

T
12
121

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GRANADA

**ESTIMACIÓN DEL GASTO ENERGÉTICO DE LA
ACTIVIDAD FÍSICA EN GANADO CAPRINO.
COMPARACIÓN DE TÉCNICAS CALORIMÉTRICAS Y NO
CALORIMÉTRICAS.**

MANUEL LACHICA LOPEZ

BIBLIOTECA	UNIVERSITARIA
GRANADA	
Nº Documento	619663444
Nº Cópia	21212454

UNIVERSIDAD DE GRANADA
15 JUN. 1993
COMISION DE DOCTORADO

Esta memoria de Tesis Doctoral forma parte del Proyecto "Planificación ganadera del Sureste Ibérico". Programa LUCDEME.

Dr. D. Carlos Prieto Palomino, Investigador Científico de la Unidad Estructural de Fisiología Animal de la Estación Experimental del Zaidín del CSIC en Granada y

Dr. D. José Fernando Aguilera Sánchez, Profesor de Investigación de la Unidad Estructural de Fisiología 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 "Estimación del gasto energético de la actividad física en ganado caprino. Comparación de técnicas calorimétricas y no calorimétricas" han sido realizados bajo nuestra dirección por D. Manuel Lachica López, en la Unidad Estructural de Fisiología 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 ocho de Junio de mil novecientos noventa y tres.

Carlos Prieto

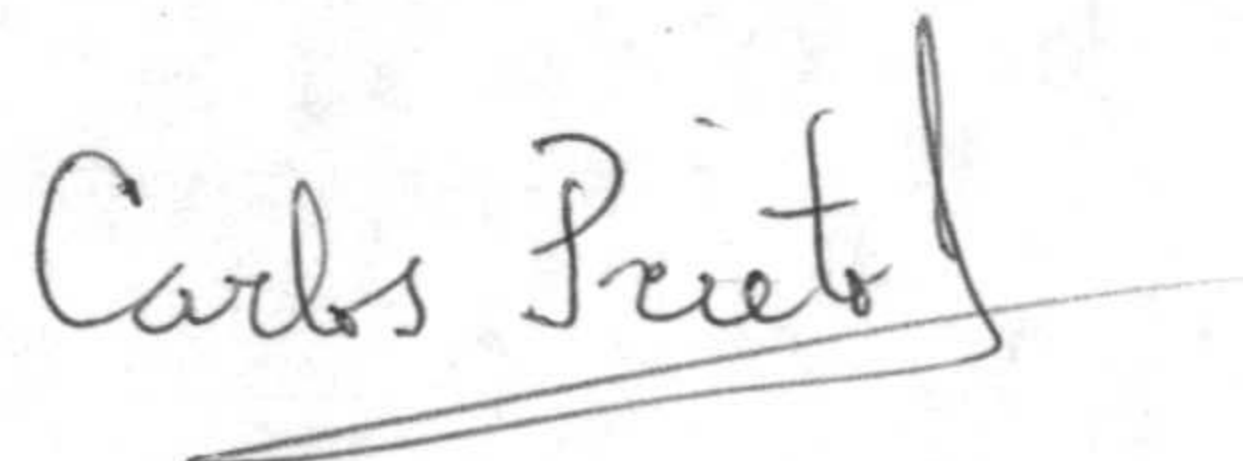
José F. Aguilera

**ESTIMACIÓN DEL GASTO ENERGÉTICO DE LA
ACTIVIDAD FÍSICA EN GANADO CAPRINO.
COMPARACIÓN DE TÉCNICAS CALORIMÉTRICAS Y NO
CALORIMÉTRICAS.**

Memoria presentada para
aspirar al Grado de Doctor en
Ciencias Biológicas por el
Ldo. Manuel Lachica López

Directores

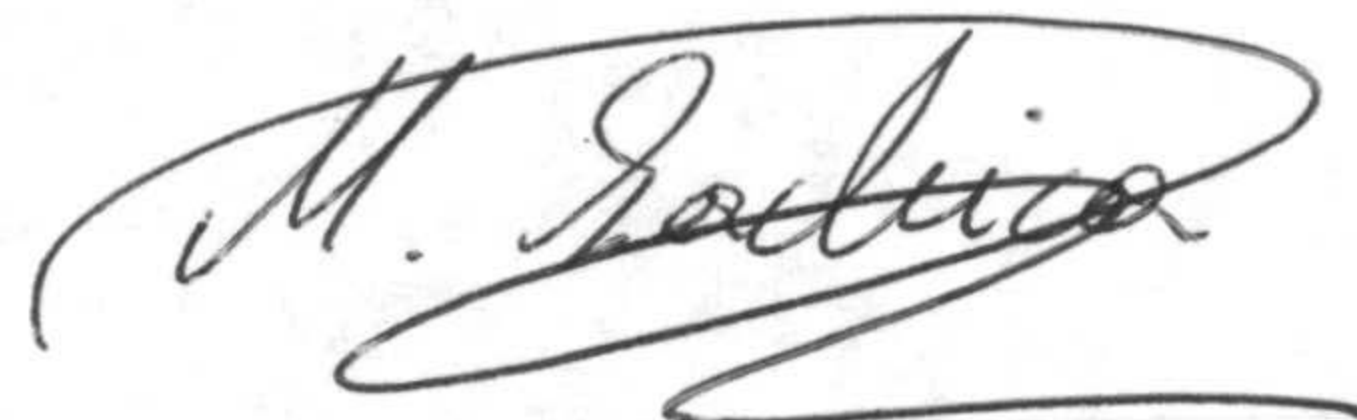
Dr. D. Carlos Prieto Palomino Investigador Científico del
CSIC



