

Prov. 9. 14/86

T
15
2

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA

**EFFECTO DE LA CALIDAD DE LA PROTEÍNA DE
LA DIETA SOBRE LA EFICIENCIA DE
UTILIZACIÓN DE LA ENERGÍA EN EL POLLO EN
CRECIMIENTO.**

ROSA M^a NIETO LIÑÁN

BIBLIOTECA	UNIVERSITARIA
GRANADA	
Nº Documento	519664502
Nº Copia	21213975

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 8-4-94
ENTRADA NUM. 502

Dr. D. José Fernando Aguilera Sánchez, Profesor de Investigación del Departamento de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín del CSIC en Granada y

Dr. D. Carlos Prieto Palomino, Investigador Científico del Departamento de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín del CSIC en Granada,

CERTIFICAN:

Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral "Efecto de la calidad de la proteína de la dieta sobre la eficiencia de utilización de la energía en el pollo en crecimiento" han sido realizados, bajo nuestra dirección, por D^a. Rosa M^a Nieto Liñán en el Departamento de Nutrición Animal de la Estación Experimental del Zaidín (CSIC) y reflejan fielmente los resultados obtenidos.

Una vez redactada, la presente Memoria de Tesis Doctoral ha sido revisada por nosotros y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas ante el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente, con fecha de veinticinco de Marzo de mil novecientos noventa y cuatro.

José F. Aguilera *Carlos Prieto*

UNIVERSIDAD DE GRANADA
4 MAR 1994
CSIC

EFFECTO DE LA CALIDAD DE LA PROTEÍNA DE LA DIETA SOBRE LA EFICIENCIA DE UTILIZACIÓN DE LA ENERGÍA EN EL POLLO EN CRECIMIENTO.

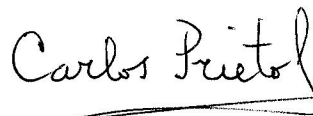
Memoria presentada para aspirar al Grado de
Doctor en Ciencias Biológicas por la Lda.
Rosa María Nieto Liñán.

Directores

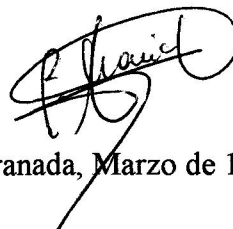
Dr. D. José Fernando Aguilera Sánchez, Profesor de Investigación del CSIC



Dr. D. Carlos Prieto Palomino, Investigador Científico del CSIC



Lda. Rosa M^a Nieto Liñán, aspirante al Grado
de Doctor en Ciencias Biológicas.



Granada, Marzo de 1994

Estación Experimental del Zaidín. CSIC.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 Conceptos fundamentales en los estudios de metabolismo	
energético de los animales.....	7
2.1.1. Balance energético.....	7
2.1.2. La utilización de la energía del alimento.....	9
2.1.3. Mecanismos reguladores de la producción de calor.....	17
2.2. La determinación de las necesidades energéticas de	
mantenimiento y de las eficiencias de utilización de la energía	
metabolizable.....	21
2.2.1. Análisis matemático de los datos de balance energético.....	21
2.2.2. Modelos utilizados en la práctica.....	30
2.3. El coste energético del crecimiento.....	33
2.4. La influencia del contenido energético y proteico de la dieta	
sobre el coste energético de la deposición proteica.....	37
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
3.1. Esquema experimental.....	49
3.1.1. Primer grupo de ensayos (I-VI).....	51
3.1.2. Segundo grupo de ensayos (VII-VIII).....	57
3.2. Técnicas experimentales.....	60
3.2.1. Técnicas analíticas.....	60
3.2.2. Técnicas biológicas.....	65

3.2.3. Técnicas respirométricas.....	68
3.3. Tratamiento estadístico.....	78
4. RESULTADOS.....	82
4.1. Primer grupo de ensayos (I-VI).....	83
4.1.1. Crecimiento.....	83
4.1.2. Balance de nitrógeno.....	83
4.1.3. Balance energético.....	86
4.2. Ensayos de respirometría.....	93
5. DISCUSION.....	95
5.1. Primer grupo de ensayos.....	96
5.1.1. Crecimiento.....	96
5.2. Ensayos de balance y sacrificio comparado.....	98
5.2.1. Balance de nitrógeno.....	98
5.2.2. Balance energético	101
6. CONCLUSIONES.....	117
7. BIBLIOGRAFÍA.....	119



1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

La deposición de proteína en el organismo animal es un mecanismo complejo que es la resultante del mecanismo biológico de la renovación proteica ("turnover" proteico), que comprende a su vez dos procesos concomitantes, la síntesis y la degradación proteica, que requieren energía para su funcionamiento. En consecuencia, cualquier factor que incida directa o indirectamente sobre uno de estos procesos (o sobre ambos a la vez) tendrá una influencia notable sobre la deposición proteica y su coste energético.

De los componentes de la dieta, la concentración energética y/o proteica y la calidad biológica de la proteína son los factores que actúan fundamentalmente sobre la retención de nitrógeno. Es evidente que la energía y proteína interaccionan entre sí, por varias razones: en primer lugar, porque la proteína es una de las fuentes energéticas de la dieta; en segundo lugar porque el turnover proteico es un proceso que requiere energía y por último, porque la proteína depositada representa una fracción de la energía retenida por el animal.

Se ha investigado en profundidad la influencia del contenido energético y/o proteico de la dieta sobre el coste energético de la deposición proteica. Los resultados obtenidos en experimentos realizados con diferentes especies animales (Golden y col, 1977, en niños; Reeds y col, 1980, 1981, en cerdos en crecimiento; Kita y col., 1989, en pollos de carne) demuestran con claridad que la adaptación metabólica a incrementos de la ingesta energética y/o proteica va asociada a un aumento de la tasa de síntesis y, en menor proporción, de la tasa de degradación proteica. El coste energético de la deposición proteica varía también en función de la proporción relativa de la energía proteica y no proteica (carbohidratos y lípidos) de la dieta (Reeds y col, 1981).

El efecto de la concentración proteica de la dieta sobre la eficiencia de utilización de la energía del alimento es un tema que ha suscitado una gran controversia desde los experimentos realizados por Miller y Payne (1962) con cerdos en crecimiento. Según estos investigadores, la restricción de proteína en la dieta da lugar, en los animales, a un consumo excesivo, de alimento, lo que desencadena un mecanismo regulador que consiste en un incremento de la producción de calor y, en consecuencia, una disminución de la eficiencia de utilización de la energía del alimento. Esta teoría, conocida como

termogénesis inducida por la dieta, todavía objeto de enconados debates científicos en la actualidad, ha sido ratificada por numerosos experimentos (McCracken y Gray, 1976; Tulp y col, 1979; Rothwell y col., 1982; Swick y Gribskov, 1983; Coyer y col., 1987) y denostada por otros (McCracken y Weatherup, 1973; Gurr y col, 1980; Fuller, 1983; McCracken y McAllister, 1984), en base a que el efecto se explica mediante cambios producidos en la composición corporal de los animales.

Con respecto a la influencia del contenido proteico de la dieta sobre las necesidades de mantenimiento y la eficiencia de utilización de la energía, los resultados obtenidos son totalmente contradictorios (Walker y Norton, 1971; McCracken y Weatherup, 1973; Fuller, 1983; Close y col., 1983); otro tanto podría decirse con respecto al efecto producido sobre la eficiencia parcial de utilización de la energía para la deposición de proteína (Close y col., 1983; Campbell y Dunkin, 1983; Coyer y col., 1987).

En relación al efecto de la calidad de la proteína de la dieta, es decir, a su composición en aminoácidos, sobre la retención de proteína en los animales, es bien conocido que la deficiencia de uno o más aminoácidos limitantes en la dieta provoca una serie de cambios cualitativos en el "turnover" proteico (por lo general, disminución de la síntesis y, en menor proporción, de la degradación proteica) y que la suplementación con este o estos aminoácidos basta para restaurar las condiciones de normalidad (en humanos, Conway y col., 1980; Meredith y col., 1982, 1986; Meguid y col., 1986a, b; en ratas, Omsted y col., 1978; Hayase y Yoshida, 1980; Roeder y Broderick, 1981; Laurent y col., 1984; en aves, Kino y Okumura, 1987; Hiramoto y col., 1990). Quizás la única nota discrepante a este respecto sea la de Fuller y col. (1987b), quienes, en experimentos con cerdos en crecimiento, en los cuales controlaban la ingesta de alimento, a fin de evitar un efecto de confundido entre cantidad y calidad proteica, no hallaron ningún efecto aparente de la suplementación con lisina sobre la tasa de síntesis proteica, pero sin una reducción notable de la degradación proteica.

Por el contrario, hay escasísima información bibliográfica sobre el efecto de la calidad proteica de la dieta sobre las necesidades de mantenimiento y los costes

energéticos de deposición de proteína y grasa de los animales. En una serie de trabajos previos de nuestro laboratorio (Aguilera y Prieto, 1986; Prieto y Aguilera, 1986; Aguilera y Prieto, 1987), en los que se administraron proteínas de diverso valor biológico a ratas en crecimiento, se detectaron notables diferencias en la composición corporal de los animales, variando las proporciones relativas de energía retenida como proteína y grasa en función de la calidad proteica de la dieta. Análogamente, Fuller y col., (1987a, b) encontraron que la cantidad y la calidad proteica de la dieta tienen un efecto de mejora sobre la retención de nitrógeno de los animales, produciéndose, al mismo tiempo, una disminución de la deposición de grasa. Ello parece indicar que el efecto de la calidad proteica sobre el metabolismo energético de los animales es similar al observado para la concentración de proteína de la dieta.

Este hecho es, no obstante, difícil de confirmar debido a serios problemas de índole metodológica. El clásico procedimiento de regresión múltiple empleado para determinar las necesidades de mantenimiento de los animales y las eficiencias de utilización de la energía (Kielanowski, 1965) tiene como principal limitación la presencia de multicolinealidad entre las variables independientes, lo que origina grandes dificultades a la hora de estimar con precisión los costes energéticos (Roux y col., 1983; MacLeod, 1990). Se han propuesto métodos estadísticos alternativos (Koong, 1977; Bernier y col., 1987; Baldwin y Bywater, 1984), aunque, desgraciadamente, estos modelos no están plenamente contrastados o bien introducen un alto grado de subjetividad en el análisis.

El propósito fundamental de esta Memoria de Tesis Doctoral es determinar si la calidad proteica de la dieta (*per se*, o través de modificaciones inducidas en la composición corporal, o por ambas cosas) tiene un efecto significativo sobre el metabolismo energético del animal en crecimiento. Los cambios de composición corporal pueden deberse a modificaciones en la energía total retenida, al afectarse la eficiencia de utilización de la energía o, a la inversa, la producción de calor, o bien a divergencias en la partición de la misma cantidad de energía total retenida, como proteína y grasa. La hipótesis de partida es que el valor biológico de la proteína dietética provoca cambios en

el "turnover" proteico del animal (en la síntesis y/o degradación proteica), lo cual debe afectar, necesariamente, a los costes energéticos de la deposición proteica.

Se ha elegido el pollo de carne como animal experimental en estos estudios, por poseer, a causa de su selección genética, una velocidad de crecimiento y de síntesis de proteína corporal muy elevadas, superiores a las de otras especies animales, lo que lo cualifica como el animal idóneo para este tipo de estudios.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Conceptos fundamentales en los estudios de metabolismo energético de los animales.

2.1.1. Balance energético

A lo largo de los años se han establecido una serie de conceptos básicos en los estudios de metabolismo energético de los animales, los cuales serán tratados brevemente a continuación. Los datos están tomados de diversas fuentes bibliográficas (McDonald y col., 1975; Church y Pond, 1977; Lassiter y col., 1982; Blaxter, 1989.)

La "ingesta de energía del alimento" es la entalpía de combustión de la materia seca del alimento consumido, normalmente expresada como la tasa diaria. En estudios con animales, a menudo se denomina "ingesta de energía bruta". No toda esta energía está disponible para el animal, puesto que algunos constituyentes de la dieta se excretan sin digerir, o bien, son parcialmente digeridos y aparecen así en las heces. La "energía fecal" es la entalpía de combustión de la materia seca de las heces, también expresada usualmente como la tasa diaria. En el tracto intestinal y, sobre todo, en el rumen de los animales rumiantes, suele haber fermentaciones que dan lugar a la producción de hidrógeno y metano. Su entalpía de combustión se denomina "tasa de pérdidas de gases de fermentación". Por último, también hay una pérdida de energía por excreción de compuestos orgánicos en la orina, la cual se mide como calor de combustión en el extracto seco de la orina.

A partir de estas definiciones, pueden establecerse otros conceptos. Se denomina "energía aparentemente digerida" a la diferencia entre la ingesta de energía de la dieta, IE, y la pérdida de energía en heces, EH. La "energía metabolizable", EM, es la diferencia entre la ingesta de energía y la suma de la pérdida de energía en heces, EH, en orina, EO, y en gases combustibles, EG.

$$EM = IE - (EH + EO + EG)$$

La energía metabolizable es considerada a menudo como una medida de la energía disponible por el animal para cubrir sus demandas energéticas (mantenimiento de la actividad corporal, actividad muscular, crecimiento, reproducción y lactación). Esto es

tan sólo una simplificación, ya que para que este concepto representase exactamente la entalpía de combustión de las moléculas orgánicas que son absorbidas en el intestino y posteriormente metabolizadas por los tejidos, tendrá que sustraerse el calor procedente de las fermentaciones que tienen lugar en el intestino, los calores de hidrólisis de los polisacáridos, lípidos y proteínas y las entalpías de los productos de dichas hidrólisis. Estos términos calóricos van incluidos en la producción de calor (PC) medida en el animal. A pesar de lo anterior, el término de EM es bastante útil y comúnmente empleado.

En animales en crecimiento y en adultos no productivos (producción de leche o huevos) la ingestión de la EM menos la pérdida de calor de un animal representa la retención de energía en el cuerpo animal, es decir, la entalpía de sus tejidos, ER. La expresión general es:

$$ER = IEM - PC$$

Cuando no se suministra alimento, la ecuación anterior establece que $PC = -ER$, es decir, la fuente de calor es el catabolismo de los tejidos corporales. Cuando a lo largo de un periodo de tiempo, generalmente varios días, la ER es cero, $IEM = PC$. Este estado se denomina "equilibrio energético" o "mantenimiento", y "necesidades de EM para el mantenimiento" a la energía del alimento requerida para alcanzar dicho equilibrio.

A medida que la ingesta de EM se incrementa, la PC también lo hace; la PC a niveles nutritivos de mantenimiento es mayor que durante el ayuno. Este incremento en PC asociado con la ingestión del alimento se denomina en Fisiología humana "efecto dinámico específico del alimento", en estudios con animales domésticos "incremento calórico del alimento". También se ha utilizado, tanto en animales como en el hombre, los términos de "efecto termogénico" del alimento o "termogénesis inducida por la dieta".

El término "incremento calórico" es el preferido, por ser el más explícito. Normalmente se expresa en función de la EM del alimento ingerido. En general, por cada unidad de incremento en IEM, una proporción k queda retenida en el cuerpo del animal

y una fracción $(1 - k)$ es perdida en forma de calor. La retención proporcional, k , se denomina "eficiencia de utilización de la energía metabolizable".

Los tres componentes básicos del balance energético, ingesta de energía metabolizable, producción de calor y retención de energía serán tratados a continuación.

2.1.1.1. Medida de la ingesta de energía metabolizable en el laboratorio.

En el laboratorio, la ingesta de EM puede medirse con gran precisión a partir de las cantidades de alimento ofrecidas y rehusadas por los animales, y la total excretada, una vez determinados los respectivos calores de combustión de alimento y excretas. El error analítico inherente a la medida de la EM es normalmente inferior a $\pm 0,5\%$. Una posible fuente de error sistemático es el tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo, que puede cuantificarse adecuadamente a partir del tiempo transcurrido entre la ingestión de alimento y la excreción de sus residuos en heces. Este tiempo de retención varía con las diversas especies animales, siendo máximo en los grandes mamíferos herbívoros. Otra posible causa de error es la periodicidad de la eliminación fecal. Para evitar estos inconvenientes, se deben utilizar periodos preliminares prolongados, en los cuales se mantenga constante la cantidad de alimento y su composición, así como periodos de recogida lo suficientemente largos para asegurarse de que la estimación media de la cantidad excretada cada 24 h sea la adecuada.

