del pavo. El estrés generado por el calor puede provocar graves problemas de mortalidad.

Tabla 6. Temperatura y humedad óptima para desarrollo de los pavos.

EDAD (DÍAS)	TEMPERATURA MACHOS (°C)	TEMPERATURA HEMBRAS (°C)	RANGO DE HUMEDAD RELATIVA
1 a 7	35°C	35°C	40-60%
8 a 14	31°C	31°C	40-60%
15 a 21	28°C	28°C	40-60%
22 a 28	25°C	25°C	40-60%
29 a 35	23°C	23°C	40-60%
36 a 42	22°C	22°C	40-60%
43 a 49	20°C	20°C	40-60%
40 a 56	20°C	19°C	40-60%
57 a 63	19°C	18°C	40-60%
64 a 70	18°C	18°C	40-60%
71 a 77	17°C	18°C	40-60%
78 a 84	16°C	18°C	40-60%
85 a 91	15°C	18°C	40-60%
92 a 98	15°C		40-60%
> 99	14°C	14°C	40-60%

(Fuente: Hybrid, 2019b)

Llegada del pavito a la nave

Los pavitos de un día son transportados en cajas con rejillas desde la incubadora hasta las granjas, donde serán depositados de forma cuidadosa en cada uno de los cercos delimitados en ellas para favorecer un mayor control del animal. Estos cercos evitarán el hacinamiento de los animales y además permitirán que estén cerca de los comederos y bebederos. En este periodo los pavitos requieren mayor cuidado debido a escaso desarrollo de su sistema inmunitario. Es necesario disponer de un medio apropiado, buena alimentación y condiciones higiénicas. (Cántaro et al., 2010; Hybrid, 2019b)

Durante el primer día de estancia en la nave es de vital importancia un especial control de la temperatura ambiente, de la accesibilidad de agua y pienso por el animal y una correcta ventilación en la granja, adecuada siempre previamente a la llegada del animal. Todos estos parámetros son evaluados por el personal encargado, el cual tiene un papel fundamental para que cualquier cambio atmosférico sea rápidamente corregido.

En cuanto a los bebederos y comederos en las granjas, existen diversos modelos que varían según la edad del animal. En las primeras fases se debe facilitar que el animal pueda acceder fácilmente a ellos, por lo que deben ir ajustándose conforme el animal va adquiriendo mayor tamaño. Una vez que el animal alcanza las 3 semanas de vida, se suelen usar comederos de tolva. (Cántaro et al., 2010; Hybrid, 2019a)

Los bebederos deben limpiarse a diario ya que es un punto crítico por el que se pueden transmitir diversas enfermedades al animal.

La cama debe siempre ser blanda, esponjosa, sin polvo, seca y libre de contaminaciones tales como hongos y bacterias. Además, las partículas deben ser uniformes, ni muy grandes ni excesivamente pequeñas y poseer un elevado poder absorbente. (Cántaro et al., 2010; Hybrid, 2019b)

El espesor de la cama debe ser 10-15 cm y 7-9 kg de viruta por m². En casos de que la cama se humedezca por derrames de bebederos, se aconseja retirarla y sustituirla por cama seca. El correcto estado de la cama permite una adecuada crianza del animal y por tanto buenos resultados productivos. Los altos niveles de amoníaco en la cama pueden generar estrés respiratorio y dermatitis. La correcta alimentación también ayuda a mantener la calidad de la cama, para ello, se debe evitar el exceso de proteína bruta en la dieta, al igual que elevados niveles de sodio que provocan un aumento en la ingesta de

agua, altos niveles de fibra y el uso de aceites y grasas de buena calidad que evitará problemas entéricos (Cántaro et al., 2010).

Crianza del pavito

Tras los tres primeros días en la granja, considerados los más críticos de la crianza del pavo debido el estrés que le generan los cambios ambientales a los que se ve sometido, éste es vigilado y supervisado durante los siguientes 28 días de estancia en la explotación hasta que alcanza un peso de unos 900g en el caso de las hembras y alrededor de los 1.100 g en los machos (Hybrid, 2019b; Montes, 2014).

Tras los primeros 15 días, se procede a retirar los cercos de forma que los animales tengan mayor espacio. Los parámetros vigilados durante esta etapa coinciden con los controlados en la etapa anterior (temperatura, ventilación, accesos a agua y pienso, etc.). Es fundamental disponer de controles eficientes para supervisar todos los puntos críticos del proceso de forma que se obtengan resultados adecuados de crecimiento del animal (Cántaro et al.,2010; Hybrid, 2019a; Hybrid, 2019b).

Transporte a nave de cebo

La casa comercial Hybrid (2019b) recomienda realizar el traslado de los pavitos a la granja de engorde a las 6 semanas de vida, sin embargo, Cantaro et al. (2010) sugiere arrancar esta segunda fase de los 50 a los 60 días de vida. Esto dependerá principalmente de las condiciones ambientales donde se encuentren las granjas de forma que favorezca en mayor o menor medida el desarrollo del animal. El pavito es cargado manualmente en diferentes cajas en las que serán transportados hasta las granjas de cebo. Posteriormente todas las naves de cría, instalaciones y materiales auxiliares como comederos y bebederos son limpiados y desinfectados.

Las consideraciones para tener en cuenta durante el transporte son idénticas a las empleadas en el transporte de los animales hacia el matadero. Principalmente, en verano deben evitarse las horas de calor para el transporte y por lo tanto se recomienda no viajar durante los momentos centrales del día. Si es necesario y posible, debe hacerse durante la noche o, en su caso, al amanecer o anochecer. Es importante respetar el tiempo de paradas

y la duración máxima del viaje para evitar la deshidratación de los animales. Durante el invierno y en transportes largos el vehículo debe estar acondicionado y disponer de medidas necesarias como lonas de protección.

Crianza en cebo

Antes de la llegada de los pavitos que van a ser introducidos en las granjas de cebo, éstas deben estar correctamente preparadas. Es por ello por lo que al igual que en las granjas de recría se evalúa la temperatura ambiente de la misma, la ventilación, el estado de la nueva camada y el nivel de los comederos y bebederos para que el animal pueda acceder a él con comodidad. La descarga se realizará principalmente de forma manual.

Una vez alojadas las aves, es conveniente mantener una intensidad lumínica alta para que los animales se acostumbren y puedan acceder sin dificultad a la comida y al agua. Posteriormente se mantendrá unas 16 horas de luz al día, esto permite respetar el ciclo fisiológico del animal, favorece la secreción de melatonina que promueve el crecimiento de los huesos largos además de proporcionar un buen descanso nocturno y adecuada actividad diurna (Hybrid, 2019b).

El técnico responsable debe vigilar la adaptación al nuevo entorno de los animales durante los primeros días tras la introducción de estos en la nave de cebo. Para ello, durante el día resulta conveniente que el operario pase varias veces entre las aves, para que se habitúen a su presencia y así estimular el movimiento moderado de los pavos entre los diferentes niveles y zonas.

Se debe de asegurar que el pienso se suministra en cantidad suficiente para satisfacer las necesidades fisiológicas y nutricionales de los animales (Cántaro et al., 2010). El granjero garantizará en todo momento que los pavos dispondrán de pienso *ad libitum* al menos en los periodos de iluminación.

El consumo de pienso varía en función del sexo del animal y de la etapa de desarrollo de este. En las Tablas 7 y 8 se muestran los valores de consumo de pienso medio aproximado, el peso medio del animal, la ganancia media de peso diaria y el FCR acumulativo de cada uno de los tipos comerciales (hembra y macho) por semanas distribuidos por la casa comercial Aviagen Turkeys.

Tabla 7. Consumo diario aproximado de pienso, peso vivo, ganancia media diaria y FCR acumulado en pavo hembra por semanas.

Edad (semanas)	Peso vivo (kg)	Ganancia media diaria (g/día)	FCR acumulado (kg/kg)	Consumo diario de pienso (g/día)
1	0.17	23.8	0.86	21
2	0.34	24.6	1.23	40
3	0.62	29.4	1.39	62
4	1.00	35.7	1.48	89
5	1.50	42.9	1.54	120
6	2.11	50.3	1.61	155
7	2.83	57.7	1.68	191
8	3.62	64.6	1.75	227
9	4.47	70.9	1.83	261
10	5.35	76.5	1.91	292
11	6.25	81.2	1.99	319
12	7.14	85.0	2.08	342
13	8.02	88.1	2.17	362
14	8.87	90.5	2.26	379
15	9.69	92.3	2.35	394
16	10.48	93.6	2.44	408
17	11.24	94.5	2.54	418
18	11.96	94.9	2.64	426

(Fuente: Aviagen Turkeys)

Tabla 8. Consumo diario aproximado de pienso, peso vivo, ganancia media diaria y FCR acumulado en pavo macho por semanas.

Edad (semanas)	Peso vivo (kg)	Ganancia media diaria (g/día)	FCR acumulado (kg/kg)	Consumo diario de pienso (g/día)
1	0.17	24.9	0.91	23
2	0.38	26.8	1.23	44
3	0.70	33.2	1.37	70
4	1.17	41.7	1.44	104
5	1.80	51.6	1.50	145
6	2.61	62.1	1.55	192
7	3.57	72.9	1.60	241
8	4.67	83.3	1.66	289
9	5.86	93.0	1.72	333
10	7.11	101.6	1.78	371
11	8.39	109.0	1.85	403
12	9.68	115.2	1.91	429
13	10.96	120.4	1.98	453
14	12.23	124.8	2.05	477
15	13.51	128.7	2.11	504
16	14.80	132.1	2.18	531
17	16.09	135.2	2.25	558
18	17.38	137.9	2.32	581
19	18.64	140.1	2.38	599
20	19.87	141.9	2.45	609
21	21.04	143.1	2.52	614
22	22.16	143.9	2.59	614

(Fuente: Aviagen Turkeys)

Manejo en el transporte al matadero.

El transporte al matadero se realiza a los 100 días en pavos hembras y pavos machos de clareo y 120 días en pavos machos. Se recomienda 12 horas antes de su carga retirar los comederos y dejar únicamente disponibles los bebederos de forma que ayunen los animales antes de llegar al matadero (Cántaro et al., 2010; Comisión Europea, 2018).

Los pavos son cargados manual o mecánicamente en jaulas, en las que permanecerá hasta el momento del sacrificio en el matadero. Un adecuado manejo del animal durante la carga evitará incidencias tales como heridas, huesos rotos, hematomas... Por ello es necesario que el equipo de carga disponga de la formación necesaria para realizar dichas tareas. Un comportamiento adecuado incluye lentos y silenciosos movimientos. En el caso de los pavos con menos de 10 kg, la captura se realizará por las dos patas y pueden cargar un animal en cada mano, sin embargo, en pavos de mayor peso sólo se cogerá un animal sostenido por las dos patas con una mano y el hombro del ala con la otra mano. En el caso de la captura mecánica es imprescindible revisar el correcto funcionamiento de dicha maquinaria (Comisión Europea, 2018).

Las jaulas deben estar diseñadas de forma que garanticen la seguridad y bienestar de los animales durante todo el transporte, evitando por ejemplo que se balanceen o que las aves puedan resbalar o sacar la cabeza. La densidad de la jaula varía en función del sexo del animal, el tamaño y de la estación del año, siempre garantizando el confort térmico y físico. Dichas jaulas deben estar limpias y desinfectadas antes de uso. Es importante cerciorarse de que todas dispongan de una adecuada integridad y en caso contrario separarlos para proceder a su reparación (Comisión Europea, 2018).

La planificación de las cargas y desplazamiento se realiza de forma que siempre se adecuen a las mejores condiciones climáticas de la estación del año. Como norma general las operaciones de carga se suelen llevar a cabo por las noches. El propósito en esta etapa es minimizar el tiempo de transporte y garantizar el mayor confort de las aves en el camión. En los casos en los que los viajes duran más de 9 horas se debe planificar el viaje con dos conductores. Además, viajes superiores a 12 horas deben disponer de medios que proporcionen agua y comida (Comisión Europea, 2018).

La descarga de los animales se realizará en áreas de espera adecuadamente cubiertas y protegidas de las altas temperaturas y condiciones climatológicas. Se recomienda el uso

de calentadores y sistema de ventilación que permite una adecuada circulación del aire (Comisión Europea, 2018).

Las condiciones de transporte de los animales vivos hasta el lugar de sacrificio vienen reguladas por el Reglamento (CE) No 1/2005 del Consejo de 22 de diciembre de 2004 relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento (CE) no 1255/97. En este documento se especifica claramente cómo deben adaptarse todas y cada una de las prácticas desempeñadas en la carga, descarga, manipulación y transporte de animales vivos.

3.5. MÉTODOS DE ATURDIMIENTO

3.5.1. ANTECEDENTES

Según establece el Reglamento Comunitario 1099/2009 en relación a la protección de los animales durante su sacrificio, matanza y las diversas operaciones conexas a ella, no causarán a los animales ningún dolor, angustia o sufrimiento evitable. Dicho reglamento muestra especial interés por el cuidado del animal en todo momento del sacrificio, es por ello que se exige realizar prácticas de aturdimiento que mantengan la pérdida de la consciencia y sensibilidad hasta la muerte del animal. En este documento se establecen los parámetros que se permiten utilizar para cada tipo de aturdimiento y animal.

Los métodos de aturdimiento son practicados en todos los mataderos. Los métodos actualmente permitidos en este reglamento consisten en el uso de una pistola de perno cautivo penetrante o no, arma proyectil, dislocación cervical, golpe contundente en la cabeza, sistema eléctrico limitado a la cabeza o cabeza y tronco, baño eléctrico, aturdimiento por dióxido de carbono en dos fases o altas concentraciones de dióxido de carbono o el uso de otros gases inertes en combinación con dióxido de carbono o no y por último la inyección letal. Según un estudio realizado por la Comisión Europea en 2012, el 76% de los pavos sacrificados en la UE son sometidos a aturdimiento por baños eléctricos y el resto se aturden a través de gas.

Actualmente los métodos mecánicos son poco utilizados en los mataderos industriales, ya que son procesos lentos y poco productivos. Es por ello por lo que se va a profundizar en aquellos métodos más utilizados.

Un buen sistema de aturdimiento debe garantizar una inducción rápida de la inconsciencia sin causar dolor y debe prolongarse hasta la muerte del animal por desangrado. Asimismo, debe minimizar los problemas de calidad del producto final y garantizar la seguridad del operador al favorecer la inmovilización de los animales durante el desangrado (Velarde et al., 2000). Es importante tener en cuenta que los sistemas de aturdimiento no garantizan el 100% de efectividad, probablemente como consecuencia de errores en su aplicación (González et al., 2014).

3.5.2. ATURDIMIENTO ELÉCTRICO

Actualmente el aturdimiento eléctrico es el método más empleado en el sector avícola. Existen varias modalidades de aturdimiento eléctrico: contacto directo de electrodos en la cabeza del animal o combinación de cabeza y tronco, aunque en la actualidad el método por excelencia es el baño eléctrico. Consiste en la aplicación de una corriente eléctrica de suficiente magnitud que permita pasar por el cerebro del animal y provocar un fallo cerebral originando inconsciencia e insensibilidad al dolor (Richards & Sykes, 1967; Bilgili, 1992; Heath et al., 1994; Raj, 1998). El efecto de inconsciencia debe durar hasta el momento del sacrificio por desangrado.

Durante este tipo de aturdimiento, la corriente pasa a través de la cabeza y el cuerpo generando convulsiones tónico-clónicas relacionadas con el estado de epilepsia (Schutt-Abraham et al., 1983; Prinz, 2009; Shields & Raj, 2010). La contracción muscular, extensión de las patas, arqueado del cuello, apertura de los ojos, aleteos vigorosos y parada de la respiración son algunos de los efectos de este tipo de convulsiones en el animal (EFSA, 2004). La recuperación del ave tras este proceso es rápida. Algunos autores apuntan en torno a 9-17 segundos (Gregory & Wotton, 1987; Raj & O'Callaghan, 2004), por lo que el animal debe ser degollado inmediatamente después del aturdimiento. Paradas en la línea o cadena de transporte pueden provocar grandes inconvenientes tanto

para el animal que se encuentra en el interior del baño como para aquellos que han salido del aturdimiento y no han llegado a la zona de degollado.

La EFSA ha establecido el electroencefalograma (EEGs) como el método más fiable para estimar el estado de inconsciencia del animal.

El equipo utilizado en este tipo de aturdimiento es bastante sencillo. Consiste en una tina de agua con dos electrodos que generen la corriente eléctrica. En algunas ocasiones se adiciona sal en el baño para mejorar la conductividad de la corriente eléctrica (Sams, 2001).

Durante el aturdimiento eléctrico hay que tener en cuenta varios parámetros tales como la frecuencia, intensidad, tipo de corriente o tipo de onda de la corriente. La EFSA determinó que la corriente alterna es más efectiva a la hora de inducir un estado de inconsciencia que la corriente continua. Son numerosos los estudios que se han realizado para determinar los parámetros óptimos de frecuencia e intensidad para obtener una correcta calidad de la canal y mantener los estándares de bienestar animal. No obstante, la legislación actual, a través del Reglamento 1099/2009, establece los parámetros de frecuencia e intensidad para cada tipo de animal.

Tabla 9. Parámetros de aturdimiento eléctrico para pavos.

Frecuencia (Hz)	Intensidad (mA) / ave
Menor de 200	250 mA
Entre 200 a 400 Hz	400 mA
Entre 400 y 1.500 Hz	400 mA

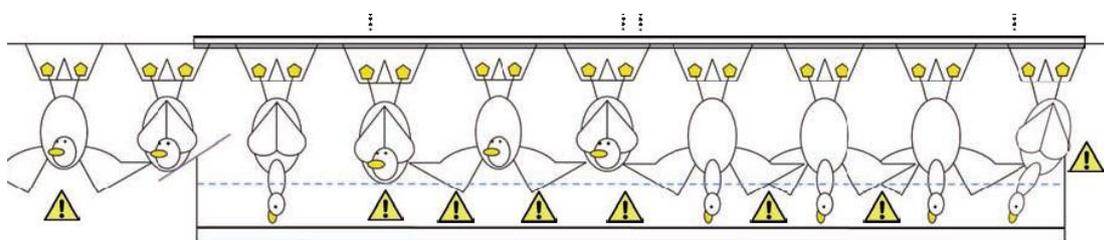
(Fuente: Reglamento 1099/2009)

Una vez los animales son descargados de las jaulas, deben ser colgados en posición inversa en los ganchos de la cadena, de forma que la cabeza del animal se encuentre en la posición más baja. El manejo del animal en vivo es bastante complejo y complicado en cuanto a bienestar animal se refiere, dado que el animal se opone a ello generándole unas condiciones de estrés considerables promoviendo el vigoroso aleteo durante esta manipulación. Esto se traduce en lesiones de alas, roturas de huesos y hematomas generando productos de segunda categoría (EFSA, 2004), llegando incluso a provocar la

muerte del animal dado el nivel de estrés que se genera (Arthur, 2003; Shane, 2005). Distintos investigadores han relacionado el estrés producido durante el colgado del animal con un incremento de la presencia de carnes PSE generada por el consumo del glucógeno muscular en el ave viva ante esta situación de tensión. Estas carnes se caracterizan por ser ácidas, pálidas, con grandes pérdidas por goteo y poca capacidad de retención de agua durante el cocinado (Debut et al., 2003; Berri et al., 2005).

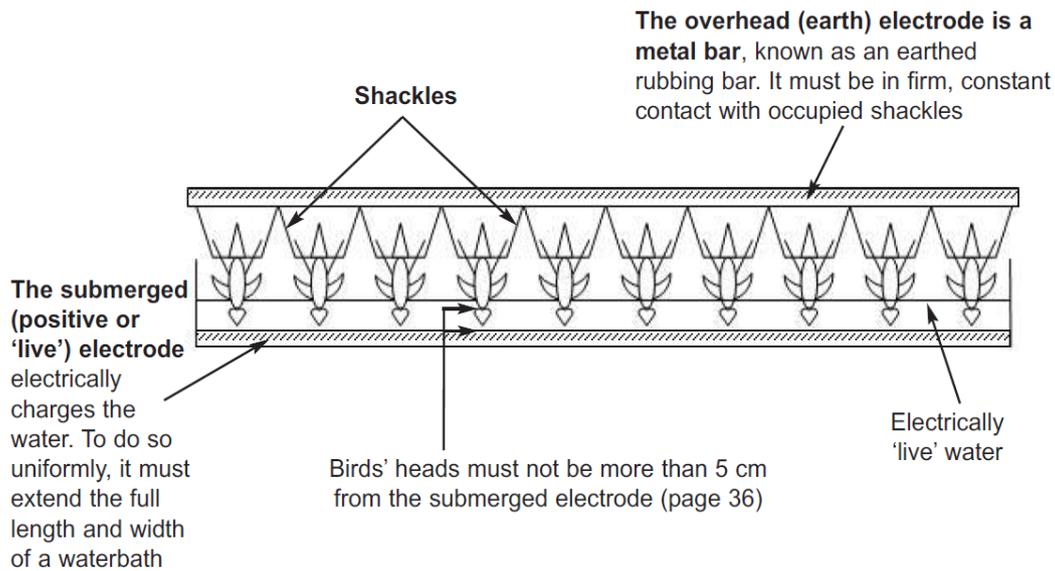
La cadena dirige a los animales a la cuba de agua, donde cada ave sumerge la cabeza. Este método tiene como desventaja que las diferencias de tamaño en los animales pueden condicionar el aturdimiento, bien por ser más pequeños y que no introduzca la cabeza en el baño eléctrico o por ser de mayor tamaño y además de introducir la cabeza, también lo hagan las alas o pechugas. La cabeza siempre tiene que ser lo primero que entre en el agua. Se han diseñado sistemas para evitar que sean otras partes del cuerpo las que entren en contacto con el agua electrificada. Se ha observado que este defecto es más acusado en pavos.

Durante el aturdimiento se ha observado gran agitación de las alas que provocan que el riesgo de contacto entre ellos y con el agua electrificada sea mayor. Generalmente los animales están colgados en ganchos y la separación entre ellos es insuficiente cuando éstos comienzan a aletear. Esto hace que se genere un ambiente de inconformidad entre los animales que están colgados. Otras aves en cambio pueden tener su cabeza inclinada durante el transcurso del baño eléctrico, lo que puede ocasionar que sean otras partes del cuerpo las que entren en primer lugar en contacto con el agua o que atraviesen sin ser aturridos. Son numerosos los estudios que demuestran que un porcentaje de animales entran en el escaudador vivos sin ser aturridos (Heath, 1981; Griffiths, 1984).



(Fuente: Humane Slaughter Association, 2015)

Imagen 11. Ilustración defectos durante el aturdimiento eléctrico en aves.



(Fuente: Humane Slaughter Association, 2015)

Imagen 12. Principales componentes de un aturdimiento eléctrico convencional.

Diversos investigadores han determinado que las petequias producidas por roturas de los capilares sanguíneos, que aparecen en la pechuga del animal, son debidas a que una parte de la corriente atraviesa la cabeza del animal y el resto lo hace a través de la canal provocando este tipo de lesiones (Hindle et al., 2010).

Las numerosas desventajas que causa este tipo de aturdimiento en cuanto a bienestar animal se refieren, han promovido el desarrollo e investigación de otros tipos de aturdimiento. Dentro del desarrollo de nuevos métodos de aturdimiento aparecen los sistemas de aturdimiento eléctrico cabeza-cabeza y cabeza-cloaca. El animal es suspendido en los ganchos o en unos conos en los que se posiciona la cabeza del animal hacia abajo. A través de un sistema de palas la cabeza del ave queda sujeta y es por la que atraviesa la corriente eléctrica para insensibilizar al animal. Actualmente estos sistemas no son muy frecuentes en los mataderos de aves (Comisión Europea, 2012).

3.5.3. ATURDIMIENTO POR GAS

El aturdimiento en atmósfera controlada ha supuesto una revolución en el mundo del sacrificio avícola en los últimos años, dadas las ventajas que aporta en comparación con el aturdimiento eléctrico. Fue desarrollado en UK en la década de los años 80 del siglo XX (Raj, 2006), aunque las primeras investigaciones se realizaron en la década de los años 50 del siglo pasado (Kotula et al., 1957). Este sistema se ha implementado bastante durante los últimos 20 años debido a las mejoras en cuanto al bienestar animal y la calidad del producto final.

El aturdimiento por gas consiste en someter al animal a una atmósfera de mezcla de gases controlada con el objetivo de conseguir la insensibilidad del animal previo al sacrificio.

El principal gas utilizado en las industrias cárnicas es el dióxido de carbono dado que es un gas poco costoso en comparación con otros tipos de gases como el argón, nitrógeno, monóxido de carbono. Las aves no tienen quimiorreceptores para los gases inertes, es por ello por lo que no presentan aversión por estos gases. Sin embargo, existe discordancia en la comunidad científica en cuanto a los beneficios entre el uso de estos últimos gases anestésicos y el dióxido de carbono. Algunos autores defienden que estos gases presentan mejoras en cuanto al bienestar animal mientras que otros apuntan que hay mayor aversión del animal ante este tipo de gases (McKeegan et al., 2007). Se ha demostrado que estos gases inertes provocan vigorosos aleteos y convulsiones a consecuencia de la hipoxia generada en el animal. A pesar de las molestias respiratorias generadas en el animal con un aturdimiento con dióxido de carbono, es el gas más recomendado en aves.

El aturdimiento por gas permite insensibilizar al animal directamente en las cabinas de transporte hacia el matadero e incluso en camiones completos. Esto hace que la manipulación del animal antes del sacrificio no sea necesaria y la situación de estrés provocada por esta actividad disminuya considerablemente e incluso desaparezca.

La inhalación del dióxido de carbono provoca acidosis metabólica y respiratoria produciendo la reducción del pH del fluido cerebrospinal y las neuronas lo que induce la pérdida de consciencia e incluso la muerte en exposiciones muy prolongadas. El cambio en el pH de la sangre afecta a las reacciones enzimáticas que generan energía, los

cambios en la permeabilidad de la membrana y el balance electrolítico (Lambooij et al., 1999).

Al ser un gas ácido, provoca irritación de las mucosas nasales cuando se inhala, observándose ciertas molestias del animal ante la exposición de dióxido de carbono (Raj, 1996a). Además, se ha demostrado que potencia la función respiratoria provocando asfixia (EFSA, 2004).

Se pueden distinguir varias fases del comportamiento del animal durante el tiempo de exposición al dióxido de carbono. En la primera etapa, la tasa de respiración del animal se ve incrementada y la respuesta al dolor y estrés se reduce gradualmente. En esta etapa se produce la pérdida de la consciencia. Posteriormente aparece la etapa de excitación en la que se observan movimientos no coordinados del animal y aleteos (Duncan, 2004). Por último, aparece la etapa de anestesia en la que se produce relajación de los músculos esqueléticos y respiratorios y, por tanto, la pérdida de la postura.

Existen discrepancias en la comunidad científica en cuanto a la relación entre el bienestar del animal y este sistema de aturdimiento. Ciertos autores manifiestan que la asfixia del animal se genera antes de la insensibilización (Gregory et al., 1990). Sin embargo, otros estudios indican que el tiempo que tardan los animales en estar inconscientes depende del gradiente de la concentración de CO₂ (Holst, 1997; Moreira et al., 2009). La mayoría de las aves pueden tolerar niveles de dióxido de carbono inferiores al 30% sin experimentar dolor (Gregory et al., 1990; Raj, 1998; McKeegan et al., 2006). Un aturdimiento multi-etapa es recomendado por algunos autores, de forma que el animal se aturda en dos fases, una primera en la que la concentración de dióxido de carbono es baja con el objetivo de inducir la inconsciencia del animal y otra etapa de alta concentración de dióxido de carbono (Raj, 2007). Sin embargo, otros autores defienden inmersiones rápidas en CO₂ disminuyen el estado de excitación del animal y el tiempo en el que se produce la inconsciencia (Moreira et al., 2009). No obstante, con el aturdimiento por gas las diferencias de peso entre animales no son tan relevantes como ocurre en el aturdimiento eléctrico, en el que los parámetros de aturdimiento deben ser regulados según el peso del animal.

Los costes del aturdimiento por gas son más elevados que con el aturdimiento eléctrico, pero los beneficios en cuanto a bienestar animal y calidad cárnica son considerablemente mejores con el aturdimiento por gas (Comisión Europea, 2012). La prevalencia de huesos

rotos, piezas de segunda, hemorragias, presencia de petequias y otros defectos en la canal se ve disminuida. A su vez se observa una mejora en cuanto a la contaminación interna y externa de la canal, mejorando la vida útil de la carne o productos cárnicos (Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, 1998).

3.5.4. ATURDIMIENTO A BAJA PRESIÓN ATMOSFÉRICA

Es un sistema de reciente aparición, y consiste en someter a los animales a un ambiente con baja cantidad de oxígeno. Para ello, en un habitáculo completamente cerrado se realiza un vaciado del oxígeno de la atmósfera generando unas condiciones de anoxia. La hipoxia generada en el animal no es inmediata, sino que se realiza de forma gradual. Al igual que con el aturdimiento por gas, es posible realizar este aturdimiento directamente en las jaulas en las que llega el animal al matadero, sin necesidad de manejar al animal. Se elimina con este método el estrés generado en el animal como consecuencia de la manipulación de los animales vivos y conscientes.

Este sistema de aturdimiento aún no está permitido en la UE, pero sí en EE. UU. A petición de la Comisión Europea, la EFSA ha realizado una valoración sobre este sistema de aturdimiento. Los estudios que hay actualmente sobre esta técnica, no describen claramente la implicación en el bienestar animal de las aves durante el aturdimiento, ni evalúan si la descompresión provoca la pérdida de la consciencia del animal sin causar dolor, estrés y sufrimiento (EFSA, 2014).

3.6. BIENESTAR ANIMAL Y PARÁMETROS DE VALORACIÓN DEL BIENESTAR

3.6.1. DEFINICIÓN DE BIENESTAR ANIMAL

Son numerosos los hechos que reflejan la preocupación por el cuidado y bienestar de los animales desde el principio de los tiempos. Pitágoras (500 años a.C.) indicó que la amabilidad con los seres no humanos era un deber. Aristóteles escribió la primera obra

sobre los derechos de los animales. Pero el interés por el bienestar animal a nivel global surge a mediados del siglo XX como respuesta a los sistemas de crianza de la ganadería intensiva. El bienestar animal en la ganadería intensiva adquiere cada día mayor importancia en la sociedad y en los consumidores. La intensificación de la producción, en ocasiones, entra en conflicto con las normas de bienestar animal. Fue en 1978 cuando la UNESCO publicó en Bruselas la Declaración Universal de los Derechos de los Animales, en la que promulgó que todos los animales poseen derechos.

Existen numerosas definiciones de bienestar animal tales como “el estado de salud mental y físico en armonía con el entorno o medio ambiente” (Hughes, 1976), “el estado en el que un animal trata de adaptarse a su ambiente” (Broom, 1986) o “el alojamiento adecuado, el manejo, la alimentación, el tratamiento y la prevención de enfermedades, la tenencia responsable, la manipulación humanitaria y si es necesario la eutanasia humanitaria” (American Veterinary Medical Association, AVMA). Las normas de bienestar promulgan que los animales se vean libres de dolor, lesión, enfermedad, tensión, sufrimiento, cansancio, traumatismo y miedo durante su producción, exhibición, comercialización y faena. Por ello, el bienestar comprende tanto el satisfacer las necesidades del animal como el evitarle sufrimientos.

El concepto de bienestar animal se basa principalmente en tres principios;

- El funcionamiento correcto del organismo y adecuada alimentación.
- El estado emocional del animal.
- La expresión de conductas normales de la especie.

Para establecer las condiciones que determinan el bienestar animal es necesario conocer el comportamiento de los animales, lo que permite disminuir las posibles situaciones de estrés e inadaptación. El objetivo es actuar de forma preventiva, y descubrir la presencia de distrés o enfermedad al comienzo de estas, ya que los animales, en estas situaciones, manifiestan síntomas de distrés o enfermedad con cambios en su comportamiento. De esta forma se busca la protección de los animales en la explotación y también evitar distorsiones en el desarrollo de sus capacidades productivas

En 1965, la Comisión Brambell describió las “cinco libertades” como la capacidad de los animales para poder darse la vuelta, asearse, levantarse, acostarse y estirarse fácilmente.

Posteriormente, en 1993 el consejo de Bienestar Animal de Reino Unido “Farm Animal Welfare Council” (FAWC), estableció las “cinco libertades” indicando que el animal debe estar libre de:

- Hambre y sed. Deben de tener un acceso fácil a agua limpia y disponer de una alimentación óptima para mantener un estado de salud correcto.
- Incomodidad. El animal debe encontrarse en un ambiente adecuado que incluya protección y áreas de descanso cómodas. Debe tener refugio frente a las inclemencias meteorológicas.
- Dolor, lesiones y enfermedades. Se le debe ofrecer un plan preventivo de control de enfermedades, rápidos diagnósticos y tratamientos frente a cualquier incidencia.
- Expresión del comportamiento normal. El animal debe poseer espacio suficiente y unas infraestructuras adecuadas para poder expresar sus patrones de conducta normales en compañía de animales de la misma especie.
- Miedo y distrés. Las condiciones en las que se encuentra el animal no deben provocar sufrimiento psicológico. El estrés genera agresiones físicas y psicológicas.

El consorcio europeo Welfare Quality (Veissier & Evans, 2004) ha ampliado y clarificado los componentes del bienestar animal, proponiendo el conjunto de cuatro principios y doce criterios que se presentan a continuación:

- Alimentación adecuada:
 1. Ausencia de hambre prolongada
 2. Ausencia de sed prolongada
- Alojamiento adecuado:
 3. Comodidad, en particular en las zonas de descanso
 4. Temperatura adecuada
 5. Facilidad de movimientos
- Buena salud:
 6. Ausencia de lesiones físicas
 7. Ausencia de enfermedades
 8. Ausencia de dolor debido a un manejo inadecuado

- Comportamiento adecuado:
 - 9. Manifestación de comportamientos sociales
 - 10. Manifestación de otros comportamientos
 - 11. Buenas relaciones entre los seres humanos y los animales
 - 12. Estado emocional positivo

Una vez quedan acordados los principios y criterios que determinan el bienestar animal, se procede a definir los métodos de valoración de estos.

