

Active biotelemetry를 이용한 젖소의 스트레스 반응 측정

I. 보정 스트레스에 대한 경산우와 미경산우의 생체반응의 변화

임좌진 · 이병한 · 김진영 · 이수한 · 이동희 · 김재경 · 정순옥 · 최농훈 · 정병현*

건국대학교 수의과대학
(2001년 11월 13일 게재승인)

Measuring stress responses using active biotelemetry in cattle

I. Restraint stress responses in heifers and cows

Joa-jin Lim · Byeong-han Lee · Jin-young Kim · Su-han Lee · Dong-hee Lee · Jae-kyung Kim
Soon-wuk Jeong · Nong-hoon Choe · Byung-hyun Chung*

College of Veterinary Medicine, Konkuk University

(Accepted November 13, 2001)

Abstract : This study was carried out to investigate the effectiveness of active biotelemetry to monitor stress response, and the effects of acute stressor (raising a hind foot of a standing animal) on body temperature (BT) and heart rate (HR) in comparison heifer group (n=4) with cow group (n=3). Both parameters were recorded by active telemetry. Cortisol assay was used to compare the result of active biotelemetry. The stressor consisted in restraining the cows for hoof treatments. Body temperature and heart rate were measured at 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180 and 360 minutes during the experiments, and also cortisol assay at 0, 0.5, 1, 2, 3, 12 and 24 hours. Base line for these animals was set in there accustomed environment at -24hrs and -30 mins before the beginning of experiments. The results obtained in this study were as follows:

1. In the BT, heifer group showed no significant difference from cow group, but were observed slightly higher BT than cow group during restraint stress for 30 minutes.

2. The both groups showed directly significant increase of HR immediately after the beginning of the restraint stress ($P<0.01$), but in the required time for the recovery of HR after finishing the stress, heifer group was 40 minutes and cow group 60 minutes.

3. In the cortisol assay, the both groups increased from 30 to 120 minutes after the beginning of experiment (i.e. from 0 to 90 minutes after finishing the restraint stress), showing significant difference from before the beginning of the stress ($P<0.01$), but heifer group showed great increase of the cortisol level from 30 to 60 minutes after the beginning of the stress, while cow group was observed at 60 minutes.

In conclusion, we suppose that care is required to decrease psychological stress in cattle when they suffer from a series of procedures for diagnosis and treatment, especially in heifers rather than in cows. Also BT and HR obtained by active biotelemetry are reliable indicators of stress in cattle.

Key Words : stress, active biotelemetry, body temperature, heart rate, cortisol

* Corresponding author: Dr. Byung-hyun Chung, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, 143-140, Korea

서 론

송신기와 수신기 사이를 무선의 전파나 빛 또는 초음파를 통해 측량 신호와 조종신호가 전달되는 방법을 원격측정법(telemetry)이라 하며, 송수신거리는 각각 기계에 따라 몇 cm에서 수 km에 이른다. 그러한 시스템의 송신기가 독립된 에너지 공급이 가능할 때 active telemetry라 하며, 사람이나 동물의 생체로부터 전달되는 여러 신호의 원격측정을 active biotelemetry라고 한다¹.

원격측정법은 댐 주변에서 서식중인 연어의 움직임²과 위장관내에 transmitter를 삽입하여 pH의 변화를 측정³ 하는데 사용하기 시작하였다. 과학기술문명의 발달과 함께 biomedical telemetry systems의 기술향상으로 측정 가능한 parameter 역시 심전도, 근전도, 뇌전도, 체온, pH, 혈압 등이 있고, 이외에도 당뇨병 환자에서 포도당의 원격 측정까지 가능해졌다⁴. 이런 biomedical telemetry system의 발달은 기기의 소형화, 경량화, 사용시간의 연장, 다채널 data의 처리 등이 가능해져 자유롭게 생활하는 야생동물 및 산업동물의 추적 및 행태 연구등에 이용되고 있다.

원격측정의 가장 큰 장점은 송신기의 이식 및 부착시를 제외한 측정기간 중에 더 이상의 동물에 대한 간섭 및 조작이 필요치 않다는 것이며, 측정을 위한 동물의 보정 및 조작등에 의한 결과의 오류를 줄일 수 있어 각종 연구에 큰 의미를 가진다는 것이다⁵. 이러한 생리적 또는 생화학적 검사방법의 발달로 동물에게 영향을 미치는 각종 스트레스에 대하여 정확히 그 결과를 측정할 수 있게 되어, 스트레스는 수의학 및 의학적 범주 내에서 큰 관심을 갖게 되었다.