2.1.1.2. Medida de la producción de calor.

La producción de calor de un animal puede medirse directamente en calorímetros o estimarse a partir de su intercambio gaseoso en cámaras de respirometría. Webb (1984) y McLean y Tobin (1987) han publicado revisiones muy completas de estos procedimientos.

La calorimetría directa es la medida de la pérdida de calor, tanto el sensible, por radiación, convección, conducción, como el calor latente de evaporación del agua. Los calorímetros capaces de medir la pérdida de calor de los animales son fundamentalmente de dos tipos principales: Calorímetros de inmersión y calorímetros de gradiente. En los

primeros la cámara está totalmente aislada del exterior para impedir cualquier pérdida de calor y el calor producido por el animal es medido mediante intercambiadores de calor que operan con un líquido enfriador. El calor sensible se calcula a partir del flujo de líquido refrigerante, su calor específico y el aumento de temperatura que ha experimentado. La pérdida de calor latente de evaporación se mide como el producto del flujo de la masa de aire, su incremento en humedad y el calor latente de vaporización. En los calorímetros de gradiente la cámara contiene en sus paredes interiores una fina capa de material de grosor constante y conductividad térmica conocida y está totalmente rodeada por una camisa de agua mantenida a temperatura constante. La medida de la diferencia de temperatura que tiene lugar en la capa aislante, debido a la presencia de un animal, alojado en la cámara, medida generalmente mediante termopares en serie, permite la determinación de la pérdida de calor sensible. El calor de evaporación se mide a partir del incremento calórico producido en el aire de la cámara, el cual se mantiene acondicionado a fin de que las entalpías del aire que entra y que sale de la cámara estén balanceadas con precisión.

El equipo instrumental normalmente utilizado para estimar indirectamente la PC de los animales, a partir de su intercambio gaseoso, se denomina cámara de respirometría. Se puede operar según tres procedimientos, denominados así por el nombre de sus inventores: circuito cerrado o de Regnault y Reiset; circuito abierto o de Pettenkofer y circuito de confinamiento o de Laulanie. En el circuito cerrado el aire circula según un sistema cerrado. El CO_2 producido por el animal es absorbido y pesado y el O_2 consumido es medido al mismo tiempo que es reemplazado automáticamente. En el circuito abierto, aire del exterior de composición conocida pasa continuamente a través del sistema determinándose a la salida de la cámara el caudal del aire y el aumento del volumen de CO_2 (y de CH_4 , en el caso de los rumiantes) y el descenso en el volumen de O_2 producidos como consecuencia de la actividad metabólica de un animal alojado en su interior. En caso de confinamiento, el animal se mantiene en una cámara herméticamente cerrada y se determina el cambio producido en composición del volumen conocido de aire del sistema.

La calorimetría indirecta, se basa en la estequiometría de la oxidación de los compuestos orgánicos en el organismo. La PC se estima a partir de factores derivados de estas estequiometrías, concretamente a partir del O₂ consumido y la producción de CO₂ y otros productos finales del catabolismo (fundamentalmente la excreción urinaria de N y, en los rumiantes, la producción de CH₄).

2.1.1.3. Medida de la retención energética.

La estimación más directa de la energía retenida en el cuerpo de los animales se obtiene mediante el denominado método de los sacrificios comparados, por diferencia entre la entalpía de combustión de grupos de animales de composición similar al inicio y al final de un determinado periodo de tiempo.

Estas técnicas implican la previa limpieza total de los contenidos del tracto digestivo de los animales y , a continuación, la desecación y homogeneización completa de las canales y la posterior determinación de su entalpía de combustión. Con pequeños animales, la obtención de muestras representativas es muy simple; en cambio, es bastante complicada en el caso de grandes animales, los cuales tienen que ser diseccionados cuidadosamente. Posteriormente, sus diversos componentes son analizados por separado. Durante estas operaciones siempre tienen lugar pérdidas de peso, fundamentalmente por pérdidas por evaporación de agua. A pesar de ello, y teniendo en cuenta que la determinación del calor de combustión en bomba calorimétrica es un análisis bastante preciso, los errores ligados a esta técnica raramente son superiores a un $\pm 3\%$.

Otro de los métodos clásicos de estimación de la retención de energía ha sido la técnica de balance de carbono y nitrógeno. Se basa en la asunción de que los únicos compuestos energéticos almacenados en el organismo son la grasa y la proteína y que éstos tienen entalpías de combustión bastante constantes. Se aplican ecuaciones específicas que estiman la retención de energía a partir de las correspondientes retenciones de C y N producidos en los animales.

2.1.2. La utilización de la energía del alimento.

2.1.2.1. El origen del incremento calórico.

El hecho de que tras la ingestión del alimento se incremente la producción de calor ha intrigado a los investigadores durante muchos años, desde las primeras teorías propuestas en el siglo XIX por Voit, Zunt y otros. Una de las teorías más antiguas, aún vigente, es la de Rubner (1902), quién asoció este hecho al calor producido durante las reacciones necesarias para mantener los procesos fisiológicos en el organismo. Más adelante, Mitchell (1962), considerando diversas teorías y sus subsecuentes modificaciones, llegó a la conclusión de que no eran una sino varias, las causas de este fenómeno.

Actualmente se dispone de gran cantidad de información sobre los factores que repercuten sobre el incremento calórico y la eficiencia de utilización de la energía del alimento en diferentes especies animales. Estos componentes comprenden el incremento calórico debido a la actividad muscular, que incluye el coste energético de la ingestión de alimento (aprehensión, masticación y deglución), especialmente importante en el caso de los animales herbívoros; el calor de fermentación, particularmente notable en los rumiantes, pequeño en caso de los omnívoros, con escasa fermentación a nivel del intestino grueso, y prácticamente inexistente en los carnívoros; y la hidrólisis enzimática de lípidos, polisacáridos y proteínas en el lumen intestinal; la absorción y transporte de nutrientes; el mantenimiento de la actividad celular (provisión de O₂ a las células y eliminación de CO₂ y otros productos de oxidación). El alimento ingerido también tiene influencia sobre el metabolismo mediante cambios en el estado neural y endocrino, la actividad de las bombas de iones, Na⁺ - K⁺; el mecanismo de renovación proteica ("turnover proteico"), etc.

La causa principal del incremento calórico parece ser el calor asociado a la provisión de ATP y coenzimas reducidas a partir de los sustratos proporcionados por el alimento. Aunque hay incertidumbres cuantitativas en relación a la deposición de proteína, no hay dudas de que los incrementos calóricos asociados con la retención de energía en el cuerpo pueden ser explicados mediante la estequiometría de la síntesis de

los compuestos que son almacenados, y que los procesos endergónicos implicados son costosos en términos de ATP. Los valores de reemplazamiento de los diversos nutrientes a nivel de mantenimiento y por encima de éste también soportan esta idea, en el sentido de que el valor de los nutrientes como fuente energética es proporcional al ATP formado a partir de ellos cuando son completamente oxidados.

2.1.2.2. Eficiencias de utilización de la energía metabolizable.

La relación entre la energía retenida (ER) y la ingesta de energía metabolizable (IEM) no es constante, sino que varía en función de la cantidad de alimento ingerido. Este hecho puede apreciarse claramente en la fig. 2.1; a medida que se incrementa la ingestión de alimento, también lo hacen la producción de calor y la retención de energía en el cuerpo de los animales. En todas las especies en que se han realizado medidas de energía retenida (ER) y de ingesta de energía metabolizable (IEM), la relación es curvilínea, es decir, que el incremento en ER por unidad de alimento ingerido es inferior a medida que aumenta la ingesta. Ello es debido en parte a que la EM de la unidad de alimento disminuye a medida que aumenta la ingesta, ya que las pérdidas en heces, orina y gases de combustión, con variaciones según la especie animal y la naturaleza del alimento consumido, no son constantes, sino directamente proporcionales a la ingesta de alimento. Las pérdidas energéticas más importantes tienen lugar por las heces, siendo considerables en caso de los animales herbívoros; las de la orina varían menos entre especies animales, incrementándose notablemente en caso de la ingestión de dietas ricas en proteína; las pérdidas de metano son muy elevadas en caso de los rumiantes, debido a la fermentación ruminal, pero también pueden ser notables en los animales con fermentación microbiana en el intestino grueso. Por otra parte, la pendiente es netamente diferente por debajo de mantenimiento (retención energética cero) que por encima. La pendiente de esta relación se expresa convencionalmente no como una diferencial ($dER/dIEM = k$) sino como un valor medio, y se denomina eficiencia de utilización de la energía metabolizable para el mantenimiento, k_m , cuando se mide en el margen

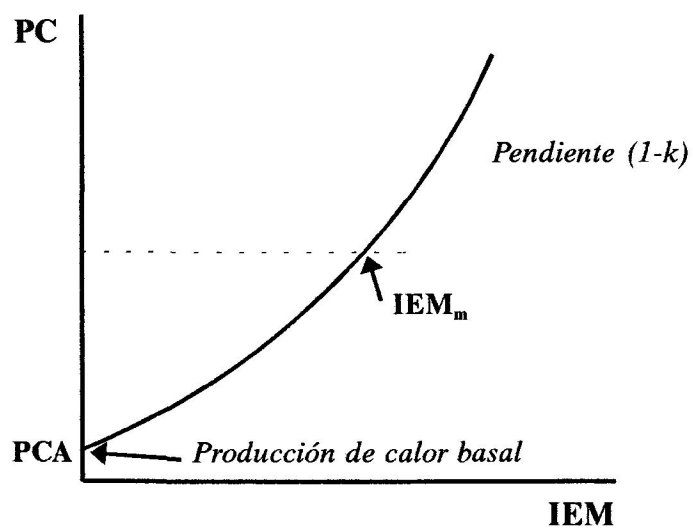
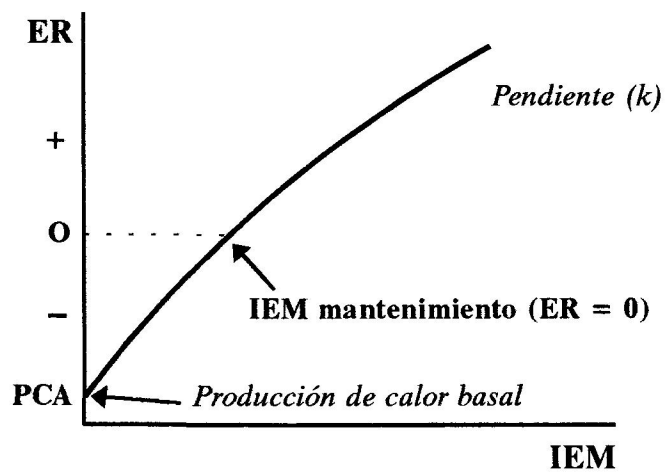


Figura 2.1. Relación entre la retención energética (ER), la ingesta de energía metabolizable (IEM) y la producción de calor (PC)

comprendido entre el ayuno y una ingesta de alimento equivalente al balance energético cero, y eficiencia de utilización de la energía metabolizable para la producción (deposición neta de grasa y proteína corporal), k_{pf} , cuando se trata de la pendiente media determinada entre un nivel de ingesta ligeramente superior al de mantenimiento y un múltiplo de esta cantidad. Este modelo es naturalmente una aproximación, ya que sustituye matemáticamente una relación biológica continua por dos líneas rectas que se entrecruzan en el nivel de ingesta de mantenimiento, correspondiente, por definición a una retención energética cero.

Las eficiencias de utilización de la energía metabolizable se miden determinando la retención energética cuando se administran, durante un periodo de tiempo lo suficientemente largo, diferentes cantidades de ingesta de energía metabolizable.

En la tabla 2.1 se presentan las eficiencias medias de utilización de la EM obtenidas en diferentes especies animales con carbohidratos, grasa o proteína como fuentes energéticas, o con dietas de composición media. Se aprecia que la eficiencia para el mantenimiento es invariablemente superior que para la de producción y que la EM de la proteína se utiliza menos eficientemente que la de carbohidratos y grasa. También se observa que los rumiantes en particular, y los herbívoros en menor grado, utilizan la EM de los nutrientes con menor eficiencia que los monogástricos, tanto por encima como por debajo de mantenimiento.

A partir de la tabla 2.1 es evidente que la eficiencia de utilización de la EM varía en función de la naturaleza química de los nutrientes absorbidos. La proteína en particular, está asociada a una baja eficiencia de utilización, y, en consecuencia, a un elevado incremento calórico.

A niveles por debajo de mantenimiento, los nutrientes reemplazan totalmente a los constituyentes corporales como fuentes de energía, es decir, proporcionan el ATP necesario para el trabajo realizado por el organismo. La eficiencia de utilización de la EM para mantenimiento puede calcularse como la relación entre la entalpía de combustión por mol de ATP procedente de la oxidación de los tejidos y la entalpía de combustión por mol de ATP del nutriente que es suministrado por la dieta.

Tabla 2.1. Eficiencias medias de utilización de la energía metabolizable por debajo del mantenimiento y para la producción (deposición de grasa y proteína) y sus correspondientes incrementos calóricos (tomada de Blaxter, 1989).

Nutriente	Especie animal o grupo	Eficiencias		Incremento calórico	
		por debajo de mantenimiento	por encima de mantenimiento	por debajo de mantenimiento	por encima de mantenimiento
Carbohidratos	Monogástricos	0,94	0,78	0,06	0,22
	Rumiantes	0,80	0,54	0,20	0,46
	Otros herbívoros	0,90	0,64	0,10	0,36
	Aves	0,95	0,77	0,05	0,23
Grasa	Monogástricos	0,98	0,85	0,02	0,15
	Rumiantes	?	0,79	?	0,21
	Otros herbívoros	?	0,79	?	0,21
	Aves	0,95	0,78	0,05	0,22
Proteína	Monogástricos	0,77	0,64	0,23	0,36
	Rumiantes	0,70	0,45	0,30	0,55
	Otros herbívoros	0,76	0,50	0,24	0,50
	Aves	0,80	0,55	0,20	0,45
Valores aproximados para especies animales que consumen dietas de composición media					
	Hombre	0,90	0,75	0,10	0,25
	Rata	0,90	0,75	0,10	0,25
	Perro	0,85	0,70	0,15	0,30
	Cerdo	0,85	0,70	0,15	0,30
	Conejo	0,80	0,65	0,20	0,35
	Caballo	0,75	0,60	0,25	0,40
	Buey	0,70	0,50	0,30	0,50
	Oveja	0,70	0,50	0,30	0,50
	Pollo	0,90	0,75	0,10	0,25

$$k_m = \frac{\text{entalpía almacenada en los tejidos / mol ATP}}{\text{entalpía suministrada por los nutrientes / mol ATP}}$$

Este modo de cálculo ha sido muy utilizado (Krebs, 1960; Blaxter, 1967; Armstrong, 1969; Schiemann y col. 1971; Flatt, 1978; McGilvery y Goldstein, 1983; Livesey, 1984) para calcular la eficiencia teórica con la cual los nutrientes suministran energía para cubrir las necesidades de mantenimiento. Las estimaciones teóricas han coincidido con las medidas experimentales realizadas sistemáticamente administrando nutrientes específicos, tanto en animales rumiantes (Blaxter, 1989) como en monogástricos (Hoffmann y col., 1986).

Cuando los animales jóvenes crecen o los adultos depositan nuevos tejidos, la retención energética es positiva y la energía suministrada por los nutrientes es almacenada como grasa y proteína.

Los estudios realizados para medir la eficiencia de utilización de la EM por encima de mantenimiento se han efectuado preferentemente en animales adultos, en los cuales el incremento en deposición de proteína es escaso y la mayoría de la retención energética tiene lugar en forma de grasa. Estos estudios han indicado que la grasa dietética se utiliza más eficientemente para promover la retención energética que los carbohidratos y éstos últimos, aunque no siempre, más que la proteína. Algunos valores representativos de k_p se incluyen en la tabla 2.1. En la mayoría de estos estudios se midió retención energética; en muy pocos casos se consideró por separado la retención energética como proteína y grasa.