- Indicadores de estrés (agudo y crónico): Generalmente son indicadores hormonales (adrenalina, cortisol), por lo que la obtención de muestras implica una interacción con el animal, que por sí misma genera estrés. El estrés se define como la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo provocando cambios en los niveles funcionales que pueden llegar a ser medibles (Romero et al., 2011).

- Comportamiento animal (Etología): Comportamientos normales y anormales de los animales. Existen varias categorías que miden el comportamiento del animal, la observación completa del comportamiento del animal en su ambiente, la medición de la motivación del animal por diversos recursos y el test de reacción al miedo en un nuevo ambiente (Webster, 1990; Faure, 1994).

- Salud: Problemas de patologías, heridas, fragilidad ósea, lesiones en patas (inflamación de la almohadilla plantar, úlceras y uñas partidas), heridas causadas por canibalismo en el dorso, cabeza y región de la cloaca, deterioro del plumaje por la edad o por los diferentes accesorios en los sistemas de alojamiento (Albentosa, 2003).

- Índices productivos/reproductivos: Los parámetros que se evalúan en este caso son fundamentalmente, el índice de conversión, la velocidad de crecimiento, la tasa de mortalidad y la fertilidad. Por tanto, la pérdida del bienestar animal provoca perjuicios en estos índices. Una bajada en la producción es uno de los indicadores sobre la deficiencia en el bienestar animal.

La investigación científica persigue desarrollar estrategias que permitan mejorar el bienestar de los animales en todas las circunstancias de su ciclo productivo (en las explotaciones ganaderas, transporte, sacrificio), además de establecer procedimientos o metodologías que permitan la evaluación objetiva del bienestar en los animales. El

bienestar de los animales se debe mantener en los tres periodos principales del proceso productivo: la cría del animal en la granja, el transporte de estos a otras explotaciones o al matadero y el sacrificio.

3.6.2. BIENESTAR DURANTE LA CRIANZA

Son diversos los factores que debemos tener en cuenta para asegurar un correcto bienestar del animal durante su crecimiento y desarrollo en las granjas (Elías et al., 2016; INPROVO, 2013):

- **Emplazamiento:** Las naves y equipamientos deben construirse y mantenerse de forma que no presenten bordes afilados ni salientes que puedan causar heridas a los animales. Además, los techos, falsos techos y demás instalaciones suspendidas deben estar diseñados y acabadas de tal forma que se impida la acumulación de suciedad y el desprendimiento de partículas. Las instalaciones eléctricas no deben estar accesibles al animal.
- **Densidad de población:** Cada granja tiene una densidad óptima de producción que no debe ser superada para evitar problemas entre los que destacan los asociados al inadecuado bienestar animal.
- **Temperatura y humedad:** La temperatura y la humedad relativa van ligadas, por lo tanto, si ambas son muy elevadas, la posibilidad de las aves para disipar el calor por medio de una respiración más acelerada es menor.
- **Cama:** Debe mantenerse seca para facilitar la expresión de las conductas animales y evitar las lesiones en las patas y la pechuga. Es tan importante usar una buena cama (seca, blanda, esponjosa, aislante, absorbente), como en cantidad suficiente para todas sus funciones.
- **Ambiente:** Las condiciones ambientales deben permitir a los animales un máximo de confort para su correcto desarrollo. Una ventilación adecuada debe eliminar el exceso de calor, de humedad y de gases nocivos y aportar suficiente oxígeno. Las concentraciones máximas de los gases nocivos, como CO₂ y NH₃ están reguladas por la legislación (Real Decreto 692/2010), la concentración de estos no debe superar a 20 ppm en el caso NH₃ y en el caso CO₂ no supere las 3000 ppm medidas

al nivel de las cabezas de los pollos. Es fundamental una correcta revisión de los sistemas de ventilación de forma que se corrobore que funcionan correctamente y proporcionan un adecuado bienestar al animal durante su estancia.

- Iluminación: Se tienen en cuenta dos aspectos; el fotoperiodo, es decir, las horas de luz en 24 horas (contando con la natural más la artificial) y la intensidad de iluminación. Es muy importante que la luz permita la correcta inspección de todos los animales. El correcto funcionamiento de todos los puntos de luz ubicados a lo largo de la granja es muy importante ya que evita que haya zonas más oscuras en la nave.

El veterinario al ser responsable de aspectos vinculados al diagnóstico, tratamiento, control y erradicación de las enfermedades debe asumir los conceptos del bienestar animal y difundir sus principios fuera y dentro de su medio de labor.

Se tienen en cuenta las siguientes buenas prácticas de manipulación de las aves durante su crianza en las granjas (INPROVO, 2013).

- Se deben controlar las entradas y restringir al mínimo el acceso a la granja de personal ajeno.
- Se debe llevar siempre ropa protectora específica para estas instalaciones. Especialmente hay que preverla para el personal ajeno como veterinarios, técnicos, etc.
- Toda persona que acceda a las instalaciones debe lavarse las manos con jabón. Es recomendable la ducha principalmente en las granjas de recría.
- Hay que desinfectar las botas antes de entrar en cada una de las naves.
- Se debe usar un insecticida para mantener las moscas e insectos controlados.
- Se deben aplicar métodos adecuados de control de plagas para exterminar los roedores.
- El entorno de las instalaciones debe estar en perfecto estado de conservación y limpieza. Es importante que no crezca maleza en las zonas anexas a las naves de recría. Hay que tener especial cuidado en que no haya acumulación de pienso fuera de los comederos y silos.
- Es importante que en las granjas no haya animales domésticos (perros, gatos u otras aves domésticas).

3.6.3. BIENESTAR DURANTE EL TRANSPORTE

La captura y enjaulado del ave es, junto con su transporte, uno de los momentos más estresantes de la vida de los animales. Bhandare & Sheard (2010) demostraron que un 30% de las muertes de las aves son debidas al estrés generado durante el transporte. Como se ha comentado anteriormente, en pavos la recogida se realiza normalmente de forma manual por lo que es fundamental la adecuada cualificación del personal que realiza estas tareas para evitar generar daños al animal. Sin embargo, la captura de los animales por medios mecánicos reduce el estrés generado en esta fase frente a los animales recogidos de forma manual (Bhandare & Sheard; 2010).

Además de esto, las jaulas o carros deben colocarse en la zona más cercana posible, de forma que los cargadores no tengan que desplazar al animal en largas distancias.

Durante el transporte hacia el matadero, son diversos los factores que provocan estrés al animal como el ayuno de pienso y agua, el hacinamiento en las jaulas, golpes, vibraciones, movimientos, ruido, elevadas temperaturas y humedades debidas al aglutinamiento de animales en un mismo espacio. Estas contingencias deben ser contempladas y controladas para reducir el mínimo el estrés de los animales durante el transporte.

3.6.4. BIENESTAR DURANTE EL SACRIFICIO

Una vez las aves llegan al matadero, las jaulas se descargan en un lugar con ambiente adecuado de forma que los animales reposen y se recuperen del estrés que haya podido generar el viaje. Por ello es importante que exista un sistema de ventilación adecuado que permita evacuar el calor ambiental que les rodea. Además, muchos de los mataderos tienen sistema de pulverización de agua que favorece reducir el calor. Normalmente las aves antes del sacrificio suelen estar un tiempo de reposo entre dos horas y dos horas y media, aunque variará en función de la duración del transporte y las condiciones de este.

Uno de los requisitos que establece el Reglamento 1099/2009 es que los animales lleguen a un estado de inconsciencia antes de proceder al degollado y escaldado. Existen diversos indicadores de bienestar animal que se utilizan para el monitoreo durante el sacrificio de

las aves de corral. Estos indicadores deben ser evaluados de forma que se confirme el estado de consciencia del animal antes de ser escaldado. Para ello, la EFSA (2013) establece unas herramientas fundamentales para el uso y la evaluación de estos indicadores. En el caso de que algunos de estos indicadores establezcan que el animal sigue vivo o consciente debe ser aturdido correctamente antes del sacrificio.

- Respiración; el signo de muerte es el cese de la respiración.
- Reflejo corneal; respuesta parpadeante provocada al tocar la córnea. La ausencia de este reflejo es signo de muerte.
- Tamaño de las pupilas; las pupilas dilatadas es un indicador de muerte.
- Tono muscular; cuerpo relajado y flácido, es un indicador de muerte.
- Sangrado; se considera el final del sangrado como el final de la muerte del animal.
- Actividad cardiaca; la muerte conduce a la ausencia total de la actividad cardiaca, es decir, la ausencia del latido cardiaco.
- Pulso; la pérdida total del pulso indica la muerte. El pulso puede ser medido presionando las arterias de alguna de las extremidades.

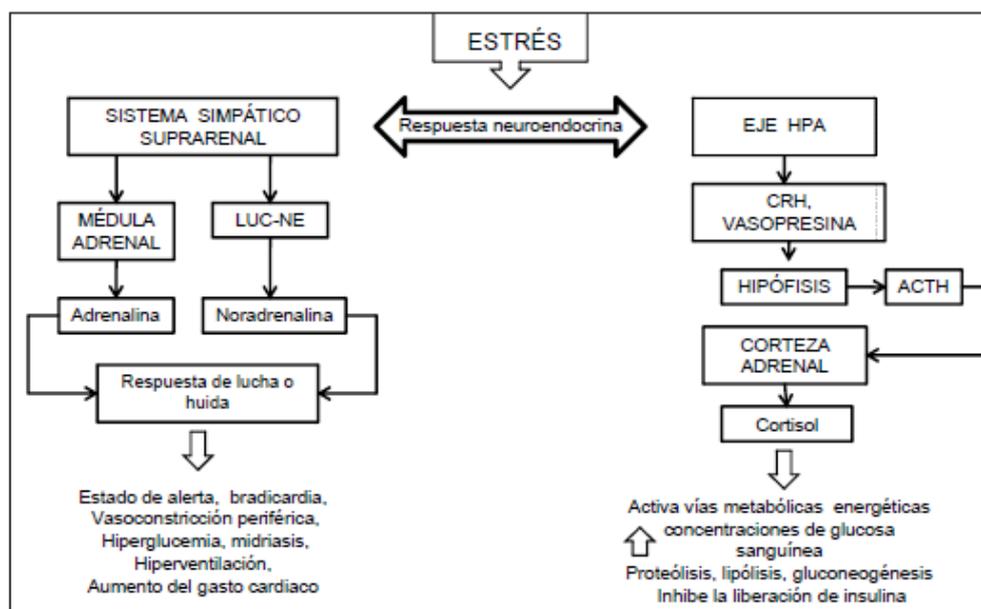
Se establecen dos etapas fundamentales para evaluar el bienestar animal en el aturdimiento por gas; una durante el colgado en la cadena y otra durante el degollado (EFSA, 2013).

3.6.5. PARÁMETROS DE BIENESTAR ANIMAL (BIOMARCADORES)

Existen diversos biomarcadores sanguíneos que nos permiten estimar el nivel del estrés del animal en las diferentes etapas de su ciclo biológico (desde la cría hasta el sacrificio). Como ya se ha descrito anteriormente, hasta el momento del sacrificio, los animales se encuentran expuestos a diferentes situaciones de estrés, tales como movimientos bruscos previos y durante la carga en las jaulas para su transporte, aumento de densidad, el ruido, condiciones climáticas, vibraciones durante el transporte hasta el matadero, el manejo del animal antes del aturdimiento, nuevos ambientes, privación de agua y alimento, imposibilidad de descanso (Grandin, 2003; Minka & Ayo, 2007; Costa, 2009). Estos son algunos ejemplos que pueden provocar agotamiento físico y estrés psicológico (alteración del estado de consciencia) y fisiológico (cambio en la homeostasis) al animal. Algunos

defectos en la calidad cárnica, estados de salud del animal y efectos en el bienestar animal pueden venir causados por estas situaciones de estrés (Gregory, 2008).

El estrés provoca una alteración en la homeostasis de los animales afectando al sistema de trabajo normal del eje hipotálamo-pituitaria-adrenocortical (HPA) y el sistema simpático-adreno-medular. La activación del sistema endocrino promueve la liberación de diferentes hormonas, destacando principalmente los glucocorticoides (cortisol en mamíferos y corticosterona en aves) junto con la concentración de glucosa y lactato (Romero et al., 2011).



(Fuente: Romero et al., 2011)

Figura 4. Esquema de la respuesta general del estrés

Ante una situación de estrés, el organismo posee diversas respuestas de defensa que no tienen por qué actuar todas a la vez. Ante un síndrome de emergencia, se activa un conjunto de reacciones en cadena que permiten poner al animal en estado de alerta y prepararlo para reaccionar rápidamente si fuera necesario tener que huir o enfrentarse a cualquier lucha. El hipotálamo se activa y provoca la liberación de adrenalina y noradrenalina de la médula adrenal y las fibras nerviosas respectivamente. De esa forma, se genera un aumento de la frecuencia cardíaca, vasoconstricción periférica, hiperventilación, aumento de la glucosa sanguínea, aumento del volumen sanguíneo y

dilatación pupilar. Además, el eje HPA comienza a liberar corticotropina que activa la liberación de la hormona adenocorticotrópica responsable de la activación de la síntesis de glucocorticoides tales como el cortisol (Lay & Wilson, 2001).

Los glucocorticoides promueven el aumento de glucosa en sangre, por lo que se limita su uso por las células y provoca un aumento de la concentración hasta un 50% sobre el nivel normal. Además, se estimula la proteólisis, lipólisis, gluconeogénesis junto con el aumento de la síntesis de las enzimas implicadas en la conversión de aminoácidos, glicerol y lactato en glucosa (Trevisi & Bertoni, 2009).

Existen diversos parámetros de comportamiento (agitación, lucha, temblor, etc.), fisiológicos (debilidad, hiper o hipotermia), bioquímicos (glucosa, lactato, glucógeno...) inmunológicos y patológicos que se han utilizado para evaluar la respuesta de los animales al estrés (Romero et al., 2011).

Hänsch et al. (2009) determinaron diferentes comportamientos en pavos aturdidos con dióxido de carbono, entre los cuales cabe destacar:

- Aleteo ligero, intenso y vigoroso como reacción defensiva al CO₂.
- Respiraciones profundas entre las que comprenden respiraciones larga y profunda con el pico abierto.
- Sacudida de la cabeza debido a la sensación ácida y picor por la reacción del CO₂ en las membranas de las mucosas.
- Posición anormal de la cabeza.
- Pérdida de la postura de la cabeza (la cabeza es totalmente atónica).
- Postura de la cabeza conservada (el control de la postura de la cabeza sigue aparente).

El cortisol y la corticosterona son biomarcadores de amplia utilización para evaluar el estrés que experimentan los animales cuando son expuestos a condiciones adversas o estresantes tales como aislamiento, restricción del movimiento o transporte inadecuado (Miranda-de la Lama et al., 2010). Se utilizan diversas muestras biológicas para su análisis como heces, orina, saliva y sangre, siendo este último el medio por excelencia ya que el resto puede dificultar una correcta interpretación. Además, la concentración de estos glucocorticoides tiene una variación rítmica circadiana, a la vez que es dependiente del tiempo transcurrido desde la acción del agente estresante, entre 10 y 20 minutos

alcanza los valores máximos y se elimina a los 60 minutos aproximadamente (Buckham et al., 2008; Averós et al., 2008; Souza et al., 2006).

Según Mormède et al. (2007), los niveles plasmáticos basales de cortisol se encuentran por debajo de 10 ng/ml, aunque se ha demostrado que fluctúan entre 0-20 ng/ml.

La concentración de glucosa en sangre se ve incrementada en minutos en situaciones de estrés dado que el aumento de la frecuencia cardiaca y la presión sanguínea provocadas por las catecolaminas, estimulan la gluconeogénesis hepática. El cortisol, la insulina y el glucagón también participan en la regulación de la glucosa ante este tipo de situación (Bórnez et al., 2009). El cortisol activa la glicolisis hepática, la gluconeogénesis e incremento del catabolismo de las proteínas libres (Knowles & Warriss, 2006; Tadich et al., 2005).

El lactato es considerado un indicador de estrés relacionado con las condiciones de manejo de los animales, especialmente relacionado por un ejercicio físico (Hambrecht et al., 2005). Durante un ejercicio intenso, el músculo entra en estado de hipoxia activándose la vía anaerobia de la glicolisis. El piruvato se desvía para la formación de lactato por el ciclo de Cori en vez de formar ATP en el ciclo de Krebs. El lactato es liberado al torrente sanguíneo.

3.7. RELACIÓN DE MARCADORES BIOLÓGICOS DE BIENESTAR ANIMAL CON LOS PARÁMETROS DE CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE

En aves, al igual que en otras especies de abasto, los principales atributos relacionados con la calidad de la carne son su aspecto y textura. La apariencia es una de las cualidades críticas a la hora de que los consumidores realicen la selección y compra de las piezas cárnicas. Por tanto, el color de la piel, de la carne cruda y cocinada, así como la presencia de hematomas, hemorragias y otros defectos se consideran parámetros de apariencia que afectarán a la preferencia por parte del comprador. La textura es una de las propiedades más importantes que afecta a la calidad sensorial.

El bienestar animal y el sistema de aturdimiento son factores importantes que tienen influencia en la calidad final de la canal. Son numerosos los investigadores que han corroborado que el sistema de aturdimiento por gas mejora considerablemente la calidad final de la canal y de la carne, destacando una reducción del número de huesos rotos, hematomas y mejora de la terneza de la carne (Kang y Sams., 1999; Fleming et al., 1991; Veeramuthu & Sams, 1993). Bianchi (2008) determinó que las canales de pavos aturdidos con gas presentaban un color menos rojizo, un mayor rendimiento en la cocción y niveles de terneza superiores que las canales de pavos sometidos a un aturdimiento eléctrico. Raj & Johnson (1997) comprobaron que el aturdimiento bajo atmósfera anóxica provoca una aceleración en el *rigor mortis* en pollos por una bajada rápida del pH a consecuencia del movimiento y aleteo que provoca al animal la ausencia de oxígeno.

Sin embargo, otros estudios indican que la terneza de la carne no ha sido afectada en función del sistema de insensibilización utilizado cuando la canal tiene una maduración de 24 horas (Northcutt et al., 1998).

3.8. BENEFICIOS NUTRICIONALES PROCEDENTES DE ALIMENTOS FUNCIONALES: EL AJO

3.8.1. INTRODUCCIÓN

Uno de los factores fundamentales a la hora de llevar a cabo el desangrado de los animales es la viscosidad de la sangre. El objetivo es conseguir que la sangre esté lo más fluida posible para favorecer este proceso. La fluidez de la sangre permite una mejor evacuación de las venas cuando el animal se ha degollado y se inicia el proceso de desangrado. Son conocidos diversos métodos que promueven la licuación de la sangre, entre ellos cabe destacar los compuestos medicamentosos, ciertos ambientes atmosféricos y algunos tipos de alimentos.

La alimentación es una de las herramientas prácticas que promueve el tratamiento de deficiencias en el mecanismo biológico de cualquier animal. Es bien conocido el interés por los compuestos bioactivos de ciertos alimentos que son de gran utilidad como

herramientas bioquímicas y farmacológicas. Son varios los alimentos que han demostrado poseer efectos beneficiosos en el sistema antiagregante, tales como el ajo (Ledezma & Apitz-Castro, 2006), cebolla, tomate, uva (Torres et al., 2008).

El ajo, botánicamente conocido como *Allium sativum*, se ha popularizado por las propiedades anticoagulantes que se le atribuyen junto con otras más como, agente participante en el mecanismo fibrinolítico, propiedades antiaterogénicas, hipocolesterolemiantes, antiplaquetarias, antifúngicas, antiartrósicas, antiglicémicas, además, actúa en la prevención de los desórdenes neurológicos, cardiovasculares, hepáticos y alérgicos (Bordia et al., 1998; Yun et al., 2014). Ya desde la antigüedad era uno de los alimentos recomendados por sus aptitudes terapéuticas. Fue en las zonas del Nilo y Ganges donde se comenzó a domesticar y cultivar el ajo y desde ahí se extendió por el resto de las culturas (Ledezma & Apitz-Castro, 1998).

Son muchos los estudios sobre la efectividad de este compuesto en cada una de las aptitudes y aplicaciones que se les atribuye (Yun et al., 2014). De la misma forma, numerosos estudios recogen los efectos anticoagulantes tanto del ajo completo como de su extracto. Un hecho muy importante en el estudio de beneficios anticoagulantes del ajo fue la purificación de 3 fracciones del extracto de ajo con actividad antiplaquetaria, entre ellas una de las más activas actualmente conocida (Ledezma & Apitz-Castro, 1998).

3.8.2. COMPUESTOS ACTIVOS DEL AJO

Aunque se conocen más de 100 compuestos bioactivos en el ajo (Ledezma & Apitz-Castro, 2006), los efectos antiplaquetarios se atribuyen principalmente a los diferentes compuestos derivados del azufre, polisulfidos y compuestos no azufrados como la adenosina. En las Tabla 10 y 11 se incluyen los efectos atribuidos a los diferentes compuestos del ajo (García & Sánchez, 2000).

Tabla 10. Principales compuestos azufrados del ajo y sus actividades biológicas.

COMPUESTO	POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA
Aliina	Hipotensora, hipoglucemiante.
Ajoeno	Previene la formación de coágulos, ayuda a disolverlos. Antiinflamatorio, vasodilatador, hipotensor, antibiótico.
Alicina, tiosulfatos	Antibiótica, antifúngica, antiviral.
Alil mercaptano	Hipocolesterolemiante, previene la aterosclerosis, antitumoral, antidiabética, hipotensora.
Sulfuro de dialilo y afines	Hipocolesterolemiante. Aumento de la producción de enzimas desintoxicantes. Anticancerígeno. Previene los daños químicos del DNA
S-alil-cisteína y compuestos glutámico	Hipolesterolemiantes, antioxidantes, quimioprotectores frente al cáncer. Favorecen la acción desintoxicante del hígado frente a sustancias químicas.

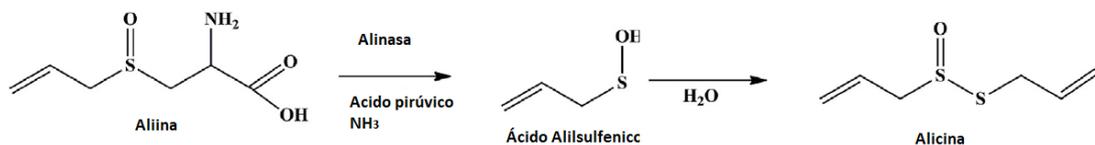
Tabla 11. Compuestos no azufrados del ajo y sus actividades biológicas.

COMPUESTO	POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA
Adenosina	Vasodilatadora, hipotensora, miorelajante. Estimula la síntesis de hormonas esteroideas. Estimula la liberación del glucagón.
Fructanos	Efectos cardioprotectores. Estimula el sistema inmune por medio de macrófagos y células esplénicas.
Quercitina	Estabiliza los mastocitos. Ejerce por tanto efectos beneficiosos en el asma y la alergia.
Saponinas (Gitonina F, Eurobósico B), Escordina	Hipotensoras. La Gitonina F es antivírica, el Erubósito V antifúngico. Hipotensora en conejos y perros. Factor de crecimiento en dosis elevadas. Incrementa la utilización de la vitamina B1. Antibacteriana.
Selenio	Antioxidantes. Antiinflamatorios.
Asidos fenólicos	Antivíricos y antibacterianos.

El tipo de compuesto presente en el ajo y la concentración influye en función de varios factores como son el grado de madurez, la forma de cultivo y producción, la localización geográfica y las condiciones de procesamiento. De la misma forma estos compuestos se encuentran en diferente proporción en función del estado en el que se encuentre el ajo; deshidratado, seco, en cápsulas, en extracto acuoso, alcohólico u oleoso (García & Sánchez, 2000).

Algunos de los compuestos bioactivos no están presentes en las células como tal, sino que son procedentes de numerosas reacciones en cadena iniciadas cuando el producto es troceado, molido o machacado. Esto hace que los diversos compuestos se liberen y puedan interactuar entre sí. Por tanto, en función del procesamiento del ajo se pueden obtener unos u otros compuestos.

Uno de los compuestos bioactivos del ajo es la alicina (S-Alil-2-propentiosulfinato). Se trata de uno de los tiosulfonatos mayoritarios en el ajo, representando aproximadamente un 70% del total de estos compuestos. Dicha molécula, responsable del sabor picante y olor típico del ajo, procede de la formación a partir de la aliina mediante la acción de la enzima alinasa una vez que el ajo ha sido sometido a algún tratamiento mecánico que permita liberar dichas moléculas que se encuentran en compartimentos celulares diferenciados (Ledezma & Apitz Castro, 2006; Salehi et al., 2019). Esta enzima tiene un mecanismo de acción sensible al pH y al calor, por lo que, en los procesos de deshidratación, temperaturas superiores a 60°C pueden provocar su degradación e inactividad (El-Sabban, 2009).



Fuente: (La autora)

Figura 5. Reacción enzimática de la formación de Alicina.

3.8.3. MECANISMO DE ACCIÓN

3.8.3.1. EFECTO ANTIPLAQUETARIO Y ANTITROMBÓTICO

La inhibición de la agregación plaquetaria y la formación de tromboxina puede deberse a la actuación del dialil disulfuro (DADS) y trisulfuro de dialilo (DAT), ambos componentes mayoritarios encontrados en el ajo (Rajaram, 2003; Chan et al., 2007). El mecanismo por el cual se consigue este efecto no es totalmente conocido, aunque ciertos autores apuntan a que promueven la inhibición de la formación de enzimas que favorecen la formación de tromboxano y prostaglandinas (García & Sánchez, 2000).

Otro compuesto del ajo estudiado por su acción antitrombótica y descubierto por el profesor Erick Block en 1984 es el ajoeno, compuesto presente durante la maceración del ajo. A partir de 1986, son múltiples los estudios *in vivo* e *in vitro* realizados sobre este compuesto con relación a: inducción de la actividad plaquetaria por los diferentes agonistas (ADP, epinefrina, colágeno, ácido araquidónico, PAF), formación de trombos y disminución del número de plaquetas circulantes que amplifican el fenómeno de agregación plaquetaria (Ledezma & Apitz-Castro, 1998; Salazar, 2000).

La alicina, adenosina y polisulfidos han demostrado poseer también acción contra la actividad plaquetaria, siendo la adenosina la que mayor actividad ha presentado en estudios *in vivo*. En cambio, diversos estudios comparativos han indicado que la alicina es la molécula que tiene mayor efecto sobre la inhibición de la agregación plaquetaria (Makheja, 1990). Aunque el mecanismo de acción del ajoeno no está claramente establecido, se ha sugerido que el ajoeno bloquea la unión del fibrinógeno al receptor GP IIb/IIIa que se encuentra en la membrana plaquetaria, promotor de la agregación plaquetaria (Ledezma & Apitz-Castro, 1998; Rajaram, 2003).

Son numerosos los estudios *in vivo* que avalan la eficacia de la reducción de la agregación plaquetaria con la ingesta de ajo en la dieta. Para ello, se han suministrado en varias poblaciones tanto en humanos como en animales, dosis conocidas de ajo frente a la ingestión de placebos. Chan et al. (1993) suministró aceite de ajo con alta concentración en DAT's en ratas, comprobando una mejora en el tiempo de desangrado y aumento de la actividad de la antitrombina III y proteína C (Chan et al., 2007). Por otro lado, Steiner

& Li (1998) comprobaron una reducción del 30% en la adhesión plaquetaria con fibrinógeno en humanos tratados con extracto de ajo.

También se ha demostrado que un consumo de un diente de ajo por día durante 26 semanas consecutivas produce una reducción del 80% del tromboxano sérico y un 20% del colesterol sérico (Makheja, 1990). Por tanto, mantener en el tiempo el consumo de este alimento supone un mayor efecto beneficioso.

El efecto antiplaquetario ha sido observado tras 2-4 horas desde la administración del compuesto activo. Aunque la permanencia del efecto desaparece rápidamente, se ha observado que existe una pequeña acumulación del principio activo que permanece (Makheja, 1990).

Además, otros estudios han demostrado que el consumo del ajo mejora la fluidez de la sangre (El-Sabban, 2009).

3.8.3.2. EFEECTO HIPOCOLESTEROLEMIANTE

Los niveles de lípidos sanguíneos se han visto reducidos en numerosos estudios realizados en las que se le ha administrado una dosis conocida de ajo en personas sanas como en personas con niveles altos de lípidos en sangre. En ambos casos se ha visto una reducción del 15% en el nivel de colesterol de pacientes sanos y del 29% en dos meses con pacientes con hipercolesterolemia. A diferencia de Ernst et al. (1985) y Sucur (1980) que sólo encontraron una mejora del 10% en la población de estudio que ingirió 600 mg de ajo en polvo frente a la que no fue tratada. En cambio, McCrindle (1998) no encontró diferencias en los niveles plasmáticos de lípidos en pacientes que ingerían 300 mg al día de extracto de ajo.

Barrie (1987) observó una reducción significativa de los niveles de colesterol plasmático en personas sanas a las que se les administró 18 mg de aceite de ajo frente al placebo. Otros beneficios fueron apreciados con esta dosis de aplicación como fue reducción de la presión sanguínea e incremento de los niveles plasmáticos de HDL. Este efecto también fue demostrado en humanos por Bhusan et al. (1979) y Bordia (1981).

La responsable del efecto hipocolesterolemiante atribuido al ajo un puede ser la alicina, uno de sus compuestos activos, que se combina con el grupo -SH de las enzimas b hidroxib metilglutaril CoA sintetasa y la b hidroxib metilglutaril CoA reductasa, encargadas de la biosíntesis del colesterol en el hígado (Barrie et al., 1987). A su vez se ha visto una acción en las enzimas que actúan en la formación de esteres de colesterol que potencian la acción de las hidrolasas de estos por lo que se amplifica la acción sobre la reducción de los niveles séricos de colesterol sanguíneo (Salazar, 2000).

Por otra parte, el efecto anticolesterolemiante puede verse reducido por la acción del ajo sobre la secreción de bilis en el páncreas, que actúa incrementándola (Salazar, 2000).

3.8.3.3. EFECTO ANTIATEROGÉNICO

La aterosclerosis es un síndrome causado por la deposición de diversas sustancias lipídicas en la pared arterial. Esto provoca estrechamiento de la luz arterial y aumenta el riesgo de obstrucciones en las mismas. Diversos compuestos lipídicos alteran la luz del endotelio debido a que se promueven la formación de trombos y coágulos en el mismo.

Jain (1975), Bordia (1977), Chang & Johnson (1980) y Mand et al. (1985), entre otros autores, estudiaron los efectos antiaterogénicos en ratas con una dieta alta en colesterol durante al menos un mes de administración. Todos ellos coincidieron en que la administración de ajo en la dieta disminuye las lesiones aterosas en las paredes vasculares. A su vez estos estudios advirtieron una reducción en los niveles de colesterol sanguíneo, triglicéridos, LDL pero no observaron modificaciones en los niveles sanguíneos de HDL.

Por tanto, el efecto antiaterogénico que se le atribuye al ajo se debe principalmente a la reducción de los niveles de las diversas sustancias lipídicas en los capilares sanguíneos, que son los principales promotores de este síndrome.

3.8.3.4. EFEECTO EN LA ACTIVIDAD FIBRINOLÍTICA

La fibrinólisis es el proceso por el cual se produce la degradación de la fibrina, proteína filamentosa responsable del desarrollo y formación del coágulo. Una deficiente actividad fibrinolítica puede causar desajustes séricos provocando que aparezca una mayor formación de coágulos.

En conejos alimentados con una dieta rica en colesterol, se ha demostrado que la suplementación con 250 mg/día de ajo crudo ha incrementado considerablemente la actividad fibrinolítica, reduciendo la probabilidad de formación de coágulos (Sainani et al., 1979). La actividad fibrinolítica del plasma se ha visto incrementada en dietas ricas en colesterol suplementadas con ajo. Numerosos estudios han visto reproducidos estos resultados también en humanos en los que se les ha aportado una dieta rica en ajo en diferentes dosis y presentaciones; ajo fresco, aceite de ajo, ajo en polvo. El efecto en el incremento de la actividad fibrinolítica ha sido observado desde 3 a 6 horas desde su ingestión y mantenido durante toda la aplicación (El-Sabban, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. POBLACIÓN ANIMAL

La población animal utilizada para el desarrollo de este estudio fue de 400 pavos de la estirpe B.U.T. Premium. Esta línea genética de pavos es comercializada por la empresa multinacional Aviagen Turkeys. Es uno de los genotipos con un rendimiento comercial alto y bajos costes de producción, erigiéndose como una de las estirpes más utilizadas dentro de la industria cárnica (Aviagen, 2019).

Los pesos de los animales vivos, las ganancias medias diarias, el factor de conversión y el consumo diario de pienso de los pavos de dicha estirpe, reflejados en las Tablas 12 y 13, pueden verse alterados en función de la alimentación que los animales disponen a lo largo de su vida (se aconseja seguir las recomendaciones ofrecidas por la casa comercial) y en función de las condiciones de crianza en cada granja.

Tabla 12. Parámetros de crecimiento de pavos machos de la estirpe BUT Premium en función de la edad. Fuente: Aviagen Turkeys.

Edad (semanas)	Peso vivo (kg)	Ganancia diaria de peso (g/día)	FCR acumulativo (kg/kg)	Consumo diario de pienso (g/día)
16	14.80	132.1	2.18	531
18	17.38	137.9	2.32	581
20	19.87	141.9	2.45	609

Tabla 13. Parámetros de crecimiento de pavos hembras de la estirpe BUT Premium en función de la edad. Fuente Aviagen Turkeys.

Edad (semanas)	Peso vivo (kg)	Ganancia	FCR	Consumo
		diaria de peso (g/día)	acumulativo (kg/kg)	diario de pienso (g/día)
12	7.14	85.0	2.08	342
14	8.87	90.5	2.26	379
16	10.48	93.6	2.44	408

Para evaluar la influencia del sistema de aturdimiento con CO₂ sobre la eficacia del desangrado de las piezas de mayor valor comercial, así como sobre los niveles sanguíneos de los biomarcadores de bienestar (glucosa, lactato y cortisol), se seleccionaron animales de diferentes sexos, edades y pesos. La población consistió en dos grupos de pavos machos bien diferenciados por su edad y peso: 50 machos grandes de 10.60 ± 0.12 kg y 17 semanas de edad (25 animales por receta de aturdimiento) y 50 machos pequeños de 7.63 ± 0.15 kg y 15 semanas de edad (25 animales por receta), y un grupo de 50 hembras de un peso medio de 6.10 ± 0.09 kg y 15 semanas de edad (25 animales por receta). A las canales de estos animales también se les midieron los parámetros de calidad cárnica tras 20 minutos, 24 horas y 7 días postmortem.