외부의 자극에 대한 생체리듬의 변화에 관한 연구에서 물리적이든 혹은 심리적이든, 급성 스트레스는 동일한 결과를 가져올 수 있는 것으로 알려져 있다. 체내 vital sign의 변화로 소와 양에서는 출산 과정 동안에 체온이 약 1°C까지 상승하는 것으로 보고하였고⁶, 사람의 경우에는 심리적 부담을 통한 체온의 변화가 인정된다고 하였다⁷. 또한 심박수와 혈압의 변화는 전형적 증상에 속하여 그 증상은 인간의 경우⁸에서 뿐만 아니라, 소⁹, 돼지¹⁰, 개¹¹, 그리고 말¹²에서도 기록이 구체화되었다.

이에 본 연구에서는 active biotelemetry를 이용하여 단기 보정자극에 대한 경산우와 미경산우의 생체의 반응을 관찰하기 위하여 심부체온과 심박수, 그리고 기존의 스트레스 연구에 많이 이용되고 있는 cortisol의 변화들을 비교하여 스트레스 반응의 차이를 확인하고 이 결과를 토대로 동물의 생산성과 복지의 향상에 기여하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

공시동물

본 실험에 공시된 동물은 건강한 Holstein종의 미경산우 4두와 경산우 3두로 총 7두를 공시하였는데 평균 연령과 체중은 미경산우의 경우 15~17개월령의 431.1±78.7 kg이었고, 경산우는 36~38개월령(3산)의 649.3±33.5 kg이었다.

사양관리

공시동물은 축사내에서 stanchion으로 24시간 보정하여 사육하였고, 1일 3회에 걸쳐 일반적인 사양관리 기준에 준하여 조사료와 농후사료, 그리고 음수를 급여하였다.

송신기(transmitter)의 이식 및 부착

체온 송신기의 복강내 이식수술은 진정후 좌경부를 국소 마취한 상태에서 종결개한 후 복강내 이식하였고, 수술후 항생제와 소염제등 일반적인 후처치를 하였다. 심박수 송신기의 부착은 복부의 cranial part 양쪽에서 최대 심전도 파형이 얻어지는 곳에 두개의 gold electrodes를 장착한 후 복대를 하여 탈락을 예방하였다.

실험전 조건

공시동물의 자연 발정유발에 의한 생리적 변화요인을 방지하기 위해 progesterone 첨가사료(MGA-100[®], Upjohn, melengestrol acetate 220mg/kg)을 2g/head/day씩 농후사료에 첨가하여 급여하였다. 또한 송신기의 이식수술에 대한 스트레스를 배제하기 위하여 14일간의 경과기간을 거친 후에 공시하였다. 실험 전 자료의 base line은 실험 하루전에 측정된 수치(실험과 동일한 시간대)와 실험당일 실험개시 30분전에 측정된 값을 평균하여 적용하였다. 실험기간 중 외온도는 16~19°C, 상대습도는 75~85%를 나타내었다.

스트레스자극

공시동물은 축사내에서 칸막이 기둥에 두부를 고정한 상태에서 우 후지의 비절부를 축사천정의 가로보에 chain block을 이용하여 거상시켜 30분동안 보정스트레스 자극을 부여하였다. 보정스트레스 자극이 종료된 후에는 축사내에서 칸막이 기둥에 고정시키고 계획된 시간별로 채혈 및 모니터링을 하였다.

심부체온과 심박수의 측정

심부체온의 무선측정에는 150.6~150.9MHz대의 7개의 체온송신기(Sirtrack, New Zealand)를 사용하였으며, 심박수의 무선측정은 150.1~150.5MHz대의 7개의 심박수송신기

(Sirtrack, New Zealand)를 사용하였다. 심부체온과 심박수는 보정스트레스 자극시점(0 minute)을 기준으로 하여 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 360분에 각각 측정되었다.