La relevancia de estos resultados, hallados en animales adultos, los cuales depositan mucha grasa y poca proteína en relación a los animales en crecimiento, que retienen una considerable proporción de su energía corporal como proteína, está sujeta a discusión. Kielanowski (1965), trabajando con cerdos, empleó métodos de regresión para separar la eficiencia de utilización de la EM para la deposición de proteína (k_p) de la deposición de grasa (k_f). Muchas investigaciones de este tipo se han realizado con

cerdos, ratas y rumiantes, y han sido resumidas por el Agricultural Research Council (ARC, 1981).

En los animales monogástricos, los valores obtenidos para k_f difieren muy poco del valor experimental medio (0,76), mientras que los de k_p son mucho más variables, aceptándose como valor medio representativo el de 0,56.

Las eficiencias teóricas de utilización de la energía para la síntesis de grasa y proteína pueden estimarse a partir de consideraciones bioquímicas. La tabla 2.2 (Baldwin, 1968; Milligan, 1971; Millward y col., 1976; Lobley, 1986; Blaxter, 1989) resume las eficiencias bioquímicas para la deposición de glucógeno, grasa y proteína corporal cuando las fuentes energéticas son los carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta.

Tabla 2.2. Eficiencia teórica (J/J) con la que se emplea la energía de los nutrientes en procesos de síntesis, calculada a partir de su estequiometría de transporte y síntesis (tomada de Blaxter, 1989).

Sustrato de la dieta	Producto	Eficiencia estimada	Incremento calórico
Carbohidratos	Glucógeno	0,95	0,05
	Grasa corporal	0,80	0,20
Lípidos	Grasa corporal	0,96	0,04
Proteínas	Grasa corporal	0,66	0,34
	Proteína corporal	0,86	0,14

El valor derivado bioquímicamente para la eficiencia de la deposición de grasa a partir de los carbohidratos (0,80) es superior al valor medio encontrado experimentalmente (0,76), aunque sólo ligeramente, tal vez porque no incluye los costes, como el de absorción de nutrientes en el intestino. El correspondiente a la eficiencia de deposición de grasa corporal a partir de grasa dietética como fuente

energética (0,95) es también superior a la observada experimentalmente (alrededor de 0,85). El valor teórico de la eficiencia de deposición de grasa a partir de proteína dietética (0,66) es probablemente un valor máximo, aunque coincide con valores obtenidos experimentalmente (tabla 2.1). Hay, no obstante, una gran discrepancia entre la eficiencia teórica de deposición de proteína corporal a partir de proteína dietética (0,85) y las estimaciones experimentales (valor medio, 0,56).

Esta eficiencia bioquímica teórica suele calcularse dividiendo la entalpía de combustión de la proteína por la entalpía de sus constituyentes, los aminoácidos, más el coste energético requerido para formar el ATP necesario para sintetizar los enlaces peptídicos de la proteína. Se asume que se requieren unos 5 moles de ATP para la formación de un enlace peptídico, que la entalpía por mol de ATP es de 81 kJ y que el peso molecular medio de los aminoácidos es 100. El cálculo indica que si la eficiencia fuese 0,56 se requerirían 24 moles de ATP para formar un enlace peptídico. Esto ha sugerido a muchos investigadores que la deposición neta de proteína implica la síntesis de unas 5 veces más proteína que la finalmente depositada y que la razón de la baja eficiencia de la síntesis proteica reside en la magnitud del mecanismo de renovación proteica ("turnover proteico")

2.1.3. Mecanismos reguladores de la producción de calor.

2.1.3.1. Luxuskonsumption.

Existe la opinión de que el hombre puede, y probablemente otros animales también, incrementar su producción de calor en respuesta a la ingestión de un exceso de alimento, a fin de evitar de este modo una retención extra de energía. Esta opinión viene avalada por la observación de que hay una relativa estabilidad de peso vivo en el hombre a lo largo de grandes periodos de tiempo, a pesar de la variación que normalmente tiene lugar en la ingesta de alimento. De ser cierto, ello implicaría la existencia de un mecanismo regulador.

Esta idea fue propuesta en primer lugar por Neumann (1902) y Gulick (1922), tras actuar ellos mismos como animales experimentales y comprobar el cambio de peso

corporal que se produjo como consecuencia de la ingestión de una variada gama de alimentos. Concluyeron que había algún mecanismo que disipaba energía y que ésta era la causa de que su peso vivo se mantuviese prácticamente constante, denominando al mismo "luxuskonsumtion". Sus conclusiones fueron muy criticadas entonces (Wiley y Newburgh, 1931) cobrando de nuevo actualidad hacia los años 70, aunque mal interpretadas, ya que se afirmaba que el peso de los dos experimentadores permaneció absolutamente constante a lo largo de los ensayos a pesar de que había habido grandes variaciones en la ingesta de alimento.

Forbes (1984) volvió a analizar más tarde los datos originales del experimento y relacionó los cambios de peso ($\Delta g/d$) que se habían producido con las cantidades de ingesta consumida (EM, MJ/d). Los coeficientes de regresión de las ecuaciones fueron muy similares (38 kJ/g para Newman y 32 kJ/g para Gulick). Estos valores representan el coste energético en términos de la EM necesaria para depositar 1 g de tejido, y están en concordancia con las estimaciones de la entalpía de combustión de la ganancia de peso de un hombre adulto y de sus eficiencias de utilización de la EM. Por lo tanto, estos cálculos no permiten confirmar la hipótesis de un mecanismo regulador de la producción de calor que sirva para mantener una constancia de peso vivo en caso de sobrenutrición.

2.1.3.2. Dietas hipoproteicas y producción de calor.

Un experimento muy citado como evidencia de la existencia de un mecanismo regulador de la producción de calor es el de Miller y Payne (1962). Consistió en alimentar a un cerdito con una dieta con muy bajo contenido proteico y a otro cerdito similar con una dieta de contenido proteico adecuado. En ambos casos las respectivas dietas se ajustaron de modo que los animales mantuvieran constante su peso vivo. Después de un tiempo, las dietas se intercambiaron, es decir, el cerdito que había recibido la dieta hipoproteica consumía la adecuada en proteína, y viceversa. Cuando los cerditos consumían la dieta pobre en proteína, ingerían varias veces la energía consumida con la dieta normal para mantener su peso. Puesto que en equilibrio energético la

producción de calor es equivalente a la IEM, se dedujo que la PC tenía que haberse incrementado extraordinariamente en los cerditos que consumían la dieta hipoproteica.

Ahora bien, lo que se midió realmente no fue el equilibrio energético, sino la estabilidad de peso. Cuando a animales en crecimiento que están en equilibrio energético se les suministra una dieta con un contenido proteico adecuado, depositan proteína y, paralelamente, pierden el equivalente energético de sus reservas energéticas como grasa. La deposición proteica está ligada a una retención de agua. En consecuencia, el equilibrio energético en los animales jóvenes que consumen dietas con adecuado contenido proteico está asociado a un incremento neto de peso, o lo que es lo mismo, el equilibrio de peso vivo en estos animales va ligado a una pérdida energética corporal. En caso de animales que consumen dietas hipoproteicas, se produce una pérdida tanto de proteína como de agua corporal; el equilibrio de peso se logra balanceando estas pérdidas con la deposición de cantidades equivalentes de grasa.

No hay duda de que las observaciones de Miller y Payne (1962) eran correctas, pero no así la interpretación de sus resultados. Ello ha quedado confirmado en un experimento similar realizado posteriormente por Gurr y col (1980). La EM requerida para el mantenimiento del peso vivo fue más de 3 veces superior en cerditos que consumían una dieta hipoproteica (13,95 MJ EM/d), que en los alimentados con una dieta rica en proteína (4,34 MJ EM/d). Al final del experimento (42 d) la entalpía de combustión de las canales de los animales alimentados con la dieta hipoproteica fue casi 3 veces superior (453 MJ) a la de los que consumieron la dieta rica en proteína (169 MJ), es decir, en los primeros hubo una retención de energía (238 MJ), mientras que en los segundos hubo una pérdida de la misma (-31 MJ).

Estos resultados han sido ratificados también por Fuller (1983) y McAllister (1984). En consecuencia, no hay evidencia de que la administración de dietas hipoproteicas vaya asociada a mecanismos reguladores que incrementen la producción de calor. El efecto observado se explica mediante cambios de composición corporal.

2.1.3.3. Sobrenutrición y dietas de cafetería.

Es difícil inducir que los animales se vuelvan obesos haciéndoles ingerir grandes cantidades de alimento. Hace muchos años, Adolph (1943) indicó que las ratas comen hasta adecuar su ingesta energética a las necesidades energéticas de su metabolismo basal, trabajo muscular, termorregulación y crecimiento. Cuando diluía las dietas con un material inerte, las ratas consumían mayores cantidades de alimento para mantener constante su ingesta energética.

Este control normal de la ingesta puede superarse con varios procedimientos: alimentando a los animales con dietas muy elevadas en grasa, sustituyendo el agua de bebida por una solución de sacarosa, administrando alimento por intubación gástrica o bien ofreciendo una dieta variada. Con dietas elevadas en grasa y con alimentación por intubación se logran ingestas superiores a las normales y una eficiencia de utilización de la energía también mayor que con dietas normales. En el caso de las dietas elevadas en grasa la alta eficiencia es consistente con la incorporación directa de ácidos grasos a la dieta como lípidos de reserva corporales; en cuanto a la intubación, los datos experimentales coinciden con las observaciones de que la ingestión de alimento a intervalos prolongados ("comidas") da lugar a una retención energética algo más elevada que cuando el alimento se suministra a pequeños intervalos.

En una serie de estudios de Sclafani y Springer (1976), se ofreció a ratas una gran variedad de alimentos palatables como suplementación a una dieta base. La ingesta total de alimento se incrementó de este modo, induciéndose, por tanto, una obesidad en los animales. Ellos denominaron a este modo de alimentación "dieta de supermercado", ya que la mayoría de los ingredientes de la misma eran alimentos procesados, comprados en supermercados; el término empleado actualmente para describir este procedimiento es el de "alimentación de cafetería". Rothwell y Stock (1979) demostraron que la alimentación de cafetería inducía en ratas incrementos de ingesta energética de hasta el 80% sin que, no obstante, se volvieran obesas. A partir de los resultados de experimentos de sacrificio comparado, encontraron que la producción de calor de los animales había aumentado considerablemente en respuesta a la sobrealimentación, denominando a este hecho

"termogénesis inducida por la dieta" y asegurando que este proceso permitía mantener un balance energético cero en caso de animales sobrealimentados. Más tarde sugirieron que el mecanismo fisiológico implicado era la activación simpática del modelo de conductancia de protones mitocondrial del tejido adiposo pardo, de modo análogo al mecanismo de "termogénesis sin escalofríos".

Esta fue una hipótesis atractiva, no obstante, los intentos posteriores para confirmar estos resultados no han sido del todo positivos. Se logra incrementar la ingesta mediante alimentación de cafetería, pero no siempre se puede evidenciar la termogénesis inducida por la dieta en los experimentos; ésta parece depender - según posteriores trabajos de Rothwell y Stock- de varios factores.

El fenómeno del mecanismo regulador del incremento en producción de calor ha sido revisado cuidadosamente por aquéllos que lo niegan y por sus partidarios (Hervey y Tobin, 1983; Rothwell y Stock, 1983). No hay evidencias de que tal mecanismo exista realmente en la rata, y desde luego no en el hombre. El hecho de que el incremento en producción de calor sólo se haya encontrado en ratas de laboratorio a bajas temperaturas ambientales (21 - 29° C) y no a 29° C o más (Barr y McCracken, 1984; Rothwell y Stock, 1986) sugiere que en el experimento original se pudo haber producido un efecto de confundido entre la sobrealimentación y los mecanismos de termorregulación.

2.2. La determinación de las necesidades energéticas de mantenimiento y de las eficiencias de utilización de la energía metabolizable.

2.2.1. Análisis matemático de los datos de balance energético.

Se han empleado gran cantidad de modelos matemáticos para estimar las necesidades energéticas de mantenimiento de los animales (generalmente expresadas en energía metabolizable, EM) y las eficiencias de utilización de la energía, tanto para la deposición de proteína como de grasa.

A pesar del esfuerzo realizado, sigue siendo cuestionable si esta partición de la energía tiene un verdadero sentido fisiológico o bioquímico. Gran parte de las

dificultades encontradas residen en el hecho de que no sólo la energía retenida para el mantenimiento se libera como calor, sino también, por encima de mantenimiento, la fracción de EM no depositada como proteína o grasa (Blaxter, 1989) .

2.2.1.1. Técnicas de regresión.

El método normalmente utilizado para realizar esta partición de la energía es el de regresión entre la energía retenida (ER) o la producción de calor (PC) y la ingesta de energía metabolizable (IEM).

En los experimentos en los que se mide directamente ER (sacrificio comparado), se aplica un método factorial para estimar las necesidades energéticas de los animales. El modelo más simple de los utilizados asume que la relación entre ER e IEM es lineal. La ecuación, propuesta por el sistema de la Energía Metabolizable británico (Blaxter, 1969), es la siguiente:

$$ER = -a + k_{pf} IEM \quad (2.1)$$

donde ER es la retención energética (MJ/d), IEM es la ingesta total de energía metabolizable (MJ/d), k_{pf} es la eficiencia de utilización de la EM para la retención y a es una constante (equivalente a $k_{pf} \times IEM_m$, siendo IEM_m la ingesta de EM para el mantenimiento).

También se suele utilizar la ecuación inversa a la (2.1):

$$IEM = a + (1/k_{pf}) ER \quad (2.2)$$

En este caso, a , la ordenada en el origen, proporciona directamente una estimación del equilibrio energético (IEM_m ; $ER = 0$), mientras que $(1/k_{pf})$ representa el coste de utilización de la EM para la retención.

Las principales objeciones que se pueden realizar a las ecuaciones (2.1) y (2.2) son las siguientes:

a) Se asume que las necesidades energéticas de mantenimiento (IEM_m) son constantes.

b) A fin de que la proporción de ER como proteína y grasa se mantenga lo más constante posible, las determinaciones no deben realizarse durante largos periodos de crecimiento.

c) La extrapolación a $ER = 0$ en la ecuación (2.1), a fin de obtener IEMm como el punto de corte con el eje de abscisas es cuestionable si el margen de medidas experimentales se halla excesivamente alejado del nivel de mantenimiento. La regresión inversa (ecuación 2.2) evita en parte estos problemas estadísticos, aunque asume que IEM es la variable dependiente, lo cual es biológicamente falso, ya que la retención energética es resultado de la IEM, y no al revés.

La ecuación (2.2) fue modificada por Blaxter (Blaxter, 1967) a fin de separar, en términos matemáticos, la energía retenida para el mantenimiento y la producción, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$IEM = (1/k_m) PCA + (1/k_{pf}) ER \quad (2.3)$$

donde IEM es la ingesta de EM (MJ/d), PCA es la producción de calor en ayunas (MJ/d), ER es la energía retenida por encima de mantenimiento (MJ/d), k_m es la eficiencia de utilización de la EM para el mantenimiento y k_{pf} la eficiencia de utilización de la EM para la producción (por encima de mantenimiento).

Alternativamente, cuando se determina la producción de calor (PC) en lugar de la ER, la ecuación (2.1) puede modificarse de la siguiente manera:

$$PC = a + (1 - k_{pf}) IEM \quad (2.4)$$

donde a representa la producción de calor basal, o bien:

$$PC = a PV^n + (1 - k_{pf}) IEM + c \quad (2.5)$$

donde PV es el peso vivo (elevado o no a un exponente, n) y c es una constante. Con esta última ecuación se puede predecir la producción de calor de un animal (en reposo y en su zona de termoneutralidad) en función de su tamaño (a su vez función del PV) y de la cantidad de alimento consumido (expresado como EM). El primer término ($a PV^n$) representa la producción de calor basal y el segundo ($(1 - k_{pf}) IEM$), el incremento calórico del alimento.

En los modelos (2.4) y (2.5), las necesidades de mantenimiento (IEM_m ; $ER = 0$) se determinan haciendo $PC = IEM$.