Tras aplicar ambas recetas de aturdimiento, se les realizó un examen exhaustivo a otros 150 individuos (25 pavos de cada tipo comercial y receta) de los reflejos oculares, palpebrales y podales, postura corporal, respiración y movimientos cardiacos.

Por otro lado, para determinar los biomarcadores sanguíneos de bienestar animal basales y tras el transporte, se tomaron muestras a 25 pavos machos grandes, 25 pavos machos pequeños y 25 pavos hembras. A estos animales se les midieron los niveles de glucosa, lactato y cortisol en granja una semana antes de ser cargados y en planta durante el periodo de descanso tras el transporte.

Finalmente, para valorar la influencia de la alimentación enriquecida con ajo sobre los parámetros de bienestar animal (glucosa y lactato) y sobre la eficacia del desangrado en piezas de valor comercial se utilizaron 25 pavos machos grandes (10.60 ± 0.12 kg y 17 semanas de edad) de una granja alimentada con este tipo de pienso. Este tipo comercial

fue el seleccionado para realizar este análisis debido a que es la población que presenta mayor incidencia de presencia de restos sanguíneos en las piezas de mayor valor comercial.

4.2. ALIMENTACIÓN Y MANEJO

Todos los animales del presente estudio nacieron y fueron criados y manejados bajo las mismas condiciones que se describen a continuación.

El sistema de producción de los pavos constó de cuatro etapas diferenciadas: nacimiento del pavo en la incubadora, fase de crecimiento en granjas de recría, engorde del animal en granjas de cebo y traslado al matadero.

4.2.1. FASE DE NACIMIENTO EN INCUBADORA

Los huevos fueron sometidos a un proceso de aclimatación en cámaras con temperatura y humedad controladas que simulaban las condiciones naturales de incubación del pavo. El huevo fue volteado con una frecuencia de 60 minutos, de forma que los niveles de oxígeno, dióxido de carbono, humedad, temperatura ambiente y temperatura del cascarón se asemejasen lo máximo posible al nido del animal.

Los pavos de un día fueron diferenciados individualmente por sexo y trasladados posteriormente a las granjas de recría mediante camiones específicos para tal fin.

4.2.2. FASE DE CRECIMIENTO EN GRANJAS DE RECRÍA

Los animales permanecieron durante 28 días en estas instalaciones en las que alcanzaron un peso medio en machos de 1.1 kilogramos y en las hembras de 0.9 kilogramos. Las naves tenían una superficie de 1300 m², a razón de 20 pavos/m², tanto en machos como en hembras.

Durante su permanencia en esta fase, los pavos fueron alimentados con un pienso comercial de recría caracterizado por su fina granulometría, a razón de 85 gramos/día por animal hembra y 99 gramos/día en el caso de los machos. El suministro del alimento y el agua fue a libre disposición durante toda la fase de crecimiento.

Todas las granjas disponían de iluminación artificial que permitía que los animales dispusiesen de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad desde el tercer día de nacimiento.

4.2.3. FASE DE ENGORDE EN GRANJAS DE CEBO

Seguidamente los animales iniciaron la etapa de engorde en las granjas de cebo, en las que permanecieron 77 días las hembras, 77 días los machos pequeños y 92 días los machos de mayor tamaño, alimentándose con el pienso comercial de cebo hasta su fase final. La disponibilidad de pienso y agua fue libre hasta 12 horas antes del sacrificio, en el momento a partir del cual el animal fue sometido a ayuno. Las densidades en las granjas de cebo fueron de 4 animales machos/m² y 5 animales hembras/m². Como ya se ha señalado, los pesos medios alcanzados antes de llegar a matadero para cada uno de los grupos de pavos en estudio fueron de 12 kg en el caso de los machos de gran tamaño, 8 kg en los machos pequeños y 6 kg en las hembras.

Se unifica de esta forma la alimentación de todos los animales en estudio, minimizando al máximo la variabilidad debida a la dieta de cada grupo de animales.

En la Tabla 14 se reflejan los diferentes ingredientes que se utilizaron para la fabricación de los piensos con los que fueron alimentados los animales durante la fase de recría y cebo.

Tabla 14. Composición de los piensos en la fase de recría y cebo.

MATERIA PRIMA	RECRÍA (%)	CEBO (%)
Trigo	38.2	43.5
Maíz	15	5
Soja 47 %	30	25.27
Cebada	5	-
Soja extrusionada	-	9
Girasol	5	10
Aceite de soja	2	3
Bicarbonato	0.2	0.2
Fosfato	2	2
Carbonato	2	0.03
Sales minerales	0.1	0.5
Corrector vitamínico mineral ¹	0.5	1.5

¹Cantidad suministrada por kg de pienso:

Fase de recría: retinol, 4,5 mg; colecalciferol, 0,1 mg; 25 - hidroxicolecalciferol, 0,092 mg; tocoferol, 100 mg; cobalamina, 30 mg; piridoxina, 6 mg; menadiona, 4 mg; tiamina, 4,5 mg; riboflavina, 15 mg; ácido nicotínico, 75 mg; pantotenato de calcio, 30 mg; ácido fólico, 4 mg; biotina: 0,25 mg; Mn, 100 mg; Zn, 100 mg; Fe, 75 mg; Cu, 10 mg; I, 3 mg; Se, 0,35 mg.

Fase de cebo: retinol, 2,4 mg; colecalciferol, 0,0875 mg; tocoferol, 30 mg; menadiona, 4 mg; tiamina, 2 mg; riboflavina, 8 mg; ácido pantoténico, 15 mg; piridoxina, 3 mg; cobalamina, 0,015 mg; ácido nicotínico, 54 mg; pantotenato de calcio, 20 mg; ácido fólico, 2 mg; biotina, 0,20 mg; Mn, 105 mg; Zn, 95 mg; Fe, 40 mg; Cu, 10 mg; I, 2 mg; Se, 0,30 mg.

Durante la fase de alimentación suplementada con compuestos procedentes del ajo, los animales fueron alimentados durante todo el periodo en granja de cebo con un pienso enriquecido con un 0.2% de la premezcla sólida de ajo morado fresco (Zooalium ® molturado). El resto de los ingredientes fueron mantenidos en las mismas proporciones que en la alimentación estándar.

La composición nutricional del pienso comercial suministrado en cada una de las etapas se vio ligeramente diferenciada. Cada pienso, recría o cebo, presentó los valores nutricionales y energéticos mostrados en la Tabla 15.

Tabla 15. Valores nutricionales del pienso suministrado en fase de recría y cebo.

NUTRIENTE	RECRÍA	CEBO
Energía (Kcal/Kg)	2700	2950
Proteínas (%)	26	21
Hidratos de carbono (%)	28	32
Grasas (%)	4	6
Cenizas (%)	7.5	5.8
Calcio (%)	1.15	0.85
Fósforo (%)	0.8	0.5

Antes de proceder a la carga de los animales en las correspondientes jaulas, se realizó la toma de muestras sanguíneas para conocer los niveles basales de lactato, glucosa y cortisol en granja. Para ello, se cogió individualmente a cada animal muestreado para realizarle la extracción de sangre a partir de la cual se hicieron las diferentes determinaciones. La sangre fue extraída del ala derecha del animal a través de una jeringuilla estéril para cada uno de los animales dentro del minuto posterior a la captura del animal para reducir al mínimo la influencia del manejo (Voslarova et al., 2008). La sangre contenida en la jeringuilla fue depositada sobre el pocillo de las tiras reactivas de glucosa y lactato para obtener *in situ* el resultado de concentración de ambos parámetros de cada uno de los animales muestreados. Además, el resto de sangre se introdujo en los Serotub© con gel separador de suero de 4 ml de capacidad para realizar el posterior análisis de cortisol. Dichos tubos fueron almacenados en refrigeración desde la extracción y durante su transporte al laboratorio de análisis clínicos veterinarios en un tiempo inferior a 24 horas.

Una vez realizada la toma de muestras, se procedió a realizar la carga de los animales en las diferentes jaulas mediante un equipo humano de cargadores especializados en estas funciones.

4.2.4. TRANSPORTE HACIA EL MATADERO

Todas las aves fueron trasladadas el mismo día en transportes especializados hacia el matadero a las 7:00 horas de la mañana. Las granjas en las que permanecieron los animales durante la fase de cebo estaban situada a unos 60 Km del matadero, con aproximadamente una hora y media de viaje hasta las instalaciones donde se realizó el sacrificio. Los camiones utilizados para el transporte disponían de jaulas en las que se introdujo un número específico de animales en relación con el tamaño y peso de estos. Las dimensiones de las jaulas eran de 2.7 m alto x 1.45 m profundidad x 1.2 m de ancho, formada por 7 pisos de altura. La densidad durante el transporte fue 9 pavos machos grandes/piso, 12 pavos machos pequeños/piso y 15 pavos hembra/piso.

Una vez los animales fueron recibidos en el matadero, se mantuvieron durante una hora de reposo en condiciones de confort en cuanto a temperatura, humedad e iluminación, antes de proceder a la fase de aturdimiento y sacrificio. La temperatura de la nave fue de 20-25°C, con una humedad relativa del 60% e iluminación leve. Las aves fueron mantenidas en ayuno de alimento y agua desde las 11 horas previas al transporte y durante todo el periodo de espera. Con estas medidas adoptadas tras la recepción de los animales en el matadero, el posible estrés generado durante la fase de transporte fue minimizado.

Una vez que los pavos guardaron el tiempo de reposo estipulado, se volvió a realizar una extracción de sangre del ala derecha del animal para evaluar los niveles sanguíneos de glucosa, lactato y cortisol de los animales. La metodología utilizada fue exactamente igual a la aplicada en granja. A partir de estos valores y de los basales se evaluó el nivel de estrés del animal en la fase presacrificio.

4.3. FASE DE ATURDIMIENTO

El aturdimiento se realizó en una cabina de atmósfera controlada por inyección de dióxido de carbono. Dicha cabina (3 m alto x 3 m profundidad x 2 m de ancho) fue diseñada para realizar el aturdimiento de los animales directamente en las jaulas de transporte en las que se encontraban. Por lo tanto, los animales en ningún momento fueron manipulados desde la carga en granja hasta el colgado de estos una vez aturdidos. Ningún animal fue retirado

por muerte previa al aturdimiento durante la revisión realizada por los operarios del matadero. En cada ciclo de aturdimiento se introdujeron 2 jaulas (126 pavos machos grandes, 168 pavos machos pequeños y 210 pavos hembras). En la cabina se monitorizó en cada momento a tiempo real la concentración de dióxido de carbono que se incorporó en el interior mediante los diferentes medidores de gases instalados en su interior. La atmósfera en el interior de la cabina fue homogénea en cada fase del aturdimiento gracias al sistema de ventilación forzada que permitió un correcto flujo del aire a través de todos los animales que se encontraban en el interior. El cierre de las puertas de la cabina fue hermético en cada una de las pruebas, disponiendo de un medidor de dióxido de carbono en el exterior de la misma cabina conectado con una alarma luminosa capacitada para detectar cualquier posible fuga.

Cada uno de los tipos de pavos (machos grandes, machos pequeños y hembras) fue dividido en dos grupos, formando agrupaciones de 25 animales. Cada uno de los grupos quedó expuesto a diferentes concentraciones de dióxido de carbono durante la etapa de aturdimiento. El primer grupo de pavos machos grandes, machos pequeños y hembras fueron sometidos a un incremento paulatino de la concentración de dióxido de carbono durante su fase de aturdimiento (Receta 1), mientras que el segundo grupo sufrió un aturdimiento con un incremento rápido de la concentración del gas anestésico (Receta 2). Los tiempos y concentraciones para cada uno de los grupos comerciales de animales se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Concentración de CO₂ y tiempo de aplicación en cada una de las recetas de aturdimiento para cada uno de los tres tipos comerciales estudiados.

TIPO COMERCIAL	RECETA	FASE	[CO₂] (%)	TIEMPO (seg.)	N
Machos grandes	Receta 1	1	30	15	25
		2	55	40	
		3	70	45	
Machos pequeños	Receta 1	1	30	15	25
		2	55	40	
		3	70	45	
Hembras	Receta 1	1	30	15	25
		2	55	40	
		3	70	45	
Machos grandes	Receta 2	1	30	15	25
		2	80	85	
Machos pequeños	Receta 2	1	30	15	25
		2	80	85	
Hembras	Receta 2	1	30	15	25
		2	80	85	

4.4. EVALUACIÓN DEL GRADO DE SENSIBILIDAD DESPUÉS DEL ATURDIMIENTO

Una vez aturdidas, 25 aves de cada tipo comercial fueron inspeccionadas individualmente para evaluar los signos de consciencia del animal, según propusieron la EFSA (2013), Erasmus et al. (2010) y Verhoeven et al. (2015). La Tabla 17 muestra la valoración de la sensibilidad o insensibilidad del animal en relación con la presencia/ausencia de determinados reflejos y actividad cardiaca. Los parámetros evaluados fueron: pérdida de la postura, reflejos respiratorios por movimientos en la zona de la cloaca e interfalángicos al manipularlo, reflejos en los párpados y córneas al tocar ligeramente esta zona y actividad cardiaca.

Tabla 17. Puntuación del tipo de reacción y síntomas tras aturdimiento.

PUNTUACIÓN	TIPO DE REACCIÓN	SÍNTOMAS
0	Sensibilidad	El animal posee movimientos respiratorios, reflejos interfalángicos, corneales y palpebrales. El animal reacciona tras tocar ligeramente sobre la oreja.
1	Semi-sensibilidad	Flacidez y pérdida de la postura. El ave responde al tocar ligeramente las membranas interfalángicas y/o los parpados y la córnea.
2	Insensibilidad reversible	Pérdida de la postura y el animal es incapaz de responder a un estímulo. La respiración es irregular o ausente.
3	Insensibilidad irreversible	Perdida de la postura del animal. Ausencia de reflejos corneales y palpebrales. La frecuencia cardíaca y respiratoria ha cesado.

4.5. DEGÜELLO, DESANGRADO Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE

Después del aturdido, las aves fueron colgadas por las patas sobre la cadena de la línea de matanza para su posterior degüelle, desangrado, desplumado, faenado y refrigeración de la canal. El tiempo desde que se colgaron los animales al degüelle fue aproximadamente de 20 segundos. La fase de degüello se realizó según las indicaciones de la FAO, realizando un corte limpio en el cuello del pavo, dejando la vena yugular y la arteria carótida al descubierto. El tiempo de desangrado fue de 2 minutos y 30 segundos durante el cual el animal se posicionó en la cadena de colgado boca-abajo.

En este punto de desangrado fue donde se realizó la toma de muestra de sangre para la determinación de la concentración de glucosa, lactato y cortisol de los diferentes tipos comerciales después del sacrificio. La sangre desprendida por las arterias del cuello del animal era recogida en un frasco estéril, a partir del cual se distribuyó la muestra a las tiras reactivas de glucosa y lactato y 4 ml de sangre se depositaron en el tubo Serotub® para el correspondiente análisis del nivel de cortisol. El resultado de la concentración de glucosa y lactato fue ofrecido *in situ* por los diferentes equipos de medición (One Touch®

Ultra Soft® y Lactate Scout+©). En cambio, los tubos con las muestras para la determinación del cortisol fueron almacenados en refrigeración hasta su análisis en un laboratorio especializado.

Seguidamente, los animales pasaron por la fase de escaldado, en la que permanecieron sumergidos en agua durante 3 minutos y 20 segundos a una temperatura entre 54-58°C, lo cual facilitó la eliminación de las plumas en las fases posteriores tras su paso por las desplumadoras. Posteriormente, el animal fue eviscerado, momento en el cual se extrajo el contenido intestinal, se retiró el buche y los pulmones. Las canales faenadas fueron clasificadas en un tiempo inferior a 20 minutos desde el sacrificio. En ese momento se realizó el pesado individual de cada canal, se tomó el pH, temperatura y color de la carne de la pechuga. A continuación, las canales se introdujeron en la sala de refrigeración por aire a 4 °C, donde permanecieron 24 horas. Por último, las canales refrigeradas pasaron a la sala de despiece donde se procedió a separar las diferentes piezas anatómicas y a evaluar el contenido en sangre residual de las pechugas y contramuslos. Las pechugas derechas de cada animal fueron almacenadas en refrigeración y fueron trasladadas al Laboratorio de Calidad de Carne del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba (España). Una vez allí, en un tiempo inferior a una hora desde su llegada fueron analizadas para evaluar los parámetros de calidad cárnica.

Los pavos que fueron alimentados con un pienso elaborado a partir de compuestos funcionales procedentes del ajo fueron faenados de la misma forma que se ha descrito anteriormente. Todos los animales de este lote fueron aturdidos con la receta 2 (administración del CO₂ en 2 fases).

4.6. DETERMINACIÓN DE INDICADORES SANGUÍNEOS DE BIENESTAR ANIMAL

Los principales indicadores sanguíneos de bienestar animal (glucosa, lactato y cortisol) fueron determinados en tres fases del proceso como hemos comentado anteriormente: una primera fase en granja, una segunda etapa en el matadero en la fase de descanso tras el transporte y la tercera tras el degüello. En esta primera fase el objetivo principal fue evaluar los niveles basales de estos parámetros cuando el animal se encontraba en su

hábitat habitual. De esta forma, se pudo comparar los niveles basales de glucosa, lactato y cortisol con los parámetros obtenidos en una situación de estrés para el animal como es el transporte y el aturdimiento. Las técnicas utilizadas para la determinación de cada uno de los parámetros se describen a continuación.

4.6.1. DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE

La glucosa se determinó a través de un dispositivo de medición de glucemia One Touch® Ultra Soft® (*Johnson & Johnson Medical Devices & Diagnostic*).

El principio del glucómetro consiste en la reacción de la enzima glucosa oxidasa sobre la glucosa, lo que provoca la oxidación de esta y a su vez genera un cambio del color medido por dicho aparato. La medición del cambio del color bien a través de la luz o por corriente se relaciona con la concentración de glucosa en la sangre.



(Fuente: <https://www.onetouch.es/>)

Imagen 13. Glucómetro

Por tanto, para la realización del análisis se introdujeron las tiras reactivas en dicho dispositivo, y se procedió a añadir una gota de sangre previamente almacenada en un vaso o jeringuilla estéril y recogida del ala derecha del animal (granja) o de la vena yugular y arteria carótida (matadero), sobre la canaleta de la tira reactiva. Segundos más tarde en la pantalla del dispositivo presentó directamente el valor de concentración de glucosa de la muestra expresada en mmol/L.

4.6.2. DETERMINACIÓN DE LACTATO EN SANGRE

La determinación del lactato se realizó a través del dispositivo Lactate Scout+© (EKF diagnostics, Alemania) (Imagen 14), usando la misma sistemática que con el medidor de glucosa. Las tiras reactivas están compuestas por cuatro capas, la superior está compuesta por una malla protectora donde se aplica la sangre, la segunda capa está compuesta por fibras de vidrio que permiten separar las células sanguíneas del suero, la tercera capa permite la reacción enzimática con la enzima lactato oxidasa. Esta reacción genera un cambio de color y el grado de color variará en función de la concentración de lactato en sangre. El cambio de color es medido mediante fotometría por reflectancia. La capa inferior actúa como soporte para el resto de la tira.



(Fuente:<https://byomedicsystem.es/>)

Imagen 14. Analizador de lactato.

Las tiras reactivas se introdujeron en la cavidad superior del medidor y se añadió posteriormente una gota de sangre sobre la canal de la tira reactiva. Seguidamente la pantalla del dispositivo presentaba el resultado de la concentración lactato en sangre, expresado en mmol/L.

4.6.3. DETERMINACIÓN DE CORTISOL EN SANGRE

La concentración de cortisol fue determinada mediante el kit Maglumi Cortisol (CLIA)© (Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., China) cuyo principio fue la

determinación cuantitativa del glucocorticoide a partir de un inmunoensayo competitivo quimioluminescente. Para la formación de los complejos antígeno-anticuerpo se incubaron a 37°C en los distintos pocillos de una placa el suero problema, o el control en su caso, antígenos de cortisol marcados con amino-butil-etil-isoluminol (ABEI) y anticuerpos monoclonales anti-cortisol marcados con fluoresceína isotiocianato (FITC), así como con unas micropartículas magnéticas revestidas del anti-marcador anti-FITC. Después de sedimentar en campo magnético durante 15 min, se decantó el sobrenadante y se procedió a su lavado para eliminar el exceso de reactivos no fijados al soporte sólido. Finalmente se añadió el reactivo iniciador para activar la reacción quimioluminescente. La señal fue leída a partir de un espectrofotómetro Maglumi© fully auto-analyzer en Unidades Relativas de Luz (RLU) durante 3 segundos. Esta señal es proporcional a la concentración de cortisol presente en las muestras control y suero problema por lo que su determinación se calculó a partir de una curva de calibración y se expresó en ng/ml.

4.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO RESIDUAL EN SANGRE EN PIEZAS ANATÓMICAS

El contenido residual de sangre fue evaluado en las piezas anatómicas de mayor valor comercial de la canal de pavo: la pechuga y el contramuslo.

Una vez refrigeradas durante 24 horas, las canales fueron enviadas a la sala de despiece donde se procedió a separar las diferentes piezas anatómicas de la canal. Cada una de las piezas fue faenada para la evaluación del contenido de sangre de las venas principales, de forma que con ayuda de un cuchillo se abrieron los paquetes musculares dejando al descubierto las principales venas internas tanto de la pechuga como del contramuslo.

Para la correcta evaluación, se estableció una escala de 5 puntos en cada una de las piezas, asignando el valor 0 a la ausencia de sangre residual (Imagen 15), el valor 1 se correspondió con la presencia leve de sangre en las venas (Imagen 16), el valor de 2 con la presencia severa de sangre en las venas (Imagen 17). A la vena completamente cargada de sangre se le asignó el valor 3 (Imagen 18) y finalmente la presencia de sangre en las venas junto con coágulos alrededor de la pieza se evaluó con una puntuación de 4 (Imagen 19), siendo el valor más alto de dicha escala.



(Fuente: La autora)

Imagen 15. Puntuación 0 en pechuga y contramuslos.



(Fuente: La autora)

Imagen 16. Puntuación 1 en pechugas y contramuslos.



(Fuente: La autora)

Imagen 17. Puntuación 2 en pechugas y contramuslos.



(Fuente: La autora)

Imagen 18. Puntuación 3 en pechugas y contramuslos.



(Fuente: La autora)

Imagen 19. Puntuación 4 en pechugas y contramuslos.

La evaluación de los niveles sanguíneos residuales en las diferentes piezas anatómicas se realizó tanto en la evaluación de las diferentes recetas de aturdimiento aplicadas durante el desarrollo de este estudio como en la evaluación del efecto de inclusión compuestos funcionales procedentes del ajo en la dieta.

4.8. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD CÁRNICA

Los parámetros de calidad cárnica fueron evaluados en diferentes etapas del estudio: una vez faenadas antes de pasar por el túnel de enfriamiento, tras la refrigeración de la canal (24 h postmortem) y tras 7 días desde que se realizó la recogida de muestras.

4.8.1. METODOLOGÍA PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS DE PECHUGAS

Las diferentes canales faenadas, antes de trasladarlas al túnel de enfriamiento, fueron pesadas individualmente. A su vez, se tomaron muestras de pH, color y temperatura de la parte superior de la pechuga derecha del animal.

Una vez la canal fue oreada y refrigerada a 4°C durante 24 horas, se procedió a la extracción en la sala de despiece de la pechuga derecha de cada uno de los animales estudiados. Todas las piezas fueron almacenadas individualmente en bolsas envasadas al vacío y trasladadas en neveras en condiciones de refrigeración al Laboratorio de Calidad de Carne del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba (España) en un tiempo inferior a 24 horas desde su sacrificio. Las muestras recibidas fueron analizadas con las técnicas que se describirán a continuación. Las pechugas fueron seccionadas según la Figura 6; parte A para el análisis de color y pH y parte B para el análisis de pérdida de agua por goteo, pérdida de agua por cocinado y textura. Una vez finalizado el primer análisis, las piezas anatómicas fueron envasadas nuevamente en envases individuales al vacío para el siguiente análisis que se realizó a los 7 días post-mortem. Durante este periodo todas las muestras permanecieron en cámara de refrigeración entre 0-2°C.

Los parámetros analizados tanto a las 24 horas como a los 7 días tras sacrificio fueron; temperatura, pH, color, pérdidas por goteo, pérdidas por cocinado y textura.

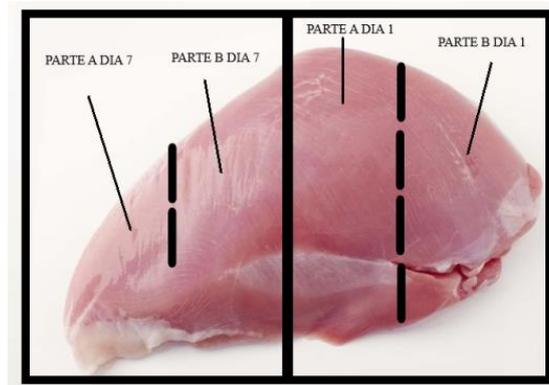


Figura 6. Esquema de distribución de las analíticas de calidad cárnica realizadas sobre la pechuga de pavo.

4.8.2. DETERMINACIÓN pH Y TEMPERATURA

La determinación del pH y temperatura se realizó mediante un pHmetro de penetración portátil de la marca Crison Ph25 (Imagen 20). Dicho equipo posee un electrodo junto con un sensor de temperatura Pt1000.



(Fuente: <http://www.crisoninstruments.com/>)

Imagen 20. pHmetro portátil

Previo a la realización del análisis el equipo fue calibrado con soluciones tampones estándar de pH4, pH7 y pH9 a temperatura ambiente, siguiendo las indicaciones de soporte del equipo. Una correcta calibración nos permite corregir las variaciones que puede presentar los electrodos.

Una vez calibrado el equipo se introdujo la sonda de penetración en el interior de la pieza de la pechuga aproximadamente a 1 cm. Inmediatamente el electrodo genera una señal eléctrica proporcional al pH y la sonda de temperatura situada al lado del electrodo proporcionó el dato de temperatura (°C) del producto.

4.8.3. DETERMINACIÓN DEL COLOR

Las mediciones de color fueron realizadas mediante un espectrofotómetro portátil de la marca Minolta y modelo CM 2600d con una medida de apertura de 8mm (Imagen 21).



(Fuente: <http://www.lfpc.es/>)

Imagen 21. Espectrofotómetro portátil.

Los valores de color analizados incluyen;

- L^* ; luminosidad. 100 corresponde al blanco y 0 al negro.
- a^* ; valor de rojizo-verdoso. Las medidas positivas corresponden al rojo y las medidas negativas corresponden al verde.
- b^* ; valor amarillento-azulado- Las medidas positivas corresponden al amarillo y las medidas negativas al azul.

Dicho equipo previamente a la toma de muestras fue calibrado frente un azulejo blanco ($L^* = 97.78$, $a^* = 0.19$, $b^* = 1.84$).

El colorímetro fue colocado sobre 2 posiciones diferentes a lo largo de la pechuga, tras 30 minutos de oxigenación, y fueron recogidos los diferentes datos aportados por el equipo (L^* , a^* y b^*). En el estudio se utilizó el promedio de ambas mediciones.

4.8.4. DETERMINACIÓN CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA

La capacidad de retención de agua fue evaluada por la medición de dos parámetros que se describen a continuación.

4.8.4.1. DETERMINACIÓN DE LAS PÉRDIDAS POR GOTEO

Para la determinación de las pérdidas por goteo se pesó aproximadamente 20 g de carne procedente de la pieza de pechuga. Estas piezas fueron suspendidas en el interior de botes herméticos de forma que la carne no tuviera contacto directo con las paredes del recipiente. Posteriormente se introdujeron en cámara a 4°C durante un periodo de 24 horas. Tras ese tiempo se extrajeron las piezas del interior del bote y se volvieron a pesar tras ser secadas ligeramente con papel de filtro.

Las pérdidas por goteo se determinaron por diferencia de peso entre el peso inicial y final atendiendo a la siguiente fórmula;

$$\text{Pérdidas por goteo} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

4.8.4.2. DETERMINACIÓN DE LAS PÉRDIDAS POR COCINADO

Para la determinación de las pérdidas por cocinado, se obtuvieron muestras de pechuga (de aproximadamente 150 gramos) y se introdujeron en bolsas de polietileno. Las bolsas fueron introducidas en un baño de agua caliente a 72°C para llevar a cabo la cocción del producto. Con ayuda de una sonda de temperatura tipo K (Omega, Laval, QC) se conoció el momento en el que el producto alcanzó 70°C en el centro geométrico de la pieza. Seguidamente las piezas fueron enfriadas a temperatura ambiente y pesadas tras secarlas exteriormente con papel de filtro. El tiempo empleado para el atemperamiento fue de aproximadamente de 30 minutos.

Las pérdidas por cocinado fueron obtenidas atendiendo a la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdidas por cocinado} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

4.8.5. DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA

Para el análisis de textura se utilizó un texturómetro TA-XT-2 (Texture Analyser®, Stable Micro Systems, Surrey, UK) con una cuchilla de corte Warner-Bratzler de 30 kg de célula de carga y una velocidad de corte de 200 mm/min.



(Fuente: La autora)

Imagen 22. Texturómetro

El análisis de determinación de la textura de la pieza cárnica partió de pechuga previamente cocinada. De cada pieza de pechuga cocinada se obtuvieron 5 piezas prismáticas de $1 \times 1 \times 3$ cm (altura, anchura y longitud). Las tiras de pechuga fueron cortadas perpendicularmente a la dirección de las fibras para obtener la máxima fuerza de corte. Se realizaron 10 mediciones en cada muestra. Los valores de textura fueron obtenidos del promedio de las 10 mediciones.

4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo a través de la herramienta informática SAS University Edition 3.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Para evaluar el efecto del sistema de aturdimiento sobre el nivel de desangrado de pechugas y contramuslos en los distintos

tipos comerciales y dietas (con y sin ajo) se emplearon 2 métodos de estimación de la prueba chi-cuadrado.

Asimismo, la asociación entre los métodos de aturdimientos aplicados y la efectividad del aturdimiento fue medida también mediante el test chi-cuadrado.

Para evaluar el efecto del sistema de aturdimiento sobre los valores plasmáticos de los biomarcadores de estrés se utilizó un procedimiento GLM. El modelo incluyó los efectos fijos del método de aturdimiento y del tipo comercial (y/o dieta), así como de la interacción entre ellos. Cuando se encontraron diferencias significativas, se llevó a cabo un análisis de comparación múltiple de medias a partir del test de Tukey. Las diferencias entre poblaciones se consideraron significativas cuando la probabilidad de rechazar la hipótesis nula fue igual o menor a 0.05.

Por último, para evaluar grado de relación entre los biomarcadores plasmáticos de bienestar entre sí y con los parámetros de calidad de la canal y de la carne se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson para toda la población y para cada sistema de aturdimiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO I

5.1. CAPÍTULO I: EFECTO DEL SISTEMA DE ATURDIMIENTO CON CO₂ SOBRE EL NIVEL DEL DESANGRADO DE LAS PIEZAS ANATÓMICAS DE MAYOR VALOR COMERCIAL

En la actualidad, el consumidor da mucha importancia a la calidad e inocuidad de los alimentos en el punto de compra. La presencia de sangre en la carne (en forma de petequias o hemorragias) o retenida en las venas representa un grave defecto de calidad por la aptitud de compra del consumidor y la disminución de la vida útil de la carne (Kranen et al., 2000). Esta sangre residual en la canal a menudo se asocia con un sabor a carne y una menor vida útil. Por lo tanto, la hemorragia excesiva causada por diferentes técnicas de aturdimiento y sacrificio puede aumentar el contenido de hemoglobina en el músculo y esto a su vez, puede disminuir la vida útil debido a una mayor oxidación. A este respecto, Mohamed & Mohamed (2012) estudiaron los efectos de dos sistemas de sacrificio, uno con extenso desangrado y otro con escaso desangrado. Estos autores encontraron diferencias notables en el color de la carne, con valores más elevados de L*, a* y b* en las muestras de animales desangrados de manera incompleta. También comprobaron que la mayor tasa de sangre residual en músculo afectó a la vida útil de la carne.

Así mismo, la presencia de sangre en la canal hace que esta se distribuya por el agua del escaldado, aumentando la cantidad de material orgánico en el agua efluente de la planta.

Queda por tanto puesto de manifiesto que para optimizar la calidad de la canal y de la carne se hace necesario un adecuado desangrado de los animales.

La mayoría de las aves de corral están aturdidas antes del sacrificio y el degüello (por corte de carótidas y yugulares) se realiza en un estado de inconsciencia. Desde el aturdimiento hasta el degüello, son numerosos los factores que influyen en el flujo e intensidad del desangrado. La presión sanguínea en humanos y animales se mantiene mediante la acción de bombeo del corazón, la tensión de la pared de los vasos sanguíneos arteriales y la resistencia de los lechos vasculares periféricos. Se ha demostrado que, en los seres humanos, aproximadamente el 84% del volumen total de sangre se encuentra en la circulación sistémica, de la que el 64% está en las venas, el 15% en las arterias y el 5% en los capilares. En aves, se pierde entre el 35% y el 50% de la sangre corporal total

durante la fase de desangrado (Newell & Shaffner, 1950). El 60% del volumen sanguíneo total se pierde durante el desangrado de los animales y del 20% al 25% queda en las vísceras, el 15% al 20% en los huesos y no más del 10% permanece en los músculos (Mohamed & Mohamed, 2012).

Durante el desangrado, los factores que afectan el flujo sanguíneo reaccionan de muchas maneras para compensar la pérdida de sangre. El sistema venoso es más extensible que el sistema arterial. Por lo tanto, durante el aturdimiento, cuando se aumenta la presión sanguínea, se acumula más sangre dentro de la circulación venosa.

Durante el desangrado el drenaje de sangre es rápido cuando se cortan los sistemas arterial y venoso, pero este drenaje representa solo sangre de grandes vasos sanguíneos. Es muy poco probable que los vasos sanguíneos pequeños se vacíen por completo. Cuando existe una demora excesiva entre el aturdimiento y el desangrado aumenta la ruptura de los capilares debido al aumento de la presión sanguínea.