그외에 150~151MHz 주파수를 수신할 수 있는 수신기 (Advanced Telemetry System Receiver 2000, USA), 원격측정기 조정과 자료의 저장을 위한 Data Collection System (DCC II[®], ATS, USA), 그리고 Data Collection System과 컴퓨터 간의 측정자료 왕래를 위한 자료전송 program인 Procomm Plus[®] (Datastorm, USA)를 이용하여 심부체온과 심박수를 측정하였다.

체혈과 검사방법

체혈은 실험전날 Centracath[®] (130mm, 17G, Vygon, France)를 경정맥 내에 삽입한 후 경부에 밀착 고정하여 heparin 첨가 생리식염액(15IU/ml)을 flushing하여 카테타 내강을 확보하였고, 체혈은 스트레스 자극시점(0 minute)을 기준으로 하여 0, 0.5, 1, 2, 3, 12, 24시간에 보정되어 있는 상태에서 항응고제 미첨가 polymer plain vacutainer를 이용하여 채혈하였다. 10분 경과후 원심분리(3,500 rpm, 20분)를 실시하여 신속히 혈청을 분리한 다음 분석시까지 -70℃로 냉동보관하였다. Cortisol 분석에는 Coat-A-Count[®] (DPC, USA) kit를 사용하여 γ -Counter-Cobra II (Packard, USA) 장비를 이용하여 분석하였다.

통계

공시동물의 각각의 시간대별 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linear Model (GLM) Procedure (SAS version 6.04, SAS Institute)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시한 다음 95% 이상의 통계학적 유의차를 나타내는 것애 한하여 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결 과

심부체온의 변화

경산우와 미경산우의 평균체온은 Fig 1에서 보는 바와 같이 보정스트레스 자극 전에는 각각 $38.9 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 와 $39.0 \pm 0.3^\circ\text{C}$ 로 나타났다. 두 실험군은 스트레스 자극개시 후 10분부터 체온의 변화를 보이기 시작하여 자극이 가해진 후 미경산우는 30분에($39.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$), 그리고 경산우는 40분에($39.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$) 각각 최고수준으로 증가하였다. 그 후 실험 종료시까지 완만한 감소추세를 보이며 보정스트레스 자극 전 수준으로 회복되었다. 미경산우는 경산우와 비교하여 실험시작 20분에 최고의 온도차를 나타내며 상승하였으나 실험시작 30분에 경산우와 비슷한 온도수준을 나타냈다. 그러나 정상으로의 회복(심박수의 감소)은 미경산우보다 경산우

에서 더 빨리 나타나는 경향을 보였다. 경산우의 실험시작 30분에서 90분까지는 보정전과 비교하여 통계학적 유의차를 나타냈다.

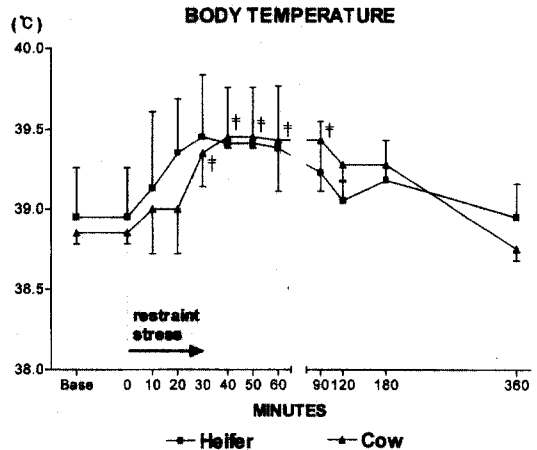


Figure 1. Changes in average of body temperature for heifers and cows during experiment. † significant difference from base of Cow group: $P < 0.05$. Values are mean \pm SD.

심박수의 변화

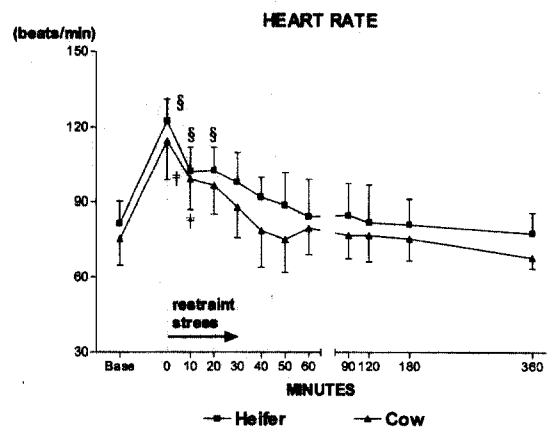


Figure 2. Changes in average of heart rate for heifers and cows during experiment. § significant difference from base of Heifer group: $P < 0.05$. † significant difference from base of Cow group: $P < 0.05$. Values are mean \pm SD.