Ninguna de las ecuaciones anteriores tiene en cuenta la posible variación en la proporción de energía retenida como proteína y grasa. Kielanowski (1965) propuso utilizar un análisis de regresión múltiple para separar las eficiencias energéticas de deposición de proteína y grasa. La ecuación propuesta fue:

$$IEM = a + (1/k_p) ERP + (1/k_f) ERG \quad (2.6)$$

donde IEM es la ingesta de energía metabolizable (MJ/d), a representa las necesidades de mantenimiento (IEM_m , MJ/d), ERP es la energía retenida como proteína (MJ/d), ERG es la energía retenida como grasa (MJ/d), $1/k_p$ es el coste energético de la deposición de proteína y $1/k_f$ es el coste energético de la deposición de grasa. (k_p y k_f son las respectivas eficiencias de utilización de la energía).

Una variante de la ecuación anterior es:

$$IEM = a + b PV^n + (1/k_p) ERP + (1/k_f) ERG \quad (2.7)$$

donde PV es el peso vivo (elevado a un exponente, n). En este caso, las necesidades de mantenimiento vienen determinadas por la ecuación alométrica $IEM_m = b PV^n$, un concepto que, como veremos más adelante, no puede aplicarse a animales durante largos periodos de crecimiento.

Este concepto de que las necesidades energéticas de un animal pueden calcularse factorialmente, a partir de las necesidades de mantenimiento (IEM_m) y de la energía requerida para la deposición de proteína y grasa, ha sido desarrollado posteriormente por numerosos investigadores (Whittemore y Fawcett, 1974, 1976; Kielanowski, 1976).

La ecuación de Kielanowski (modelos 2.6 y 2.7) es criticable en base a las siguientes objeciones (Chwalibog, 1984; Blaxter, 1989):

- a) Se asume que IEM es la variable dependiente, lo cual es biológicamente falso.
- b) Hay una considerable autocorrelación entre las variables independientes, lo cual dificulta extraordinariamente la interpretación de los resultados.
- c) A la hora de determinar las necesidades de mantenimiento, en caso de animales jóvenes en crecimiento o de adultos en producción la retención energética no es

realmente nula, ya que hay, generalmente, deposición proteica a expensas de movilización de grasa corporal.

d) Se asume que todos los procesos que contribuyen al incremento calórico por encima del mantenimiento sólo pueden ser adscritos a los procesos de deposición de proteína y grasa, de modo que cualquier incremento debido a otro proceso metabólico asociado a la ingestión de alimento es incluido, necesariamente, en las constantes del modelo.

e) En la ecuación (2.7), el valor del exponente n utilizado puede tener una influencia difícil de cuantificar sobre las eficiencias de utilización de la energía para la deposición de proteína (k_p) y de grasa (k_f). En este sentido, una solución propuesta (Chwalibog, 1984) es la utilización del modelo:

$$\text{IEM} = a \text{ PC} + (1/k_p) \text{ ERP} + (1/k_f) \text{ ERG} \quad (2.8)$$

ya que para grupos de animales de peso vivo equivalente, IEM está más relacionada con la producción de calor (PC) que con el peso vivo.

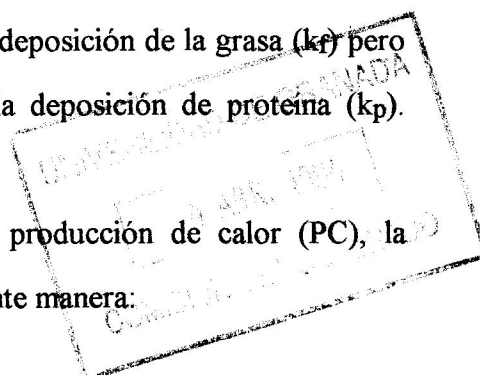
A causa de las críticas mencionadas anteriormente, se suele emplear un método diferente. Se realiza en primer lugar una estimación de la EM requerida para mantenimiento (IEM_m) y luego se determina la ingesta de EM necesaria para la producción (IEM_p), calculada por diferencia entre la ingesta total de EM y la IEM_m . El modelo utilizado es el siguiente:

$$\text{IEM}_p = (1/k_p) \text{ ERP} + (1/k_f) \text{ ERG} \quad (2.9)$$

donde ERP y ERG son la energía retenida como proteína y grasa y k_p y k_f las eficiencias de utilización de la energía para la deposición de proteína y grasa, respectivamente.

El principal inconveniente de este método es el depender de una determinación previa de IEM_m , que puede ser cuestionable. Por lo demás, mediante esta partición de la energía apenas se afecta la estimación de la eficiencia de deposición de la grasa (k_f) pero tiende a incrementarse la incertidumbre asociada con la deposición de proteína (k_p). (Blaxter, 1989).

En caso de que se determine directamente la producción de calor (PC), la ecuación de Kielanowski (2.6) se transforma de la siguiente manera:



$$PC = a + (1-k_p) (1/k_p) ERP + (1-k_f) (1/k_f) ERG \quad (2.10)$$

donde a representa la ingesta de EM para el mantenimiento (IEM_m).

Este procedimiento tiene la ventaja de que PC es la verdadera variable dependiente en sentido biológico, puesto que, para grupos de animales de peso vivo similar, PC es función del gasto energético requerido para el mantenimiento y la producción (Chwalibog, 1984).

Todos los procedimientos de partición de la energía mencionados anteriormente tienen en común la objeción (Pullar y Webster, 1974) de que la cantidad de energía requerida para el mantenimiento es muy grande en relación con la necesaria para el crecimiento o la producción, de modo que cualquier incertidumbre asociada con la estimación del componente de mantenimiento tendrá un efecto notable sobre las estimaciones de la utilización de la energía. Por otra parte, tanto las variaciones producidas en las necesidades de mantenimiento como en la proporción de energía retenida como proteína y grasa están determinadas por un mismo factor, el estado de madurez fisiológica del animal; en consecuencia, los componentes de mantenimiento y de deposición de proteína y de grasa no pueden ser considerados como variables independientes desde el punto de vista estadístico. De hecho, los valores de los costes energéticos de deposición de proteína y grasa son de naturaleza arbitraria, puesto que reflejan simplemente una relación entre incrementos de energía depositada (en definitiva, la diferencia neta entre procesos de síntesis y de degradación) con incrementos de EM. Los costes adicionales producidos cuando un animal joven en crecimiento o un animal adulto en producción sintetiza proteína o grasa no se ven reflejados en estos modelos en las eficiencias parciales respectivas, sino que quedan incluidos en el componente de mantenimiento.

Por consiguiente, parece evidente que hasta que no se realicen medidas fiables de síntesis total de proteína y grasa no será posible evaluar la verdadera contribución de los costes energéticos de estos procesos.

Otro problema que se plantea a la hora de emplear los modelos de regresión mencionados anteriormente es el de las posibles diferencias de peso vivo entre los

animales experimentales, puesto que es bien sabido (Blaxter, 1989) que el metabolismo basal (producción de calor en ayunas, PCA, en caso de los animales domésticos) es directamente proporcional al área de la superficie corporal. En un principio, este área se relacionó con el peso vivo elevado a un exponente de dos tercios ($PV^{2/3}$), pero más tarde se comprobó que el exponente más adecuado para comparar el metabolismo entre las diversas especies animales es el de tres cuartos ($PV^{3/4}$), es decir, 0,75. En consecuencia, cuando se quieren comparar datos de balance energético de distintas especies, o de individuos de la misma especie de distinto tamaño corporal, se suele utilizar el factor de escala $PV^{0,75}$, denominado peso metabólico. No obstante lo anterior, es todavía objeto de debate si el exponente 0,75 es universalmente aceptable como referencia a fines comparativos o no. Para animales en crecimiento, parece demostrado que deben utilizarse exponentes inferiores a 0,75 (Webster, 1988; Blaxter, 1989).

De acuerdo con lo expuesto, no es de extrañar que en los modelos de regresión mencionados previamente todas las variables suelen ir divididas por un factor de escala metabólico (generalmente $PV, kg^{0,75}$).

2.2.1.2. El modelo de Koong.

Koong (1977) propuso un nuevo modelo con mayor fundamento biológico, basado en las siguientes ecuaciones:

$$ERG = k_f \times P \times IEM_p \quad (2.11)$$

$$ERP = k_p \times (1 - P) \times IEM_p \quad (2.12)$$

donde ERP es la energía retenida como proteína, ERG es la energía retenida como grasa, IEM_p es la ingesta de EM para la producción (calculada por diferencia entre la ingesta total de EM y la ingesta de EM para mantenimiento, IEM_m), k_p es la eficiencia energética de la deposición de proteína, k_f la eficiencia energética para la deposición de grasa y P es un parámetro que no es constante, sino que viene afectado por una serie de variables, tales como la composición de la dieta, nivel de alimentación, grado de madurez

fisiológica del animal, etc.; aquí representa la proporción de IEM_p utilizada para la deposición de grasa.

Puesto que es conocido que cuando se incrementa el nivel de alimentación la proporción de EM para la producción (IEM_p) utilizada para la síntesis de grasa se incrementa hasta alcanzar finalmente un valor constante y, por otra parte, que cuando se alimenta a un animal en crecimiento a un nivel por encima de mantenimiento, una gran proporción de su IEM_p será utilizada para depositar proteína, en detrimento de la deposición de grasa (lo que redundará en una disminución del valor de P), el efecto de IEM_p sobre P puede ser representado mediante una ecuación del tipo Michaelis-Menten:

$$P = \frac{IEM_p}{k + IEM_p} \quad (2.13)$$

donde k representa el nivel de IEM_p al cual el 50% de esa energía se utiliza para la síntesis de grasa y la otra mitad para la de proteína.

Sustituyendo la ecuación (2.13) en las ecuaciones (2.11) y (2.12) resulta:

$$ERG = k_f \times \frac{IEM_p}{k + IEM_p} \times IEM_p \quad (2.14)$$

$$ERP = k_p \times \frac{k}{k + IEM_p} \times IEM_p \quad (2.15)$$

que constituyen el modelo básico a comprobar con los datos experimentales.

2.2.1.3. Técnicas de regresión sesgada.

Roux y col (1983) han realizado un minucioso estudio de la varianza experimental encontrada en las estimaciones de las eficiencias parciales de deposición de proteína y grasa, llegando a la conclusión de que el problema fundamental de los modelos empleados es el de multicolinealidad entre las variables. Para tratar de suavizar este efecto, han propuesto utilizar modelos alternativos basados en técnicas de regresión sesgada para problemas no ortogonales, tales como la regresión "ridge" y la regresión

sobre componentes principales. Estos procedimientos analíticos alternativos merecen una cuidadosa investigación, puesto que, en algunos casos, proporcionan unas estimaciones de las eficiencias energéticas menos variables y biológicamente más reales que las obtenidas por los métodos de regresión tradicionales. Más recientemente, Bernier y col. (1987) han aplicado también estas técnicas de regresión sesgada, así como la técnica de simulación de Monte Carlo, para tratar de evitar la elevada correlación entre las variables, concluyendo que este tipo de técnicas tienen el inconveniente de introducir un peligroso componente de subjetividad en el análisis.

2.1.1.4. Modelos metabólicos.

Ninguno de los modelos descritos hasta ahora ha logrado demostrar que las eficiencias de utilización de la energía sean únicas, es decir, que tengan aplicación universal. Más bien parece ser lo contrario, esto es, que varían en función de la dieta, especie animal, nivel de alimentación y, probablemente, gran número de factores metabólicos desconocidos (Fowler y col., 1980; Reid y col., 1980).

Aparte del modelo de Koong (1977), anteriormente citado, ninguno de los modelos anteriores permite la incorporación de posibles efectos sobre el mantenimiento y las eficiencias energéticas. Por el contrario, se han comenzado a aplicar dos tipos de modelos matemáticos que tienen en cuenta estos hechos (Baldwin y Bywater, 1984). Los modelos causales (o de investigación) tratan de evaluar desde el punto de vista cuantitativo y dinámico la idoneidad de conceptos y datos recientes, así como identificar e interpretar correctamente experimentos sujetos a crítica. Este tipo de modelos son extraordinariamente teóricos (causales) e incorporan un considerable detalle fisiológico y metabólico; a resultas de ello, son demasiado complejos y caros como modelos predictivos o como componentes de sistemas de alimentación o de manejo. No obstante, pueden utilizarse para identificar y caracterizar elementos para su incorporación en modelos más empíricos o predictivos, más útiles en condiciones prácticas (Bywater, 1981; Oltjen, 1983).

El segundo procedimiento ha sido el desarrollo de modelos predictivos de las transacciones energéticas de los animales. Estos modelos de simulación son mucho más globales y empíricos que los modelos causales. Consideran generalmente, en forma pormenorizada, la digestión de los alimentos y el metabolismo de los nutrientes absorbidos (Black y col., 1976; Reichl, 1980; Oltjen y col., 1985; Gill y col., 1989). Además, a menudo consideran el "turnover" de macromoléculas en el animal y la partición de nutrientes entre diferentes tejidos. Estos elementos permiten la adaptación de estos modelos a una gran proporción de la varianza encontrada en los componentes de mantenimiento y de las eficiencias productivas, debida a la influencia de la composición de la dieta, composición de la ganancia o pérdida de energía corporal, edad y estado fisiológico del animal, etc. Sobre todo, a diferencia de los sistemas vigentes, estos modelos son dinámicos y, por consiguiente, contienen ecuaciones para tener en cuenta todos estos factores. Evidentemente que la filosofía y metodología necesarias para el desarrollo y verificación de rigurosos modelos predictivos son relativamente nuevas, de modo que los escasos modelos disponibles requieren todavía un posterior refinamiento (Black y col., 1976; Bywater, 1981). No obstante, cuando se conozca lo suficiente sobre sistemas animales y sus respuestas, los modelos predictivos contendrán provisiones para manejar adecuadamente la gran variabilidad encontrada en los estudios de mantenimiento y de eficiencias energéticas de los animales y terminarán por formar parte integral de los sistemas de alimentación, mejorando la precisión y aplicabilidad general de los mismos (Garrett y Johnson, 1983).

La disponibilidad y relativo bajo coste de los ordenadores personales contribuirán, sin duda, al desarrollo de este área de conocimiento, lo cual facilitará a corto plazo la aplicación práctica de este tipo de modelos.

2.2.2. Modelos utilizados en la práctica.

Hay fundamentalmente tres métodos para determinar en la práctica las necesidades energéticas de mantenimiento (IEM_m) y las eficiencias de utilización de la

energía de los animales (Henckel, 1976; Chwalibog, 1984), los cuales se detallarán a continuación.

2.2.2.1. Ensayos con animales en ayunas.

Este es el clásico método de determinación de las necesidades de mantenimiento. Implica determinar la producción de calor en ayunas (PCA) y aplicar un valor conocido de la eficiencia de utilización de la energía para el mantenimiento (k_m) para la transformación de PCA en EM, según la ecuación:

$$IEM_m = \frac{PCA}{k_m}$$

Una vez estimadas las necesidades de mantenimiento (IEM_m), se deduce este valor de la IEM de animales alimentados y se calcula la ingesta de EM para la producción (IEM_{pf}):

$$IEM_{pf} = IEM - IEM_m$$

Por último, la eficiencia de utilización de la EM para la producción (k_{pf}) se calcula a partir de la energía retenida (ER), según la expresión:

$$k_{pf} = \frac{ER}{IEM_{pf}}$$

Los inconvenientes de este procedimiento son los siguientes:

a) La producción de calor en ayunas puede ser variable a causa de la diferente actividad de los animales, más marcada en este caso que en condiciones de alimentación (Verstegen y col., 1982).

b) Es probable que los animales en ayunas presenten un estado fisiológico diferente al normal, puesto que utilizan su propia grasa corporal como fuente de energía. En consecuencia, puede que en ellos el metabolismo de los carbohidratos y la proteína esté alterado (Simon, 1980).

c) El método requiere un conocimiento previo de k_m , que actúa como un factor de escala y es crítico en relación con el resto de las estimaciones.