En la Tabla 18 se muestran los resultados de la evaluación del nivel de desangrado de la pechuga en los animales objeto de estudio. Considerando el conjunto de animales, la mayoría de las muestras presentaron una nota de 1 (72.4%), seguida de las muestras calificadas con la nota 2 (15.3%). Cuando analizamos el efecto de la receta, comprobamos que la G2 produjo una mayor retención de sangre en las principales venas, al aumentar el número de pechugas calificadas con las notas más altas, si bien las diferencias no alcanzaron significación estadística (Tabla 19). Estos resultados se corresponden con los obtenidos por Abeyesinghe et al. (2007) quienes, sobre la base de experimentos de laboratorio (McKeegan et al., 2006), seleccionaron varias mezclas de gases comercialmente relevantes para su evaluación [una mezcla bifásica de CO₂ + O₂, con una primera fase anestésica (40% de CO₂, 30% de O₂, 30% de N₂), seguida de una fase de eutanasia (80% de CO₂, 5% de O₂, 15% de N₂), una mezcla anóxica monofásica (Ar al 90% con 2% de O₂) y una mezcla anóxica hipercápnic monofásica (60% de Ar y 30% de CO₂ en el aire con <2% de O₂)], no encontrando diferencias para el nivel y tiempo de desangrado. En el mismo sentido se manifestaron Nicolau et al. (2015), quienes, al comparar sistemas por gas para aturdimiento o muerte de aves, no encontraron diferencias en el nivel de desangrado.

Tabla 18. Puntuación del nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes, machos pequeños y hembras) según la receta de aturdimiento.

	Nota de desangrado de la pechuga									
	0		1		2		3		4	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	4	3.30	109	72.40	23	15.30	4	2.50	10	6.50
Receta G1	3	4.00	57	76.00	9	12.00	4	5.30	2	2.70
Receta G2	1	1.30	52	69.30	14	18.70	3	4.00	5	6.70
Machos grandes	-	-	20	40.00	16	32.00	4	8.00	10	20.00
Machos pequeños	-	-	45	90.00	5	10.00	-	-	-	-
Hembras	4	8.00	44	88.00	2	4.00	-	-	-	-
	Machos grandes									
Receta G1			13	52.00	6	24.00	1	4.00	5	20.00
Receta G2			7	28.00	10	40.00	3	12.00	5	20.00
	Machos pequeños									
Receta G1			23	92.00	2	8.00				
Receta G2			22	88.00	3	12.00				
	Hembras									
Receta G1	3	12.00	21	84.00	1	4.00				
Receta G2	1	4.00	23	92.00	1	4.00				

Como comprobaremos en el capítulo siguiente, la receta G2 fue la más efectiva en el aturdimiento; consiguientemente, parece que la profundidad de inconsciencia reduce el nivel de desangrado. El latido del corazón es importante para obtener un elevado nivel de exanguinación tras el degüello, como comprobó Grandin (1985) al encontrar que sistemas de aturdimiento que provocan la parada cardiaca reducen considerablemente el desangrado en aves en los primeros 90 segundos posteriores al degüello.

Aunque algunos investigadores han descrito diferencias en el nivel de desangrado entre distintos sistemas de aturdimiento, otros autores como Turcsán et al. (2001) no las encontraron en parámetros como la nota de hemorragias o la cantidad de sangre en las venas al comparar aturdimiento por gas (en dos fases) y eléctrico. Kang & Sams (1999) determinaron en pollos que el aturdimiento eléctrico (30mA) favorecía el desangrado

inicial del animal, pero al final del desangrado la cantidad de sangre se igualaba al aturdimiento por gas (40 a 60% CO₂). Por otro lado, Ali et al. (2007) concluyeron que los pollos aturdidos con voltajes intermedios de 53 y 63 voltios tuvieron mejor desangrado frente a bajos y altos voltajes, de 0-23 y 100-193 voltios, respectivamente.

Hoen & Lankhaar (1999), utilizando un sistema bifásico de aturdimiento por gas (30% de O₂ + 40% de CO₂ + 30% de N₂ en una primera fase y 80% de CO₂ + 5% de O₂ en una segunda fase) y valorando la presencia de hemorragias en pechuga y muslo según una escala de tres puntos (0 = nada, 1 = poco y 2 = mucho) obtuvieron unas cifras de 0 y 0.1, respectivamente, mientras que respecto a la presencia de sangre en las venas la valoración fue de 1.

Turcsán et al. (2001) estudiaron el efecto del sistema de aturdimiento en la calidad de la canal y de la carne de gansos. Utilizaron un sistema de aturdimiento gaseoso en dos fases (30% de O₂ + 40% de CO₂ + 30% de N₂ durante 1 minuto y 5% de O₂ + 80% de CO₂ + 15% de N₂ durante dos minutos) y valoraron la presencia de hemorragias y sangre en las venas mediante una escala de tres puntos (1 = ausencia, 2 = leve o tolerable, 3 = severa u objetivable). La valoración de la presencia de hemorragias fue 1.03 y 1.06 en pechuga y muslo, respectivamente, mientras que la valoración de retención de sangre en las venas fue 2.0 y 1.92 en pechuga y muslo, respectivamente. Los resultados de estos autores están en línea con los de Schreus et al. (1999), quienes no encontraron diferencias en la valoración de la presencia e intensidad de hemorragias en pechuga y muslo cuando compararon dos sistemas de aturdimiento por gas (con Argón y con CO₂).

McKeegan et al. (2007) compararon el efecto de dos sistemas de aturdimiento por atmósfera controlada (60% de Ar + 30% de CO₂, y 40% de CO₂ + 30% de O₂ + 30% de N₂ en primera fase y 80% de CO₂ + 5% de O₂ + 15% de N₂ en segunda fase) comprobando que la receta bifásica produjo menor cantidad de hemorragias en la carne, aunque la pérdida de sangre por degüello fue similar en ambos sistemas.

En conejos, Lafuente & López (2014) compararon dos sistemas de sacrificio (con y sin aturdimiento) y encontraron una ligera disminución en la tasa de desangrado en animales sacrificados sin aturdimiento. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en ganado caprino por Sabow et al. (2016) quienes analizaron el nivel de hemorragias en musculo según el sistema de sacrificio (con aturdimiento previo o sin aturdimiento), encontrando mayor incidencia de hemorragias en los animales aturdidos.

Las hemorragias y la retención de sangre en vasos sanguíneos aumentan con el aumento de temperatura debido a la consiguiente vasodilatación (Devine et al. 1983). Así mismo, los métodos que aumentan la presión arterial y van acompañados de intensa actividad muscular provocan mayor cantidad de hemorragias en el músculo. Adicionalmente, estos métodos van acompañados de una menor eficiencia de desangrado.

Gezgin & Karakaya (2016) realizaron un estudio sobre el efecto del nivel de desangrado en broilers en función del sistema de aturdimiento (eléctrico a bajo voltaje y sin aturdimiento). En este estudio, aunque el aturdimiento a bajo voltaje no causó un paro cardíaco, el porcentaje de pérdida de sangre se redujo significativamente respecto de los animales no aturdidos. En el mismo sentido están los resultados de Sayda et al. (2011), quienes observaron que animales aturdidos previamente al sacrificio se desangraron peor que los sacrificados según el rito Halal, en consonancia con los resultados obtenidos por Craig et al. (1999). Se ha postulado, por tanto, que la reducción de la eficacia en el desangrado en las aves aturdidas (en cuanto a porcentaje de sangre perdida) puede ser causada por la inhibición del drenaje de la sangre de los vasos como resultado de contracciones sostenidas en el músculo. Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestro estudio ya que la receta que tiene mayor efectividad en el aturdimiento es la que presenta peores resultados en cuanto a desangrado.

Por el contrario, Raj et al. (1998) no encontraron una relación clara entre la función cardíaca y la tasa de pérdida de sangre en el sacrificio de pavos. Sin embargo, en ese estudio, la comparación se hizo entre pavos que mostraron fibrilación o no, después de ser aturdidos con gas. La actividad cardíaca registrada en las aves que no fibrilaron fue, según los autores, una actividad disrítica que puede provocar un paro cardíaco después de varios minutos.

En aturdimiento eléctrico también se han encontrado diferencias en el nivel de desangrado según la intensidad y frecuencia de la corriente eléctrica. Así, Kuenzel et al. (1978) probaron distintas combinaciones de frecuencias (30, 60, 120, 240, 480 y 960 Hz) y voltajes máximos (50, 60, 70, 80, 90 y 100v) para determinar la eficiencia en el desangrado. La combinación que dio como resultado la mejor liberación de sangre fue una tensión máxima de 100 v, una tensión media de 30 v y una frecuencia de 480 Hz.

Cuando analizamos el efecto de la fórmula de aturdimiento según el tipo comercial, observamos que fueron los machos grandes los que mostraron mayor variabilidad en la puntuación de desangrado de la pechuga al compararlos con el resto de los tipos comerciales contemplados, siendo las hembras el tipo comercial que mejores puntuaciones de desangrado presentaron; lo que se corresponde con el nivel de aturdimiento. Sin embargo, estas diferencias entre dietas y tipos comerciales no fueron significativas (Tabla 19).

No hemos encontrado en la literatura referencias en cuanto al efecto de diferentes recetas de aturdimiento gaseoso en distintos tipos comerciales. Sin embargo, sí que existen estudios previos donde se ha evaluado el efecto de la fórmula de aturdimiento eléctrico en distintos tipos comerciales y se encontraron diferencias entre sexos. Así, Mouchoniere et al. (1999) observaron efectos significativos de la frecuencia de la corriente eléctrica sobre la tasa y el grado de desangrado dentro de los 3 min posteriores al corte del cuello en ambos sexos. En las hembras, registraron una tasa mayor y una mayor pérdida de sangre después del aturdimiento a 480 y 600 Hz que a 50 y 300 Hz. En machos observaron una tasa y alcance más bajos después del aturdimiento a 50 Hz que a otras frecuencias. La tasa más lenta y el grado de pérdida de sangre más bajo observados a bajas frecuencias (50 o 300 Hz) se deben probablemente a la alta incidencia de paros cardíacos.

Tabla 19. Nivel de desangrado en pechuga. Prueba χ^2 para recetas de aturdimiento en conjunto y según los distintos tipos comerciales (machos grandes, machos pequeños y hembras).

	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Recetas (G1 y G2)			
Pearson	3.316314	4	ns
M-L	3.885204	4	ns
Machos grandes			
Pearson	3.800000	3	ns
M-L	3.418115	3	ns
Machos pequeños			
Pearson	0.22222	1	ns
M-L	0.22357	1	ns
Hembras			
Pearson	1.09091	2	ns
M-L	1.13744	2	ns

(ns: $P > 0.1$)

En el conjunto de animales, la mayoría de las muestras (81%) recibieron la puntuación 1 de nivel de desangrado en contramuslo, siendo la receta G2 la que recibió mayor variabilidad en notas (Tabla 20).

Como podemos observar en la Tabla 21, las diferencias en el nivel de desangrado de los contramuslos en función del tipo de receta de aturdimiento empleada presentaron una tendencia a la significación estadística, con una nota media superior en el lote aturdido con la receta G2.

Tabla 20. Puntuación del nivel de desangrado del contramuslo de pavos (machos grandes, machos pequeños y hembras según la receta de aturdimiento).

	Nota de desangrado del contramuslo									
	0		1		2		3		4	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	7	4.70	121	80.60	18	12.00	1	0.70	3	
Receta G1	6	8.00	60	80.00	9	12.00				
Receta G2	1	1.33	61	81.33	9	12.00	1	1.33	3	4.00
Machos grandes	-	-	33	66.00	13	26.00	1	2.00	3	6.00
Machos pequeños	6	12.00	44	88.00	-	-	-	-	-	-
Hembras	1	2.00	44	88.00	5	10.00	-	-	-	-
Machos grandes										
Receta G1			18	72.00	7	28.00				
Receta G2			15	60.00	6	24.00	1	4.00	3	12.00
Machos pequeños										
Receta G1	5	20.00	20	80.00						
Receta G2	1	4.00	24	96.00						
Hembras										
Receta G1	1	4.00	22	88.00	2	8.00				
Receta G2			22	88.00	3	12.00				

A semejanza de lo observado en las pechugas, la retención de sangre en vasos venosos del contramuslo fue mayor en los machos grandes que en el resto de los tipos comerciales. En esta pieza comercial, los machos pequeños fueron los que presentaron el menor grado de retención de sangre.

El efecto de la receta de aturdimiento presentó una tendencia hacia la significación ($P < 0.1$) en el caso del nivel de desangrado de los contramuslos de machos pequeños (Tabla 21). En el desangrado del resto de tipos comerciales (machos grandes y hembras) no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 21. Nivel de desangrado en contramuslo. Prueba χ^2 para recetas de aturdimiento en conjunto y según los distintos tipos comerciales (machos grandes, machos pequeños y hembras).

Estadísticos	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Recetas (G1 y G2)			
Pearson	7.579693	4	ns
M-L	9.515874	4	*
Machos grandes			
Pearson	4.34965	3	ns
M-L	5.89528	3	ns
Machos pequeños			
Pearson	3.03030	1	t
M-L	3.27517	1	t
Hembras			
Pearson	1.20000	2	ns
M-L	1.58765	2	ns

(ns: $P > 0.1$; t: $P < 0.1$; *: $P < 0.05$)

CAPÍTULO 2

5.2. CAPÍTULO II: EFECTO DEL SISTEMA DE ATURDIMIENTO CON CO₂, EL SEXO Y EL PESO SOBRE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL BIENESTAR DURANTE EL SACRIFICIO DEL PAVO

El nivel de consciencia de los animales recién aturdidos puede ser evaluado por las diferentes respuestas a diversos reflejos (EFSA, 2013). Es fundamental en este caso que las aves sean capaces de expresar dichos comportamientos y reflejos. En el presente estudio, los parámetros utilizados fueron fácilmente evaluados para determinar la eficacia del tipo de aturdimiento realizado. Sin embargo, los resultados obtenidos son difíciles de analizar ya que la sensibilidad y especificidad no alcanza el 100% según EFSA (2013).

En la Tabla 22 se describen los datos de nivel de sensibilidad e insensibilidad observados en los diferentes animales una vez aturdidos en función del tipo de receta de aturdimiento aplicada. En el conjunto de animales, el 76% de ellos fueron correctamente aturdidos (insensibilidad reversible), en tanto que el porcentaje de animales calificados con insensibilidad irreversible (muerte) fue del 12%. Los animales evaluados como conscientes (puntuación 0) y semiconscientes (puntuación 1) representaron el mismo porcentaje que los evaluados como muertos (puntuación 4), es decir, el 12% de la población estudiada. En conjunto, estos resultados nos muestran que el nivel de CO₂ (30%) y el tiempo de la primera fase de inyección de gas en el aire (15 s) fueron suficientes para proporcionar un aceptable nivel de insensibilización en la mayoría de los animales (88%). Estos resultados están en línea con los obtenidos por Gerritzen et al. (2006) y Terlouw et al. (2016) quienes señalan que los pavos pierden la consciencia con niveles del 25% de CO₂ en aire tras 18-51 segundos.

La efectividad del sistema de aturdimiento está en línea con las recomendaciones de Prinz et al. (2010) quienes apuntan que en condiciones comerciales no se debe sobrepasar el 30% de animales que reaccionen positivamente al reflejo corneal y que, por tanto, estén incorrectamente aturdidos.

Tabla 22. Efectividad del aturdimiento con dos tipos de aturdimiento por CO₂ en pavos B.U.T Premium.

Receta de aturdimiento	N	Tipo comercial	Efectividad del aturdimiento			
			0	1	2	3
G1	25	M. grandes	-	-	19 (76%)	6 (24%)
	25	M. pequeños	-	6 (24%)	19 (76%)	-
	25	Hembras	5 (20%)	5 (20%)	15 (60%)	-
G2	25	M. grandes	2 (8%)	-	15 (60%)	8 (32%)
	25	M. pequeños	-	-	21 (84%)	4 (16%)
	25	Hembras	-	-	25 (100%)	-
Total	150		7 (5%)	11 (7%)	114 (76%)	18 (12%)
G1	75		5 (6.7%)	11 (14.7%)	53 (70.6%)	6 (8.00%)
G2	75		2 (2.7%)	-	61 (81.3%)	12 (16%)
M. grandes	50		2 (4%)	-	34 (68%)	14 (28%)
M. pequeños	50		-	6 (12%)	40 (80%)	4 (8%)
Hembras	50		5 (10%)	5 (10%)	40 (80%)	-

0: Sensibilidad; 1: Semi-sensibilidad; 2: Insensibilidad reversible; 3: Insensibilidad irreversible; M. grandes = machos grandes; M. pequeños = machos pequeños

Cuando analizamos la efectividad de aturdimiento según la receta utilizada, comprobamos que con la receta G2 (incremento rápido de la concentración de CO₂ en el aire dentro de la cámara de aturdimiento) se obtuvo un mayor porcentaje de aves correctamente aturdidas respecto de la receta G1 (81.3% vs. 70.6%). Así mismo, fue mayor el porcentaje de animales valorados con insensibilidad irreversible o muerte (16% vs. 8%). Por el contrario, la receta G1 fue la que produjo mayor porcentaje de animales conscientes (6.7% vs. 2.7%) y semiinconscientes (14.7% vs. 0%). Al realizar el correspondiente análisis Chi² entre recetas (Tabla 23) se comprueba la existencia de diferencias significativas entre tratamientos o recetas.

Tabla 23. Nivel de aturdimiento. Prueba χ^2 para la comparación de recetas.

Estadísticos	Receta		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	14.84712	3	**
M-L	19.17818	3	***

(** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$)

Las diferencias encontradas entre los dos métodos de aturdimiento con CO₂ utilizados en este estudio están de acuerdo con los resultados obtenidos por Gerritzen et al. (2000) quienes registraron diferencias en los parámetros de comportamiento al usar diferentes mezclas de gases. Gerritzen et al. (2013) obtuvieron un 100% de efectividad de aturdimiento utilizando dos sistemas (incremento gradual de la concentración de CO₂ en cuatro o cinco etapas) aunque en este estudio la duración del proceso fue más larga (4 y 6 min, respectivamente).

Cuando analizamos la influencia de la receta sobre el nivel de aturdimiento en cada uno de los tipos comerciales empleados (Tablas 24, 25 y 26), comprobamos que hubo diferencias significativas para los machos pequeños y hembras, mientras que en los machos grandes la receta no influyó significativamente en el nivel de aturdimiento.

Tabla 24. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de machos grandes.

Estadísticos	Machos grandes		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	2.756303	3	ns
M-L	3.530963	3	ns

(ns: $P > 0.1$)

Tabla 25. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de machos pequeños.

Estadísticos	Machos pequeños		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	10.10000	3	*
M-L	13.96299	3	**

(*: P < 0.05; **: P < 0.01)

Tabla 26. Nivel de aturdimiento. Efecto del tipo de tratamiento o receta en el lote de hembras.

Estadísticos	Hembras		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	12.50000	3	**
M-L	16.38966	3	***

(**: P < 0.01; ***: P < 0.001)

Tomados los datos en conjunto, el procedimiento G2 fue más apropiado para una matanza humanitaria de pavos, aunque Gerritzen et al. (2004) indicaron que para evitar posibles molestias del CO₂, se recomienda un aumento gradual hasta un nivel anestésico. Kang & Sams (1999) abogan por un sistema de aturdimiento que lleve a la muerte al conjunto de animales aturridos. Ahora bien, la muerte del animal puede causar problemas a la hora del desangrado, con el consiguiente deterioro de su calidad. En los pavos, el sangrado incorrecto de las canales, especialmente de las partes nobles (pechuga y muslos) tiene un gran impacto en la calidad de la carne, especialmente cuando se vende en trozos enteros o filetes.

En la Tabla 27 se muestran los resultados del análisis Chi² para la influencia del tipo comercial. Comprobamos que el tipo comercial tuvo una notable influencia en el nivel de aturdimiento de los pavos. En el lote de machos grandes se produjo un mayor porcentaje de animales correctamente aturridos y muertos que en los otros dos grupos. A tenor de estos resultados parecería que los machos grandes son más sensibles a la acción del CO₂. Sin embargo, también habría que tener en cuenta la densidad de los animales, ya que, si

bien las cámaras de aturdimiento están diseñadas para una correcta distribución del gas, el número de animales lo dificultará. En el lote de machos grandes hay menor cantidad de animales dentro de la cámara y por tanto será mayor la cantidad de CO₂ que inhalarán.

Tabla 27. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi² para la comparación de tipo comercial.

Estadísticos	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	21.36597	6	*
M-L	25.92285	6	**

(** : P < 0.01; *** : P < 0.001)

Estas diferencias significativas entre tipos comerciales también se encontraron en el estudio por separado para cada una de las dos recetas de aturdimiento utilizadas (Tablas 28 y 29).

Tabla 28. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi² para la comparación de tipo comercial en la receta G1.

Estadísticos	Receta G1. Tipo comercial		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	28.24014	6	***
M-L	33.80157	6	***

(*** : P < 0.001)

Tabla 29. Nivel de aturdimiento. Prueba Chi² para la comparación de tipo comercial en la receta G2.

Estadísticos	Receta G2. Tipo comercial		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	14.49180	6	*
M-L	18.04413	6	**

(* : P < 0.05; ** : P < 0.01)

Cuando estudiamos el efecto de las recetas de CO₂ sobre la efectividad del aturdimiento, según el sexo, comprobamos que hay diferencias significativas (Tabla 30) en el grado y distribución de los niveles de insensibilización a resultados de la inhalación de CO₂ en la cámara. A este respecto observamos que las hembras (Tabla 22) presentaron mayor número de animales conscientes en comparación con los machos pequeños, por lo que podemos indicar que las hembras son menos sensibles al aturdimiento. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Prinz et al. (2012), quienes registraron una menor eficiencia de aturdimiento en las hembras. Además, Gibson et al. (2016) estudiando el efecto del aturdimiento eléctrico en gallinas sugirieron que el período de inconsciencia después del aturdimiento eléctrico solo con la cabeza era más corto en las gallinas en comparación con los pollos de engorde.

Mouchoniere et al. (1999), utilizando aturdimiento eléctrico, encontraron que las hembras fueron más sensibles a la corriente eléctrica que los machos. En su ensayo sometieron a pavas (5-7 kg de peso vivo) y pavos (8-9 kg de peso vivo) a una corriente alterna de 50, 300, 480, 550 y 600 Hz para estudiar el efecto de la corriente en el grado de aturdimiento/muerte. El 100% de las hembras sometidas a una corriente de 50 Hz murieron, mientras que el 47% de los machos mostraron una actividad cardiaca sostenida durante un periodo de 3 minutos. En animales sometidos a una corriente de 300 Hz, la incidencia de paro cardiaco fue mayor en las hembras (60%) que en los machos (40%). Por encima de 300 Hz, en todos los machos se observó actividad cardiaca sostenida, mientras que en las hembras esto se obtuvo con corrientes de 660 Hz. Estas diferencias se atribuyen a la distinta relación masa muscular esquelética/volumen entre sexos.

Tabla 30. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO₂ en pavos.

Estadísticos	Sexo		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	9.090909	3	*
M-L	12.56768	3	**

(*: P < 0.05; **: P < 0.01)

Sin embargo, cuando el análisis lo realizamos según receta, los resultados difieren ya que con la receta G1 (Tabla 31) hubo una tendencia hacia la significación estadística en las diferencias entre sexos, mientras que con la receta G2 (Tabla 32) no hubo diferencias estadísticas entre sexos.

Tabla 31. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO₂ según la receta G1 en pavos.

Estadísticos	Receta G1. Sexo		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	5.561497	3	ns
M-L	7.494186	3	t

(ns: P > 0.1; t: P < 0.1)

Tabla 32. Efecto del sexo en el nivel de aturdimiento con CO₂ según la receta G2 en pavos.

Estadísticos	Receta G2. Sexo		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	4.347826	3	ns
M-L	5.893443	3	ns

(ns: P > 0.1)

Observando la Tabla 22, en la que se muestra la distribución de animales según el nivel de aturdimiento, parece que hay influencia del peso vivo de los animales en el grado de aturdimiento por CO₂. A tenor de los resultados mostrados en la Tabla 33 se comprueba el efecto significativo que muestra el peso sobre el nivel de aturdimiento. Los animales de menor peso (Tabla 22) parecen ser menos sensibles que los pavos pesados. El peso medio de cada tipo comercial fue 10.6 kg y 7.6 kg, respectivamente. Sin embargo, también habría que considerar la influencia del número de animales/jaula ya que fue significativamente diferente en cada caso: 5.2 y 6.9 pavos/m², respectivamente, para machos grandes y machos pequeños, si bien fue similar la cantidad de kg por jaula (640.5

y 638.2 kg/jaula). La mayor densidad de animales por jaula (caso de los machos pequeños) pudo influir negativamente en la distribución e inhalación del CO₂ en la cámara de aturdimiento, por lo que en este caso sería previsible que los machos pequeños inhalaran menos CO₂ y por tanto el nivel de aturdimiento fuera inferior. Hay poca información respecto a la influencia del tipo de jaula y número de animales/jaula en pavos, y la mayoría de ella hace referencia a los efectos del transporte en el estrés de los animales (Kowalski et al., 2001; Wichman et al., 2009). Di Martino et al. (2017) compararon el comportamiento y los niveles de diferentes indicadores fisiológicos en cuatro grupos de 10 pavas confinadas en jaulas convencionales (38.5 cm de altura) o experimentales (77 cm de altura) durante el transporte al matadero (86 km), no encontrando diferencias significativas en los niveles de indicadores hematológicos y bioquímicos atribuibles al tipo de jaula. En la literatura disponible no encontramos trabajos que relacionen el tipo de jaula y la densidad de los animales con la distribución de CO₂ en la cámara de aturdimiento.

Tabla 33. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO₂ en pavos.

Estadísticos	Peso		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	14.04204	3	**
M-L	17.46125	3	***

(** : P < 0.01; *** : P < 0.001)

Estos resultados coinciden con los obtenidos cuando analizamos el efecto del peso en pavos aturridos con la receta G1 (Tabla 34), mientras que cuando se utilizó la receta G2 (Tabla 35) no hubo diferencias significativas.

Tabla 34. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO₂ según la receta G1 en pavos.

Estadísticos	Receta G1. Peso		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	12.00000	3	**
M-L	16.63553	3	***

(** : P < 0.01; *** : P < 0.001)

Tabla 35. Efecto del peso en el nivel de aturdimiento con CO₂ según la receta G2 en pavos.

Estadísticos	Receta G2. Peso		
	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	4.333333	3	ns
M-L	5.136463	3	ns

(ns: P > 0.1)

En la Tabla 36 se muestran los niveles basales, obtenidos en granja en la semana previa al sacrificio, del contenido sanguíneo en glucosa, lactato y cortisol. Observamos que el tipo comercial influyó significativamente en los niveles en sangre de glucosa y cortisol, con valores significativamente inferiores en los machos grandes respecto de los otros dos grupos. En el nivel sanguíneo de lactato no se encontraron diferencias significativas entre tipos comerciales, posiblemente debido a la gran variabilidad encontrada.

Tabla 36. Medias mínimo cuadráticas de los niveles basales de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en sangre obtenidos en granja en función del tipo comercial.

Biomarcador	Tipo comercial			P-valor
	Machos grandes	Machos pequeños	Hembras	
Glucosa	2.87 ^b	3.18 ^a	3.08 ^a	***
Lactato	5.76	4.98	5.56	ns
Cortisol	1.13 ^b	1.45 ^a	1.54 ^a	***

^{a,b} Los valores en la misma fila que no comparten un superíndice común difieren significativamente (ns: P > 0.1; ***: P < 0.001).

La ausencia de diferencias significativas entre sexos (machos pequeños frente a hembras) en los niveles de glucosa en sangre contrasta con los resultados obtenidos por Gattani et al. (2016) quienes reportaron que los machos presentan mayores niveles de glucosa en comparación con las hembras. Sugieren que el menor contenido de glucosa en sangre en las hembras puede ser debido al efecto del estradiol que reduce la expresión de los genes gluconeogénicos en el hígado. Sin embargo, Sonawane et al. (2018) en pavos de 8-10, 11-13, 14-16, 17-19 y más de 26 semanas, encontraron mayores niveles de glucosa en sangre en hembras en todos los grupos de edad. Resultados que están en consonancia con los ofrecidos por Priya & Gomathy (2008) y Isidahomen et al. (2013). Por otra parte, Arif & Mahapatra (2013) en pavos Broad Breasted encontraron valores de glucosa en sangre más elevados en los machos. Estas diferencias pueden estar asociadas a diferentes estados endocrinos en machos y hembras a diferentes edades (Sonawane et al., 2018).

El menor contenido de glucosa en sangre en los pavos grandes está en línea con los resultados ofrecidos por Simon & Leclerq (1982) quienes encontraron una disminución de dichos niveles a medida que avanza el cebo de las aves. They (1983) encontró correlaciones negativas (-0.35 a -0.47) entre nivel de glucosa en sangre y tiempo de cebo en pavos. Igualmente, Priya & Gomathy (2008) comprobaron que los niveles de glucosa en sangre tienden a disminuir con la edad de los animales.

En la Tabla 37 se muestran los valores medios de los niveles sanguíneos de glucosa, lactato y cortisol después de un reposo tras el transporte de los animales desde la granja al matadero. En este caso se observó una tendencia similar a la registrada en el caso de los niveles basales de glucosa: los machos grandes presentaron niveles inferiores que el resto de los grupos. Respecto del lactato encontramos diferencias significativas entre machos y hembras, mientras que para el cortisol las diferencias no alcanzaron significación estadística entre grupos.

Tabla 37. Medias mínimo cuadráticas de los niveles de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol ($\mu\text{g/dL}$) en sangre obtenidos en reposo tras el transporte desde la granja al matadero en función del tipo comercial.

Biomarcador	Tipo comercial			P-valor
	Machos grandes	Machos pequeños	Hembras	
Glucosa	3.61 ^b	4.08 ^a	4.48 ^a	**
Lactato	7.70 ^b	7.64 ^b	9.14 ^a	*
Cortisol	1.20	1.31	1.30	ns

^{a,b} Los valores en la misma fila que no comparten un superíndice común difieren significativamente (ns: $P > 0.1$; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$).

Si comparamos con los niveles basales (registrados en granja) observamos un aumento del contenido sanguíneo en glucosa y lactato, mientras que el del cortisol fue similar. Resultados que no se corresponden con los ofrecidos por Priyanka et al. (2013) quienes comprobaron en pavos un aumento del nivel de cortisol y un descenso significativo del contenido sanguíneo de glucosa tras el transporte. Vosmerova et al. (2010), en broiler, registraron aumentos del nivel de corticosterona en sangre después del transporte, mientras que los de glucosa y lactato no sufrieron cambios significativos

Cuando un animal se enfrenta a un factor estresante, muestra una respuesta de estrés que consiste en un conjunto de alteraciones fisiológicas para hacer frente al desafío. A los pocos minutos de la aparición de un factor de estrés percibido, la corteza suprarrenal comienza a secretar glucocorticoides, principalmente cortisol o corticosterona. Aunque la corticosterona es el glucocorticoide utilizado más comúnmente para evaluar los efectos estresantes de ciertos factores en las aves, el cortisol también puede usarse como una hormona indicadora de estrés, especialmente en pavos (Mohammed et al., 2016; Damaziak et al., 2017).

Varios factores previos al sacrificio, incluido el proceso de aturdimiento, pueden causar estrés en los animales. Se reconoce que el estrés aumenta la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-suprarrenal y da como resultado una mayor secreción de corticosteroides por parte de la corteza suprarrenal (Gong et al., 2015). Se ha utilizado una variedad de cambios fisiológicos (marcadores sanguíneos hematológicos y biológicos) para identificar y cuantificar el estrés (Mohammed et al., 2016; Damaziak et al., 2017). Sin

embargo, estos pueden diferir cualitativa o cuantitativamente según el factor estresante, y se debe usar un rango más amplio de índices para evaluar el alcance del estrés. Los cambios hormonales también son buenos indicadores para evaluar el bienestar de las aves de corral, especialmente en pavos (Mohammed et al., 2016).

Tras el aturdimiento y degüello de los animales se obtuvieron muestras de sangre para determinar el contenido en glucosa, lactato y cortisol a fin de analizar el efecto del estrés durante la fase de aturdimiento. En la Tabla 38 se muestran los valores medios de los contenidos sanguíneos de glucosa, lactato y cortisol tras el aturdimiento y sacrificio.

En nuestro estudio encontramos que los niveles de lactato tras el sacrificio fueron mayores, especialmente en los machos, que los registrados en la granja, mientras que no se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa. Inesperadamente encontramos que el nivel medio de cortisol tras el sacrificio fue inferior al registrado en la granja, especialmente en los machos pequeños y hembras, grupos de animales en los que las diferencias fueron estadísticamente significativas. A tenor de estos resultados parece que o bien el nivel estresante del proceso de aturdimiento es reducido o bien el manejo de los animales en granja no fue tan neutro.

En relación con los valores obtenidos en la fase de reposo previa al aturdimiento, comprobamos que no hubo diferencias significativas en el contenido de los tres parámetros estudiados en el lote de machos grandes. Por el contrario, los valores tras el sacrificio de los tres parámetros estudiados fueron inferiores a los registrados tras el transporte. Esto podría indicarnos que o bien el reposo no fue suficiente para recuperarse de los efectos del transporte o bien que el estrés sufrido por los animales en la cámara de aturdimiento fue reducido. Si comparamos las cifras obtenidos en granja y tras el sacrificio observamos pocas diferencias, por lo que pensamos que el proceso de aturdimiento con CO₂ en cámara es poco estresante.

Si nos centramos en los distintos tipos comerciales, observamos que los valores de glucosa y lactato fueron significativamente inferiores a los registrados por Damaziak et al. (2017) en pavos hembras de diferentes genotipos (10.8-18.0 mmol L⁻¹ y 8.68-10.7 mmol L⁻¹, respectivamente). Igualmente se encuentran diferencias con el contenido sanguíneo en cortisol obtenidos por estos autores (73.7-185.7 ng mL⁻¹). Estas diferencias pueden deberse al genotipo utilizado en cada una de las experiencias, así como al sistema de aturdimiento (eléctrico en este estudio) y sacrificio.