경산우와 미경산우의 평균심박수는 보정스트레스 자극 전에 각각 75.3 ± 10.4 와 81.5 ± 8.7 beats/minute(bpm)이었으며, 스트레스 자극과 동시에 각각 평균 114.3 ± 15.5 와 122.5 ± 8.4 bpm으로 최고수준의 증가를 나타냈다(Fig 2). 이러한 증가는 스트레스 자극전과 비교할 때 두 실험군 모두 상당히 높은 통계학적인 유의성을 나타낸 것이다($P < 0.01$). 또한

두 실험군은 스트레스 자극과 동시에 최고로 증가하였다가 그 후 감소하였으나, 자극전과 비교하여 경산우는 10분까지, 미경산우는 20분까지 유의성 있는 증가를 지속적으로 나타냈다. 심박수의 회복은 스트레스 자극이 끝난 후 경산우는 10분(실험시작 40분)에, 그리고 미경산우는 30분(실험시작 60분)에 보정스트레스 자극전의 상태로 대부분 회복하여 정상으로 회복하는 시점도 경산우보다 늦어지는 경향이 있었다. 전체적으로 두 실험군 사이의 통계학적인 유의차는 없었으나 미경산우가 경산우보다 자극종료 후 약 30분 동안 심박수가 더 크게 증가한 상태를 유지하였다.

Cortisol의 변화

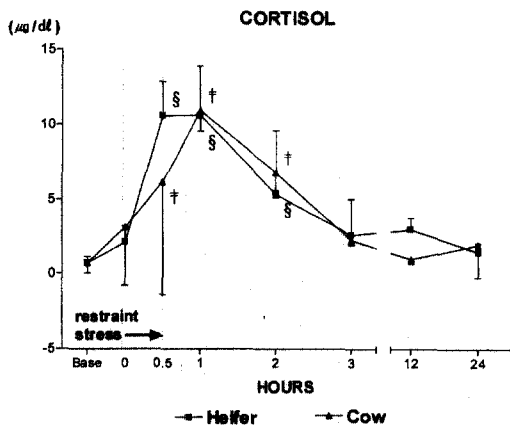


Figure 3. Changes in average of heart rate for heifers and cows during experiment. § significant difference from base of Heifer group: $P < 0.05$. † significant difference from base of Cow group: $P < 0.05$. Values are mean(SD).

경산우와 미경산우의 보정스트레스 자극 전의 혈중 cortisol 농도는 Fig 3에서 보는 바와 같이 각각 평균 0.72 ± 0.70 , $0.72 \pm 0.44 \mu\text{g/dl}$ 이었다. 보정스트레스 자극개시와 동시에 증가하기 시작하여 미경산우는 자극개시 30분만에 $10.59 \pm 2.23 \mu\text{g/dl}$ 로 크게 증가하여 60분까지 최고수준 ($10.61 \pm 3.28 \mu\text{g/dl}$)으로 지속하였으나($P < 0.01$), 경산우는 자극개시 후 60분에 비로소 최고수준($10.93 \pm 1.39 \mu\text{g/dl}$)으로 도달하였다($P < 0.01$). 그 후 두 실험군은 실험종료시까지 비슷한 수준의 변화를 나타내며 자극전 수준으로 회복하였다. 두 실험군은 모두 보정전과 비교하여 실험개시 후 30분에서 120분까지 통계학적인 유의차를 나타냈다($P < 0.01$). 두 실험군 사이의 시간대별 비교에서 통계학적인 유의성은 없었으나 미경산우가 경산우보다 빨리 증가하는 경향을 보였다.