2.2.2.2. Ensayos de alimentación a nivel próximo a mantenimiento (retención energética cero).

Este método requiere un conocimiento previo de las eficiencias parciales de utilización de la EM para la retención de proteína (k_p) y grasa (k_f). La estimación del mantenimiento (IEM_m) se calcula a partir de la ingesta de EM para la producción (IEM_{pf}), según la ecuación:

$$IEM_{pf} = \frac{ERP}{k_p} + \frac{ERG}{k_f}$$

donde ERP y ERG representan la energía retenida como proteína y grasa, respectivamente.

A continuación se estima IEM_m a partir de la expresión:

$$IEM_m = IEM - IEM_{pf}$$

Este método plantea los siguientes problemas:

- a) Requiere un previo conocimiento de k_p y k_f .
- b) No puede aplicarse si los valores de ERP o ERG representan más de un 5% de la IEM.

2.2.2.3. Ensayos a diferentes niveles de alimentación.

Los valores de IEM_m y las eficiencias energéticas pueden estimarse a partir de ensayos a diferentes niveles de alimentación o de animales alimentados *ad libitum* (con una adecuada variación en IEM y ER), mediante modelos de regresión uni o multi-dimensionales, cuyas ventajas e inconvenientes han sido comentados con detalle en el apartado 2.1.

Dos son los procedimientos habituales. El primero de ellos se basa en el empleo de dos o más niveles de alimentación por encima de mantenimiento, una técnica que puede conducir a errores importantes si estos niveles se encuentran excesivamente

alejados del correspondiente nivel de mantenimiento, que es determinado por extrapolación; el segundo procedimiento consiste en emplear animales en ayunas o alimentados a un nivel ligeramente inferior al de mantenimiento teórico, lo cual presenta la ventaja de determinar, aparte del mantenimiento, la producción de calor en ayunas o metabolismo mínimo.

Generalmente se considera que las estimaciones de mantenimiento (IEM_m) basadas en el segundo procedimiento no son adecuadas, en base de que son determinadas en animales cuyo estado fisiológico no es el de animales en producción (procedimiento primero), puesto que en ayunas se produce una grave deficiencia energética que es contrarrestada mediante la oxidación de grasa corporal. Hay datos bibliográficos a favor (Eggum y Chwalibog, 1983; Thorbeck y col. 1984) o en contra (Aguilera y Prieto, 1987; Hoffmann y col., 1982) de la hipótesis de que existen diferencias en la estimación del mantenimiento entre ambos procedimientos.

2.3. El coste energético del crecimiento.

A medida que un animal crece su composición corporal se ve afectada por cambios físicos y químicos (Agricultural Research Council, 1981). La naturaleza de estos cambios depende no sólo de factores animales, tales como el genotipo, sexo y estado de salud, sino también de la historia nutricional, composición de la dieta, tipo de alimentación, efectos medioambientales, agentes anabolizantes, etc. Dos son las características más apreciables durante el crecimiento: la proporción de tejido esquelético que disminuye en relación a la de músculo y la relación grasa/músculo permanece estable durante una primera fase y luego se incrementa rápidamente.

El más importante de los procesos metabólicos en el animal en crecimiento, incluso en el caso de rápido crecimiento (pollos de carne y cerditos) es el mantenimiento (van Es, 1977).

El metabolismo de mantenimiento y los procesos de retención energética son, en cierto modo, competitivos: En caso de un suministro energético ligeramente superior al necesario para el mantenimiento, la retención energética se reduce considerablemente,

más la deposición grasa que la proteica siempre que la dieta contenga cierta cantidad de proteína. A niveles energéticos y proteicos elevados se produce una deposición proteica máxima (su magnitud es siempre inferior al de la deposición de grasa), aunque la eficiencia de este proceso no sea, en este caso, la máxima posible. A niveles energéticos elevados gran parte de la proteína absorbida en cantidades superiores a las requeridas para el mantenimiento proteico es convertida en grasa corporal; lo mismo ocurre con otras fuentes de energía ingeridas por encima de los niveles de mantenimiento. Esto significa que la magnitud de la deposición de grasa en el organismo animal varía mucho más que la de proteína o del metabolismo de mantenimiento. Este es el principal recurso que tiene un animal para contrarrestar ingestas energéticas elevadas. Por otra parte, en épocas de escasez de alimento, la grasa depositada puede ser movilizada con facilidad y utilizada como fuente energética para el mantenimiento.

El almacenamiento de energía como grasa en los tejidos es un proceso muy adecuado. La grasa tiene un valor calórico elevado (9,5 kcal ó 39,7 kJ/g). Aparte de ello, normalmente apenas sufre modificaciones metabólicas durante su deposición en el organismo; otras veces este proceso implica un reemplazamiento parcial de agua tisular. En un animal adulto la energía se retiene fundamentalmente como grasa; la deposición de proteína es muy pequeña. En consecuencia, una ganancia de peso vivo de 1g representa un almacenamiento de energía de unos 40 kJ. En cambio, en un animal en crecimiento la deposición proteica es prioritaria y suele ir acompañada por una retención de agua, puesto que los músculos, que actúan como principal sitio de reserva de proteína del organismo, tienen una relación proteína : agua de 0,33-0,25. La proteína contiene 5,7 kcal ó 23,8 kJ/g, de modo que el músculo libre de grasa tiene un valor calórico comprendido entre 1,4 y 1,1 kcal/g (5,9 - 4,6 kJ/g). Por lo tanto, en un animal en crecimiento la retención energética por gramo de ganancia de peso vivo es considerablemente menor que en el adulto, especialmente en caso de tasas de crecimiento bajas.

Probablemente debido a un proceso de selección para un rápido crecimiento, los animales de granja (pollos, cerdos y terneros) cuando ingieren, durante las primeras

etapas del crecimiento, raciones palatables de alta calidad sólo utilizan un tercio de su energía ingerida para el mantenimiento y dos tercios para su ganancia de peso vivo. En esta fase, el 50-60% de la energía se retiene en forma de proteína; el resto como grasa. En consecuencia, la ganancia de peso vivo es rica en agua y proteína y no contiene mucha grasa. En etapas posteriores del crecimiento las necesidades energéticas de mantenimiento se incrementan debido a un aumento del peso vivo. Hay una ligera compensación a este respecto en los animales de mayor edad, ya que suelen ser más tranquilos y, por otra parte, las necesidades energéticas requeridas para el mantenimiento del "turnover" proteico, expresadas por unidad de peso metabólico ($\text{kcal EM/ kg}^{3/4}$) decrecen con la edad (de 150 a 120 en las primeras etapas del crecimiento a 100 - 80 en la madurez).

Por otra parte, el apetito de los animales también decrece en relación al peso vivo. La razón alimento para mantenimiento : alimento total, varía desde 1 : 3 en edades tempranas a 1 : 1,5 en las proximidades de la madurez. Al mismo tiempo la energía retenida como grasa se vuelve cada vez más predominante, alcanzándose el punto culminante en el animal adulto, en el cual el 85 - 90% de la energía depositada es grasa, y sólo el 10 - 15% proteína.

Los resultados experimentales parecen indicar que durante el crecimiento, la producción de calor está más relacionada con la deposición proteica que con la de grasa y, asimismo, que la partición de la energía entre mantenimiento y energía retenida entre proteína y grasa no es constante, sino que varía considerablemente a lo largo del tiempo.

El coste energético de la deposición de grasa sólo puede estimarse con precisión en el animal adulto, puesto que, en estas circunstancias, la cantidad de energía retenida como proteína es pequeña y la energía metabolizable (EM) requerida para el mantenimiento no difiere mucho entre las medidas sucesivas (Pullar y Webster, 1977). En cambio, el coste energético de la deposición de proteína es más difícil de evaluar. En primer lugar, porque incluso durante la fase de rápido crecimiento la cantidad de energía depositada como proteína es pequeña en relación a la retenida como grasa o disipada como calor; en segundo lugar, porque la partición de la EM entre mantenimiento y

deposición de proteína y grasa varía continuamente durante el crecimiento, como ya se ha mencionado previamente, y estos cambios están estrechamente correlacionados. Cuando se utiliza el clásico modelo de regresión múltiple (Kielanowski, 1965), aparte de los problemas de colinearidad del modelo, al ser el componente del mantenimiento, con mucho, el cuantitativamente más importante, pequeñas incertidumbres en la estimación del mismo afectan considerablemente a los costes energéticos de deposición de proteína y grasa.

Pullar y Webster (1974) trataron de superar estas limitaciones realizando experimentos con ratas magras y obesas, seleccionadas genéticamente, a fin de obtener una notable diferencia de deposición proteica con el mismo nivel de alimentación. El balance energético se midió en pequeños grupos de ratas, a dos pesos vivos diferentes, y a dos niveles de alimentación (alto y bajo). Puesto que la proporción de energía retenida como proteína era menor en las ratas obesas (14%) que en las magras (75%) durante todas las etapas del crecimiento, se asumió que en este caso la partición de la energía era independiente del mantenimiento y del estado de madurez fisiológica de los animales.

Aplicando a sus datos el modelo:

$$PC = a PV^n + (1-k_{pf}) IEM + c$$

que ya ha sido mencionado en el apartado 2.1 (ecuación 5), determinaron las eficiencias de utilización de la energía (k_{pf}) en cada una de las razas. A partir de ellas, mediante un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, teniendo en cuenta la proporción de energía retenida como proteína y grasa específica de cada raza, calcularon las eficiencias de utilización de la energía para la deposición de proteína (k_p) y grasa (k_f).

Desgraciadamente, este método alternativo tampoco está libre de crítica, ya que asume que dentro de cada raza las necesidades de mantenimiento son constantes, independientemente del peso vivo y del nivel de alimentación empleado, lo cual es cuestionable. Por otra parte, asume también que las eficiencias energéticas de deposición de proteína y grasa son constantes entre animales y tratamientos, independientemente del peso vivo y del fenotipo, lo que parece fácilmente rebatible.

Otro aspecto a considerar es que durante el crecimiento, el metabolismo mínimo (producción de calor basal, PCB, o en ayunas PCA), por unidad de peso metabólico (peso vivo, PV, elevado a un exponente, n , que varía entre 0 y 1) es generalmente mayor que el observado en el animal adulto. En general, se admite que la relación entre PCB y PV varía de acuerdo a un exponente de PV inferior a 0,75, que es el adoptado para animales adultos. Esto sucede porque el animal más joven, de menor tamaño, tiene mayor producción de calor por unidad de peso metabólico que el animal adulto (Blaxter, 1989).

2.4. La influencia del contenido energético y proteico de la dieta sobre el coste energético de la deposición proteica.

Desde las primeras observaciones realizadas por Schoenheimer (1942) acerca del estado dinámico de la proteína corporal, está bien establecido que la deposición proteica es realmente la resultante del mecanismo de renovación proteica ("turnover" proteico), que engloba a dos procesos concomitantes (síntesis y degradación) en funcionamiento continuo, incluso cuando el balance de nitrógeno (N ingerido / N excretado) es cero o negativo. Cualquier cambio producido en la tasa de deposición proteica puede ser originado por una variación cuantitativa de la síntesis, de la degradación proteica, o de ambos procesos al mismo tiempo. Por otra parte, es obvio que para que tenga lugar un determinado nivel de deposición proteica, debe haber un aumento relativo de la síntesis o una disminución marginal de la degradación proteica.

El proceso de síntesis proteica supone una considerable penalización energética para el organismo animal. La formación de cada enlace peptídico tiene un coste de 4 moles de ATP (Millward y col., 1976), el cual se suele incrementar generalmente en varias unidades desde el punto de vista teórico, a fin de tener en cuenta la contribución energética de otros mecanismos tales como la síntesis de ARN o el transporte intracelular de aminoácidos. Considerando los costes energéticos asociados con la producción de un mol de ATP a partir de las principales fuentes energéticas a nivel metabólico (carbohidratos y lípidos en los animales monogástricos y ácidos grasos

volátiles de cadena corta en los rumiantes), se ha estimado que se requiere entre 3,6 y 6,9 kJ por gramo de proteína sintetizada (Buttery y Boorman, 1976; Webster, 1981). Adoptando un valor medio de 4,5 kJ/g, la síntesis proteica representa, como mínimo del 16 al 20% de la producción de calor en la mayoría de las especies, independientemente del nivel de alimentación (Lobley, 1988; tabla 2.3).

Hasta hace poco se había asumido que el otro componente del "turnover" proteico, la degradación proteica, apenas representaba coste energético para el organismo animal. Por el contrario, actualmente se sostiene que el mantenimiento del pH ácido en los lisosomas (Gronostajski y col., 1985) o la activación de la ubiquitina, una señal para que comience la degradación a nivel celular (Ciechanover y col, 1984), requieren hidrólisis de ATP. Ninguno de estos procesos representa un considerable coste energético; en cambio, se ha mencionado (Milligan y Summers, 1986) que la inhibición de la proteólisis intracelular en los reticulocitos puede representar el 15% del gasto energético celular. Si este dato fuese extrapolable a nivel general, puesto que síntesis y degradación proteicas son comparables desde el punto de vista cuantitativo, el "turnover" proteico podría suponer del 30 al 40% de la producción de calor de una animal.

Aunque la contribución exacta de la síntesis proteica al gasto energético de los animales en diversas situaciones es discutible, y aún más la referente a la degradación proteica, es evidente que hay una profunda relación entre el "turnover" proteico y la retención energética. En situaciones de reducción de la síntesis y la degradación proteica se dispone de energía extra para la deposición de grasa; por el contrario, cuando los costes de deposición proteica sean elevados se produce una disminución de la energía disponible para la deposición lipídica.

Es bien conocida (Boorman, 1980) la existencia de una interacción entre la energía y la proteína de la dieta y su repercusión sobre la deposición proteica en el organismo animal. Ello se debe, básicamente, a que la proteína es una de las fuentes energéticas de la dieta, a que se requiere energía para el proceso de renovación proteica ("turnover") y, por último, a que la proteína depositada representa una fracción de la

Tabla 2.3. Tasas de síntesis proteica y su contribución mínima a la producción total de calor en diversas especies animales (Lobley, 1988).

Nivel de alimentación	Producción de calor (PC, MJ/día)	Síntesis proteica (SP) ^a		(SP/PC) x 100 ^b
		g/día	g/kg ^{0,75} y día	
<i>Déficit de proteína^a</i>				
Pollo (PP)	-	20	16	-
Ovin (PP)	-	362	17	-
Hombre (A)	7,6	206	9	12
" (A)	6,0	214	9	16
" (A)	6,4	266	9	18
Vacuno (A)	39,6	1738	18	20
<i>Mantenimiento</i>				
Cerdo	7,7	319	24	19
Ovino	9,8	407	20	16
Hombre	8,1	294	13	16
Vacuno	52,4	2125	21	20
<i>Producción</i>				
Pollo	0,24	16	39	20
Cerdo	11,5	513	26	18
Ovino	9,2	418	24	20
Vacuno	65,9	2681	26	18

^a Los datos están basados en medidas del flujo de leucina.

^b Proporción de la producción de calor debida a la síntesis proteica. Se asume que el coste energético de la síntesis proteica es de 4,5 kJ/g.

^c A, ayunas; PP, dieta proteinopriva.

energía almacenada por el animal. La relación óptima energía proteica : energía total requerida para el óptimo crecimiento varía según la especie animal, siendo de 0,20 en el cordero, de 0,26 en el cerdo y de 0,27 - 0,31 en el pollo. (Lobley, 1988).

Tres son los factores que actúan fundamentalmente sobre la retención de nitrógeno en los animales: La ingesta de energía, la de proteína y la calidad proteica de la dieta.