A tenor de los valores medios que se muestran en la Tabla 38 comprobamos diferencias significativas entre tipos comerciales en todos los parámetros estudiados. Los niveles de glucosa fueron similares entre machos y superiores a los de las hembras. Por el contrario, los valores de lactato y cortisol fueron similares entre machos pequeños y hembras y menores que los registrados en machos grandes. Podríamos decir que los niveles de glucosa estuvieron afectados por el sexo, mientras que los de lactato y cortisol lo fueron por el peso.

Tabla 38. Medias mínimo cuadráticas de los niveles de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en sangre obtenidos tras el aturdimiento y degüello en función del tipo comercial.

Biomarcador	Tipo comercial			P-valor
	Machos grandes	Machos pequeños	Hembras	
Glucosa	3.10 ^a	3.24 ^a	2.85 ^b	**
Lactato	7.02 ^a	6.01 ^b	5.94 ^b	**
Cortisol	1.13 ^a	0.61 ^b	0.74 ^b	*

^{a,b} Los valores en la misma fila que no comparten un superíndice común difieren significativamente (*: P < 0.05; **: P < 0.01).

En la Tabla 39 se muestran los resultados del contenido sanguíneo en glucosa, lactato y cortisol en pavos aturdidos con dos procedimientos. Comprobamos que sólo el contenido en cortisol fue afectado significativamente por el procedimiento de aturdimiento, con valores significativamente inferiores en los pavos aturdidos con el procedimiento G2.

En nuestro estudio, los niveles de parámetros sanguíneos no nos dan una respuesta clara a la pregunta de si los procedimientos de aturdimiento utilizados son los que provocan el estrés de las aves. Los resultados del presente estudio sugieren que no hubo una diferencia suficientemente grande en los niveles de estrés entre ambos métodos de aturdimiento de CO₂ para causar cambios en las concentraciones de glucosa y lactato, ya que, en general, la aplicación de cualquier factor de estrés provoca un aumento en el nivel de ambas sustancias (Jensen-Waern & Nyberg, 1993).

Tabla 39. Efecto del procedimiento de aturdimiento por CO₂ en los niveles sanguíneos de glucosa (mmol/L), lactato (mmol/L) y cortisol (µg/dL) en pavos.

Biomarcador	Receta de aturdimiento						P-valor
	G1			G2			
	MG	MP	H	MG	MP	H	
Glucosa	3.11 ^{ab}	3.05 ^{bc}	2.85 ^c	3.08 ^{bc}	3.37 ^a	2.85 ^c	ns
Lactato	6.87 ^a	5.16 ^b	5.32 ^b	7.25 ^a	6.86 ^a	6.55 ^a	ns
Cortisol	1.74 ^a	0.89 ^b	1.03 ^b	0.46 ^c	0.34 ^c	0.52 ^c	***

^{a, b, c} Los valores en la misma fila que no comparten un superíndice común difieren significativamente (ns: P > 0.1; ***: P < 0.001); MG = machos grandes; MP = machos pequeños; H = hembras; M = método; T = tipo comercial.

Los resultados en el nivel de lactato fueron inesperados, ya que Warriss et al. (1994) demostraron que la diferencia en la concentración sanguínea de lactato entre cerdos manejados en sistemas de bajo estrés frente a otros más estresantes fue mayor que en los otros parámetros sanguíneos medidos, enfatizando así la sensibilidad y la capacidad de respuesta de la concentración de lactato sanguíneo al estrés previo al sacrificio. Las diferencias entre los métodos G1 y G2 para la concentración de cortisol (P < 0.001) coinciden con lo observado por Huang et al. (2014), que encontraron que cuantos más factores de estrés había, más aumentaban los niveles de corticosterona, pero que la glucosa y el lactato en plasma no se veían afectados significativamente (P > 0.1) por los métodos de aturdimiento. Ylä-Ajos et al. (2012), utilizando diferentes métodos de inmovilización con gas, encontraron que el contenido de glucógeno del músculo pectoral mayor era superior en pavos muertos por CO₂ y solía ser mayor en pavos que fueron matados por aturdimiento usando el método bifásico. Sin embargo, el contenido de lactato en el músculo de la pechuga fue similar, independientemente del método de eliminación del aturdimiento utilizado. Xu et al. (2011) indicaron que el aturdimiento con diferentes niveles de CO₂ (30%, 40%, 50% o 60%) no tuvo influencia en las concentraciones plasmáticas de glucosa y corticosterona, mientras que si se vieron afectadas las concentraciones de glucógeno y lactato en los músculos *pectoralis major* y *tibialis anterior*. Debut et al. (2005), después de someter a los pollos a dos niveles de estrés, encontraron un aumento significativo en los niveles de corticosterona en ambos grupos

sobre el control, mientras que el nivel de glucemia solo aumentó significativamente en el método más estresante.

Después del aturdimiento, la concentración de lactato en sangre fue mayor que la registrada por Hänsch et al. (2009) en aves aturdidas con una concentración creciente (25% a 75%) de CO₂ (5.4 mmol / l), y similar a la registrada en aves aturdidas con CO₂ y Ar (6.7 mmol / l).

Las diferencias en los indicadores sanguíneos del estrés atribuible al sexo y el peso en el sacrificio difieren con otros estudios, aunque, como lo señalan Damaziak et al. (2017), existe una influencia acusada del factor genético en la respuesta fisiológica al estrés. De acuerdo con la concentración de cortisol, los machos ligeros fueron menos sensibles al aturdimiento que los machos pesados, en línea con los resultados obtenidos por Kowalski et al. (2002), quienes concluyeron que los pavos B.U.T.-9 de menor tamaño eran menos sensibles al estrés ambiental que las aves más grandes.

Entre las muchas variables genéticas y fisiológicas que pueden influir en la respuesta al estrés de los animales, se sabe que el sexo es uno de los más importantes (Huff et al., 2007). La mayor concentración de cortisol en hembras aturdidas contrasta con los resultados obtenidos por Kowalski et al. (2002) y Gruber et al. (2010). Además, Marin et al. (2002) y Huff et al. (2007) han demostrado que los machos muestran una respuesta más fuerte al estrés que las hembras. Por el contrario, Aarif & Mahapatra (2013) mostraron que el sexo no tiene ningún efecto sobre los niveles de corticosterona. Las hembras aturdidas tenían niveles más altos de cortisol y niveles más bajos de glucosa, lo que contrasta con Sheriff et al. (2011), quien indicó que el aumento de cortisol causa un aumento en la glucosa en sangre.

CAPÍTULO 3

5.3. CAPÍTULO III: RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE BIENESTAR Y LA CALIDAD DE LA CARNE DE PAVO

En la Tabla 40 se muestran los valores medios de las principales características de la canal y de la carne de los animales utilizados en esta tesis.

Tabla 40. Estadísticos descriptivos de la canal y de la carne de 150 pavos B.U.T. Premium a 20 minutos (0), 24 horas (24h) y 7 días (7d) post-mortem.

Variables	Media	Máximo	Mínimo	Error estándar
Peso canal (kg)	8.34	12.84	5.54	0.09
pH ₀	6.20	6.71	5.50	0.01
Temperatura ₀ (°C)	37.53	42.30	28.90	0.29
L* ₀	38.91	53.33	21.76	0.32
a* ₀	-1.86	1.14	-3.66	0.07
b* ₀	3.06	11.35	-7.18	0.29
pH _{24h}	5.86	6.25	5.53	0.01
Temperatura _{24h} (°C)	5.99	7.70	4.40	0.08
Pérdidas goteo _{24h} (%)	0.72	2.56	0.27	0.02
Pérdidas cocinado _{24h} (%)	13.17	19.69	11.53	0.19
L* _{24h}	45.68	51.20	38.59	0.19
a* _{24h}	-2.05	2.41	-3.46	0.06
b* _{24h}	5.79	12.01	-0.04	0.13
Fuerza de corte _{24h} (kg/cm ²)	3.62	6.69	2.03	0.06
pH _{7d}	5.89	6.52	5.60	0.01
Temperatura _{7d} (°C)	14.09	16.00	9.20	0.39
Pérdidas goteo _{7d} (%)	0.81	1.55	0.41	0.02
Pérdidas cocinado _{7d} (%)	12.91	18.84	8.45	0.14
L* _{7d}	46.25	51.77	38.21	0.22
a* _{7d}	-2.39	-0.92	-3.64	0.05
b* _{7d}	5.21	0.08	7.82	2.60
Fuerza de corte _{7d} (kg/cm ²)	2.57	4.19	1.27	0.04

Estas características hacen referencia al peso, pH, color, capacidad de retención de agua y dureza a diferentes tiempos después del sacrificio.

En la cámara de refrigeración el pH disminuyó en 0.34 unidades, mientras que se mantuvo constante en los restantes seis días de maduración. La maduración produjo un incremento significativo de los valores de L* y b*, mientras que disminuyeron los de a*. No se observaron diferencias en la capacidad de retención de agua con la maduración, mientras que la fuerza de corte disminuyó en 1.05 kg/cm² en los seis días posteriores al sacrificio.

En las Tablas 41 y 42 se muestran los coeficientes de correlación entre los valores medios del contenido en sangre después del aturdimiento de los parámetros sanguíneos indicadores de estrés y las características de la canal y de la carne de los pavos estudiados. Coeficientes obtenidos para el conjunto de animales y según el procedimiento de aturdimiento empleado.

Tabla 41. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la canal y de la carne de pavos aturdidos con CO₂.

Variables	Grupo	Lactato	Cortisol	Peso canal	pH ₀	pH _{24h}	pH _{7d}
Glucosa	Total	0.192	-0.091	0.203	-0.129	-0.213*	-0.028
	G1	0.253*	-0.082	0.451***	-0.114	-0.339**	-0.369**
	G2	0.104	-0.385**	0.079	-0.268*	-0.095	-0.060
Lactato	Total		0.139	0.359**	-0.085	-0.266*	-0.394**
	G1		0.408**	0.611***	-0.364**	-0.294*	-0.369**
	G2		0.162	0.191	-0.174	-0.078	-0.486***
Cortisol	Total			0.174	0.214*	-0.094	-0.030
	G1			0.571***	0.339**	-0.129	-0.165
	G2			0.096	0.113	-0.014	-0.050

(*: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001)

Para el conjunto de animales, los niveles sanguíneos de glucosa tras el sacrificio no mostraron relación significativa con ninguna de las variables de calidad de canal y carne estudiadas. Cuando analizamos las relaciones entre parámetros sanguíneos relacionados

con el estrés y las principales características de la canal y de la carne en animales aturdidos con el procedimiento G1, encontramos coeficientes de correlación significativos con la concentración de lactato (0.253), peso de la canal (0.451), pH_{24h} (-0.339), pH_{7d} (-0.369), pérdidas por cocción (-0.283) y b*_{24h} (-0.246). En animales aturdidos con el procedimiento G2 se encontraron correlaciones significativas con cortisol (-0.385), pH₀ (-0.268) y dureza instrumental_{24h} (0.248).

Tabla 42. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne de pavos aturdidos con CO₂.

Variables	Grupo	Pérdidas	Pérdidas	Pérdidas	Pérdidas
		goteo _{24h}	goteo _{7d}	cocinado _{24h}	cocinado _{7d}
Glucosa	Total	-0.103	-0.033	-0.182	-0.070
	G1	-0.075	-0.018	-0.283*	-0.127
	G2	-0.196	-0.037	-0.123	0.017
Lactato	Total	0.257*	0.046	0.152	-0.199
	G1	0.325**	0.085	0.154	-0.228*
	G2	0.125	0.035	0.010	-0.019
Cortisol	Total	0.251*	-0.001	0.001	0.213
	G1	0.174	-0.024	0.087	0.016
	G2	0.128	-0.081	0.001	0.043

(*: P < 0.05; **: P < 0.01)

El nivel de lactato presentó correlaciones significativas con el peso de la canal (0.408), el pH (-0.294 a -0.369) y las pérdidas por goteo (0.257). En animales aturdidos con el procedimiento G1, encontramos relaciones significativas con cortisol (0.408), peso en canal (0.611), pH (-0.364, -0.294, -0.369), pérdidas por goteo (0.325), pérdidas por cocción (-0.228) y a*₀ (0.247), b*_{24h} (-0.428) y b*_{7d} (-0.246). En pavos aturdidos con el procedimiento G2, las correlaciones alcanzaron significación estadística con pH_{7d} (-0.486), b*_{24h} (-0.241), b*_{7d} (0.310) y dureza instrumental_{24h} (0.344). Como se esperaba, se observaron mayores pérdidas por goteo cuando aumentaron las concentraciones de

lactato, lo que resultó en una correlación positiva y significativa entre ambos parámetros, excepto para G2.

El cortisol se relacionó positivamente con las pérdidas por goteo₂₄ (0.251) y dureza instrumental_{7d} (0.311), y negativamente con b*_{24h} (-0.354). En el grupo G1, se encontraron relaciones significativas con el peso de la canal (0.571), pH₀ (0.339), dureza instrumental_{24h} (0.255) y dureza instrumental_{7d} (0.311). En animales aturdidos con el procedimiento G2, sin embargo, no encontramos coeficientes de correlación significativos, a excepción con a*_{24h} (-0.282).

Tabla 43. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne de pavos aturdidos con CO₂.

Variables	Grupo	L ₀	a ₀	b ₀	L _{24h}	a _{24h}	b _{24h}
Glucosa	Total	0.076	0.123	-0.127	0.018	0.173	-0.195
	G1	-0.016	0.247*	-0.203	0.160	0.278*	-0.428***
	G2	0.178	-0.007	-0.003	0.126	0.124	-0.144
Lactato	Total	0.117	0.129	0.342**	0.238*	0.049	-0.143
	G1	0.147	0.241*	0.467***	0.285*	0.104	-0.292*
	G2	0.081	-0.011	0.098	0.061	0.165	-0.241*
Cortisol	Total	0.048	0.204	0.117	-0.040	0.126	-0.354**
	G1	0.112	0.106	0.385**	-0.131	0.092	-0.389**
	G2	-0.091	0.118	0.162	-0.099	-0.282*	-0.085

(*: P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001)

El estrés se considera una de las respuestas adaptativas o protectoras del organismo, que protege a los animales de los efectos adversos de los estresores. El estrés agudo antes del sacrificio puede alterar los estados fisiológicos de los animales y, posteriormente, afectar la calidad de la carne (Raj, 2006; Ylä-Ajos et al. 2012). Además, Mauri et al. (2017) encontraron diferencias significativas en ciertos parámetros de calidad de la carne (pH, color de la carne y pérdidas de cocción), que fueron atribuibles al método de aturdimiento con CO₂.

Tabla 44. Coeficientes de correlación entre los parámetros sanguíneos de estrés y características de la de la carne madurada durante 7 días de pavos aturdidos con CO₂.

Variables	Grupo	L _{7d}	a _{7d}	b _{7d}	WBSF _{24h}	WBSF _{7d}
Glucosa	Total	0.023	0.015	-0.059	0.060	0.084
	G1	0.191	0.071	-0.246*	0.140	0.207
	G2	0.200	0.117	-0.136	0.248*	0.015
Lactato	Total	0.318*	0.029	0.015	0.168	0.121
	G1	0.406**	0.067	0.039	0.051	0.226*
	G2	0.005	0.101	0.310*	0.344**	0.140
Cortisol	Total	0.139	0.121	-0.052	0.168	0.311*
	G1	0.048	0.068	-0.148	0.255*	0.331**
	G2	0.125	0.008	-0.085	0.134	0.086

(*: P < 0.05; **: P < 0.01)

En general, se encontró una correlación significativa entre los indicadores de estrés sanguíneo. Sin embargo, en este estudio, contrario a nuestras expectativas, hubo una baja correlación entre estos indicadores y las características de la canal y la carne. Los resultados de la relación entre glucosa y cortisol fueron particularmente inesperados ya que la liberación de cortisol en el sistema circulatorio aumenta la concentración de glucosa en plasma (Gruber et al. 2010). De acuerdo con Dokmanovic et al. (2015), en nuestro estudio hubo una correlación negativa entre el nivel de lactato y el pH inicial.

Gruber et al. (2010) encontraron correlaciones significativas y positivas entre el contenido sanguíneo en cortisol y en glucosa, y el contenido sanguíneo de cortisol con el de lactato. La concentración de lactato en sangre tras el sacrificio se asoció con un pH final más bajo y valores de a*, b* y dureza instrumental más altos. La concentración sanguínea de cortisol medida tras el sacrificio no se correlacionó con las mediciones de pH, color (L*, a*, b*) y dureza instrumental. En pollos de engorde, Kannan et al. (1997) indicaron que niveles más altos de estrés previo al sacrificio podrían influir en el color de la carne del muslo, aunque la calidad general de la carne no se vio afectada.

Las comparaciones entre los estudios no son fáciles de realizar ya que las respuestas de los animales dependen en gran medida de su origen genético, y las aves de crecimiento lento están más afectadas por el estrés que las de crecimiento rápido (Berri et al., 2005).

CAPÍTULO 4

5.4. CAPÍTULO IV: EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN ENRIQUECIDA CON AJO EN EL DESANGRADO DEL ANIMAL

A tenor de los resultados reflejados en capítulos anteriores comprobamos que los peores niveles de desangrado se produjeron en machos grandes. Conocido el efecto antitrombogénico de determinadas sustancias presentes en el ajo, se planteó una experiencia en la que se administrara en la ración un extracto de ajo a fin de resolver o minimizar este problema.

En la Tabla 45 se muestran los resultados de peso de la canal y de la concentración sanguínea de glucosa y lactato en pavos machos grandes alimentados con una dieta de control o experimental (enriquecida con ajo).

Tabla 45. Valores medios del peso canal e indicadores sanguíneos de estrés (glucosa y lactato) en pavos machos grandes alimentados con una ración control o experimental (con ajo).

Variable	Conjunto animales	Ración		P-valor
		Control	Experimental	
Peso canal (kg)	11.44	12.15	10.74	***
Glucosa (mmol/L)	2.94	3.08	2.80	ns
Lactato (mmol/L)	7.57	6.86	8.29	***

(ns: P > 0.1; ***: P < 0.001)

El peso medio de la canal de los pavos estudiados fue de 11.4 kg, con diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 45). Estos resultados difieren de los obtenidos en broilers por Karangiya et al. (2016), quienes comprobaron el efecto positivo de la adición de 1% de ajo en el crecimiento. Por el contrario, El-Gogary et al. (2018), en conejos, no detectaron efecto significativo de la inclusión de extracto de ajo en la dieta sobre el peso vivo y la tasa de crecimiento.

En la Figura 7 se muestra el histograma del peso canal del conjunto de los animales objeto de estudio. Observamos que el rango 11-12 kg fue el más numeroso, seguido del rango 10-11 kg y 12-13 kg.

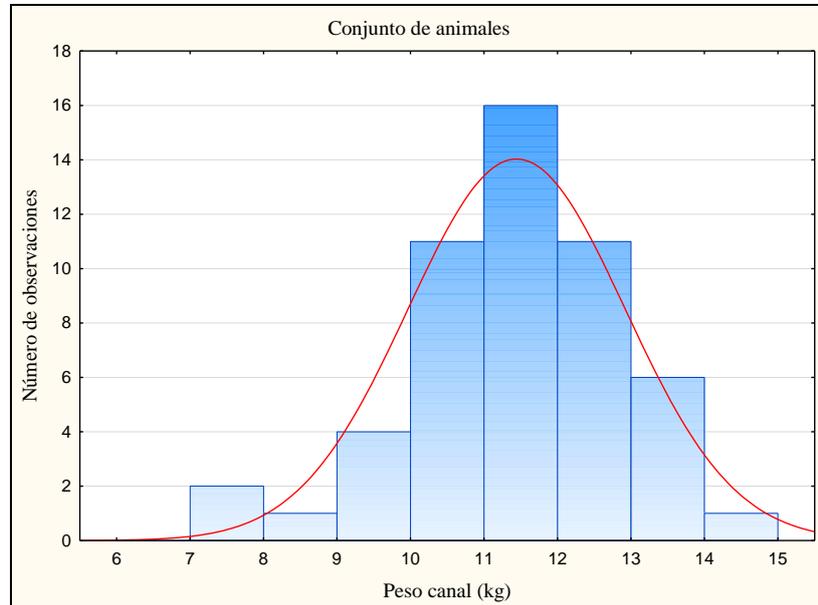


Figura 7. Histograma del peso canal (kg) en el conjunto de pavos estudiados.

En las Figuras 8 y 9 se muestra la distribución de pesos canal de los animales alimentados con una dieta comercial (control) y enriquecida con ajo (experimental). En el lote control, la clase de peso canal más frecuente fue 12-13 kg, seguida de 11-12 kg y 13-14 kg, mientras que en el lote de pavos alimentados con una ración experimental el peso canal en la mayoría de los animales se situó entre 10 y 12 kg.

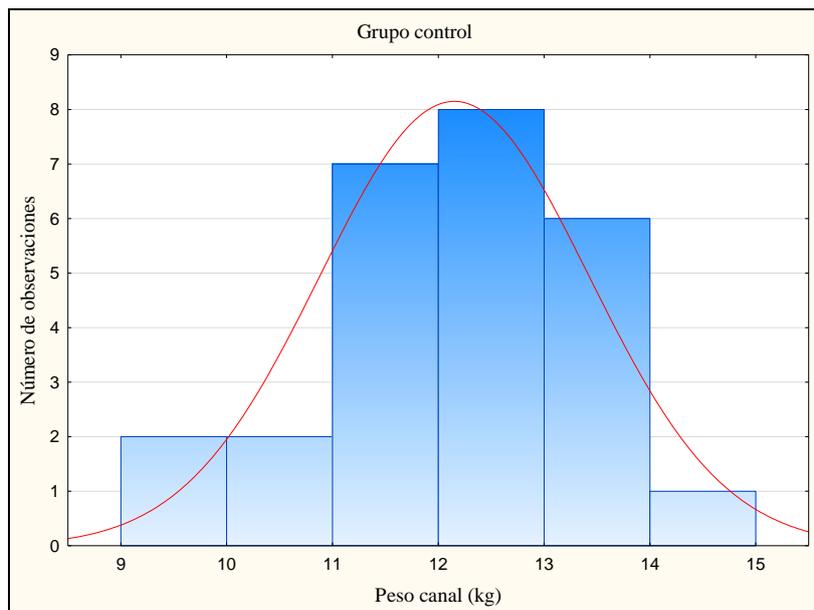


Figura 8. Histograma del peso canal (kg) de los pavos alimentados con una dieta comercial (grupo control).

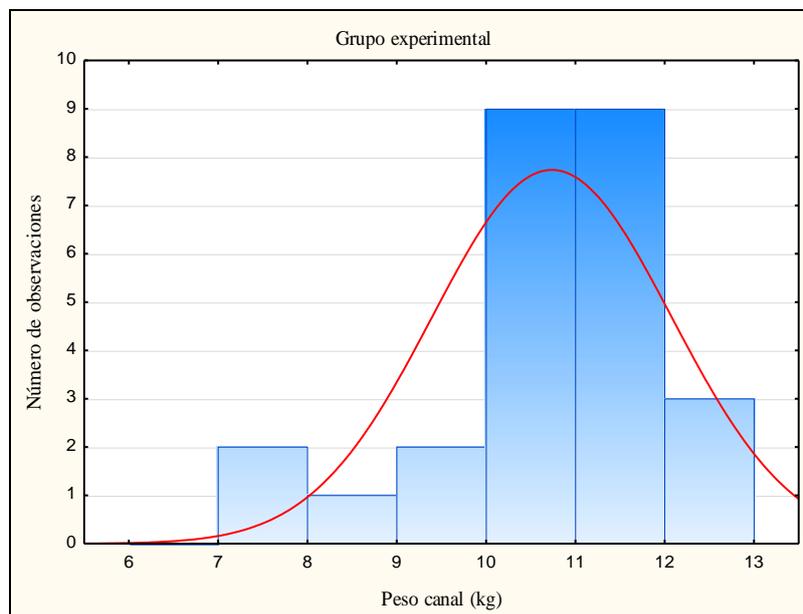


Figura 9. Histograma del peso canal (kg) de los pavos alimentados con una dieta enriquecida con extracto de ajo (grupo experimental).

El contenido de glucosa en el conjunto de pavos estudiados tuvo un valor medio de 2.9 mmol/L. En la Figura 10 se muestra la distribución del contenido de glucosa en sangre en

el conjunto de animales estudiados. El lote de animales alimentados con la dieta control presentó valores más elevados (3.1 mmol/L) que los detectados en el lote de pavos alimentados con una dieta enriquecida con ajo (2.8 mmol/L) aunque no se encontró influencia significativa ($P < 0.172$) del tipo de alimentación.

En el conjunto de pavos estudiados, los niveles de glucosa en sangre en la mayoría de los animales se situaron entre 2 y 3 mmol/L, mientras que en el lote de animales alimentados con una dieta comercial se situó entre 2.5 y 3.0 mmol/L, y entre 2.0 y 3.0 mmol/L en el lote de animales alimentados con una dieta enriquecida con ajo.

Son numerosos los estudios que usan suplementos con compuestos a base de ajo durante la alimentación de pollos, peces, rumiantes, cerdos con el objetivo de evaluar el efecto que tiene sobre la tasa de crecimiento y sacrificio del animal, calidad del producto final, mortalidad, digestibilidad de la dieta, parámetros sanguíneos y resistencia inmune. (Brzóska et al., 2015). En conejos, El-Gogary et al. (2018) encontraron que los animales alimentados con una dieta enriquecida con extracto de ajo presentaron un significativamente menor contenido de glucosa en sangre que los animales alimentados con una dieta control. Esto parece estar relacionado con una influencia positiva del ajo en el metabolismo de los carbohidratos a través de su efecto sobre la secreción de insulina. A este respecto, Liu et al. (2005) reportan que el aceite de ajo reduce el nivel de glucosa en sangre y mejora el sistema de control glucémico en ratas diabéticas a través del aumento de la secreción de insulina. Resultados que muestran el efecto hipoglucemiante del ajo (Belemkar et al., 2013) y que puede estar relacionado con una mayor utilización de la glucosa a nivel de la pared intestinal y la reducción de glucosa transportada a la solución serosa. Niveles más bajos de glucosa plasmática, proteínas totales y albúminas fueron observados en cabras alimentadas con 0.5%, 1.0 % y 1.5% de suplemento de ajo en polvo en comparación con una población alimentada con pienso comercial (Ikyume et al., 2017).

Horton et al. (1991) encontraron una disminución del nivel de glucosa en sangre en cerdos alimentados con 10.000 mg/kg de extracto de ajo, aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística, a semejanza de lo observado en nuestro estudio. En consonancia con estos resultados, Brzóska et al. (2015) no encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa sanguínea de pollos al añadir una solución acuosa de extracto de bulbos de ajos a diferentes dosis en el pienso comercial. Krauze et al. (2012) tampoco

encontraron diferencias en los niveles de glucosa sanguíneos en pavos en los que se le suplementó el agua de bebida con extracto de ajo crudo ($0,1\text{g}/\text{dm}^3$, $0,5\text{g}/\text{dm}^3$ de agua) y extracto de ajo líquido con sulfuros de alilos ($0,5\text{ ml}/\text{dm}^3$ de agua).

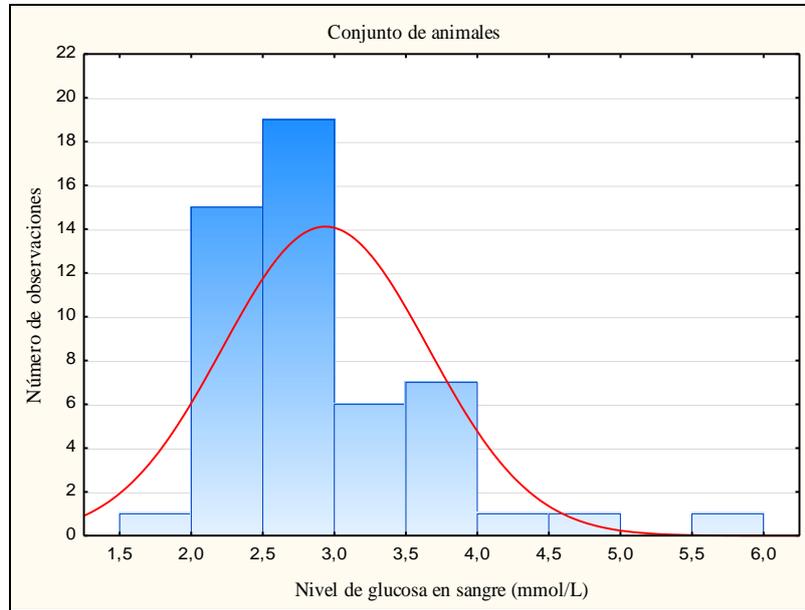


Figura 10. *Histograma del contenido de glucosa en sangre del conjunto de pavos estudiados.*

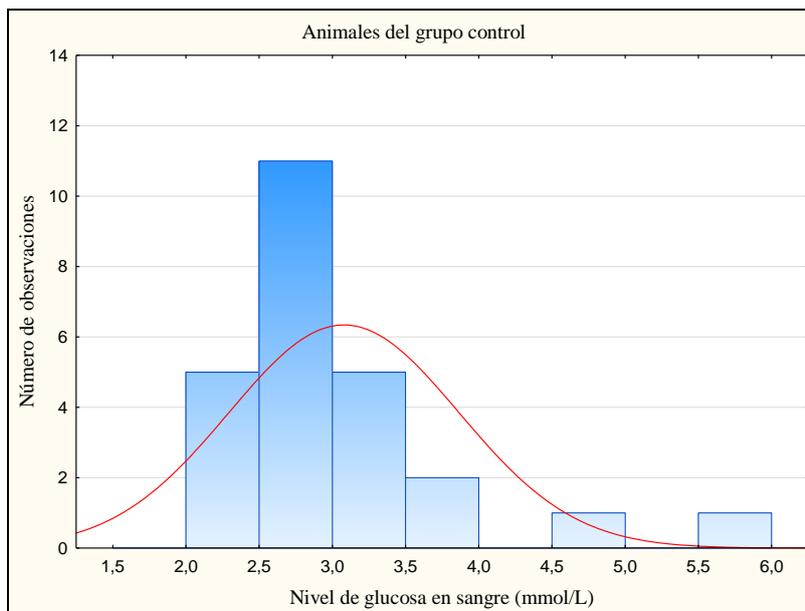


Figura 11. *Histograma del contenido de glucosa en sangre en pavos alimentados con la dieta control.*

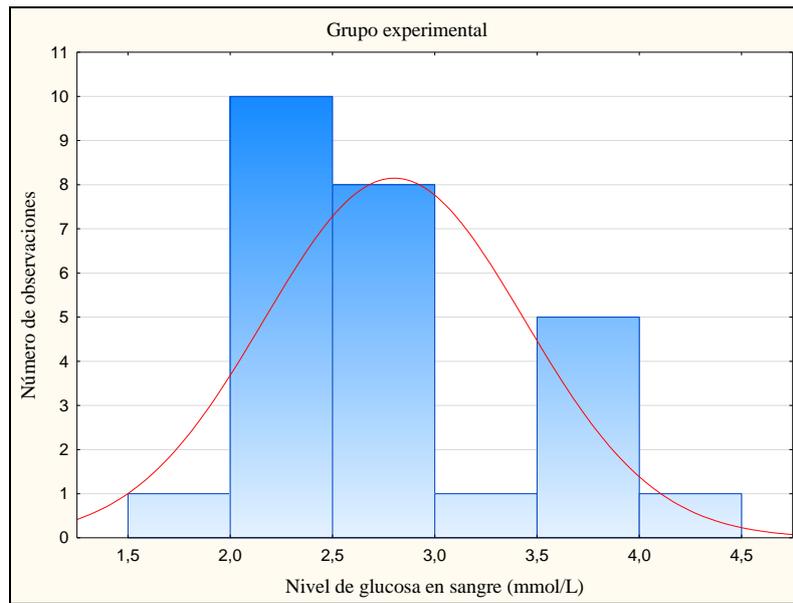


Figura 12. Histograma del contenido de glucosa en sangre en pavos alimentados con una dieta enriquecida con ajo.

El contenido de lactato en sangre del conjunto de pavos (Figura 13) estudiados presentó un valor medio de 7.6 mmol/L, con diferencias significativas ($P = 0.001$) entre tipos de dieta: 6.9 mmol/L en animales alimentados con una dieta comercial y 8.3 mmol/L en el lote de pavos alimentados con una dieta enriquecida con ajo.

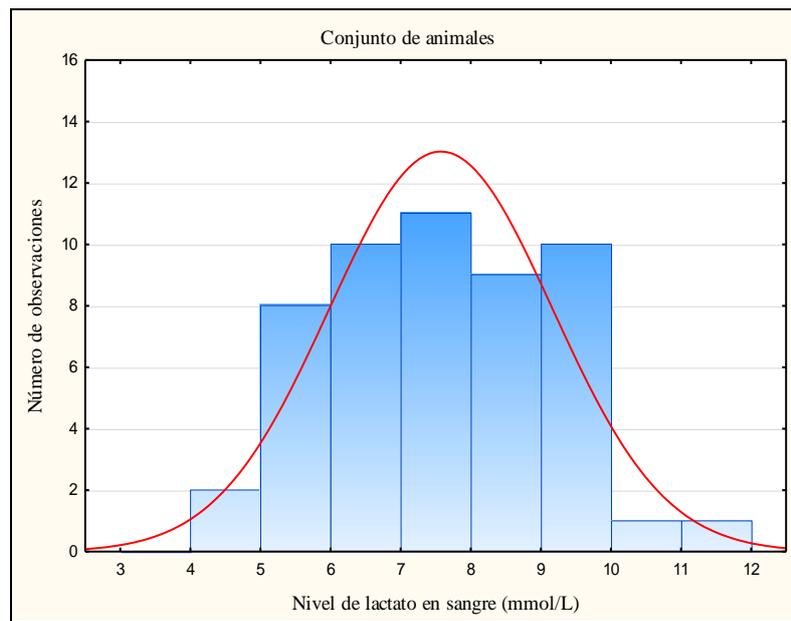


Figura 13. Histograma de distribución del contenido de lactato en sangre del conjunto de pavos estudiados.

El contenido en lactato en sangre para la mayoría de los animales se situó ente 5 y 10 mmol/L para el conjunto de pavos estudiados, entre 5 y 7 mmol/L para los pavos alimentados con una dieta comercial y entre 7 y 10 mmol/L para el lote de pavos alimentados con una dieta enriquecida con ajo.