고 찰

일반적으로 심부체온은 일증변화를 보이지만 갑작스러운 심리적, 물리적자극에 의해 변화할 수 있다¹³. 본 연구의 두 실험군에서 스트레스 자극 후 심부체온의 상승경향을 보인 것은 낯선 사람의 출현이나 소란 등에 의한 실험용 rats의 체온상승¹⁴과 소에서 보정틀 압박에 의한 체온상승¹의 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

스트레스 자극후에 심부체온이 상승하는 원인으로서 스트레스 호르몬인 prostaglandin E_1 과 E_2 에서 나온 adrenalin, noradrenalin의 작용이 논의 되어졌다¹⁵. 또한 prostaglandin E_1 과 E_2 는 hypothalamus에 있는 온도조절 중추에 직접 작용해 체온상승을 유도한다¹⁶. 본 실험에서도 미경산우가 보정스트레스 자극중에 경산우보다 더 높은 증가경향을 나타낸 것은 우 후지 거상이라는 보정행위로 인한 불안한 심리상태가 보정경험이 많을 것으로 예상되는 경산우보다 그렇지 못할 것으로 추측되는 미경산우에서 더 크게 작용하여 교감신경을 흥분시켜 유발된 것으로 사료된다.

이러한 연구보고들을 종합하여 볼 때, 본 연구에서 체온이 상승된 것은 보정자극에 의한 근육운동의 증가가 열 생산량을 증가시켜 체온이 증가할 수 있는 요인 외에도, 보정자극에 의한 교감신경계의 흥분과 동통 및 불안심리가 부신수질에서 catecholamine의 분비를 자극한 것으로 생각된다. Catecholamine은 glycogen과 지방의 분해를 촉진하여 포도당과 유리지방산을 생성하여 산화함으로써 열을 생산한다. 이와 같이 energy원을 동원하여 근육활동을 증가시키는 catecholamine의 생리적 작용이 체온 상승의 추가요인으로 작용한 것으로 사료된다.

심박수의 증가는 육체활동의 정도에 좌우되나, 어떤 행동 이전에도 심리적으로 인해 심박수가 증가할 수 있다¹⁷. 격리와 같은 심리적 스트레스 요인의 결과로서 심박수의 상승은 소⁹에서 보고되었고, 사람의 접근, 조작이나 치료시에 심박수의 변화 역시 양⁸, 소¹⁹ 및 돼지²⁰에서 보고된 바 있다. 경산우와 미경산우의 보정스트레스 자극전의 안정된 심박수에 비해 스트레스 자극과 동시에 나타난 최고수준의 증가는 보정자극시의 사람의 접근에 대한 정서적 불안반응과 우후지 거상에 따른 육체활동의 결과로 보이며, 이는 여러 연구자들^{9,19,21}의 보고와 일치하였다.

심장의 반응은 정서적 스트레스원에 대항하는 자율신경계의 반응을 나타내는 객관적인 현상으로 여겨지며, 심박수는 교감신경계와 부교감신경계의 주된 활성의 영향에 증가 또는 감소한다. 외부환경의 변화에 대한 자율신경계의 반응의 결과로 나타난 심박수의 변화는 외부자극에 대한 psychological impact를 나타내는 지표²²가 된다. 따라서 본

연구에서 미경산우가 경산우보다 자극전과 비교하여 더 유의성 있는 증가를 지속적으로 나타낸 부분과 스트레스 자극이 끝난 후 정상으로 회복하는 시점이 경산우보다 늦어지는 경향은 정신적인 스트레스에 대한 신체의 응급반응이 미경산우가 경산우보다 더 크게 작용한 결과로 사료된다.

HPAA(Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis)의 활성화에 동반한 glucocorticoid 농도의 증가는 스트레스 환경에 처한 동물의 가장 중요한 반응이다. Adrenal corticoids, 특히 cortisol은 스트레스 환경에 반응하여 동물로 하여금 적응을 유도하는 생리적기능을 조절한다²³. 본 실험에서 나타난 경산우와 미경산우의 스트레스 자극후의 유의성 있는 cortisol 농도의 증가($P<0.01$)는 양^{24,25}, rats²⁶, 그리고 원숭이^{27,28}의 보정 스트레스 등에 의한 연구결과와 일치하였다.