Con respecto a los dos primeros factores, Fraps (1943) fue uno de los primeros investigadores en afirmar que la composición corporal de los animales puede alterarse a través de la manipulación del contenido proteico y energético de la dieta. A partir de sus estudios, se estableció el concepto de la relación energía:proteína, que fue desarrollado como un medio para formular adecuadamente las dietas para aves (Combs y Rosomer, 1955). De las primeras observaciones se concluyó que los pollos alimentados con dietas de elevado contenido proteico necesitaban un mayor aporte de proteína en la dieta para alcanzar un crecimiento máximo; se encontró, asimismo una relación significativa entre el contenido en grasa de la canal y la relación energía:proteína de la dieta (Donaldson y col., 1956)

Desde entonces se ha estudiado exhaustivamente el efecto del nivel energético y proteico de la dieta sobre la composición corporal y la eficiencia de utilización de la energía y la proteína en los animales. Con respecto al nivel energético de la dieta, al incrementarse éste se produce, por lo general, un aumento del contenido en grasa de la canal y, paralelamente, una disminución del contenido de proteína y agua (Farrell, 1974a; Jackson y col., 1982; Pesti y Fletcher, 1983; Close y col., 1983; MacLeod, 1990). Hay discrepancias en cuanto al efecto del nivel de energía de la dieta sobre la eficiencia neta de utilización de la energía; la mayoría de los trabajos realizados parecen indicar que al aumentar el nivel energético de la dieta esta eficiencia también se incrementa (Jackson y col., 1982; Nakhata y Anderson, 1982; MacLeod, 1990), aunque en otros casos no se ha podido demostrar este hecho (Davidson, 1965; Farrell, 1974b; Close y col., 1983).

En relación al efecto del nivel proteico de la dieta, al reducirse éste se produce inevitablemente un cambio en la composición corporal de los animales, consistente en

una disminución del contenido en proteína y agua y, paralelamente, un aumento del contenido en grasa (Jackson y col, 1982; Nakhata y Anderson, 1982; Close y col, 1983; MacLeod, 1990). En cuanto a la repercusión de la concentración de proteína dietética sobre la eficiencia neta de utilización de la energía, los resultados obtenidos, como veremos más adelante, son contradictorios.

Por otra parte, se ha indicado que en niños (Golden y col., 1977) y en cerdos en crecimiento (Reeds y col., 1980), el incremento de la ingesta de alimento va asociado a una alta tasa tanto de síntesis como de degradación proteica. Para tratar de averiguar si los cambios producidos en este caso en el "turnover" proteico son debidos a la ingesta de energía proteica, de energía no proteica o de ambas a la vez, Reeds y col., (1981) realizaron una serie de experimentos con cerdos en rápido crecimiento en los que se suministraba a los animales, en función del peso metabólico ($\text{kg}^{0,75}$), una dieta base o ésta adicionada de un suplemento a base de carbohidratos, de grasa o de proteína, a fin de elevar su contenido energético. Los resultados obtenidos sugieren que la relación entre síntesis y deposición proteica no es constante, sino que depende de la naturaleza de la dieta. Los limitados datos disponibles en otras especies animales parecen confirmar este hecho. En cerdos en rápido crecimiento (Reeds y col., 1980) y en corderos (Davis y col., 1981) la relación síntesis : deposición proteica está próxima al 50%; en vacuno de carne adulto (Lobley y col., 1987), la cifra es del 24%; sorprendentemente en niños realimentados tras un periodo de severa malnutrición (Golden y col., 1977), la proteína sintetizada se conserva muy eficientemente (73%).

Otra de las conclusiones de los trabajos efectuados por Reeds y col., (1981) es que el coste energético de la deposición proteica varía en función de las proporciones relativas de energía proteica y no proteica de la dieta. Al alterarse la naturaleza de la fuente energética suplementada se modificó la relación entre la energía retenida como grasa y como proteína. La adición de grasa, carbohidratos o proteína a la dieta base supuso, con respecto a la energía total depositada, un incremento relativo de la energía retenida como proteína del 22, 19 y 100% respectivamente (tabla 2.4).

Los cambios inducidos en la síntesis proteica por las diferentes fuentes de energía fueron muy diferentes. En el caso de la grasa, el incremento de la síntesis fue inferior a la mejora observada en la retención de nitrógeno, de modo que presumiblemente se redujo la degradación proteica. La adición de carbohidratos no produjo modificaciones en la degradación proteica, de modo que los incrementos observados de síntesis proteica y en retención energética fueron similares. Con respecto a la proteína, se incrementaron notablemente tanto la síntesis como la degradación proteicas. Era de esperar en estos experimentos que se produjeran alteraciones en la eficiencia de utilización de la energía total retenida, en función de las distintas fuentes energéticas utilizadas en la dieta y a las diferentes eficiencias de utilización de la energía de los nutrientes para los procesos de síntesis (grasa a grasa, carbohidratos a grasa, aminoácidos a proteína y proteína a grasa; ver tabla 2.2); lo sorprendente fue constatar el efecto directo de esta suplementación sobre el metabolismo proteico.

Tabla 2.4. Efecto de la suplementación con diversas fuentes energéticas a una dieta base sobre la retención energética como proteína y grasa y la dinámica del metabolismo proteico en cerdos en crecimiento (Reeds y col., 1981).

Suplementación	Incremento producido en la energía retenida (kJ/kg ^{0,75})		Incremento producido en el turnover proteico (g/kg ^{0,75})	
	Proteína	Grasa	Síntesis	Degradación
Grasa	+ 100	+ 346	+ 0,43	- 0,46
Carbohidratos	+ 70	+ 289	+ 0,76	- 0,03
Proteína	+ 63	- 68	+ 1,94	+ 1,22

Reeds y Fuller (1983) sugirieron que en el cerdo (Reeds y col., 1981) los efectos causados por alteraciones de la energía y la proteína de la dieta sobre el metabolismo proteico son aditivos, es decir, que dependen de diferentes mecanismos ligados al

"turnover" proteico. Kita y col (1989) diseñaron un experimento en pollos para confirmar esta hipótesis utilizando diferentes niveles de ingesta de energía y proteína (deficiente, adecuado y en exceso). Sus conclusiones fueron que la síntesis proteica está influida tanto por los niveles de proteína como de energía metabolizable de la dieta (el efecto de la energía era más patente con un exceso de proteína y, a la inversa, el de la proteína con un exceso de energía), de modo que parece que los mecanismos reguladores de la síntesis proteica en respuesta a los cambios producidos en la concentración energética y/o proteica de la dieta son similares en mamíferos y aves. Por otra parte, al incrementarse la ingesta de energía no proteica desde niveles deficientes a adecuados hubo un incremento tanto de la síntesis como de la degradación proteica, menos evidente en éste último caso. No se apreciaron cambios en el "turnover" proteico al suministrar un exceso de energía en la dieta.

El efecto de la concentración proteica de la dieta sobre la eficiencia de utilización de la energía del alimento es una vieja controversia que aún es debatida en la actualidad (ver apartado 2.1.3.2.). En el clásico experimento de Miller y Payne (1962), con cerdos en crecimiento, se encontró que al haber una restricción proteica en la dieta, los animales consumían cinco veces más energía que con una dieta normal, produciéndose un incremento en la producción de calor y, por consiguiente, un aumento del coste energético, o lo que es lo mismo, una disminución de la eficiencia de utilización de la energía de la dieta. Los autores proponían que el mecanismo regulador que contrarrestaba el exceso de energía ingerida consistía en un aumento de la producción de calor; esta hipótesis dio origen al concepto de termogénesis inducida por la dieta.

En apoyo de esta teoría se han publicado numerosos trabajos; por ejemplo, los de McCracken y Gray, 1976; Tulp y col., 1979; Rothwell y col., 1982 ; Swick y Gribskov, 1983 y Coyer y col., 1987). Por el contrario, de otros experimentos (Gurr y col., 1980; Fuller, 1983; McCracken y McAllister, 1984 y MacLeod, 1990), no puede deducirse la existencia de este mecanismo biológico. No hay dudas de que las observaciones originales de Miller y Payne (1962) fueran correctas; lo que sucede es que, al parecer, el

efecto observado puede explicarse, simplemente, mediante cambios producidos en la composición corporal de los animales.

En el contexto del clásico análisis factorial de la partición de la energía (Agricultural Research Council, 1981), el incremento calórico causado por alteraciones en la cantidad de proteína dietética puede ser adscrito a las necesidades de mantenimiento, o bien, ser el causante de modificaciones en los costes energéticos del crecimiento. Según Fuller (1983), al disminuir el contenido proteico de la dieta, la contribución de la proteína a la energía total de la dieta tendría un efecto de mejora sobre la eficiencia de utilización de la energía. Este efecto se basa, en primer lugar, en que la energía de la proteína se utiliza menos eficientemente que la de carbohidratos o grasa para la formación de ATP o NADPH. Por consiguiente, en caso de dietas pobres en proteína debería haber un aumento de la eficiencia de utilización de la energía, destinada al mantenimiento y la lipogénesis. En segundo lugar, porque una reducción de la concentración de proteína de la dieta, a igualdad de ingesta energética, daría lugar a una menor tasa de deposición proteica y a un aumento de la deposición de grasa. Puesto que la eficiencia energética del primero de estos procesos es inferior a la del segundo, debería haber una disminución de la producción de calor.

Este aumento de la eficiencia neta de utilización de la energía provocado al disminuir la concentración proteica de la dieta sólo se ha logrado confirmar en un limitado número de experimentos (Walker y Norton, 1971; Guillaume y col. 1980; Jackson y col., 1982; Nakhata y Anderson, 1982; Fattet y col., 1984; Keagy y col, 1987); en otros casos se ha encontrado que la eficiencia disminuye en este caso (Müller y Kirchgessner, 1974) o bien que es independiente del nivel proteico de la dieta (Davidson, 1965; Velu y col, 1971; McCracken y Weatherup, 1973; Holmes y col., 1979; Close y Berschauer, 1981; Close y col., 1983; Alster y Carew, 1984; MacLeod, 1990).

Con respecto al efecto del nivel proteico de la dieta sobre la eficiencias energéticas parciales de deposición de proteína y grasa, la evidencia experimental a este respecto indica que, por lo general, al reducirse dicho nivel disminuye la eficiencia de deposición de proteína y aumenta la de grasa (Close y Berschauer, 1981; Campbell y

Dunkin, 1983; Coyer y col., 1987; MacLeod, 1990). No obstante, Close y col., (1983) encontraron, al asumir un valor constante de eficiencia energética de utilización de la grasa, que la eficiencia parcial de la deposición proteica permanecía constante.

En cuanto a la influencia de la calidad proteica de la dieta, es decir, su composición aminoacídica, sobre la eficiencia neta de utilización de la energía y la eficiencia energética de la deposición proteica en el organismo animal, el número de trabajos publicados sobre el tema es extraordinariamente limitado

En caso de dietas isoenergéticas deficientes en lisina que fueron suplementadas con diferentes niveles de dicho aminoácido (Fuller y col., 1987b; Sibbald y Wolynetz, 1986) se produjo un cambio notable en la composición corporal de los animales, consistente en un aumento de la retención de proteína y una disminución de la grasa corporal; no hubo efecto significativo del nivel de lisina sobre la eficiencia neta de utilización de la energía. A conclusiones equivalentes llegaron Sugahara y col. (1991) que estudiaron en pollos, mediante alimentación forzada, a fin de evitar diferencias en ingesta de alimento, el efecto de una deficiencia gradual en triptófano.

En caso de una deficiencia en uno o más aminoácidos esenciales en la dieta se producen cambios cualitativos en el "turnover" proteico aparentemente similares a los detectados en caso de variaciones en la cantidad de proteína de la dieta. En este sentido, en humanos (Meredith y col., 1982), cuando varía la concentración de un aminoácido en la dieta (leucina, Meredith y col., 1982; valina y lisina, Meguid y col., 1986a, b; Meredith y col., 1986) desde un nivel deficiente hasta un exceso, la síntesis de proteína total corporal se incrementa linealmente hasta un determinado nivel y luego permanece constante. En ratas, Laurent y col., (1984) obtuvieron resultados similares.

En aves, la deficiencia de uno sólo de los aminoácidos esenciales produce una disminución de la tasa de síntesis y, probablemente, de la tasa de degradación proteica a nivel corporal. Basta la suplementación con este aminoácido para restaurar de nuevo los niveles normales de "turnover" proteico (Muramatsu, 1990). A este respecto, Hiramoto y col., (1990) realizaron una serie de ensayos en gallinas ponedoras alimentadas con harina de gluten de maíz o concentrado de haba de soja como únicas fuentes de proteína

de la dieta, a fin de provocar una deficiencia en lisina o metionina, encontrando que cuando se suplementaban estos aminoácidos a la dieta, mejoraba notablemente tanto la tasa de síntesis como la de degradación proteica. En esta misma línea, Kino y Okumura (1987) indicaron que, en pollos en crecimiento, el déficit de aminoácidos azufrados (metionina + cistina) o de histidina en la dieta causaba una reducción de la síntesis proteica total corporal.

Este mismo efecto está bien documentado en animales mamíferos. Conway y col. (1980) encontraron que en humanos la suplementación de lisina a una dieta deficiente en este aminoácido incrementaba considerablemente la tasa de "turnover" proteico corporal. Por otra parte, como ya se ha mencionado previamente, en humanos y en ratas una deficiencia en leucina, valina o lisina produce una reducción de la síntesis proteica (Meredith y col., 1982, 1986; Meguid y col., 1986a, b; Laurent y col., 1984).

Roeder y Broderick (1981) hallaron, en experimentos realizados con ratas, que la adición de lisina y treonina a una dieta a base de gluten de trigo produce un incremento del 50% en la ingesta voluntaria de alimento, así como de la síntesis y de la degradación proteica (2,3 y 1,7 veces, respectivamente) a nivel corporal total. Por otra parte, Hayase y Yoshida (1980) indicaron que, en ratas, al mejorar la calidad biológica de la proteína aumenta la tasa de síntesis de proteína en hígado y riñón y disminuye la degradación proteica en hígado y músculo esquelético.

En los dos trabajos anteriores no se controló adecuadamente la ingesta de alimento, de modo que del diseño experimental es difícil discernir si el efecto encontrado sobre el "turnover" proteico se debe a la calidad proteica "per se" o a modificaciones de la ingesta de energía de procedencia proteica o no proteica, un hecho que, según se ha mencionado (tabla 2.4), repercute sobre la síntesis proteica total corporal (Reeds y col., 1980; 1981).

Se han realizado algunos ensayos con ingesta controlada, para tratar de evitar el efecto de confundido entre calidad proteica e ingesta de alimento. En ratas, Omsted y col. (1978) encontraron que al aumentar la calidad proteica de la dieta aumenta la

síntesis y, en menor proporción, la degradación proteica, en músculo esquelético. De todos modos, es cuestionable extrapolar estos resultados a nivel corporal total.

Fuller y col. (1987a) estudiaron el efecto de la cantidad y calidad proteica de la dieta sobre la tasa de deposición de proteína. Utilizaron en sus ensayos cerdos en crecimiento a los que suministraban cuatro dietas diferentes: una dieta base, rica en proteína pero deficiente en lisina (HP), una dieta pobre en proteína (LP), formulada diluyendo la dieta base con una fuente de energía no proteica (almidón, sacarosa, celulosa y aceite de maíz) y las dos dietas anteriores suplementadas con lisina (HP+ y LP+).

Al aumentar la cantidad y calidad proteica de la dieta hubo un incremento de la deposición proteica (calculada como retención de nitrógeno) y, paralelamente, una disminución de la deposición lipídica, no alterándose significativamente, en ningún caso la producción de calor. Asumiendo que el coste energético de la deposición de grasa es constante, la relación producción de calor : deposición proteica sugería que el incremento calórico estaba más relacionado con la cantidad que con la calidad proteica, lo que implica, de ser cierto este hecho, que es energéticamente más costoso (o lo que es lo mismo, menos eficiente) tratar de incrementar la deposición proteica administrando mayor cantidad de proteína en la dieta que mejorando la calidad proteica de la misma.

Estos resultados son cuestionables en base a que debido a problemas de racionamiento (al tratar de igualar la ingesta de nitrógeno en los diferentes grupos de animales se redujo excesivamente la ingestión de alimento), sólo se obtuvieron escasas diferencias en ganancia de peso vivo entre los tratamientos. Por otra parte, la composición de las dietas experimentales era diferente, no sólo en el aspecto proteico, sino también en cuanto a la energía de procedencia no proteica (las dietas pobres en proteína, LP y LP+, contenían mayor proporción de carbohidratos, por otra parte altamente digestibles). Por último, la cantidad y la calidad proteica de la dieta afectaron no sólo a las variables en estudio (deposición proteica y producción de calor), sino también a la deposición de grasa, lo que dificulta extraordinariamente la interpretación de los resultados.