Mushawwir et al. (2018) estudiaron la influencia de la alimentación en la sensibilidad ante estrés térmico de aves durante el periodo de crecimiento en zonas con temperaturas críticas. Obtuvieron contenidos de lactato más bajos en aves alimentadas con una dieta comercial suplementada con jengibre, ajo y una combinación de jengibre y ajo, siendo en esta última mezcla con la que se obtuvieron los valores más bajos de lactato. No se han encontrado más estudios que evalúen la influencia de los valores sanguíneos de lactato con una dieta suplementada con extracto de ajo.

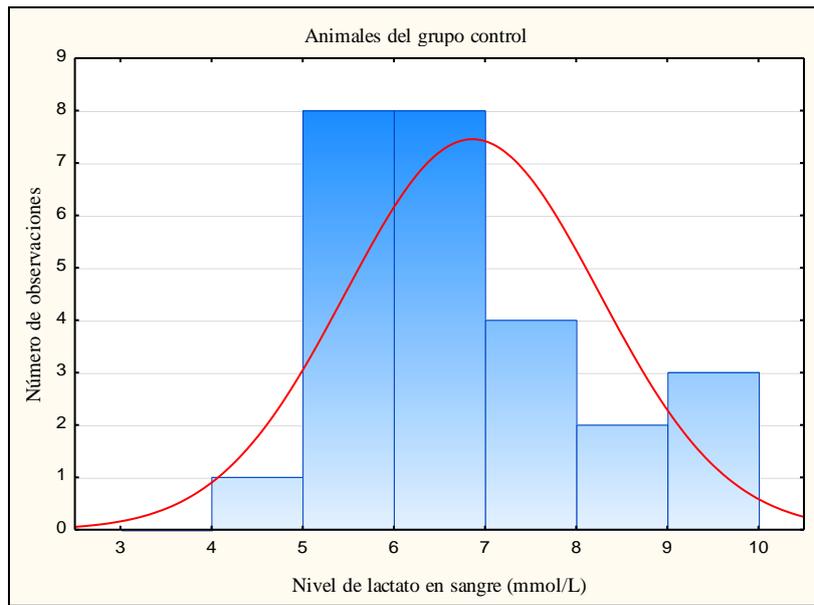


Figura 14. Histograma del contenido de lactato en sangre de pavos alimentados con una dieta comercial.

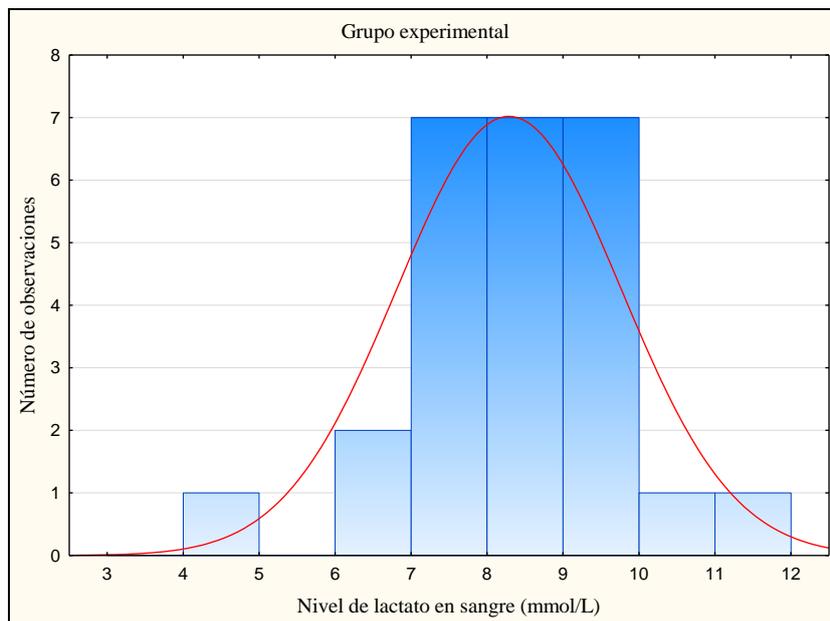


Figura 15. Histograma del contenido de lactato en sangre de pavos alimentados con una dieta enriquecida con extracto de ajo.

En la Tabla 46 se muestran los resultados de nivel de desangrado de la pechuga de pavos alimentados con una ración control o experimental. En el conjunto de animales, la

mayoría de las puntuaciones se situaron en los niveles 1 y 2 de desangrado, representado más del 70% de los casos.

Los animales alimentados con la ración control presentaron puntuaciones de 1 a 4, siendo la calificación 2 la más frecuente. En los animales alimentados con la dieta experimental las puntuaciones se situaron entre 0 y 3, siendo la calificación 1 la más frecuente.

Tabla 46. Puntuación del nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes) según la dieta (control vs experimental).

	Nota de desangrado de la pechuga									
	0		1		2		3		4	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	2	3.92	23	45.10	14	27.45	7	13.73	5	9.80
Control	-	-	7	28.00	10	40.00	3	12.00	5	20.00
Experimental	2	7.69	16	61.55	4	15.38	4	15.38	-	-

Cuando analizamos la influencia de la dieta en el nivel de desangrado de la pechuga de machos grandes (Tabla 47) observamos un efecto estadísticamente significativo y positivo de la inclusión de ajo en la alimentación de los pavos.

Tabla 47. Efecto de la dieta (control vs experimental) en el nivel de desangrado de la pechuga de pavos (machos grandes).

Estadísticos	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	13.22150	4	*
M-L	16.10199	4	**

(*: P < 0.05; **: P < 0.01)

De igual manera, analizamos la influencia de la introducción de ajo en la dieta de pavos machos grandes en el nivel de desangrado de los contramuslos. En la Tabla 48 se muestran las notas de desangrado.

Tabla 48. Puntuación del nivel de desangrado de los contramuslos de pavos (machos grandes) según la dieta (control vs experimental).

	Nota de desangrado de los contramuslos									
	0		1		2		3		4	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	-	-	33	64.71	11	21.57	4	7.84	3	5.88
Control	-	-	15	60.00	6	24.00	1	4.00	3	12.00
Experimental	-	-	18	69.23	5	19.23	3	11.54	-	-

En el conjunto de animales, las notas se distribuyen del 1 al 4, siendo la más frecuente la 1. En animales alimentados con la dieta control la calificación más frecuente fue 1, a semejanza de lo observado en los animales alimentados con la ración experimental. En este grupo no se observaron calificaciones de 4 por lo que a la vista de estos resultados parece que la adición de ajo mejora el desangrado de los contramuslos de pavos grandes. Si bien y a tenor de los resultados que se presentan en la Tabla 49 las diferencias no alcanzaron significación estadística.

Tabla 49. Efecto de la dieta (control vs experimental) en el nivel de desangrado de los contramuslos de pavos (machos grandes).

Estadísticos	Chi ²	Grados de libertad	P-valor
Pearson	4.345699	3	ns
M-L	5.549909	3	ns

(ns: P > 0.1)

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES GENERALES

Tras el análisis de los resultados obtenidos en este trabajo, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1. El procedimiento de aturdimiento por CO₂ no afectó al nivel de desangrado de las pechugas, aunque sí pareció influir sobre el nivel de desangrado de los contramuslos.
2. El tipo comercial, el peso vivo y el sexo tuvieron escasa influencia en el desangrado de pechugas y contramuslos.
3. El procedimiento de aturdimiento por CO₂ influyó de manera significativa en el nivel de aturdimiento de los pavos, obteniéndose mejores resultados con la receta 2 (rápido incremento de CO₂: 30% 15 s, 80% 85 s) que con la receta 1 (incremento paulatino de CO₂: 30% 15 s, 55% 40 s, 70% 45 s).
4. El tipo comercial, el peso vivo y el sexo tuvieron una influencia significativa en el nivel de aturdimiento de los pavos.
5. El tipo comercial afectó significativamente al nivel de cortisol en sangre de los pavos en los tres grupos controlados, mientras sólo influyó en algunos de ellos en el caso de los niveles de glucosa y lactato.
6. El procedimiento de aturdimiento por CO₂ influyó significativamente en el contenido sanguíneo de cortisol tras el sacrificio, mayor en pavos grandes.
7. Se encontró escasa relación de los niveles de indicadores biológicos de estrés entre sí y con parámetros de calidad instrumental de la carne.
8. La adición de 0.2% de ajo en la dieta de los animales elevó significativamente el contenido de lactato en sangre y mejoró el nivel de desangrado de las pechugas.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Aarif O. & Mahapatra P.S. (2013) The effect of cold stress on biochemical and hematological parameters in broad breasted white turkeys. *Wyno J Biolog Sci.*, 1 (4): 20-23.

Abeyesinghe S.M., McKeegan D.E.F., McLeman M.A., Lowe J.C., Demmers T.G.M., White R.P., Kranen R.W., Van Bommel H., Lankhaar J.A.C. & Wathes C.M. (2007) Controlled atmosphere stunning of broiler chickens. I. Effects on behaviour, physiology and meat quality in a pilot scale system at a processing plant. *Br Poult Sci.*, 48 (4): 406-423.

Albentosa M.J., Kjaer J.B. & Nicol C.J. (2003) Strain and age differences in behaviour, fear response and pecking tendency in laying hens. *Br Poul Sci.*, 44: 333-344.

Ali A.S.A., Lawson M.A., Tauson A.H., Jensen J.F. & Chwalibog A. (2007) Influence of electrical stunning voltages on bleed out and carcass quality in slaughtered broiler chickens. *Arch Geflügelk.*, 71 (1): 35-40.

Arthur K. (2003) Mar 2. Testimony. Located at: People for the Ethical Treatment of Animals, Norfolk, Va.

Averós X., Martín S., Riu M., Serratosa J. & Gosálvez L.F. (2008) Stress response of extensively young being transported to growing-finishing farms under Spanish summer commercial conditions. *Lives Sci.*, 119: 174-182.

Aviagen Turkeys. Disponible en: <http://www.aviagenturkeys.com/es/products/b-u-t-premium> (Fecha de consulta: 15/10/2019).

Barrie S.A, Wright J.V. & Pizzorno J.E. (1987) Effects of garlic oil on platelet aggregation, serum lipids and blood pressure in humans. *J Orthomolecular Med.*, 2: (1).

Belemkar S., Dhameliya K, & Pata M.K. (2013) Comparative study of garlic species (*Allium sativum* and *Allium porrum*) on glucose uptake in diabetic rats. *J Taibah Uni Med Sci.*, 8 (2): 80-85.

Berri C., Debut M., Sante-Lhoutellier V., Arnould C., Boutten B., Sellier N., Baeza E., Jehl H., Jego Y., Duclos M.J. & Le Bihan-Duval E. (2005) Variations in chicken breast

meat quality: Implications of struggle and muscle glycogen content at death. *Br Poul Sci.*, 46 (5): 572-9.

Bhandare S.G. & Sheard P. (2010) Cuidado en el transporte de las aves. *World Poul.*, 2(26): 56-57.

Bhusan S., Sharma S.P., Singh S.P., Agrawal S., Indrayan A. & Seth P. (1979) Effect of garlic on normal blood cholesterol level. *Ind J Physiol.*, 23: 211-14.

Bianchi M., Petracci M. & Cavani C. (2008) Gas stunning and quality characteristics of turkey breast meat. Faculty of Agriculture, Department of Food Science, Alma Mater Studiorum - University of Bologna, P.zza Goidanich 60, 47023 Cesena (FC), Italy.

Bilgili S.F. (1992) Electrical stunning of broilers: basic concepts and carcass quality implications: a review. *J Appl Poul Research.*, 1: 135-146.

Blair M.E. & Potter L.M. (1988) Effects of Varying Fat and Protein in Diets of Growing Large White Turkeys: 1. Body Weights and Feed Efficiencies. *Poul Sci.*, 67: 1281-1289.

Bonilla O. & Díaz O. (1988) Elementos básicos para el manejo de animales de granja. Aves (Gallinas, patos, gansos, codornices y pavos) EUNED (libro de internet).

Bordia A. (1981) Effect of garlic on blood lipids in patients with coronary heart disease. *Am J Clin Nutr.*, 34 (10): 2100-2103.

Bordia A., Verma S.K. & Srivastava K.C. (1998) Effect of garlic (*Allium sativum*) on blood lipids, blood sugar, fibrinogen and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukit Essent Fatty Acids.*, 58 (4): 257-263.

Bordia A.K., Joshi H.K., Sandhya Y.K. & Bhu N. (1977) Effect of essential oil of garlic on serum fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 28: 155-159.

Bórnez R., Linares M.B. & Vergara H. (2009) Haematological, hormonal and biochemical blood parameters in lamb: Effect of age and blood sampling time. *Livest Sci.*, 121: 200-206.

Brant A.W. (1998) A brief history of the turkey. *Worlds Poul. Sci. J.*, 54: 365-373.

Broom D.M. (1986) Indicators of poor welfare. *Br Vet J.*, 142 (6): 524-526.

-
- Brzóška F., Śliwiński B., Michalik-Rutkowska O. & Śliwa J. (2015) The effect of garlic (*Allium sativum* L.) on growth performance, mortality rate, meat and blood parameters in broilers. *Ann Anim Sci.*, 15 (4): 961-975.
- Buckham Sporer K.R., Xiao L., Tempelman R.J., Burton J.L., Earley B. & Crowe M.A. (2008) Transportation stress alters the circulating steroid environment and neutrophil gene expression in beef bulls. *Vet Immunol Immunopathol.*, 121: 300-320.
- Campbell T.W. (2004) Clinical Chemistry of Fish and Amphibians. En Thrall MA, Baker DC, Campbell T.W., DeNicola D, Fettman M.J., Lassen, E.D. et al, editors. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins; p. 499-517.
- Cántaro H., Sánchez J. & Sepúlveda P. (2010) Cría y engorde de Pavos. Ed. INTA. Centro regional Patagonia Norte.
- Canul S.M., Sierra V.A., Durán S.L., Zamora B.R., Ortiz, O.J. & Mena D.O. (2011) Caracterización del sistema de explotación del meleagris gallopavo en el centro y sur de Yucatán, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. Pp. 288-291.
- Chan K.C, Yin M.C. & Chao W.J. (2007) Effect of diallyl trisulfide-rich garlic oil on blood coagulation and plasma activity of anticoagulation factors in rats. *Food Chem Tox.*, 45: 902-907.
- Chan K.C., Lou P.P. & Hargrove J.L. (1993) High casein-lactalbumin diet accelerates blood coagulation in rats. *J Nutr.*, 123 (6): 1010-1016.
- Chang M.L. & Johnson M.A. (1980) Effect of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. *J Nutr.*, 110: 931-936.
- CoE (Council of Europe) (2001) Standing Committee of the European convention for the protection of animals kept for farming purposes (T-AP) Recommendation concerning turkeys (*Meleagris gallopavo* ssp.) adopted by the Standing Committee on 21 June 2001, T-AP (95) 15. CoE, Strasbourg, France.
- Comisión Europea (2017) Consorcio del Proyecto Guías de Transporte Animal. Guía de Buenas Prácticas para el transporte de aves de corral.
- Costa N.L. (2009) Short-term stress: the case of transport and slaughter. *Ital J Anim Sci.*, 8 (Suppl.1): 241-252.

Craig E.W., Fletcher D.L. & Papinaho P.A. (1999) The effects of antemortem electrical stunning and postmortem electrical stimulation on biochemical and textural properties of broiler breast meat. *Poult Sci.*, 78 (3): 490–494.

Crawford R.D. (1992) Introduction to Europe and diffusion of domesticated turkeys from the America. *Archiv Zootec.*, 41 (154): 307-314.

Damaziak K., Michalczyk M., Zdanowska-Sasiadek Z., Józwik A., Gozdowski D., Siennicka A. & Niemiec J. (2017) Effects of genotype on hematological and serum biochemical responses of turkey hens to stress. *Archiv Anim Breed.*, 60: 9-17.

Debut M., Berri C., Arnould C., Guemené D., Santé-Lhoutellier V., Sellier N., Baeza E., Jehl N., Jégo Y., Beaumont C. & Le Bihan-Duval E. (2005) Behavioural and physiological responses of three chicken breeds to pre-slaughter shackling and acute heat stress. *Br Poult Sci.*, 46: 527-535.

Debut M., Berri C., Baeza E., Sellier N., Arnould C., Guemene D., Jehl N., Boutten B., Jégo Y., Beaumont C. & Le Bihan-Duval E. (2003) Variation of chicken technological meat quality in relation to genotype and preslaughter stress conditions. *Poult Sci.*, 82 (12): 1829-38.

Devine C.E., Gilbert K.V. & Ellery S. (1983) Electrical stunning of lambs: The effect of stunning parameters and drugs affecting blood flow and behavior on petechial hemorrhage incidence. *Meat Sci.* 9: 247-56.

Di Martino G., Capello K., Stefani A.L., Tripepi L., Garbo A., Speri M., Trolese M., Bricchese M., Marangon S. & Bonfanti L. (2017) The effect of crate height on the behavior of female turkeys during commercial pre-slaughter transportation. *Anim Sci J.*, 88: 1651-1657.

Dokmanovic M., Baltic M.Z., Duric J., Ivanovic J., Popovic L., Todorovic M., Markovic R. & Pantic S. (2015) Correlations among Stress Parameters, Meat and Carcass Quality Parameters in Pigs. *Asian Australas. J Anim Sci.*, 28 (3): 435-441.

Duncan I.J.H. (2004) Dolor, Temor y Angustia. *Global Conference on Animal Welfare: On OIE initiative.* Trabajos. Paris, Francia. Pp. 187-188.

EFSA (2004) Scientific Report of the Scientific Panel for Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of animal stunning and killing methods. Question N° EFSA-Q-2003-093. Accepted on the 15th of June 2004.

EFSA (2013) EFSA Panel on Animal Health and Welfare. Scientific Opinion on monitoring methods at slaughterhouses for poultry. EFSA Journal 11, 3521.

El-Gogary M.R., Mansour A.M., & El-Said E.A. (2018) Blood Biochemical and Immunological Responses to Garlic Oil Administration in Growing Rabbits Diet. J Agric Sci., 10 (1): 217-224.

Elías M.I., Conde P., Villegas J.R. & Arrebola F.A. (2016) Bienestar animal en explotaciones de aves. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica.

El-Sabban F. (2009) Garlic as an antithrombotic and antiplatelet aggregation agent. J Chin Clinical Med., 4 (5).

Erasmus M.A., Turner P.V. & Widowski T.M. (2010) Measures of insensibility used to determine effective stunning and killing of poultry. J Appl Poult Res., 19: 288-298.

Ernst E., Weihmayr T. & Matrai A. (1985) Garlic and blood lipids. Br Med J., 291: 139.

EU Council Directive (EC) No 93/119/EC of 22 December 1993 on the protection of animals at the time of slaughter or killing. Official Journal of the European Communities L 340, 1993, 21-34.

EU Council Regulation (EC) No 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No 1255/97. Official Journal of the European Union L3, 2005, 1-44.

EU Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing. Official Journal of the European Union, L 303, 2009, 1-30.

European Commission (2012) Study on Various Methods of Stunning for Poultry. Framework Contract for Evaluation and Evaluation Related Services—Lot 3: Food Chain; Final Report; European Commission: Brussel, Belgium, Pp. 123.

European Food Safety Authority. (2013) Scientific Opinion on monitoring methods at slaughterhouses for poultry. Report of the Panel on Animal Health and Welfare. EFSA Journal, 11, 3521.

Faure J.M. & Lagadic H. (1994) Elasticity of demand for food and sand in laying hens subjected to variable wind speed. Appl Anim Behav Sci., 42: 49-59.

FEDNA (2002) Lázaro R., Mateos G.G. & Latorre M.A. (2002) Nutrición y alimentación de pavos de engorde. XVIII Curso de especialización FEDNA.

FEDNA (2015) Rivera, A. (2015) Normas FEDNA para la formulación de piensos de pavos de engorde. XXXI Curso de especialización FEDNA.

FEDNA (2018) Sontomá G. & Mateos G.G. (2018) Necesidades nutricionales para la avicultura. Normas FEDNA (2ª Ed).

Fleming B.K., Froning G.W., Beck M.M. & Sosnicki A.A. (1991) The effect of carbon dioxide as a preslaughter stunning method for turkeys. Poult Sci., 70: 2201-2206.

García J. & Sanchez-Muniz F.J. (2000) Revisión: Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). Arch Latinoam Nutr., 50 (3).

Gattani A., Pathak A., Kumar A., Mishra V. & Bhatia J.S. (2016) Influence of season and sex on hemato-biochemical traits in adult turkeys under arid tropical environment. Vet World., 9: 530-534.

Gerritzen M.A., Lambooi B., Reimert H., Stegeman A. & Spruijt, B. (2004) On-farm euthanasia of broiler chickens: Effects of different gas mixtures on behavior and brain activity. Poult Sci., 83: 1294-1301.

Gerritzen M.A., Lambooi E., Hillebrand S.J.W., Lankhaar J.A.C. & Pieterse C. (2000) Behavioral responses of broilers to different gaseous atmospheres. Poult Sci., 79: 928-933.

Gerritzen M.A., Lambooi E., Reimert H.G.M., Spruijt B.M. & Stegeman J.A. (2006) Susceptibility of duck and turkey to severe hypercapnic hypoxia. Poult Sci., 85: 1055-1061.

Gerritzen M.A., Reimert H.G., Hindle V.A., Verhoeven M.T. & Veerkamp W.B. (2013) Multistage carbon dioxide gas stunning of broilers. Poult Sci., 92: 41-50.

-
- Gezgin T. & Karakaya M. (2016) The Effects of Electrical Water Bath Stunning on Meat Quality of Broiler Produced in Accordance with Turkish Slaughter Procedures. *J Poult Research.*, 13 (1): 22-26.
- Gibson T.J., Taylor A.H., & Gregory N.G. (2016) Assessment of the effectiveness of head only and back-of-the-head electrical stunning of chickens. *Br Poult Sci.*, 57: 295-305.
- Gong S., Miao Y., Jiao G., Sun M., Li H., Lin J., Luo M.J. & Tan J. (2015) Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice. *PLoS One*, 10, e0117503.
- González L.M., Romero M.H. & Sánchez J.A. (2014) Evaluación de la eficacia del método de insensibilización por electronarcosis en porcinos. *Arch Med Vet.*, 46: 139-143.
- Grandin T. (2003) Transferring results of behavioral research to industry to improve animal welfare on the farm, ranch and the slaughter plant. *Appl Anim Behav Sci.*, 81: 215-228.
- Grandin, T. (1985). Cardiac arrest stunning of livestock and poultry. In M.W. Fox & L.D. Mickley (Eds.), *Advances in animal welfare science 1985/86* (pp. 1-30). Washington, DC: The Humane Society of the United States.
- Gregory N.G. & Wotton S.B. (1987) Effect of electrical stunning on the electroencephalogram in chickens. *Br Vet J.*, 143: 175–183.
- Gregory N.G. (2008) Animal welfare at markets and during transport and slaughter. *Meat Sci.*, 80: 2-11.
- Gregory N.G., Raj A.B.M., Audsley A.R. & Daly C.C. (1990) Effect of CO₂ on man. *Fleischwirtschaft.*, 70: 1173-1174.
- Griffiths G.L. & Purcell D.A. (1984) A survey of slaughter procedures used in chicken processing plants. *Aust Vet J.*, 61: 399-401.
- Gruber S.L., Tatum J.D., Engle T.E., Chapman P.L., Belk K.E. & Smith G.C. (2010) Relationships of behavioral and physiological symptoms of preslaughter stress to beef longissimus muscle tenderness. *J Anim Sci.*, 88: 1148-1159.

- Hambrecht E., Eissen J.J., Newman D.J., Smits C.H.M., Den Hartog L.A. & Verstegen M.W.A. (2005) Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions. *J Anim Sci.*, 83: 440-448.
- Hänsch F., Nowak B. & Hartung, J. (2009) Evaluation of a gas stunning equipment used for turkeys under slaughterhouse conditions. *Livest Sci.*, 124: 248-254.
- Heath G.B.S., Watt D.J., Waite P.R. & Ormond J.M. (1981) Observations on poultry slaughter. *Vet Rec.*, 108: 98.
- Heath G.E., Thaler A.M. & James W.O. (1994) Food A survey of stunning methods surrently used during slaughter of poultry in comercial poultry plants. *J Appl Poult Res.*, 3: 297-302.
- Hindle V.A., Lambooij E., Reimert H.G.M., Workel L.D. & Gerritzen M.A. (2010) Animal welfare concerns during the use of the waterbath for stunning broilers, hens and ducks. *Poult Sci.*, 89: 401-412.
- Hoen T. & Lankhaar J. (1999). Controlled atmosphere stunning of poultry. *Poult Sci.* 78: 287–289.
- Holst S. (1997) Return to consciousness in slaughter pigs stunned with CO₂. *Proceedings of the 43rd International Congress of Meat Science and Technology, Auckland.* G2, 10-11.
- Horton G.M.J., Blethen D.B. & Prasad B.M. (1991) The effect of garlic (*Allium sativum*) on feed palatability of horses and feed consumption, selected performance, and blood parameters in sheep and swine. *Can J Anim Sci.*, 71: 607- 610.
- HSA Guidance Notes N°7. (2015) Electrical water stunning of poultry. *Humane Slaughter Association.* Wheathampstead. UK.
- Huang J.C., Huang M., Wang P., Zhao L., Xu X.L., Zhou G.H. & Sun J.X. (2014) Effects of physical restraint and electrical stunning on plasma corticosterone, postmortem metabolism, and quality of broiler breast muscle. *J Anim Sci.*, 92: 5749-5756.
- Huff G.R., Huff W.E., Rath N.C., Donoghue A.M., Anthony N.B. & Nestor K.E. (2007) Differential effects of sex and genetics on behaviour and stress response of turkeys. *Poult Sci.*, 86: 1294-1303.

Hughes B.O. (1976) Preference decisions of domestic hens for wire or litter floors. *Appl Anim Ethol.*, 2: 155-65.

Hybrid (2019a) Hoja informativa. “Puntos de control críticos durante el crecimiento”. Disponible en: <https://www.hybridturkeys.com/es/> (Fecha de consulta: 24/11/2019).

Hybrid (2019b) Hoja informativa. “Manual técnico de los productos comerciales de Hybrid Turkeys”. Disponible en: <https://www.hybridturkeys.com/es/> (Fecha de consulta: 24/11/2019).

Ikyume T.T., Sowande O.S., Dele P.A., Yusuf A.O., Monday S., Egunjobi O.K. & Fatoba O. (2017) Effect of varying levels of garlic (*Allium sativum*) powder on growth, apparent nutrient digestibility, rumen ecology, blood profile and cost analysis of feeding West African Dwarf goats. *Mal J Anim Sci.*, 20 (2): 61-74.

INPROVO (2013) Guía de buenas prácticas de manejo y bienestar animal en granjas avícolas de puesta. Disponible en: <https://www.aseprhu.es/> (Fecha de consulta: 1/12/2019)

Isidahomen C.E., Njidda A.A. & Amaza I.B. (2013) Effect of genotype on haematology and serum biochemistry values of Turkeys (*Meleagris gallopavo*) reared in Southern Nigeria. *Int J Agric Biosci.*, 2 (5): 297-301.

Jain R.C. (1975) Onion and garlic in experimental cholesterol atherosclerosis in rabbits. I. Effect on serum lipids and development of atherosclerosis. *Artery.*, 1: 115-125.

Jensen-Waern M. & Nyberg L. (1993) Valuable indicators of physical stress in porcine plasma. *J Vet Med., Series A*, 40: 321-327.

Kang I.S. & Sams A.R. (1999) Bleedout efficiency, carcass damage, and rigor mortis development following electrical stunning or carbon dioxide stunning on a shackle line. *Poult Sci.*, 78: 139-143.

Kannan G., Heath J.L., Wabeck C.J., Souza M.C.P., Howe J.C. & Mench J.A. (1997) Effects of crating and transport on stress and meat quality characteristics in broilers. *Poult Sci.*, 76: 523-529.

Karangiya V.K., Savsani H.H., Patil S.S., Garg D.D., Murthy K.S., Ribadiya N.K. & Vekariya S.J. (2016). Effect of dietary supplementation of garlic, ginger and their combination on feed intake, growth performance and economics in commercial broilers. *Vet World.*, 9 (3): 245-250.

Knowles T. & Warriss P. (2006) Stress physiology of animals during transport. En: Livestock handling and transport, eds. Temple Grandin. 3 ed.

Kotula A.W., Drewniak E.E. & Davis L.L. (1957) Effect of carbon dioxide immobilization on the bleeding of chickens. *Poult Sci.*, 36: 585-589.

Kowalski A., Mormede P., Jakubowski K. & Jedlinska-Krakowska M. (2001) Susceptibility to stress of Big-6 type turkeys subjected to different kinds of stress in light of assorted hormonal, biochemical, immunological and behavioral indices. *Pol J Vet Sci.*, 4: 65-69.

Kowalski A., Mormede P., Jakubowski K. & Jedlinska-Krakowska M. (2002) Comparison of susceptibility to stress in two genetic lines of turkey broilers BUT-9 and Big-6. *Pol J Vet Sci.*, 5: 145-150.

Kranen R.W., Lambooj E., Veerkame C.H., Van Kuppevelt T.H. & Veerkamp J.H. (2009) Haemorrhages in muscles of broiler chickens. *Worlds Poult Sci J.*, 56.

Krauze M., Merska M., Gryzińska M. & Strachecka A. (2012) Effect of garlic (*Allium sativum*) on selected indices of blood metabolic profile and rearing efficiency turkey hens. *Ann UMCS., Sec EE 3*, 48-59.

Kuenzel W., Ingling A.L., Denbow D.M., Walther J.H. & Schaefer M.M. (1978) Variable frequency stunning and a comparison of two bleed-out time intervals for maximizing blood release in processed poultry. *Poult Sci.*, 57: 449-454.

Lafuente, R. & López, M. (2014) Effect of electrical and mechanical stunning on bleeding, instrumental properties and sensory meat quality in rabbits. *Meat Sci.*, 98 (2): 247-254.

Lambooj E., Gerritzen M.A., Engel B., Hillebrand S.J.W. & Pieterse, C. (1999) Behavioral responses during exposure of broilers to different gas mixtures. *Appl Anim Behav Sci.*, 62: 255-265.

Lay D. & Wilson M. (2001) Physiological indicators of stress in domestic livestock. Symposium on Concentrated Animal Feeding Operations Regarding Animal Behavior, Care, and Well-Being. Indiana., 1-25.

Ledezma E, Apitz-Castro R. (1998) Del folklore al mecanismo molecular: El ejemplo del ajoene. *Interciencia.*, 23: 227-231.

Ledezma E. & Aritz-Castro R. (2006) Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. *Rev Iberoam Micol.*, 23: 75-80.

Liu C. T., Hse H., Lii C.K., Chen P.S. & Sheen L.Y. (2005) Effects of Garlic Oil and Diallyl Trisulfide on Glycemic Control in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *Eur J Pharmacol.*, 516: 165-173.

Llamas, J. (2005) El guajolote. Asociación Nacional de tiendas departamentales. México, D. F.

Makheja A.N. & Bailey J.M. (1990) Antiplatelet constituents of garlic and onion. *Agents and Actions*, vol. 29, ¾.

Mand J.K., Gupta P.P., Soni G.L. & Singh R. (1985) Effect of garlic on experimental atherosclerosis in rabbits. *Ind Heart J.*, 37: 183-188.

MAPAMA (2017) Informe del consumo de alimentación en España. (Fecha de la consulta: 03/10/2019).

Marin R.H., Benavidez E., Garcia D.A. & Satterlee D.G. (2002) Sex differences in central benzodiazepine receptor densities and circulating corticosterone release after acute stress in broiler chicks. *Poult Sci.*, 81: 261-264.

Mauri S., Guijarro A., Avilés C. & Peña F. (2017) Influence of carbon dioxide stunning method on quality of turkey meat. *Br Poult Sci.*, 58: 382-389.

McCrinkle B.W., Helden E. & Conner W.T. (1998) Garlic extract therapy in children with hypercholesterolemia. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 152: 1089-94.

McKeegan D.E.F., Abeyesinghe S.M., McLeman M.A., Lowe J.C., Demmers T.G.M. & White R.P. (2007) Controlled atmosphere stunning of broiler chickens. II. Effects on behaviour, physiology and meat quality in a commercial processing plant. *Br Poult Sci.*, 48 (4): 430-442.

McKeegan D.E.F., McIntyre J., Demmers T.G.M., Wathes C.M. & Jones R.B. (2006) Behavioural responses of broiler chickens during acute exposure to gaseous stimulation. *Appl Anim Behav Sci.*, 99: 271-86.

Minka N.S. & Ayo J.O. (2007) Effects of loading behaviour and road transport stress on traumatic injuries in cattle transported by road during the hot-dry season. *Livest Sci.*, 107: 91-95.

Miranda-De La Lama G.C., Rivero L., Chacón G. & Garcia-Belenguer S. (2010) Effect of the pre-slaughter logistic on some indicators of welfare in lambs. *Livest Sci.*, 128: 52-59.

Mohamed B. & Mohamed I. (2012) The Effects of Residual Blood of Carcasses on Poultry Technological Quality. *Food Nutr Sci.*, 3: 1382-1386.

Montes, M. (2014) PROCAMI: Carne de pavo de la granja a la bandeja. *Selecciones Avícolas*, 56 (3): 25-29.

Montoya A., Caicedo S. & Montoya I.A. (2015) Análisis de las oportunidades de aumento de consumo de carne de pavo (*Meleagris gallopavo*) en Colombia. *Suma de negocios* 6: 183-193.

Moreira R., Gecele P., Leyton G. & Zuñiga V. (2009) Uso de distintas combinaciones de tiempo y concentración de dióxido de carbono en el aturdimiento de cerdos en faena. *Boletín Veterinario Oficial*. vol. 10 n°. II. 10 (2).

Mormède P., Andanson S., Aupérin B., Beerda B., Guémené D., Malmkvist J., Manteca X., Manteuffel G., Prunet P., Van Reenen C.G., Richard S. & Veissier I. (2007) Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav.*, 92: 317–339.

Mouchoniere M., Le Pottier G. & Fernandez X. (1999) The effect of current frequency during waterbath stunning on the physical recovery and rate and extent of bleed out in turkeys. *Poult Sci.*, 77: 485–489.