Basal cortisol 농도는 매우 변이가 심해 급·만성 또는 장·단기 스트레스를 극복해 낼 수 있는 동물체내의 능력을 나타내는 지표가 되지 못하나²⁹, 동물의 단기자극의 확인에 있어서 상당한 가치를 갖는 것은 명백한 사실이다^{13,30}. 본 연구의 결과 역시 이를 뒷받침하고 있으며, 특히 통계학적인 유의수준은 없었지만 미경산우가 경산우보다 cortisol 농도에서 빠른 증가를 나타낸 것은, 우 후지 거상이라는 단기자극을 극복하는 능력이 그러한 스트레스에 대한 경험이 많을 것으로 예상되는 경산우 보다 불안심리와 경험부족 등이 크게 작용되었을 미경산우의 단기자극에 대처하는 능력이 상대적으로 부족하여 나타난 결과로 사료된다.

동물체에 각종 스트레스가 가해지면 뇌하수체-부신피질계의 장애로 인한 방어기구의 파괴를 초래하여 생체반응으로서 범적응증후군(general adaptation syndrome)이 발현된다. 초기에는 shock phase인 체온의 저하, 저혈압, 저혈당 등이 나타나지만, 이어서 생체는 스트레스를 이겨낼 태세를 나타내며 저항성을 획득하는 시기로서 antishock phase, 즉 shock phase의 반대적인 현상이 나타나게 된다³¹. 따라서 반복적인 스트레스자극을 많이 경험한 개체는 그에 대한 적응성이 좋아져 반응이 점차 저하될 것이며, 그렇지 못한 개체는 저항성이 강하게 나타나서 내분비활성의 증가로 인한 혈압과 심박수 등의 증가가 발현되는 것으로 사료된다.

위 결과를 종합하여 볼 때 미경산우는 경산우보다 단기 자극에 대한 스트레스 반응이 크게 나타나 진단과 치료를 위한 보정시 불안감을 최대한 줄일 수 있는 세심한 배려가 필요하다고 생각된다. 또한 active biotelemetry로 관찰한 심부체온과 심박수는 혈중 cortisol의 농도와 비례관계인 자극 반응을 나타냄으로써, active biotelemetry를 통한 심박수와 심부체온은 젓소의 스트레스 반응관찰에 신뢰할 수 있는 지표가 될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 active biotelemetry를 이용하여 단기 보정자극에 대한 경산우와 미경산우의 생체의 반응을 관찰하기 위하여 심부체온과 심박수, 그리고 cortisol의 변화들을 비교하여 스트레스 반응의 차이를 확인하고자 시도되었으며, 그 실험결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 심부체온에 있어서 미경산우는 경산우와 비교하여 유의성은 보이지 않았으나 보정스트레스 자극 중 경산우보다 다소 높은 체온의 변화를 나타냈다.
2. 심박수에 있어서는 두 실험군 모두 보정스트레스 자극과 동시에 바로 유의성 있는 증가를 보였으나($P<0.01$), 자극 종료 후 심박수의 회복에 소요된 시간은 미경산우가 40분, 경산우는 60분으로 나타났다.
3. 혈중 cortisol 수준은 두 실험군 모두 보정 전과 비교하여 스트레스 자극 30분부터 유의차를 나타내며 상승하여 보정개시 후 120분까지 지속하였으며($P<0.01$), 미경산우가 자극개시 30분에 크게 증가하여 60분에 최고수준을 나타냈으나 경산우는 자극개시 60분에 최고수준을 나타냈다.

위의 결과를 통하여 미경산우는 경산우보다 단기자극에 대한 스트레스 반응이 크게 나타나 진단과 치료를 위한 보정시 불안감을 최대한 줄일 수 있는 세심한 배려가 필요하다고 사료된다.

참고문헌

1. Kaufmann CH, Kundig H, Binder H, et al. Messung von Stress parameteri bei Nutztieren mittels aktiver Telemetrie. *Schweiz Arch Tierheilk*, 138(5):234-240, 1996.
2. Trefethen PS, Dudley JW, Smith MR. Ultrasonic tracer follows tagged fish. *Electronics*, 30:156-160, 1957.
3. Jacobson B, Mackay RS. A pH endoradiosonde. *Lancet*, 6981:1224, 1957.
4. Shichiri M, et al. Telemetry glucose monitoring device with needle-type glucose sensor: a useful tool for blood glucose monitoring in diabetic individuals. *Diabetes Care*, 9(3):298-301, 1986.
5. Jeutter DC. Biomedical telemetry techniques. *Crit Rev Biomed Eng*, 7(2):121-174, 1982.
6. Labum HP, Goelst K, Mitchell. Body temperature of lambs and their mothers measured by radiotelemetry during parturition. *Experientia*, 50:708-711, 1994.
7. Marazziti D, di Muro A, Castrongiovanni P. Psychological stress and body temperature changes in humans. *Physiol Behav*, 52: 393-395, 1992.