Para tratar de paliar estos inconvenientes, Fuller y col (1987b) diseñaron unos nuevos ensayos. Las dietas empleadas fueron las mismas pero ahora se duplicó la tasa de deposición proteica (retención de nitrógeno) con ingesta controlada, sin que hubiera diferencias en ingesta de energía metabolizable ni de nitrógeno entre los animales experimentales, a fin de evitar un efecto de confundido entre calidad y cantidad proteica. De nuevo hubo un incremento de la tasa de deposición proteica al aumentar la concentración proteica y al mejorar la calidad proteica, aunque en este último caso el efecto sólo fue significativo con una de las dietas (LP+). Por otra parte, como ya se ha mencionado previamente, la calidad proteica no tuvo ningún efecto aparente sobre la síntesis proteica (hubo incrementos, pero no significativos), deduciéndose que el incremento producido en la retención proteica se debía a una reducción de la degradación proteica.

Estos experimentos parecen confirmar de nuevo, en concordancia con otros (Golden y col., 1977; Reeds y col., 1980, 1981; Davis y col., 1981; Lobley y col., 1987) que la relación entre síntesis y degradación proteica no es necesariamente constante; por otra parte, son ilustrativos de las dificultades inherentes a la separación de los costes energéticos de deposición de proteína y de grasa. La adición de lisina a la dieta base dio lugar a un incremento de la deposición proteica, causada en este caso por una disminución de la degradación proteica; concomitantemente, hubo una reducción de la deposición lipídica. Es evidente, por tanto, que es bastante difícil de separar el incremento calórico asociado específicamente a la deposición de proteína del correspondiente a otros procesos relacionados con el crecimiento (deposición de grasa, fundamentalmente).

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Esquema experimental.

El método comunmente seguido para determinar la eficiencia con que el animal utiliza la energía que le proporciona el alimento en atender a sus procesos productivos y definir la ingesta energética que cubre sus necesidades de mantenimiento consiste en llevar a cabo medidas de balance energético en animales sometidos a planos de alimentación variables, superiores al de mantenimiento teórico. Si la variación de nivel de ingesta es suficientemente amplia la recta de regresión que relaciona la retención energética con la ingesta de energía útil proporciona una estimación precisa no sólo de la eficiencia con que ésta es utilizada para la producción, sino también de las necesidades energéticas de mantenimiento del animal. En el pollo de carne evidentemente el proceso productivo es el crecimiento medido en términos de energía retenida en su organismo bajo la forma de grasa y proteína. Este es el procedimiento que se ha seguido para verificar la hipótesis enunciada y, en general, cubrir los objetivos propuestos. De acuerdo con él el trabajo experimental quedó estructurado según el siguiente esquema experimental:

- Primer grupo de ensayos (I - VI). Comprende seis ensayos de crecimiento y de balance y sacrificio comparado, diseñados para estudiar el efecto de la distinta calidad biológica de la proteína de las dietas experimentales sobre la eficiencia de utilización de la energía en el organismo de los animales que las consumen. Los dos primeros ensayos se proyectaron para cubrir el múltiple objetivo de proporcionar datos de ingestión voluntaria, balance energético y retención de nitrógeno derivados del consumo completamente *ad libitum* de dietas de distinta calidad proteica y de seleccionar para los ensayos siguientes aquéllas que promoviesen diferencias notables de crecimiento (superiores al 10%) y estadísticamente significativas, juzgadas a través de la medida de los índices de transformación y coeficientes de eficacia en crecimiento. De acuerdo con ello en los ensayos I y II se sometieron a experimentación cuatro dietas de similar contenido energético y proteico, semisintéticas, formuladas con harina de torta de soja como única fuente de proteína, la cual se suplementó con aminoácidos para alterar la

calidad biológica de su fracción proteica. En atención al uso extendido que se hace de la DL-metionina y L-lisina en la formulación de alimentos compuestos utilizados en avicultura, se puso énfasis en el estudio de este tipo de complementación. Los datos proporcionados por el consumo ad libitum de las dietas empleadas en estos dos ensayos permitieron la selección de tres dietas con las que se continuó el trabajo experimental, principalmente con alimentación restringida. Se estimó necesario realizar comparaciones entre tratamientos bajo niveles idénticos de ingestión, y los datos de consumo de alimento proporcionados por los ensayos I y II permitieron llevar a cabo tales análisis comparativos con tres niveles distintos de ingesta restringida dentro de cada tratamiento. El análisis de los datos que proporcionaron los seis ensayos de balance y sacrificio anteriores planteó la conveniencia de llevar a cabo un segundo grupo de ensayos (ensayos VII y VIII) y operar en dos direcciones:

-De una parte, y en un intento de obviar los problemas de colinearidad que el modelo de Kielanowski (1965) presenta para el cálculo de las eficiencias parciales de utilización de la energía metabolizable para la síntesis neta de proteína y deposición de grasa, se desarrolló un ensayo de balance y sacrificio (ensayo VII) en el que los animales experimentales consumieron una dieta no suplementada con aminoácidos, de idéntica composición en ingredientes a las estudiadas en los ensayos anteriores, pero con bajo contenido en proteína (suficiente para cubrir las necesidades de nitrógeno para mantenimiento), para promover retenciones energéticas esencialmente derivadas de la deposición de grasa. La eficacia energética de esta dieta, corregida para anular la ligera deposición proteica observada, se asumiría, más tarde, como invariable (representativa de la eficacia con que la energía de la dieta se usa para la deposición neta de grasa) en el cálculo por diferencia de la eficiencia parcial de uso de la energía metabolizable de las dietas experimentales para la deposición de proteína.

-De otra parte, se pretendió contrastar las diferencias de eficiencia energética observadas entre dietas, en el primer grupo de ensayos, utilizando niveles de alimentación inferiores al de mantenimiento teórico, circunstancia ésta en clara contraposición con la registrada en los ensayos de balance y sacrificio comparado. A tal fin se llevó a cabo un ensayo de

balance energético (ensayo VIII) con medida de la producción de calor en cámara de respirometría de circuito abierto.

3.1.1. Primer grupo de ensayos.

3.1.1.1. Animales y dietas.

Se utilizaron pollos de carne (broilers) White Rock, de un día de edad, machos (se evitó el empleo indiscriminado de machos y hembras para evitar diferencias en los resultados ligadas al sexo), que consumieron en los primeros diez días de vida una dieta comercial de iniciación (Sanders A-00; tabla 3.1). Durante la fase experimental que les siguió, una vez formados los correspondientes lotes de la manera que después se dirá, se les administró a cada grupo sólo una de las dietas sujetas a estudio. Estas fueron de naturaleza semisintética, isocalóricas e isonitrogenadas, aunque, respecto a su proteína, de diferente valor biológico. Todas ellas estaban basadas en harina de torta de soja y almidón de maíz que fueron suplementados o no con aminoácidos sintéticos (DL-metionina, o L-lisina) y se formularon teniendo en cuenta las recomendaciones del INRA (1984) respecto a necesidades energéticas y proteicas del pollo de carne en su primera etapa de crecimiento (tabla 3.2). Las dietas estudiadas fueron designadas como : Dieta base, formulada con harina de torta de soja (Dieta S); dieta base anterior suplementada con 0,2% de DL-metionina (Dieta SM); dieta base suplementada con 1% de L-lisina (Dieta soja + 1% L-Lys); y dieta base suplementada con 2% de L-lisina (Dieta SL). La dieta soja + 1% L-Lys fue descartada tras el examen de los datos registrados en los ensayos I y II. . La incorporación de aminoácidos se realizó una vez conocidos los contenidos en estos nutrientes de la dieta base (Pérez y col., 1993; tabla 3.3). La incorporación de aminoácidos persiguió equilibrar (por adición de DL-metionina) o desequilibrar (por incorporación de L-lisina) la proteína dietética. Diariamente se ofreció la cantidad correspondiente de alimento según una escala creciente y ajustada a la evolución esperada en peso vivo y, consecuentemente, capacidad de ingestión del animal.

Tabla 3.1. Dieta comercial de iniciación para pollos de carne, empleada en todos los ensayos durante la primera semana de vida de los animales (Sanders A-00).

Ingredientes:

Cereales, harinas o tortas de oleaginosas, subproductos de maicería, subproductos de molinería, harinas o peladuras de mandioca, harinas de carne, harinas proteicas de animales marinos, grasas, pre-mezcla minero-vitamínica.

Análisis químico

Proteína bruta	20,5%
Grasa bruta	5,0%
Celulosa bruta	4,0%
Cenizas brutas	6,0%
Almidón	38,0%
Ca	1,0%
P	0,70%
Na	0,15%
Lisina	1,25%
Metionina	0,60%
Vitamina A	10000 U.I./kg
Vitamina D	2000 U.I./kg
Vitamina E (α -tocoferol)	20 U.I./kg

Aditivos

Etoxiquin	125mg /kg
Salinomicina	60mg /kg
Avoparvicina	10mg /kg

Tabla 3.2. Composición de las dietas experimentales utilizadas en los ensayos de crecimiento y de sacrificio comparado¹.

	Soja (S)	Soja + 1% L-lys	Soja +2% L-lys (SL)	Soja + 0.2% DL- met (SM)	Soja (S _{bp})
Ingredientes (g/kg de dieta)					
Soja	402,0	380,0	360,0	402,0	135,0
Aceite de maiz ²	55,1	55,4	55,6	55,1	40,0
Mezcla mineral- vitamínica ³	111,3	111,3	111,3	111,3	111,3
L-Lisina	-	10,0	20,0	-	-
DL-Metionina	-	-	-	2,0	-
Almidón	431,6	443,3	453,6	429,6	714,0
Análisis químico					
MS (g/kg)	924	925	930	930	896
PB (g/kg MS)	203,8	199,3	201,3	202,6	66,0
EB (kJ/g MS)	18,43	18,41	18,52	18,25	17,14

¹ Las dietas designadas como S, SL y SM fueron seleccionadas para realizar con ellas los ensayos de balance y sacrificio, la dieta S_{bp}, de bajo contenido en proteína, fue utilizada en el ensayo VII.

² Contiene butil-hidroxitolul (0,125g/kg de dieta).

³ Contiene (g/kg dieta): 2,0 g de mezcla vitamínica (5mg de tiamina, 15mg de riboflavina, 5 mg de piridoxina, 0,012mg de biotina, 2,5mg de ácido fólico, 20mg de menaftona, 0,06mg de cianocobalamina, 100mg de ácido nicotínico, 100mg de ácido ascórbico, 20mg de retinol + colecalciferol, 80mg de tocoferol, 40mg de ácido pantoténico y 1,61g de almidón); 1,5g de cloruro de colina; 50g de mezcla Cr₂O₃ : almidón (1:4); 27g de PO₄HCa.2H₂O; 12g de CO₃Ca: 11g de CO₃HK; 7g de SO₄Mg.7H₂O y 10 de mezcla mineral (4g de ClNa, 500mg de citrato férrico; 200mg de SO₄Mn.H₂O, 1,5 mg de Ioduro potásico, 30 mg de SO₄Cu.5H₂O, 100mg de CO₃Zn, 1mg de SeO₃Na₂ 5H₂O y 5,17g de almidón).

Tabla 3.3. Necesidades aminoacídicas del pollo de carne en crecimiento (hasta la 3ª semana de edad, INRA, 1984) y composición aminoacídica de la dieta basada en harina de torta de soja (Pérez y col., 1993).

Aminoácidos	Necesidades (%dieta, sustancia fresca)	Dieta Soja (%sustancia fresca)
Lisina ¹	1,02	1,24
Metionina ¹	0,44	0,31
Cistina (1/2)	0,33	0,28
Triptófano ¹	0,20	-
Treonina ¹	0,61	0,80
Glicina	} 1,69	0,86
Serina		1,00
Leucina ¹	1,42	1,39
Isoleucina ¹	0,80	0,79
Valina ¹	0,89	0,81
Histidina ¹	0,41	0,29
Arginina ¹	1,06	1,37
Fenilalanina ¹	} 1,35	0,92
Tirosina		0,58
Prolina	-	0,86
Glutámico	-	3,83
Aspártico	-	2,19
Alanina	-	0,73

¹Aminoácidos esenciales

El valor medio de la cantidad de alimento ofrecida durante el periodo experimental se usó para definir el nivel de alimentación ensayado.

Una vez analizados los resultados de los ensayos de balance y sacrificio correspondiente a estas dietas, se estimó pertinente llevar a cabo un ensayo similar (ensayo VII) empleando una dieta de menor contenido en proteína, basada en harina de torta de soja (Dieta Sbp), que también recoge la tabla 3.2.

La elaboración de las dietas fue manual. El proceso seguido para su obtención a partir de los ingredientes fue el que, con ligeras variaciones, se describe a continuación: Se incorpora el aminoácido, al almidón y se procede a homogeneizar en mezcladora (Matepiq, S.L., Esplugas de Llobregat, Barcelona) durante 20 minutos. Una vez finalizado este proceso, se añade la mezcla minero-vitamínica, que lleva incorporado Cr_2O_3 como marcador, y todos estos ingredientes se vuelven a mezclar durante otros 20 minutos. Paralelamente, el aceite de maíz, en el que se ha disuelto el antioxidante (butilhidroxi-toluol), se agrega a la torta de soja previamente molida; se homogeneiza manualmente y esta mezcla se une a la descrita previamente. Tras homogeneización en mezcladora durante 20 minutos, el producto así obtenido se hace pasar por un tamiz de 2 mm de luz de malla, procediéndose de nuevo a una nueva fase de mezcla y tamización. Finalmente, al polvo homogéneo obtenido se le incorpora un 10% de agua, con ayuda de un pulverizador, y se procede a su granulación en una granuladora de laboratorio (CPM Europe, CPM, California Pellet Mill Co.). Los gránulos así obtenidos, de unos 3mm de longitud, se extienden en bateas y se desecan en estufa a 40°C.

Para facilitar la distribución homogénea del marcador en la dieta, se procedió según la siguiente técnica: Se prepara en primer lugar una mezcla Cr_2O_3 :almidón (1:4); a la que una vez homogeneizada en mezcladora durante 20 minutos, se le adiciona agua para así obtener por amasado un material homogéneo que se somete a desecación en estufa a 60°C. El producto final se tritura primero manualmente y luego mediante un molino (Retsch ZW-1, Eurocomercial S.A.) provisto de un tamiz de 1mm de luz de malla. El polvo resultante se incorpora posteriormente a la mezcla minero-vitamínica citada.

3.1.1.2. Diseño de los ensayos.

Los ensayos comprendidos en este primer grupo se diseñaron de manera que permitiesen a la vez la medida del crecimiento estimado como incremento de peso vivo, y la determinación del balance de energía y de la retención de nitrógeno según la técnica de sacrificio comparado. En lo que se refiere al primero de los parámetros el diseño de los ensayos se esquematiza en la figura 3.1. Respecto a los segundos, los ensayos se ajustaron al esquema que aparece en la figura 3.2. Ya se ha dicho que la metodología más extendida en el estudio de la eficiencia neta de utilización de la energía de una dieta para la producción consiste en ensayar niveles de alimentación variables, superiores al que corresponde a un mantenimiento teórico, y relacionar las retenciones energéticas observadas con sus correspondientes ingestas de energía mediante técnicas de regresión. Con este propósito, al objeto de disponer de una gama de ingestas lo más amplia posible, y al propio tiempo de ensayar niveles de alimentación comunes entre los tres tratamientos objeto de estudio, se examinaron los datos de ingestión voluntaria que proporcionaron los ensayos I y II, observándose que era posible emplear un nivel de ingestión común a las tres dietas experimentales muy próximo a *ad libitum* para las dietas S y SL, aunque alejado de la máxima ingesta para la dieta SM, que junto a dos submúltiplos de él extenderían las medidas de balance energético en un intervalo suficientemente amplio. Estos tres niveles de alimentación restringida en paralelo se designaron como R, 0,7R y 0,45R. Junto a los datos que nos proporcionasen estos ensayos disponíamos de aquéllos que se realizaron con alimentación *ad libitum*, ofreciendo a los animales alrededor de un 30% de exceso de alimento respecto al valor de ingestión esperado (nivel A). Ello permitió elevar sensiblemente el consumo de la dieta SM. Del examen de los datos de consumo de alimento que proporcionaron los ensayos I y II se decidió asignar a R el valor de 40g; consecuentemente 0,7R y 0,45R corresponden a 28 y 18g.