Mushawwir A., Tanuwiria U.H., Kamil K.A., Adriani L., Wiradimadja R. & Suwarno N. (2018) Evaluation of Haematological Responses and Blood Biochemical Parameters of Heat-stressed Broilers with Dietary Supplementation of Javanese Ginger Powder (*Curcuma xanthorrhiza*) and Garlic Extract (*Allium sativum*). *Int J Poult Sci.*, 17 (9): 452-458.

Newell G.W. & Shaffner C.S. (1950) Blood Lost by Chickens during Killing, *Poult Sci.*, 29 (2): 271-275.

Nicolau J.P., Pinto M.P., Ponsano E.H.G., Perri S.H.V. & Garcia M. (2015) Exposure to carbonic has enriched atmosphere or electrical water bath to stun or kill chickens. *Braz J Poult Sci.*, 17 (3): 341-346.

Nixey, C. (1982) *Feed Compounder* 2 (2): 18-22.

Northcutt J.K., Buhr R.J. & Young L.L. (1998) Influence of Preslaughter Stunning on Turkey Breast Muscle Quality. *Poult Sci.*, 77: 487-492.

NRC (1994) *Nutrient Requirement of poultry*. 9^a ed. Natl. Acad. Sci. Washington DC, EEUU.

Prinz S., Van Oijen G., Ehinger F., Bessei W. & Coenen A. (2012) Electrical waterbath stunning: Influence of different waveform and voltage settings on the induction of unconsciousness and death in male and female broiler chickens. *Poult Sci.*, 91: 998-1008.

Prinz S., Van Oijen G., Ehinger F., Bessei W. & Coenen, A. (2010) Effects of water bath stunning on the electroencephalograms and physical reflexes of broilers using a pulsed direct current. *Poult Sci.*, 89: 1257-1284.

Prinz S., Van Oijen G., Ehinger F., Coenen A. & Bessei B. (2010) Electroencephalograms and physical reflexes of broilers after electrical waterbath stunning using an alternating current. *Poult Sci.*, 89: 1265-1274.

Prinz, S. (2009) *Waterbath stunning of chickens-Effects of electrical parameters on the electroencephalogram and physical reflexes of broilers*. PhD Diss. Radboud Univ. Nijmegen, the Netherlands.

Priya M. & Gomathy V.S. (2008) Haematological and blood biochemicals in male and female turkeys of different age groups. *Tamilnadu J Vet Anim Sci*, 4: 60-68.

Raj A.B.M. & O'Callaghan M. (2004) Effects of amount and frequency of head-only stunning currents on the electroencephalogram and somatosensory evoked potentials in broilers. *Anim Welf.*, 13: 159-170.

Raj A.B.M. (1996a) Aversive reactions of turkeys to argon, carbon dioxide and a mixture of carbon dioxide and argon. *Vet Rec.*, 138: 592-593.

Raj A.B.M. (1998) Welfare during stunning and slaughter of poultry. *Poult Sci.*, 77: 1815-9.

Raj A.B.M. (2006) "Recent developments in stunning and slaughter of poultry". In *Worlds Poult Sci J.*, 62.

Raj A.B.M. (2007) People for the Ethical Treatment of Animals (PETA) - The FBI Files de Federal Bureau of Investigations.

Raj A.B.M., Wilkins L.J., Richardson R.I., Johnson S.P. & Wotton S.B. (1997) Carcass and meat quality in broilers either killed with a gas mixture or stunned with an electric current under commercial processing conditions. *Br Poult Sci.*, 38: 169-174.

Raj M. & Johnson S.P. (1997) Effect of the method of killing, interval between killing and neck cutting and blood vessels cut on blood loss in broilers. *Br Poult Sci.*, 30: 190-194.

Raj M., Gregory N.G. & Wotton S.B. (1994) Effect of the method of stunning and the interval between stunning and neck cutting on blood loss in turkeys. *Vet Rec.*, 135: 256-258.

Rajaram S. (2003) The effect of vegetarian diet, plant foods, and phytochemicals on hemostasis and thrombosis. *Am J Cl Nutr.*, 78 (suppl): 552S-8S.

Real Decreto 692/2010, de 20 de mayo, por el que se establecen las normas mínimas para la protección de los pollos destinados a la producción de carne y se modifica el Real Decreto 1047/1994, de 20 de mayo, relativo a las normas mínimas para la protección de terneros.

Retrieved from <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3521>

Richards S.A. & Sykes A.H. (1967) Physiological effects of stunning and venesection in the fowl. *Res Vet Sci.*, 8: 361-368.

Romero M.H., Uribe L.F. & Sánchez J.A. (2011) Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud* 10 (1)

Sabow A.B., Zulkifli I., Goh Y.M., Ab Kadir M.Z.A., Kaka U., Imlan J.C., Abubakar A.A., Adeyemi K.D. & Sazili A.Q. (2016) Bleeding Efficiency, Microbiological Quality and Oxidative Stability of Meat from Goats Subjected to Slaughter without Stunning in Comparison with Different Methods of Pre-Slaughter Electrical Stunning. *PLoS ONE* 11(4): e0152661.

Sainani G.S., Desai D.B., Natu M.N., Katrodia K.M., Valame V.P., Sainani P.G. (1979) Onion, garlic, and experimental atherosclerosis. *Jpn Heart J.*, 20: 351-357.

-
- Salazar Y. (2000) *Allium sativum* L. un agente antitrombótico diferente. Rev. Cubana Angiol Cir Vasc., 1 (2): 155-60.
- Salehi B., Zucca P., Orhan I.E., Azzini E., Adetunji C.O., Mohammed S.A., Banerjee S.K., Sharopov F., Rigano D., Sharifi-Rad J., Armstrong L., Martorell M., Suredal A., Martins N., Selamoğlu Z. & Ahmadp Z. (2019) Allicin and health: A comprehensive review. Trends in Food Sci Tech., 86: 502-516.
- Sams R.A. (2001) Poultry Processing, CRC Press. Estados Unidos.
- Sañudo C. (2013) Pavos. En: Atlas mundial de razas en avicultura. Ed. Servet. Zaragoza, España. Pp. 106-119.
- Sarkar P., Ghosh S., Batabyal S. & Chatterjee S. (2013) Biochemical stress responses of broiler chickens during transport. Ind J Anim Res., 47: 29-34.
- Sayda A.M.A., Abdalla H.O. & Mahgoub I.M. (2011) Effect of slaughtering method on the keeping quality of broiler chickens' meat. Egyptian. Poult Sci., 31: 727-736.
- Schreus F.J.G., Goedhart H. & Uijttenboogaart T.G. (1999) Effects of different methods of stunning on meat quality and post mortem muscle metabolism. Proc Eur Symp Qual Poult Meat. Bologna, Italy. p.353.
- Schutt-Abraham I., Wormuth H.J., Fessel J. & Knapp J. (1983) Stunning of Animals for Slaughter, ed. G. Eikelenboom, The Hague: Martinus Nijhoff, Pp. 154.
- Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare (EC). (1998) The use of mixtures of the gases CO₂, O₂, and N₂ for stunning of killing poultry.
- Sell J.L. & Owings W.J. (1984) Influence of Feeding Supplemental Fat by Age Sequence on the Performance of Growing Turkeys. Poult Sci., 63: 1184-1189.
- Shane S. (2005) The future of gas stunning. Watt Poult. USA. Volume 6, No. 4, pp. 16-23.
- Sheriff M.J., Dantzer B., Delehanty B., Palme R. & Boonstra R. (2011) Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. Oecol., 166: 869-887.
- Shields S.J. & Raj A.B.M. (2010) A Critical Review of Electrical Water-Bath Stun Systems for Poultry Slaughter and Recent Developments in Alternative Technologies, J. Appl Anim Welf Sci., 13: 281-299.

Simon J. & Leclercq B. (1982) Longitudinal study of adiposity in chickens selected for high or low abdominal fat content: further evidence of a glucose-insulin imbalance in the fat line. *J Nutr.*, 112 (10): 1961-73.

Sonawane N., Patodkar V., Sardar V., Mehre P., Lonkar V. & Kadam A. (2018) Influence of Sex on the Blood Biochemical Parameters in Turkey Birds. *Int J Livest Res.*, 8 (5): 239-245.

Souza M.I.L., Uribe-Velásquez L.F., Ramos A.A. & Oba E. (2006) Níveis plasmáticos de colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL) e cortisol, e sua biorritmicidades, em carneiros Ideal-Polwarth. *Cien Anim Bras.*, 7(4): 433-438.

Steiner M. & Li M.R. (1998) Changes in platelet function and susceptibility of lipoproteins to oxidation associated with administration of aged garlic extract. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 31: 904-908.

Sucur M. (1980) Effect of garlic on serum lipids and lipoproteins in patients suffering from hyperlipoproteinemia. *Diabetol Croat.*, 9: 323-338.

Tadich N., Gallo C., Bustamante H., Schwerter M. & Van Schaik G. (2005) Effects of transport and lairage time on some blood constituents of Friesian-cross steers in Chile. *Livest Prod Sci.*, 93: 223-233.

Terlouw E.M.C., Bourguet C. & Deiss, V. (2016) Consciousness, unconsciousness and death in the context of slaughter. Part II. Evaluation methods. *Meat Sci.*, 118: 147-156.

Thery, C. (1983) La génétique de l'engraissement chez le dinde (Doctoral dissertation). University of Paris, France.

Thornton E.K., Emery K.F., Steadman D.W., Speller C., Matheny R. & Yang D. (2012) Earliest Mexican turkeys (*Meleagris gallopavo*) in the Maya region: Implications for pre-Hispanic animal trade and the timing of turkey domestication. *PLOS ONE* 7 (8): e42630.

Torres C.U., Guzmán L.J., Moore-Carrasco R. & Palomo I.G. (2008) Antithrombotic effect, a not well known characteristic of fruits and vegetables. *Rev Chil Nutr.*, 35 (1): 10-17.

Trevisi E. & Bertoni G. (2009) Some physiological and biochemical methods for acute and chronic stress evaluation in dairy cows. *Ital J Anim Sci.*, 8 (Suppl.1): 265-286.

-
- Turcsán Zs., Szigeti J., Varga L., Farkas L., Birkás E., & Turcsán J. (2001) The Effects of Electrical and Controlled Atmosphere Stunning Methods on Meat and Liver Quality of Geese. *Poult Sci.*, 80: 1647-1651.
- Veeramuthu G.J. & Sams A.R. (1993) The effects of carbon dioxide and electrical stunning on rigor mortis and toughness development in early-harvested broiler breast fillets. *Poult Sci.* 72 (1): 147.
- Veissier I. & Evans A. (2004) Principles and criteria of good Animal Welfare. Science and society improving animal welfare.
- Velarde A., Diestre A., Ruiz-de-la-Torre J.L., Stub C. & Manteca X. (2000) Factors affecting the effectiveness of head-only electrical stunning in sheep. *Vet Rec.*, 147 (2): 40-43.
- Verhoeven M.T.W., Gerritzen M.A., Hellebrekers L.J. & Kemp B. (2015) Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: a review. *Animal*, 9: 320-330.
- Voslarova E., Chloupek P., Bedanova I., Suchy P., Pistekova V. & Vecerek V. (2008) The effect of pre-sampling handling time on blood plasma biochemical parameters of broilers. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.*, 115: 62-65.
- Vosmerova P., Bedánová I., Chloupek P., Chloupek J., Suchý P. & Vecerek J.V. (2010) Transport-induced Changes in Selected Biochemical Indices in Broilers as Affected by Ambient Temperatures. *Acta Vet Brno.*, 79: 41-46.
- Vosmerova P., Chloupek J., Bedanova I., Chloupek P., Kruzikova K., Blahova J. & Vecerek V. (2010) Changes in selected biochemical indices related to transport of broilers to slaughterhouse under different ambient temperatures. *Poult Sci* 89: 2719-2725.
- Warriss P.D., Brown S.N., Adams S.J.M. & Corlett I.K. (1994) Relationships between subjective and objective assessments of stress at slaughter and meat quality in pigs. *Meat Sci.*, 38: 329-340.
- Watt poultry. Disponible en: <https://www.wattagnet.com/> Fecha de la consulta (12/12/2018).
- Webster A.B. & Hurnick J.F. (1990) An ethogram of white Leghorn –type hens in battery cages. *Can J Anim Sci.*, 70: 751-760.

Wichman M., Norring M., Pestell M. & Hänninen, L. (2009) Being able to stand up - consequences for the welfare of turkeys in transit. In 'Proceedings of the 8th European Symposium on Poultry Welfare'. p. 101. (Worlds Poultry Science Association: Cervia, Italy).

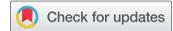
Xu L., Ji F., Yue H.Y., Wu S.G., Zhang H.J., Zhang L. & Qi G.H. (2011) Plasma variables, meat quality, and glycolytic potential in broilers stunned with different carbon dioxide concentrations. *Poult Sci.*, 90: 1831-1836.

Ylä-Ajos M., Tuominen S., Hanninen L., Ruusunen M., Puolanne E. & Valros A. (2012) Gas composition in controlled atmosphere stunning affects turkey meat quality traits. *Br Poult Sci.*, 53: 47-56.

Yun H.M., Jung J.O., Park K.R., Lee C.K., Jeong H.S. & Hong J.T. (2014) Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacol Ther.*, 14 (2): 183-195.

ANEXOS

ARTICLE



Effects of Two CO₂ Stunning Methods on the Efficacy of Stunning and Blood Stress Indicators of Turkeys under Commercial Processing Conditions

Angela Guijarro, Soledad Mauri, Carmen Aviles , and Francisco Peña 

Animal Production Department, University of Cordoba, Cordoba, Spain

ABSTRACT

The effect of CO₂ gas-stunning methods (G1: 30% CO₂ 15 sec, 55% CO₂ 40 sec, 70% CO₂ 45 sec; G2: 30% CO₂ 15 sec, 80% CO₂ 85 sec) on the efficacy of stunning, blood stress indicators and meat quality of turkeys were assessed. A total of 375 turkeys (125 heavy males, 125 light males, and 125 light females) were used. After stunning, clinical parameters (posture-loss, wing-flapping, breathing, response to toe-pinching, eye movements, and palpebral, corneal and pupillary reflexes) and glucose, lactate and cortisol levels were assessed. The G2 method showed a higher percentage of correctly stunned birds (81.3 vs. 70.7%) and lower cortisol levels (0.44 vs. 1.22 g/dL). The weight and sex had a significant influence on the behavioral and physiological responses after stunning. The G2 method was found to be acceptable for animal welfare during stunning, based on both the percentage of animals correctly stunned and dead (92% to 100%) and the blood cortisol level after stunning.

KEYWORDS

Poultry; preslaughter handling; welfare

Introduction

The turkey industry is extremely popular in many parts of the world, where it plays a major role in the supply of meat, and human consumption of turkey meat has increased greatly in recent decades. Along with increased commercial production, public interest in animal welfare and the development of animal welfare assessment programs have also increased (Velarde & Dalmau, 2012). This is especially true in the slaughterhouse, since the handling during the stunning and killing can have a high impact on animal welfare and can result in poor carcass and meat quality. Stunning before slaughter is a statutory requirement in the EU (with exceptions in some Member States for religious slaughter) to induce insensibility (inability to perceive stimuli) in animals, so that slaughter can be performed without avoidable fear, anxiety, pain, suffering, and distress. The Article 4 of EU Council Regulation 1099/2009 on the protection of animals at the time of killing state that animals should be stunned prior to slaughter by exsanguination to prevent them suffering unnecessarily.

Current methods of assessing welfare in the slaughterhouse have concentrated on assessing the impact of handling and stunning methods on behavior and physiology. In turkeys, of the usual methods available, gas stunning is the system of choice due to its ease of use, the birds can be stunned in groups in their transport crates, handling is reduced (Raj & Tserveni-Gousi, 2000) and shackling of conscious poultry and any associated negative effects on poultry welfare are avoided, improved working conditions, and a bleeding-out process which is not negatively impacted (Kang & Sams, 1999). As set out in EU Council Regulation 1099/2009, several different methods of gas stunning of poultry can be used. However, these systems involve an induction phase that can be stressful to the birds, since they do not cause an immediate loss of sensibility. The use of CO₂ diluted

CONTACT Carmen Aviles  v92avrac@uco.es  Animal Production Department, University of Cordoba, Ctra. Madrid-Cadiz Km. 396, Cordoba 14071, Spain

in the air is becoming more prevalent in the industrial use for stunning-slaughtering birds, because it is easily obtainable and relatively inexpensive. Carbon dioxide inhalation reduces the pH of the cerebrospinal fluid, which, in turn, causes loss of sensibility and death after prolonged exposure (Kang & Sams, 1999), although this gas may be unpleasant and even highly distressing to inhale at higher concentrations (Raj, 2006). Thus, two-step systems that first render the birds insensibility with a low level of CO₂ (maximum of 40%), followed by a second stage with exposure to a lethal level of the gas (up to 80%) are being adopted commercially, especially in Europe (Shields & Raj, 2010). However, the legislation does not refer to the time required to reach lethal concentrations, and so, to our knowledge, the effect of a gradual or rapid rise in the concentration of CO₂ in the air in the second phase of process has not been studied.

Stunning systems should ensure that the animals do not present any signs of sensibility in the period between the end of the stunning process and death. When monitoring the effectiveness of stunning, in order to safeguard animal welfare, it is a high priority to detect those animals that are not properly stunned or those that recover sensibility after stunning. The level of insensibility of stunned animals can easily be interpreted on site by their responses to different reflexes or by their behavior. Analysis of the remaining blood is another way to obtain information on the type and degree of stress to which the animal was subjected during stunning. For this reason, certain indicators (designed to detect signs of sensibility or insensibility in the poultry after stunning) and the blood level of some substances (to assess the stress caused by the stunning process) should be assessed. The main behavioral and biochemical indicators have been discussed in different studies (Damaziak et al., 2017; European Food Safety Authority, 2013; Mohammed, Ibrahim, & Saleem, 2016; Verhoeven, Gerritzen, Hellebrekers, & Kemp, 2015).

Several studies carried out with different controlled atmosphere systems reveal differences in duration and depth of insensibility, and in the induction of signs of agitation. These signs are much less pronounced in the biphasic approach while the loss of sensitivity was slower. In order to gain more information about the effects of the CO₂ stunning method on the animals' welfare and level of insensibility in the stunning phase, and to maximize the number of insensible birds, we investigated two different speeds of adding CO₂ to the stunning chamber for a similar exposure time in three commercial types of birds.

Materials and methods

Ethical note

Animals were breed, transported and slaughtered following the applicable regulation when the experiments were conducted (CoE (Council of Europe), 2001; EU Council, 2005; EU Council, 2009).

The study was carried out under field conditions. In previous-controlled trials, the behavior of the animal was monitored using a video camera in the stunning chamber and no signals of distress (gasping, wing flapping, convulsions) were observed.

Birds

A total of 125 heavy males (HM), 125 light males (LM) and 125 females (F) (10.60 ± 0.12 , 7.63 ± 0.15 and 6.10 ± 0.09 kg of carcass weight, respectively) of healthy turkeys from a grand-parental female line of medium weight type (B.U.T. Premium strain, Aviagen Group®, USA) were used.

The turkeys were reared in a farm located in the South of Spain at ground level on deep litter in intensive barn systems under a similar environmental (38°C at the beginning to 18°C at the end, 50% of the humidity at the beginning to 40% at the end, and 6 h of darkness at nights) and feeding conditions until the slaughter weight. The birds were fed *ad libitum* with compound feeds according to their category and age (Mauri, Guijarro, Avilés, & Peña, 2017). The initial density was 20 turkeys/

m² for all animals and 4 male turkeys/m² or 5 female turkeys/m² at the end of the experimental period.

Baseline levels of blood stress indicators

On the farm, the birds were randomly selected, lifted and placed by hand, as calmly and quietly as possible, in a lateral position. Birds were bled by venipuncture of the brachial vein. Blood samples were collected, in the morning to overcome the circadian variation in glucose and cortisol levels, within 1 min of capture to ensure that the levels of the monitored parameters were not affected by stress induced by presampling handling (Mashaly, Webb, Youtz, Roush, & Graves, 1984; Voslarova et al., 2008). The blood samples were collected by duplicate into 4 ml red top anti-coagulant free vacutainer tubes (Serotub[®], Deltalab, Spain) on the farm (to determine the baseline levels) 1 week before slaughter (25 birds from each commercial group). Glucose and lactate levels (in mmol/L) were determined immediately after the blood sample collection using a glucose meter (One Touch Ultra Soft[®], Johnson & Johnson Medical Devices & Diagnostics Group, Spain; measuring range: 1,1–33,3 mmol/L; imprecision: ±3% for high hematocrit; sensitivity: 0,03 mmol/L) and a lactate-meter (Lactate Scout+[®], EKF diagnostics, Germany; measuring range: 0,5–25 mmol/L; imprecision: ±4% for high hematocrit; sensitivity: 0,05 mmol/L).

To measure cortisol, the blood samples were placed in a portable cooler with ice packs immediately after collection and maintained at 2°C until arrival at the external laboratory within first 2 h (Laboratorio Veterinario Garfia S.L., Spain). Blood samples were centrifuged for 15 min at 3500 revolution per minute using a Hettich Zentrifugen (MIKRO 200) centrifuge, and serum cortisol level (µg/dL) was analyzed in a BioTek™ ELx800 Absorbance Microplate Reader (BioTek Instrument Inc., Winooski, Vermont, USA) by the competitive immunoluminometric assay using a kit (CLIA[®], Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd, China; sensitivity: <0.25 µg/dL; intra- and inter-assay coefficient of variation ≤10% and ≤15%, respectively; specificity <0.03 ng/ml) following the manufacturer's instructions. Prior to the study, the glucose and lactate concentrations were validated for turkeys by laboratory tests using an analyzer BTS 350 (BioSystems S.A., Barcelona, Spain).

Pre-slaughter handling

The birds, when they reached commercial weight, were caught, loaded into a trailer and transported from the farm (which took 90 min, including careful catching and loading) to an officially approved slaughterhouse equipped with the infrastructure needed to kill 37,000 birds per day. The turkeys were transported by truck in iron crates (63 HM, 84 LM or 105 F birds/crate, distributed over 7 tiers). The sides of the crates consisted of a 2.5 × 2.5 cm grid, while the floor/roof consisted of a smooth, unperforated surface. The crate size was 2.70 m height, 1.2 m wide and 1.45 m deep. All the animals were transported and slaughtered on the same day. The vehicles left the farm at 7.00 am, when the temperature was cooler, in order to avoid causing the animals stress. The birds had fasted for 11 h prior to transport, slightly longer than the period collected in the work of Wabeck (1972), who recommended a total feed withdrawal times of 8 to 10 h prior to slaughter.

On arrival at the slaughterhouse, the crates were placed in an industrial unit equipped with fans and sprinklers (temperature: 20–25°C; humidity: 60%) and lairage for 1 h with no water or food available. This time was considered long enough for the animals to recover from the stress caused during loading and transport (Ludtke, Ciocca, Dandin, Barbalho, & Vilela, 2015). The animals were kept in lighting conditions of semi-darkness in the industrial unit in order to reduce stress.

Stunning chamber, stunning and slaughter

For the gas stunning, the birds were taken, inside the transport containers, to a closed chamber with controlled atmosphere carbon dioxide. Previously to the stunning process, any bird found dead was removed. The stunning chamber (roughly 3 m high x 2 m wide x 3 m deep) had multi-level gas inlets to allow a quick, even CO₂ distribution. The CO₂ levels were monitored throughout the stunning process by sensors mounted on both top and bottom of the chamber. In each stunning process, two crates with the same commercial type of turkeys were placed in the stunning chamber. Two CO₂ gas-stunning systems, previous to slaughter, were used, in two phases in a 3-stage (G1) or two-stage (G2) and took 100 s to complete. The turkeys of the G1 system were exposed at CO₂ concentrations of 30%, 55%, and 70% by 15, 40 and 45 s at each stage, while those of the G2 system were exposed at CO₂ concentrations of 30% and 80% by 15 and 85 s. The objective of the two-phased CO₂ system is to produce a narcosis first (with a 40% maximum CO₂ concentration) to then induce a deeper state of insensibility until slaughter.

After stunning, 8–9 animals per crate were chosen at random to either measure the stunning effectiveness or blood sampling. Thus, a total of six crates from three stunning processes were used per stunning method and commercial type to assess the stunning level, and the same figure to study the blood content of stress indicators.

Behavioral observations

There is no “gold standard” for assessing insensibility in poultry, and different researchers use different methods. Insensibility depth was evaluated right after stunning and before bleeding according to the European Food Safety Authority (2013), Terlouw, Bourguet, and Deiss (2016), and Verhoeven et al. (2015). Table 1 shows the sensibility/insensibility parameters evaluated and the stun effectiveness scores. Parameters to assess the state of insensibility were: body posture, rhythmic breathing (monitored through regular cloaca movements), interphalangeal, pedal, palpebral and corneal reflexes (tested through pinching and the touching of the bird’s eyelids and cornea with a feather); and cardiac activity. Descriptions and limitations of measures used to assess insensibility after stunning are summarized by Erasmus, Turner, and Widowski (2010).

Stunning stress assessment

Immediately after stunning, ventral neck cutting, affecting both carotid arteries and both jugular veins, was performed manually. Next, blood samples were taken (50 birds from each commercial group) to measure the glucose, lactate and cortisol levels as physiological stress responses, following the same procedure as described above.

The stun-to-neck-cut duration was approximately 20 s. After bleeding (2 min 30 s), scalding (54–58°C for 3 min 20 s) and manual evisceration, the carcasses were chilled in a cold room 20-min *post-mortem*.

Table 1. Measures used to assess the level of insensibility after stunning.

Stun effectiveness score	Behavioral indicators of insensibility
0 Sensibility	The animal has respiratory movements, pedal, interphalangeal, corneal, and palpebral reflexes and reacts after touching the ear slightly
1 Semi-sensibility	Sagging and body posture lost, and bird responds after pinching interphalangeal membranes and/or when eyelids and cornea are lightly touched
2 Reversible insensibility	Body posture lost and bird is unable to respond to normal stimuli; breathing is irregular or absent
3 Irreversible insensibility	Body posture lost, absence of corneal and palpebral reflexes and heart rate and respiration have ceased

Statistical analysis

SAS University Edition 3.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) was used in all statistical analyses. The association between the stunning method and the effectiveness of stunning was measured using a chi-square test (PROC FREQ). The variance of blood plasma data was analyzed with the GLM procedure. The model included the fixed effect of the stunning method, commercial type, and interaction between them. When significant differences were found, the means were compared using Tukey’s test, and the descriptive statistics of meat quality traits were obtained with MEANS procedure.

Results

Effect of carbon dioxide stunning method, commercial type and sex on the level of insensibility of birds

In the data set (Table 2), most of the animals (76%) were scored as “reversible insensibility”, and 12% as “irreversible insensibility” or dead after stun process, a similar percentage to that registered for all other animals (sensibility and semi-sensibility).

The greatest effectiveness of stunning was observed when the CO₂ concentration increased rapidly. The highest number of insensible birds was found in the G2 method. In contrast, the G1 method produced a significantly (P < 0.05) higher percentage of sensible and semi-sensible birds. This method had little effectiveness in LM and was highly effective in HM.

Overall, significant differences (P < 0.01) were observed between commercial types. Given that the number of animals/crate is set so that the total weight transported is similar, regardless of the commercial type, it seems that the differences could be attributed mainly to the number of animals/cage rather than to the commercial type. Heavy males showed the lowest percentage of birds scored as “reversible insensibility” and the highest percentage of “irreversible insensibility” score whereas in females, the highest percentage of sensible birds score was recorded. Among males, the greatest differences were recorded at the extremes of the scale: HM presented higher percentages of sensible and irreversible insensible birds than LM.

When we analyzed the influence of live weight (HM vs. LM), significant differences (P < 0.003) between groups were found. In HM, there was a higher percentage in classes 0 and 3, while in LM the highest percentages were recorded in classes 2 and 3. On the basis of these results, it seems that HM is more sensible to the action of CO₂.

When comparing between sexes (LM vs. F), significant differences (P < 0.03) were found. The F group showed a higher percentage of sensible birds than LM, and no irreversible insensible birds were found. On the basis of these results, it seems that females are less sensible to stunning.

Table 2. Effectiveness of stunning (number of birds in each score, and % in brackets) of two CO₂ gas-stunning methods in B.U.T. Premium turkeys.

Gas-stunning method	N	Commercial type	Stun effectiveness score			
			0	1	2	3
G1	25	Heavy males	-	-	19 (76%)	6 (24%)
	25	Light males	-	6 (24%)	19 (76%)	-
	25	Females	5 (20%)	5 (20%)	15 (60%)	-
G2	25	Heavy males	2 (8%)	-	15 (60%)	8 (32%)
	25	Light males	-	-	21 (84%)	4 (16%)
	25	Females	-	-	25 (100%)	-
Total	150		7 (5%)	11 (7%)	114 (76%)	18 (12%)

0: Sensibility; 1: Semi-sensibility; 2: Reversible insensibility; 3: Irreversible insensibility

G1: 3 steps: 30%, 55%, and 70% of CO₂.

G2: 2 steps: 30% and 80% of CO₂.

Basal plasma glucose, lactate and cortisol concentrations, and effect of CO₂ gas stunning method on these biochemical parameters

Table 3 shows the basal level of the blood stress indicators. There were significant ($P < 0.001$) differences between commercial types for glucose and cortisol levels. Glucose levels in the F group were similar and they were higher than those registered in LM and HM, respectively.

Table 3 also shows the mean values of glucose, lactate and cortisol levels after stunning treatments. The weight at slaughter significantly affected the cortisol level. Judging from these results, it appears that HM is more sensitive, although the number of birds of each type in the stunning chamber should also be considered. In analyzing the effect of sex (LM vs. F), we found that females showed lower ($P < 0.001$) glucose level than males, while cortisol level was significantly ($P < 0.05$) higher. In addition, females tended to be more susceptible to handling stress than males.

Discussion

This study describes differences in insensibility scores after stunning, and glucose, lactate and cortisol levels in blood between male (light and heavy) and female turkeys subjected to two CO₂ stunning procedures.

Effect of carbon dioxide stunning method, commercial type and sex on the level of insensibility in turkeys

The level of insensibility of stunned animals can be interpreted on site by their responses to different reflexes (European Food Safety Authority, 2013), although to allow real effective monitoring, the birds must be able to express behaviors (as body posture) and reflexes associated with the level of sensibility/insensibility outside a crate, so the assessment could be done outside of the crates. In general, in our study, the clinical parameters were easy to appraise in the stunned animals.

In the present work, the CO₂ concentration (30%) and the duration of the first phase (15 s) in both systems were sufficient to achieve a rapid sensibility lost, in line with the findings of Gerritzen, Lambooi, Reimert, Spruijt, and Stegeman (2006) and Terlouw et al. (2016), who confirmed that turkeys lose sensibility before a level of 25% CO₂ is reached in a time of 18–51 s.

In general, open eyes, absence of rhythmic breathing, rigidly extended legs, and wings held tight against the body, among others, are signs that are associated with an effective stunning, while the signs of death of the bird are: absence of breathing; dilated pupils, wings drooping, and the absence of the third eyelid reflex. Stunning is ineffective when animals present rhythmic breathing, tension in the neck and presence of a third eyelid reflex. Effective stunning is important from the ethical point of view, removes the risk that animals will experience pain and distress during slaughter, as practical, the cut will be easier to perform, more precise, and quicker bleeding is achieved, which reduces the presence of blood spots in the carcass and, in particular, engorged or hemorrhagic veins. In the data set, the percentage of reversible insensibility class, based on behavioral indicators of insensibility (Table 1), was low, which raises the urgent need to delve into the factors that influence this percentage in order to improve the stunning process. The percentage of reversible insensible birds was especially low in heavy males, as opposed to the percentage of irreversible insensible birds.

It is notoriously difficult to interpret the results, since the sensitivity and specificity of the indicators do not reach 100% (European Food Safety Authority, 2013). On the other hand, the possible influence of the number of animals/crate must also be taken into account, which varies in each of the commercial categories studied (5.17, 6.89 and 8.62 birds/m² for F, LM and HM, respectively), although the total value of kg/crate was similar: 640.5, 638.2 and 667.6 kg carcass/crate for F, LM and HM, respectively. This aspect should not be overlooked, although the stun chamber is designed to distribute the CO₂ evenly and quickly and the size and characteristics of the crates and the densities used do not prevent an adequate distribution of CO₂ so that all turkeys receive enough gas.

Limited information is available on how the design, characteristics, and size of crates benefits animal welfare in turkeys, and most of what we know relates to transport (Kowalski, Mormede, Jakubowski, & Jedlinska-Krakowska, 2001; Wichman, Norring, Pestell, & Hänninen, 2009). Di Martino et al. (2017) compared behaviors and physiological indicators from four groups of 10 female turkeys confined in either conventional (38.5 cm height) or experimental (77 cm height) crates during commercial pre-slaughter transportations for 86 km, and concluded that crate height had no significant effect on hemato-biochemical markers. There are no works in the available literature, however, which relate the characteristics of the crates and density of animals with the distribution of CO₂ in the stunning chamber.

The differences found between the two CO₂ gas-stunning methods are in agreement with Gerritzen, Lambooi, Hillebrand, Lankhaar, and Pieterse (2000), who recorded differences in behavioral parameters when using different gas mixture. Prinz, Van Oijen, Ehinger, Bessei, and Coenen (2010) indicated that there should be no more than 30% of the positive responses to corneal reflex under commercial conditions. Gerritzen, Reimert, Hindle, Verhoeven, and Veerkamp (2013) obtained 100% stunning effectiveness using two systems (a five-stage incremental CO₂ scheme and a four-stage incremental CO₂ scheme), although the duration of the process was longer (6 and 4 min, respectively).

The researchers suggested that a milder death in the biphasic system, although taking longer, was preferable to a faster but more distressing death. Taken together, the G2 method is most appropriate for the humane slaughter of turkeys, although Gerritzen, Lambooi, Reimert, Stegeman, and Spruijt (2004) indicated that to prevent any possible discomfort involved in using 100% CO₂, a gradual increase up to an anesthetic level is recommended. Kang and Sams (1999) advocated using gas to kill rather than stun, although the higher percentage of dead animals could cause problems at the time of carcass bleeding, with consequent deterioration of their quality. In turkeys, the incorrect bleeding of the carcasses, especially of the choice cuts (breast and thighs), has a major impact on the quality of the meat, especially when it is sold in whole pieces or fillets.