8. King AC, Oka RK, Young DR. Ambulatory Blood pressure and heart rate response to the stress of work and caregiving in older women. *J Gerontol*, 49(6):M239-245, 1994.
9. Hopster H, Blokhuis H. Validation of a heart-rate monitor for measuring a stress response in dairy cows. *Can J Anim Sci*, 74:465-474, 1994.
10. Berner H, Dietel M. Auswirkungen von Lärm auf Verlauf der Geburt beim Schwein. *Tierarztl Umschau*, 47; 549-556, 1992.
11. Pannier JL, Calders P, Eechaute W. Effect of adrenergic receptor blockade on plasma testosterone response to exercise in conscious dogs. *Arch Int Physiol Biochem Biophys*, 102(3):195-198, 1994.
12. Waran NK, Robertson V, Cuddeford D, et al. Effects of transporting horses facing either forwards or backwards on their behaviour and heart rate. *Vet Rec*, 139(1):7-11, 1996.
13. Broom DM, Johnson KG. *Stress and Animal Welfare*. Chapman & Hall. 1993.
14. Georgiev J. Influence of environmental conditions and handling on the temperature rhythm of the rat. *Biotelemetry Patient Monit*, 5:229-234, 1978.
15. Parrott RF, Lloyd DM. Restraint, but not frustration, induces prostaglandin-mediated hyperthermia in pigs. *Physiol Behav*, 57(6):1051-1055, 1995.
16. Milton RC. Evaluation of the efficacy of programs for the control of severe xerophthalmia. *Am J Clin Nutr*, 35(1):140-145, 1982.
17. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology*. 8th ed. WB Saunders. 1991.
18. Syme LH, Elphick GR. Heart -rate and behaviour of sheep in yard. *Appl Anim Ethol*, 9:31-35, 1982.
19. Stephens DB, Toner JN. Husbandary influences on some physiological parameters of emotional responses in calves. *Appl Anim Ethol*, 1:233-243, 1975.
20. Putten GV, Elshof WJ. Observation on the effect of transport on the well being and lean quality of slaughter pigs. *Anim Regul Stud*, 1:247-271, 1978.
21. Arave CW, Bunch TD, Callan RJ. Measuring stress in cattle via implanted heart rate transmitters. *J Anim Sci*, 69: 236, 1991.
22. Herd JA. Cardiovascular response to stress. *Physiol Rev*, 71(1):305-330, 1991.
23. Christison GI and Johnson HD. Cortisol turnover in heat-stressed cows. *J Anim Sci*, 53: 1005-1010, 1972.
24. Apple JK, Parson KM, Unruh JA. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretions, electrolytes and other blood constituents of sheep. *J Anim Sci*, 71(1):71-77, 1993.
25. Broom DM, Knight PG, Stansfield SC. Hen behaviour and hypothalamic pituitary-adrenal responses to handling and transport. *Appl Anim Behav Sci*, 16: 98, 1986.
26. Aramio A. et al. Response of anterior pituitary hormones to chronic stress. *Neurosci Biobehav*, Rev10: 245-250, 1986.
27. Goncharov NP. et al. Effect of stress on the profile of plasma steroids in baboons. *Acta Endocrinol*, 90:372-384, 1979.
28. Hayashi KT, Moberg GP. Influence of acute stress and the adenal-axis on regulation of LH and testosterone in the male Rhesus Monkey. *Am J Primatol*, 12:263-273, 1987.
29. Willett LB, Erb RE. Short term changes in plasma corticoids in dairy cattle. *J Anim Sci*, 34(1):103-111, 1972.
30. Lay DC. et al. A Comparative Physiological and Behavioral Study of Freeze and Hot - Iron Branding Using Dairy Cows. *J Anim Sci*, 70:1121-1125, 1992.
31. 中村良一. 臨床家畜内科診断學. 養賢堂. 東京. 1-2. 1996.