Se juzgó así mismo necesario, con el propósito de alcanzar la máxima precisión en la estimación de los parámetros objeto de estudio, obtener alrededor de 40 réplicas por dieta. Considerando los animales que en cada tratamiento habían de ser sacrificados

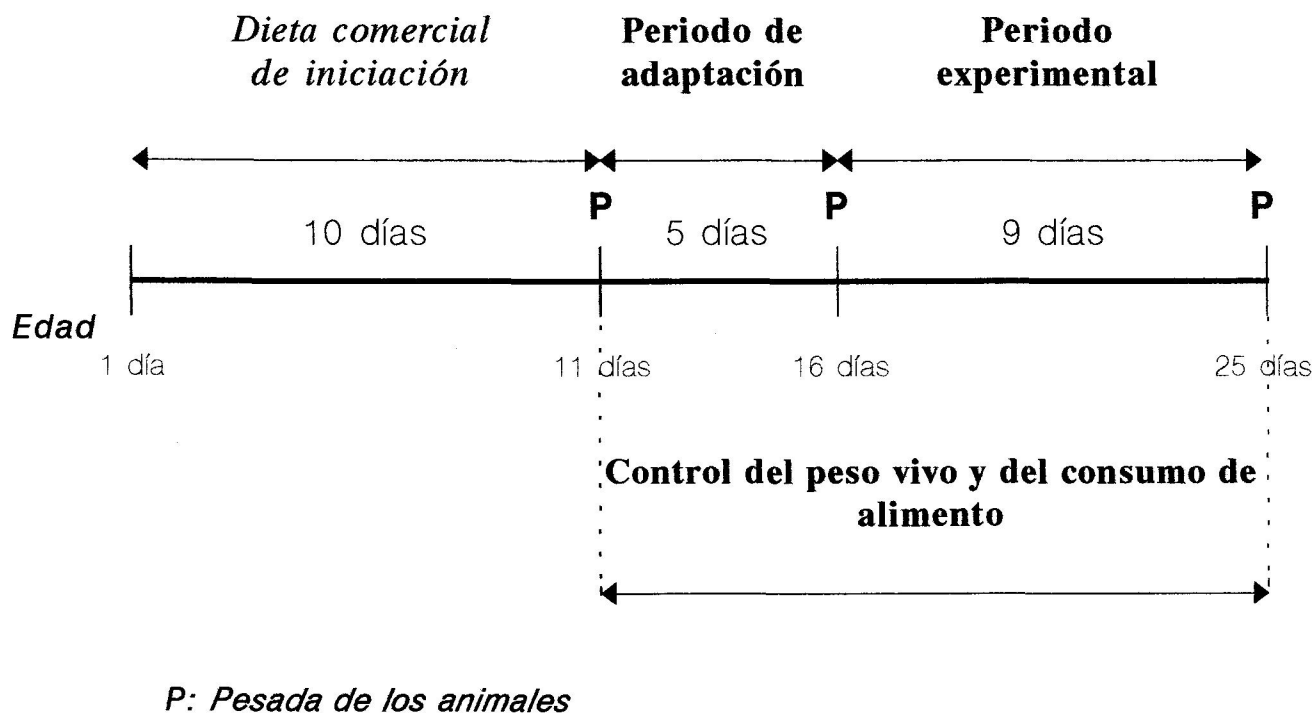
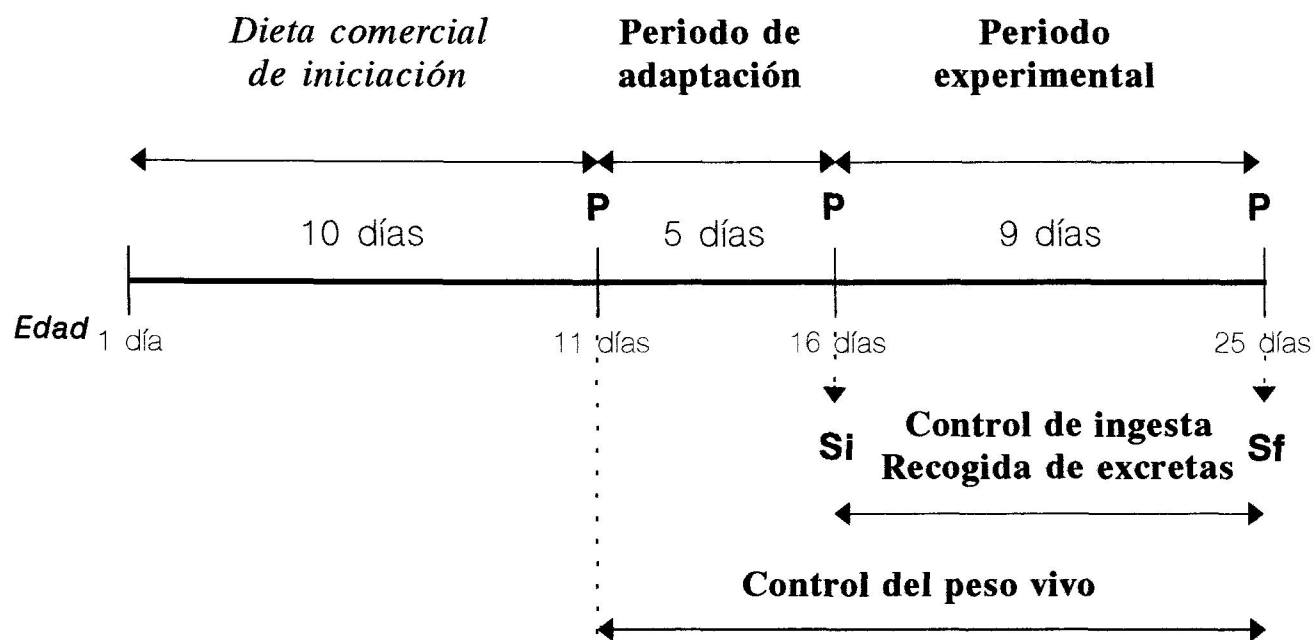


Fig. 3.1. Diseño experimental correspondiente a los ensayos de crecimiento.



P: Pesada de los animales

Si: Sacrificio inicial

Sf: Sacrificio final

Fig.3.2. Diseño experimental correspondiente a los ensayos de balance y sacrificio comparado

al inicio del periodo experimental de balance, y que el laboratorio termorregulado de nuestro Departamento dispone de 40 jaulas metabólicas individuales, se estimó procedente realizar un total de seis ensayos de balance y sacrificio para alcanzar los objetivos propuestos. Para cada ensayo se adquirió a un proveedor comercial un lote de pollitos de 1 día de edad, cuyo número de animales (100 - 150) duplicaba al menos el de unidades experimentales previsto en cada prueba. Los animales se alojaron en grupo en un jaulón apropiado situado en un laboratorio permanentemente iluminado, termorregulado a 30°C. Durante los 10 primeros días de vida consumieron el pienso comercial de iniciación descrito en la tabla 3.1. A la edad de 11 días, los pollitos se distribuyeron aleatoriamente en grupos de peso homogéneo y se alojaron individualmente en jaulas metabólicas situadas en un laboratorio con condiciones ambientales controladas ($65 \pm 5\%$ de humedad relativa; $26 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura y 14 horas de iluminación). La posición relativa de las jaulas en el laboratorio se determinó al azar en cada ensayo al objeto de eliminar un posible efecto ligado a diferencia ambiental o de otra naturaleza que pudieran relacionarse con el emplazamiento de la jaula metabólica.

Cada grupo se asignó a un tratamiento experimental (dieta x nivel de alimentación). Todos los ensayos tuvieron 14 días de duración, 5 de adaptación a los tratamientos experimentales y condiciones ambientales y 9 de periodo propiamente experimental a cuyo inicio y finalización se pesaron los animales. Éstos dispusieron de agua a voluntad. Durante los 14 días que totalizan ambas fases del ensayo se controló rigurosamente el consumo de alimento. Se calcularon los valores medios de ingesta de alimento y de aumento de peso, por animal y día, correspondientes al periodo propiamente experimental, para cada una de las dietas ensayadas, y a partir de ellos cuando el nivel de ingesta empleado fue completamente *ad libitum*, los respectivos Índices de Transformación (I.T.) y Coeficientes de eficacia en Crecimiento (C.E.C.). El examen de estos parámetros en los ensayos I y II, permitió seleccionar las dietas con las que se prosiguió el trabajo experimental. Por otra parte, al final del periodo de adaptación se procedía al sacrificio (por dislocación cervical) de una serie de animales de

cada lote (generalmente 3 ó 4), que constituían el denominado grupo de sacrificio inicial (S_i), o de referencia en cuanto a la composición corporal. Tras el sacrificio se efectuaba una limpieza del tubo digestivo y se anotaba el peso de la canal vacía. Durante la fase experimental se realizaba un control diario de la ingestión de alimento, así como una recogida parcial de excretas (en base a la presencia en las mismas de Cr_2O_3 como marcador); en caso del ensayo V, la recogida fue total. Al noveno día de este segundo periodo se procedía al sacrificio de todos los animales, lo que denominábamos sacrificio final (S_f). Todos los sacrificios (iniciales y finales) se realizaron siempre entre las 9 y las 11 horas.

Las alícuotas de las dietas ensayadas y de las excretas, así como las canales de los animales se conservaron en congelador a $-20^{\circ}C$ hasta que se procedió a su análisis.

La distribución concreta de animales y dietas en los diferentes ensayos efectuados se resume a continuación.

Ensayo I

Fue realizado con dos lotes de 12 animales, cuyo peso vivo medio, al inicio del periodo de adaptación al tratamiento experimental (día 11 de edad) fue de $125 \pm 1,9$ g. A cada lote se le suministró en cantidad ampliamente en exceso respecto a su consumo teórico *ad libitum* (A) una de las siguientes dietas: soja (S) o soja + 1% de L-lisina. Esta última dieta no fue finalmente seleccionada y sus datos se utilizaron exclusivamente para el cálculo de los índices de transformación y de los coeficientes de eficacia en crecimiento.

Ensayo II

Se llevó a cabo con dos lotes de 12 animales (peso vivo medio a los 11 días de edad: $133 \pm 4,1$ g), a cada uno de los cuales se les suministró cantidad ampliamente suficiente de la dieta de soja + 0.2% de DL-Metionina (SM) o bien de la de soja + 2% de L-lisina (SL), para permitir su consumo *ad libitum* (A).

Ensayo III

Se emplearon dos lotes de 12 animales (peso vivo medio en el día 11: $153 \pm 0,6g$), los cuales consumieron, respectivamente, a nivel máximo de alimentación restringida en paralelo (R), las siguientes dietas: soja (S) o soja + 0.2% de DL-Metionina(SM).

Ensayo IV

El peso vivo medio de los animales seleccionados fue de $99,6 \pm 0,86 g$ (día 11 de edad). La distribución de las dietas estudiadas y el número de animales por lote fueron los siguientes: dieta de soja (S) con alimentación restringida (0,7R), 12 animales; dieta de soja + 2% de L-lisina (SL), 7 animales alimentados totalmente *ad libitum* (A) y 8 con alimentación restringida (0,7R); dieta de soja + 0.2% de DL-Metionina (SM), a nivel restringido (0,7R), 12 animales.

Ensayo V

Las dietas estudiadas y el número de animales por lote (peso vivo medio en el día 11: $153 \pm 1,3 g$) fueron: soja (S) totalmente *ad libitum* (A), 8 animales; soja + 2% de L-lisina (SL), 29 animales, de los cuales 7 fueron alimentados totalmente *ad libitum* (A), 11 al mayor nivel de alimentación restringida (R) y 11 con el nivel intermedio de ingesta restringida (0,7R).

Ensayo VI

Se emplearon tres lotes de 12 animales (peso vivo medio a los 11 días de edad: $154 \pm 1,0 g$), cada uno de los cuales consumió, con el nivel de alimentación más bajo (0,45R) de los propuestos las tres dietas seleccionadas previamente: soja (S); soja + 2% de L-Lisina (SL) y soja + 0.2% de DL-Metionina (SM).

3.1.2. Segundo grupo de ensayos (VII - VIII).

3.1.2.1. Ensayo de una dieta hipoproteica (Ensayo VII).

Se emplearon cuatro lotes de animales (peso vivo medio: $175 \pm 0,1$ g), a los que se suministró una dieta hipoproteica (6,6% de proteína bruta sobre materia seca), que contenía torta de soja como única fuente nitrogenada, cuya composición aparece en la tabla 3.2. El primer lote, de 6 animales, constituyó el grupo de sacrificio inicial (S_i); los otros tres lotes estaban formados por 11 animales cada uno que se sacrificaron al final de la fase experimental (grupos de sacrificio final, S_f). Todos los pollos se alimentaron *ad libitum* durante el periodo de adaptación (ver figura 3.2). A partir de este momento, estaba previsto que cada uno de los tres lotes que aún continuaban en el ensayo fuese alimentado a un nivel ligeramente diferente, con el propósito de lograr una suficiente dispersión en los datos de ingesta y, consecuentemente, en los de retención energética. Ahora bien, el comportamiento inesperado de los animales en cuanto a la ingestión de alimento previsible, aconsejó que se les proporcionase alimentación *ad libitum*. Los valores de ingestión registrados fueron lo suficientemente dispersos como para permitir el posterior cálculo de las regresiones correspondientes.

3.1.2.2. Ensayo de respirometría.

Una vez realizados los ensayos de balance y sacrificio, decidimos confirmar los resultados obtenidos por un procedimiento diferente, haciendo uso para ello del equipo de respirometría de circuito abierto existente en nuestro Departamento.

3.1.2.2.1. Animales y dietas.

Los animales empleados en este ensayo fueron pollos de carne (broilers) White Rock, machos, de las mismas características que los utilizados en los ensayos de sacrificio comparado. Asimismo, las dietas experimentales fueron las seleccionadas en los

ensayos de sacrificio: Soja (S), soja + 2% de L-Lisina (SL) y soja + 0,2% de DL-Metionina. (SM), cuya composición aparece en la tabla 3.2.

Se emplearon 3 lotes de 8 animales (peso vivo medio al inicio de los ensayos, a los 8 días de edad, $126 \pm 0,2$ g), los cuales se dividieron en dos subgrupos de 4, con los que se realizaron, como se explicará más adelante en detalle, dos medidas sucesivas de intercambio gaseoso, cada una de ellas a diferente nivel de alimentación ($0,9 \times$ mantenimiento (M) y $0,3 \times$ M).

Durante el periodo experimental, los animales se alojaban por parejas en cada una de las dos cámaras de respirometría de las que dispone nuestro laboratorio, permaneciendo en el interior de las mismas situados en jaulas individuales; ello permitió el control individualizado del peso y de la ingesta de alimento. Las medidas respirométricas tuvieron una duración de 23 horas y 30 minutos. Las medidas iniciales se realizaban antes de que los animales tuviesen acceso al alimento, lo cual se impedía mecánicamente, mediante trampillas que luego se abrían manualmente desde el exterior de las cámaras.

3.1.2.2.2. Diseño del ensayo de respirometría.

El diseño experimental del ensayo (fig. 3.3) es el siguiente: Se partió de 100 animales de 1 día de edad, a los que se alojó conjuntamente en un jaulón situado en un laboratorio permanentemente iluminado, a una temperatura de 30°C , y alimentó con un pienso comercial de iniciación (tabla 3.1). A los 8 días, se seleccionaron 39 animales, que se distribuyeron en tres lotes de peso homogéneo y se alojaron individualmente en jaulas metabólicas, situadas en el interior de un laboratorio con condiciones ambientales controladas, similares a las descritas anteriormente (apartado 3.1.1.2.). Cada grupo consumió, a nivel de 1,2 veces mantenimiento (en base a los datos obtenidos en los ensayos de sacrificio), una de las dietas experimentales ensayadas (soja, (S); soja + 2% de L-Lisina, (SL); soja + 0,2% de DL-Metionina, (SM)). Dentro de cada grupo, se eligió un lote de 8 animales para las medidas respirométricas, quedando los restantes en reserva. Con estos 8 animales se formaron dos sublotes de 4, a fin de realizar por lote