Between sexes, the effectiveness of the different stunning methods is in agreement with Prinz, Van Oijen, Ehinger, Bessei, and Coenen (2012) who recorded a lower stunning efficiency for females. Also, Gibson, Taylor, and Gregory (2016) suggested that the period of insensibility following head-only electrical stunning was shorter in hens compared to broilers, differences themselves attribute, among other causes, to hens are generally more reactive, agile, and coordinated than broilers, this may allow them to more readily express behavioral signs of recovery than broilers, and there may be differences between broilers and hens in the duration and severity of bradycardia induced during head-only electrical stunning, but in no case attributable to the weight or age of the birds.

Basal plasma glucose, lactate and cortisol levels

Basal glucose levels were found in the range reported for most bird species (Campbell, 2004), and were higher than post-stunning levels, which is consistent with the results obtained by Wein, Geva, Bar-Shira, and Friedman (2017) in turkeys stressed by transport.

Warriss et al. (1999) indicated that during lairage the bird's body temperature increases, the liver glycogen stores become depleted and plasma glucose levels decreased. However, results of studies on the effects of transport on plasma glucose levels are in conflict with each other. Also, prolonged fasting could influence glucose levels (Nijdam et al., 2005). In the present study, the value of serum glucose level of the males (3.21) was slightly higher ($P > 0.05$) than the one of females (2.85), these results disagree with those registered by Daniel-Igwe and Okwara (2018), while the results of Priya and Gomathy (2008), Isidahomen, Njidda, and Amaza (2013), and Sonawane et al. (2018) revealed significant differences in the level of serum glucose among males and females, with higher values in females. Aarif and Mahapatra (2013) and Gattani, Pathak, Kumar, Mishra, and Bhatia (2016) found that glucose levels of males were higher than females. Differences between sexes which might be associated with differences in endocrine status of birds in males and females of different age. The last

authors suggested that the lower blood glucose level in females could be due to the effect of estradiol, which decreases the expression of gluconeogenic genes in the liver.

The lowest glucose level was found in HM, which is in line with Simon and Leclercq (1982), who pointed out that fattened chickens had lower blood glucose levels after fasting. Priya and Gomathy (2008) also found that blood glucose levels tended to decrease with age. Previously, They (1983) had recorded correlations of -0.35 to -0.47 between glucose and fatness in turkeys.

Cortisol, a glucocorticoid released in response to stress, has been known to modulate many of the acute responses to restore homeostasis. In commercial poultry, stressors such as heat, food and water deprivation (Beuving, 1980), and transportation (Broom & Knowles, 1989) increase glucocorticoid production, which is mediated by the release of adrenocorticotrophic hormone from the pituitary gland (Munck et al., 1984).

When confronted with a stressor, an individual turkey typically displays a stress response consisting of a suite of physiological alterations to cope with the challenge. Within minutes of the onset of a perceived stressor, the adrenal cortex increase glucocorticoid production, mainly cortisol or corticosterone, which is mediated by the release of adrenocorticotrophic hormone from the pituitary gland (Munck et al., 1984). Although corticosterone is the most commonly used glucocorticoid to assess the stressful effects of certain factors in birds, cortisol can also be used as a stress-indicating hormone (Kim et al., 2015), especially in turkeys (Abdel-Rahman, 2005; Damaziak et al., 2017; Mohammed et al., 2016). Cortisol levels are very variable, a fact that discourages comparisons with other studies. For basal cortisol levels, there were differences between heavy and light males, but not between light males and females, in agree with Huff et al. (2007). In our study, we unexpectedly found higher cortisol concentrations on the farm than after slaughter. Therefore, based on these results, it seems that the birds were significantly stressed by the handling and blood-sampling methods on the farm. Although they could also be due to the large variations in both concentrations, basal and stressed animals (Huang et al., 2014a).

Effect of CO₂ gas-stunning method, commercial type and sex on blood biochemical stress indicators

Several pre-slaughter factors, including the stunning process, can cause stress in animals. It is recognized that stress increases the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and results in increased corticosteroid secretion from the adrenal cortex (Gong et al., 2015). A range of physiological changes (hematological and biological blood markers) has been used to identify and quantify stress (Damaziak et al., 2017; Mohammed et al., 2016). However, these may differ qualitatively or quantitatively depending on the stressor, and a wider range of indices should be used in order to assess the extent of the stress. Hormonal changes are also good indicators to assess the well-being of poultry, especially in turkeys (Mohammed et al., 2016).

In our study, blood parameter levels do not provide us with a clear answer to the question of whether the gas-stunning methods are what causes the birds to be stressed. The results of the present study suggest that there was not a big enough difference in degrees of stress intensity between both CO₂ stunning methods to cause changes in the glucose and lactate levels, since, in general, the application of any stress factor causes an increase in the level of both substances (Jensen-Waern & Nyberg, 1993). The significantly higher level of cortisol in the G1 group meant that there were significant differences in the glucose level between treatments. However, this difference did not reach statistical significance, for which we have no explanation. Although there were no significant differences between treatments for lactate levels, the higher values of G2 group could be attributed to the fact that this treatment can cause greater number or intensity of muscular contractions throughout the stunning process. This can lead to anaerobic glycolytic energy production, resulting in plasma lactate increase (Saveniji et al., 2002). The results in the lactate level were unexpected, since Warriss, Brown, Adams, and Corlett (1994) demonstrated that the difference in blood lactate

level between pigs handled in low vs. high-stress systems was greater than in the other blood parameters measured, thus emphasizing the sensitivity and responsiveness of blood lactate level to pre-slaughter stress. Xu et al. (2011), in broilers, indicated that stunning with different CO₂ levels (30%, 40%, 50% or 60%) had no influence on the plasma glucose level, although stunning treatments caused changes in lactate level: it was lower in birds stunned in 60% CO₂ (38.54 ng/mL) and higher in birds treated with 40% CO₂ (44.86 ng/mL). Serum cortisol concentration from G2 group was significantly lower ($P < 0.05$) than from G1 group, indicating that stunning with biphasic treatment could reduce stress of turkeys. This is possible because G1 method does not induce an insensibility depth as G2. The differences between G1 and G2 methods for cortisol level ($P < 0.001$) are in agreement with Huang et al. (2014b), who found that the more stressors there were, the more the corticosterone levels significantly increased, but that plasma glucose and lactate levels were not significantly affected ($P > 0.05$) by stunning methods. Ylä-ajos et al. (2012), using different gas stunning methods, found that the glycogen content of the *pectoralis major* muscle was higher in CO₂-stun-killed turkeys and tended to be higher in turkeys which were stun-killed using the biphasic method. The breast muscle lactate content was similar, however, regardless of the stun-killing method used. Debut et al. (2005), after subjecting chickens to two stress levels, found a significant increase in corticosterone levels in both groups over the control, whereas the glycemia level only increased significantly in the most stressful method.

After stunning, the blood lactate level was higher than those recorded by Hänsch, Nowak, and Hartung (2009) in birds stunned with an increasing concentration (25% to 75%) of CO₂ (5.4 mmol/l), and similar to that recorded in birds stunned with CO₂ and Ar (6.7 mmol/l).

Differences in blood indicators of stress attributable to sex and weight at slaughter differ with other studies, although, as noted by Damaziak et al. (2017), there is a strong genetic factor in the physiological response to stress. According to the cortisol level, light males were less sensitive to stunning than heavy males, in line with results obtained by Kowalski, Mormede, Jakubowski, and Jedlinska-Krakowska (2002), who concluded that lighter B.U.T.-9 turkeys were less sensible to environmental stress than larger birds. In agree with Huff et al. (2007), it is possible that the higher basal cortisol level of the light males and females birds may have been protective against the stressful effect of CO₂, especially in the G1 treatment. This possible protective effect induced Huff et al. (2007) to suggest that using corticosterone levels to measure the deleterious effects of stress may be inappropriate.

Among the many genetic and physiological variables that can influence the stress response of animals, gender is known to be one of the most important ones (Huff et al., 2007). The higher cortisol level in stunned females contrasts with the results obtained by Gruber et al. (2010) and Kowalski et al. (2002). Also, Huff et al. (2007) and Marin, Benavidez, Garcia, and Satterlee (2002) and have shown that males show a stronger response to stress than females. Conversely, Aarif and Mahapatra (2013) showed that sex has no effect on corticosterone levels. Stunned females had higher and lower cortisol and glucose levels, respectively, which contrasts with Sheriff, Dantzer, Delehanty, Palme, and Boonstra (2011), indicating that increased cortisol causes an increase in blood glucose.

All in all, according to our results, the stunning method chosen has significant effects on the physiological responses of turkeys. The results, based on the percentage of stun scores, also suggest that the maximum percentage of reversible insensible birds (with 81.3%) was obtained by using a carbon dioxide in two phases, so the G2 should be considered as the most suitable stunning method for the three commercial types of turkeys, while G1 should not be recommended as a reliable stunning method. The weight and sex of the animals influence the behavioral and physiological responses to the stress produced during the stun process, and so these factors have to be taken into account when establishing CO₂ concentrations and times of exposure to gas.

Acknowledgments

We would like to thank the Animal Production Department, University of Cordoba, who helped with fieldwork. We would also like to thank the Ministry of Education, Culture and Sport, the Ministry of Economy and Competitiveness, the Santander Bank Universities Global Division and ceiA3 for their collaboration.

ORCID

Carmen Aviles  <http://orcid.org/0000-0002-5886-2944>

Francisco Peña  <http://orcid.org/0000-0002-4613-8596>

References

- Aarif, O., & Mahapatra, P. S. (2013). The effect of cold stress on biochemical and hematological parameters in broad breasted white turkeys. *Wyno Journal of Biological Sciences*, 1, 20–23.
- Abdel-Rahman, M. A. (2005). Study on the effect of stocking density and floor space allowance on behaviour, health and productivity of turkey broilers. *Journal of Assiut Veterinary Medicine*, 51, 1–13.
- Beuing, G. (1980). Corticosteroids in laying hens. In R. Moss (Ed.), *The laying hen and its environment* (pp. 65–82). The Hague, The Netherlands: Martinus Nijhoff.
- Broom, D. M., & Knowles, T. G. (1989). The assessment of welfare during the handling and transport of spent hens. In J. M. Faure & A. D. Mills (Eds.), *Proceedings of the Third European Symposium on Poultry Welfare* (pp. 79–91). Tours, France: French Branch of the World Poultry Science Association.
- Campbell, T. W. (2004). Clinical Chemistry of Fish and Amphibians. In M. A. Thrall, D. C. Baker, T. W. Campbell, D. DeNicola, M. J. Fettman, E. D. Lassen, A. Rebar, & G. Weiser. (Eds.), *Veterinary hematology and clinical chemistry* (pp. 499–517). Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins.
- CoE (Council of Europe). (2001). *Standing committee of the European convention for the protection of animals kept for farming purposes (T-AP) recommendation concerning turkeys (Meleagris gallopavo ssp)* (adopted by the Standing Committee on 21 June 2001, T-AP (95) 15). Strasbourg, France: CoE.
- Damaziak, K., Michalczuk, M., Zdanowska-Sasiadek, Z., Józwick, A., Gozdowski, D., Siennicka, A., & Niemiec, J. (2017). Effects of genotype on hematological and serum biochemical responses of turkey hens to stress. *Archives Animal Breeding*, 60, 9–17.
- Daniel-Igwe, G., & Okwara, N. (2018). Breed-specific biochemical parameters of healthy adult turkeys in humid tropics in Nigeria. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 68(4), 573–578.
- Debut, M., Berri, C., Arnould, C., Guemené, D., Santé-Lhoutellier, V., Sellier, N., ... Le Bihan-Duval, E. (2005). Behavioural and physiological responses of three chicken breeds to pre-slaughter shackling and acute heat stress. *British Poultry Science*, 46, 527–535.
- Di Martino, G., Capello, K., Stefani, A. L., Tripepi, L., Garbo, A., Speri, M., ... Bonfanti, L. (2017). The effect of crate height on the behavior of female turkeys during commercial pre-slaughter transportation. *Animal Science Journal*, 88, 1651–1657.
- Erasmus, M. A., Turner, P. V., & Widowski, T. M. (2010). Measures of insensibility used to determine effective stunning and killing of poultry. *The Journal of Applied Poultry Research*, 19, 288–298.
- EU Council. (2005). Regulation (EC) No 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No 1255/97. *Official Journal of the European Union*, L3, 1–44.
- EU Council. (2009). Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing. *Official Journal of the European Union*, L 303, 1–30.
- European Food Safety Authority. (2013). Scientific opinion on monitoring methods at slaughterhouses for poultry. Report of the panel on animal health and welfare. *EFSA Journal*, 11, 3521. Retrieved from <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3521>
- Gattani, A., Pathak, A., Kumar, A., Mishra, V., & Bhatia, J. S. (2016). Influence of season and sex on hemato-biochemical traits in adult turkeys under arid tropical environment. *Veterinary World*, 9, 530–534.
- Gerritzen, M. A., Lambooi, B., Reimert, H., Stegeman, A., & Spruijt, B. (2004). On-farm euthanasia of broiler chickens: Effects of different gas mixtures on behavior and brain activity. *Poultry Science*, 83, 1294–1301.
- Gerritzen, M. A., Lambooi, E., Hillebrand, S. J. W., Lankhaar, J. A. C., & Pieterse, C. (2000). Behavioral responses of broilers to different gaseous atmospheres. *Poultry Science*, 79, 928–933.
- Gerritzen, M. A., Lambooi, E., Reimert, H. G. M., Spruijt, B. M., & Stegeman, J. A. (2006). Susceptibility of duck and turkey to severe hypercapnic hypoxia. *Poultry Science*, 85, 1055–1061.
- Gerritzen, M. A., Reimert, H. G., Hindle, V. A., Verhoeven, M. T., & Veerkamp, W. B. (2013). Multistage carbon dioxide gas stunning of broilers. *Poultry Science*, 92, 41–50.

- Gibson, T. J., Taylor, A. H., & Gregory, N. G. (2016). Assessment of the effectiveness of head only and back-of-the-head electrical stunning of chickens. *British Poultry Science*, 57, 295–305.
- Gong, S., Miao, Y., Jiao, G., Sun, M., Li, H., Lin, J., ... Tan, J. (2015). Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice. *PLoS One*, 10, e0117503.
- Gruber, S. L., Tatum, J. D., Engle, T. E., Chapman, P. L., Belk, K. E., & Smith, G. C. (2010). Relationships of behavioral and physiological symptoms of preslaughter stress to beef longissimus muscle tenderness. *Journal of Animal Science*, 88, 1148–1159.
- Hänsch, F., Nowak, B., & Hartung, J. (2009). Evaluation of a gas stunning equipment used for turkeys under slaughterhouse conditions. *Livestock Science*, 124, 248–254.
- Huang, J. C., Huang, M., Wang, P., Zhao, L., Xu, X. L., Zhou, G. H., & Sun, J. X. (2014a). Effects of physical restraint and electrical stunning on plasma corticosterone, postmortem metabolism, and quality of broiler breast muscle. *Journal of Animal Science*, 92, 5749–5756.
- Huang, J. C., Huang, M., Yang, J., Wang, P., Xu, X. L., & Zhou, G. H. (2014b). The effects of electrical stunning methods on broiler meat quality: Effect on stress, glycolysis, water distribution, and myofibrillar ultrastructures. *Poultry Science*, 93, 2087–2095.
- Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., Donoghue, A. M., Anthony, N. B., & Nestor, K. E. (2007). Differential effects of sex and genetics on behavior and stress response of turkeys. *Poultry Science*, 86, 1294–1303.
- Isidahomen, C. E., Njidda, A. A., & Amaza, I. B. (2013). Effect of genotype on haematology and serum biochemistry values of Turkeys (*Meleagris gallopavo*) reared in Southern Nigeria. *International Journal of Agriculture Bioscience*, 2(5), 297–301.
- Jensen-Waern, M., & Nyberg, L. (1993). Valuable indicators of physical stress in porcine plasma. *Journal of Veterinary Medicine, Series A*, 40, 321–327.
- Kang, I. S., & Sams, A. R. (1999). Bleedout efficiency, carcass damage, and rigor mortis development following electrical stunning or carbon dioxide stunning on a shackle line. *Poultry Science*, 78, 139–143.
- Kim, D. W., Mushtaq, M. M., Parvin, R., Kang, R. H. K., Kim, J. H., Na, J. C., Hwangbo, J., Kim, J. D., Yang, C. B., Park, B. J., & Choi, H. C. (2015). Various levels and forms of dietary α -lipoic acid in broiler chickens: Impact on blood biochemistry, stress response, liver enzymes, and antibody titers. *Poultry Science*, 94, 226–231.
- Kowalski, A., Mormede, P., Jakubowski, K., & Jedlinska-Krakowska, M. (2001). Susceptibility to stress of Big-6 type turkeys subjected to different kinds of stress in light of assorted hormonal, biochemical, immunological and behavioral indices. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 4, 65–69.
- Kowalski, A., Mormede, P., Jakubowski, K., & Jedlinska-Krakowska, M. (2002). Comparison of susceptibility to stress in two genetic lines of turkey broilers BUT-9 and Big-6. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 5, 145–150.
- Ludtke, C. B., Ciocca, J. R. P., Dandin, T., Barbalho, P. C., & Vilela, J. A. (2015). *Sacrifício humanitário de aves*. São Paulo, Brazil: World Animal Protection. ISBN: 978-85-63814-02-9.
- Marin, R. H., Benavidez, E., Garcia, D. A., & Satterlee, D. G. (2002). Sex differences in central benzodiazepine receptor densities and circulating corticosterone release after acute stress in broiler chicks. *Poultry Science*, 81, 261–264.
- Mashaly, M. M., Webb, M. L., Youtz, S. L., Roush, W. B., & Graves, H. B. (1984). Changes in serum corticosterone concentration of laying hens as a response to increased population density. *Poultry Science*, 63, 2271–2274.
- Mauri, S., Guijarro, A., Avilés, C., & Peña, F. (2017). Influence of carbon dioxide stunning method on quality of turkey meat. *British Poultry Science*, 58, 382–389.
- Mohammed, H., Ibrahim, M., & Saleem, A. S. (2016). Effect of different light intensities on performance, welfare and behavior of turkey poults. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 3, 18–23.
- Munck, A., Guyre, P. M., & Holbrook, N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relations to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, 5, 25–44.
- Nijdam, E., Delezie, E., Lambooi, E., Nabuurs, M. J. A., Decuyper, E., & Stegeman, J. A. (2005). Feed withdrawal of broilers before transport changes plasma hormone and metabolite concentrations. *Poultry Science*, 84, 1146–1152.
- Prinz, S., Van Oijen, G., Ehinger, F., Bessei, W., & Coenen, A. (2010). Effects of water bath stunning on the electroencephalograms and physical reflexes of broilers using a pulsed direct current. *Poultry Science*, 89, 1257–1284.
- Prinz, S., Van Oijen, G., Ehinger, F., Bessei, W., & Coenen, A. (2012). Electrical waterbath stunning: Influence of different waveform and voltage settings on the induction of unconsciousness and death in male and female broiler chickens. *Poultry Science*, 91, 998–1008.
- Priya, M., & Gomathy, V. S. (2008). Haematological and blood biochemicals in male and female turkeys of different age groups. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 4, 60–68.
- Raj, A. B. M. (2006). Recent developments in stunning and slaughter of poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62, 467–484.
- Raj, M., & Tserveni-Gousi, A. (2000). Stunning methods for poultry. *World's Poultry Science Journal*, 56(4), 291–304.
- Saveniji, B., Schreurs, F. J. G., Winkelman-Goedhart, H. A., Gerritzen, M. A., Korf, J., & Lambooi, E. (2002). Effects of feed deprivation and electrical, gas, and captive needle stunning on early postmortem muscle metabolism and subsequent meat quality. *Poultry Science*, 81, 561–571.

- Sheriff, M. J., Dantzer, B., Delehanty, B., Palme, R., & Boonstra, R. (2011). Measuring stress in wildlife: Techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia*, 166, 869–887.
- Shields, S. J., & Raj, A. B. M. (2010). A critical review of electrical water-bath stun systems for poultry slaughter and recent developments in alternative technologies. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 134, 281–299.
- Simon, J., & Leclercq, B. (1982). Longitudinal study of adiposity in chickens selected for high or low abdominal fat content. Further evidence of glucose-insulin imbalance in the fat line. *Journal of Nutrition*, 112, 1961–1973.
- Sonawane, N., Patodkar, V., Sardar, V., Mehere, P., Lonkar, V., & Kadam, A. (2018). Influence of sex on the blood biochemical parameters in turkey birds. *International Journal of Livestock Research*, 8(5), 239–245.
- Terlouw, E. M. C., Bourguet, C., & Deiss, V. (2016). Consciousness, unconsciousness and death in the context of slaughter. Part II. Evaluation methods. *Meat Science*, 118, 147–156.
- Thery, C. (1983). *La génétique de l'engraissement chez le dinde* (Doctoral dissertation). University of Paris, France.
- Velarde, A., & Dalmau, A. (2012). Animal welfare assessment at slaughter in Europe: Moving from inputs to outputs. *Meat Science*, 92, 244–251.
- Verhoeven, M. T. W., Gerritzen, M. A., Hellebrekers, L. J., & Kemp, B. (2015). Indicators used in livestock to assess unconsciousness after stunning: A review. *Animal*, 9, 320–330.
- Voslarova, E., Chloupek, P., Bedanova, I., Suchy, P., Pistekova, V., & Vecerek, V. (2008). The effect of pre-sampling handling time on blood plasma biochemical parameters of broilers. *Deutsche Tierarzliche Wochenschrift*, 115, 62–65.
- Wabeck, C. J. (1972). Feed and water withdrawal time relationship to processing yield and potential fecal contamination of broilers. *Poultry Science*, 51, 1119–1121.
- Warriss, P. D., Brown, S. N., Adams, S. J. M., & Corlett, I. K. (1994). Relationships between subjective and objective assessments of stress at slaughter and meat quality in pigs. *Meat Science*, 38, 329–340.
- Warriss, P. D., Knowles, T. G., Brown, S. N., Edwards, J. E., Kettlewell, P. J., Mitchell, M. A., & Baxter, C. A. (1999). Effects of lairage time on body temperature and glycogen reserves of broiler chickens held in transport modules. *Veterinary Records*, 145, 218–222.
- Wein, Y., Geva, Z., Bar-Shira, E., & Friedman, A. (2017). Transport-related stress and its resolution in turkey pullets: activation of a pro-inflammatory response in peripheral blood leukocytes. *Poultry Science*, 96(8), 2601–2613.
- Wichman, M., Norring, M., Pestell, M., & Hänninen, L. (2009). Being able to stand up – consequences for the welfare of turkeys in transit. *Proceedings of the 8th European Symposium on Poultry Welfare*. (p. 101). Cervia, Italy: World's Poultry Science Association.
- Xu, L., Ji, F., Yue, H. Y., Wu, S. G., Zhang, H. J., Zhang, L., & Qi, G. H. (2011). Plasma variables, meat quality, and glycolytic potential in broilers stunned with different carbon dioxide concentrations. *Poultry Science*, 90, 1831–1836.
- Ylä-ajos, M., Tuominen, S., Hanninen, L., Ruusunen, M., Puolanne, E., & Valros, A. (2012). Gas composition in controlled atmosphere stunning affects turkey meat quality traits. *British Poultry Science*, 53, 47–56.

EFFECT OF CARBON DIOXIDE STUNNING METHOD ON THE STRESS LEVELS OF TURKEYS DURING THE SLAUGHTER

A. Guijarro¹, S. Mauri¹, C. Avilés², F. Peña²

¹ PROCAVI S.L., Carretera Comarcal 339, km. 23,6, 41620 Marchena, Sevilla, Spain.

² Meragem research group, Animal Production department, University of Córdoba, Spain.

Abstract – The present study aimed to compare the effect of different combination of carbon dioxide concentrations and times of exposure on turkey during the slaughter. To understand the behavior of the animal during the slaughter two experiments were developed with different stunning parameters. In the first case the objective was to stun the animal in several stages increasing gradually the concentration of CO₂. Three completely different phases were performed: a first stage of animal adaptation to CO₂, a second stage in which the animal relaxation occurred. A final third stage where the highest concentration of CO₂, took place and the animal was stunned. In the second assay of the study we pretended to carry out a more drastic stunning in the shortest time possible. In this case, the turkeys were subjected to a rapid increase in CO₂ concentration to reach 80% by direct injection into the chamber. Measurements on stress animal were carried out by evaluating glucose, cortisol and lactose during bleeding phase. According the results it is evident that the different combinations gas concentration/time of exposure affect to stress on turkey.

Key words – Consciousness, cortisol, gas stunning, lactate.

I. INTRODUCTION

The stunning method using CO₂ as anesthetic gas developed in the poultry sector to slaughter the animals has taken the place of electrical stunning as a way to produce the loss of consciousness and sensibility of the bird before the slaughter.

Up to now, the electrical stunning was by far the most common stunning method used in poultry species. However this system produces too many injuries in the animal [1] such as broken bones, damaged viscera, bruised wing joints, red wing tips or hemorrhages on the breast meat, [2, 3, 4] reflected in the final quality of the carcass.

There are many studies showing the advantages regarding animal welfare of the gas stunning against the electrical water-bath or direct neck-cutting ones [5].

This system reduces the stress produced during live-hang process before the birds are moved toward the electrified water bath.

With the gas stunning method the animals are introduced in a gas-filled chamber in cages or directly in crates during the transport previously to shackling and neck-cutting.

There is an improvement in animal welfare when the anesthesia induction is quickly produced. The anesthetic effect of CO₂, that causes fast unconsciousness when is inhaled in high concentration, is well-known [6, 7].

The main problem is the fast consciousness recovery when the stun has not been complete. For this reason the benefits of this method in animal welfare has been also described when the bird dies directly during the stunning [8].

The animal exposed to a CO₂ atmosphere shows aversive reactions such as pungency and breathlessness which is translated in gasping, vocalizations and head shaking [9, 10]. This stage continues until the loss of consciousness of the animals [9] and is linked to the CO₂ concentration.

Glucose, lactate and cortisol blood concentration is a stress indicator [10, 11]. The stress can cause a depletion in muscle glycogen resulting in higher postmortem muscle pH because of the prevention of glycolysis by elimination of its substrate [12]. Antemortem stress factors can affect meat quality in poultry [13].

The stress and postmortem lactic acid production together with the protein denaturation with high muscle temperature, cause meat quality defects such as soft texture, water holding capacity decrease, juiciness diminishing and increase of PSE meat rate [14, 15, 16].

II. MATERIALS AND METHODS

One hundred one turkeys (54 male and 47 female) were used to carry out the experiment. All the animals came from the same farm and were subjected to the same loading system, and transport and feedlot period of time.

The animals were distributed into two groups. Each group was stunned at different exposure time period and CO₂ concentration.

In the Experiment 1, 26 male and 21 female turkeys were exposed to a gradual increase of CO₂ until an 80% was achieved during 120

seconds with a previous adaptation period. Twenty eight male and 26 female turkeys were stunned in the Experiment 2 reaching the same CO₂ concentration of the first experiment but faster (100 seconds) and without the adaptation period.

The stun was carried out in a hermetic chamber with a controlled CO₂ injection and a constant gas analyzer. Neck cutting was performed immediately after stunning.

Blood for stress parameters determination (glucose, lactate and cortisol) was collected in after the neck cutting. Glucose level in mmol/L was determined with a One Touch® Ultra Soft® device (Johnson & Johnson Medical Devices & Diagnostics Group). This instrument presented a display where the glycaemia value was directly read. The Lactate Scout+® device (EKF diagnostics, Alemania) was used to quantify the lactate blood concentration in mmol/L.

The cortisol concentration was measured through an ELISA reaction performed with the kit MAGLUMI Cortisol (CLIA) © (Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., China).

The data obtained were subjected to an ANOVA analysis using the general linear model procedure of STATISTICA data analysis software system, version 10.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Glucose, lactate and cortisol serum levels are presented in Table 1.

No significant differences were observed between different CO₂ concentrations and time of exposure in serum glucose levels neither male nor female turkeys. However a tendency towards

significance ($P < 0,1$) was observed in both genders and glucose level was higher in animals belonging to the Experiment 2 than in those of the Experiment 1. These results were in accordance with those obtained by Bórnez [17] with light lambs who reported that individuals exposed less time to the gas presented higher values of serum glucose (5,58 vs 3,83 mmol/l).

There were significant differences between different CO₂ concentrations and time of exposure in serum lactate levels both male and female turkeys. In both cases, animals belonging to Experiment 1 showed lower values of serum lactate than those of the Experiment 2. So the slower the increase of the CO₂ concentration, the lower the serum lactate level was.

These results were in consonance with those of Nowak [18], who reported the lower exposure time to an 80% of CO₂ concentration, the higher serum lactate level was detected in pigs. However did not match with the data published by Bornez [18] in light lambs who found higher serum lactate values when the time of exposure was higher.

Regarding to the effect of the treatment in the serum cortisol values of the animals, this was not significant.

These results were in accordance to those reported by Bornez [19] in suckling lambs, however were not coincident with those in light lambs [17] where significant differences were observed in serum cortisol depending on the time of exposure to the gas.

There would be necessary to quantify the serum cortisol level in a higher number of turkeys to confirm the lack of effect of the difference of exposure time in our population [20].

Table 1. Glucose, lactate and cortisol serum level of the population stunned by two different stunning methods.

<i>Biochemical parameters</i>	Experiment 1	Experiment 2	p-value	Experiment 1	Experiment 2	p-value
	Male turkey	Male turkey		Female turkey	Female turkey	
N	26	28		21	26	
Glucose (mmol/l)	2.88 ± 0.109	3.29 ± 0.180	0.060	2.54 ± 0.072	2.85 ± 0.143	0.081
Lactate (mmol/l)	5.37 ± 0.184	7.23 ± 0.235	<0.001	5.03 ± 0.275	6.55 ± 0.179	<0.001
Cortisol (ng/ml)	0.54 ± 0.097	0.42 ± 0.056	0.149	0.31 ± 0.060	0.54 ± 0.064	0.112

IV. CONCLUSION

There are not significant differences in serum glucose and cortisol levels of turkeys stunned with two different exposure times and CO₂

concentrations. However the serum lactate value varied significantly with the difference in the stunning conditions. The values stress parameter value was lower in the Experiment

1, when the increase of the CO₂ concentration was slower.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study has been carried out within the program “Doctores en empresas” of the ceiA3 Excellence Campus and is the result of the collaboration between PROCAVI S.L. and the Animal Production department of the University of Córdoba.

REFERENCES

1. Gregory, N. G., Wilkins, L. J., (1989). Effect of stunning current on carcass quality in chickens. *Veterinary Records* 124: 530–532.
2. Wabeck, C. (1987). How stunning affects product quality. *Turkey World* 63 4:34–38.
3. Bilgili, S. F. (1992). Electrical stunning of broilers basic concepts and carcass quality implications: a review. *Journal Applied Poultry Research* 1: 135–146.
4. Gregory, N. G., Wilkins, L. J. (1993). Cause of downgrades. *Broiler Ind.* 56: 42–45.
5. Shields S. J., Raj A. B. M. (2010). A critical review of electrical water-bath stun systems for poultry slaughter and recent developments in alternative technologies. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 13: 281-299.
6. Forslid, A., Ingvar, M., Rosen, I., Ingvar, D. H. (1986). Carbon spontaneous electroencephalogram of turkeys during gas dioxide narcosis: Influence of short-term high concentration stunning. *British Veterinary Journal* 133: 318–320.
7. Barford, K., Madsen, K. B. (1988). Carbon dioxide anaesthetization of pigs. In: *Proceedings of the ICoMST Workshop on Stunning of Livestock* (pp. 91–92). Brisbane, Australia.
8. Raj, A. B. M., Gregory, N. G. (1990). Effect of rate of induction of carbon dioxide anaesthesia on the time of onset of unconsciousness and convulsions. *Research Veterinary Science* 49:360–363.
9. Raj, A. B. M. (1996). Aversive reactions of turkeys to argon, carbon dioxide and a mixture of carbon dioxide and argon. *Veterinary Record* 138: 592–593.
10. Hänsch F., Nowak B., Hartung J. (2009). Evaluation of a gas stunning equipment used for turkeys under slaughterhouse conditions. *Livestock Science* 124: 248–254.
11. Madej A., Lang A., Brandt Y., Kindahl, H., Madsen, M. T., Einarsson, S. (2005). Factors regulating ovarian function in pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 29: 347-361.
12. Owens, C. M., Sams, A. R. (2000). The influence of transportation on turkey meat quality. *Poultry Science* 79: 1204-1207.
13. Taubert, E., Wicke, M., Von Lengerken, G., Troeger, K. (2002). Relationship between external stress factors and meat quality of turkeys - Influence of external stress factors on the glycolysis. *Fleischwirtschaft* 82:96-99.
14. McKee, S. R., Sams, A. R. (1997). The effect of seasonal heat stress on rigor development and the incidence of pale, exudative turkey meat. *Poultry. Science* 76: 1616–1620.
15. Solomon, M. B., Van Laack, R. L. J. M., Eastridge, JS. (1998). Bio-physical basis of pale, soft, exudative (PSE) pork and poultry muscle: A review. *Journal Muscle Foods* 9: 1–11.
16. Sośnicki, A. A., Greaser, M. L., Pietrzak, M., Pospiech, E., Sante, V. (1998). PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys. A review. *Journal Muscle Foods* 9: 13–23.
17. Bórnez, R., Linares, M. B., Vergara, H. (2009). Systems stunning with CO₂ gas on Manchego light lambs: Physiologic responses and stunning effectiveness. *Meat Science* 82: 133–138.
18. Nowak, B., Mueffling, T. V., Hartung, J. (2007). Effect of different carbon dioxide concentrations and exposure times in stunning of slaughter pigs: Impact on welfare and meat quality. *Meat Science* 75: 300–308.
19. Bórnez, R., Linares, M. B., Vergara, H. (2010). Physiological responses of Manchega suckling lambs: Effect of stunning with different CO₂ concentrations and exposure times. *Meat Science* 85: 319–324.

20. Orgeur, P., Mavric, N., Yvone, P., Bernard, S., Nowak, R., Schaal, B., et al. (1998). Artificial weaning in sheep: Consequences on behavioural, hormonal and immuno-pathological indicators of welfare. *Applied Animal Behaviour* 58: 87–103.