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



Ldo. D. Manuel Lachica López
aspirante al Grado de Doctor en
Ciencias Biológicas.



Granada, Junio de 1993

INDICE

1. INTRODUCCION Y OBJETIVOS

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

- 2.1. Estructura del músculo esquelético y regulación de la
contracción muscular
- 2.2. Coste energético de la locomoción
- 2.3. Coste energético de la ingestión de alimento
 - 2.3.1. Efecto termogénico del alimento
 - 2.3.2. Cambios fisiológicos asociados con la ingestión de
alimento
 - 2.3.2.1. Cambios de fluidos y electrolitos
 - 2.3.2.2. Cambios cardiovasculares
 - 2.3.2.3. Otros aspectos fisiológicos y
neuro-hormonales
 - 2.3.3. El coste energético de la ingestión de alimento
- 2.4. Método del bicarbonato marcado (CERT)
 - 2.4.1. Introducción
 - 2.4.2. Ruta de infusión
 - 2.4.3. Lugar de muestreo
 - 2.4.4. Tiempo de equilibrio
 - 2.4.5. Recuperación del CO₂ marcado
 - 2.4.6. Relación entre CERT y producción real de CO₂
 - 2.4.7. Relación entre producción de calor y CERT
 - 2.4.8. Estudios en condiciones de pastoreo
 - 2.4.9. Estudios con isótopos estables

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Descripción de la cámara de respirometría

3.1.1. Principio y diseño

3.1.2. Material y dimensiones

3.1.3. Sistema de ventilación y acondicionamiento

3.1.4. Analizadores de gases

3.1.4.1. Ajuste y calibración de los analizadores de gases

3.1.5. Calibrado del sistema

3.1.6. Medidas de calibrados y de metabolismo energético

3.1.6.1. Confinamiento

3.1.6.2. Circuito abierto

3.2. Estimación del gasto energético en la locomoción

3.2.1. Animales y alimentación

3.2.2. Ergómetro

3.2.3. Diseño experimental

3.2.4. Técnicas experimentales

3.2.5. Desarrollo de los ensayos

3.2.6. Tratamiento estadístico

3.3. Estimación del gasto energético de la ingestión de alimento

3.3.1. Animales y alimentación

3.3.2. Diseño experimental

3.3.3. Técnicas experimentales

3.3.4. Desarrollo de los ensayos

3.3.5. Técnicas analíticas

3.3.5.1. Materia seca

3.3.5.2. Cenizas totales

3.3.5.3. Fracción fibrosa

3.3.5.4. Determinación de la digestibilidad "in vitro"

3.3.5.5. Cálculo de la energía metabolizable

3.3.6. Tratamiento estadístico

3.4. Estimación de la producción de calor total mediante dilución isotópica (CERT)

3.4.1. Animales y alimentación

3.4.2. Diseño experimental

3.4.3. Técnicas experimentales

3.4.3.1. Técnica CERT

3.4.3.2. Implantación de catéteres

3.4.3.3. Determinación de la producción de calor

3.4.4. Desarrollo de los ensayos

3.4.5. Técnicas analíticas

3.4.6. Tratamiento estadístico

4. RESULTADOS

4.1. Coste energético de la locomoción

4.2. Coste energético de la ingestión de alimento

4.3. Dilución isotópica (CERT)

5. DISCUSION

5.1. Coste energético de la ingestión

5.2. Dilución isotópica (CERT)

6. BIBLIOGRAFIA

1. INTRODUCCION Y OBJETIVOS

La disponibilidad de energía es un factor del que depende la adaptación de un animal a su ambiente. Afecta a su comportamiento y a su estrategia de alimentación. En ciertas épocas del año, particularmente en ambientes áridos y semiáridos, puede actuar como causa limitante de la productividad animal. Para poder interpretar las consecuencias que a plazo más o menos largo puede tener la alteración, inducida por cambios en disponibilidad energética, de pautas de actividad sobre el balance energético de poblaciones animales, se requiere disponer de estimaciones precisas de los costes energéticos de actividades diversas. Conocidos éstos, es posible deducir cuales son las limitaciones o qué grado de plasticidad existe en la utilización eficaz de la energía disponible para distintas funciones a lo largo de una fracción de tiempo determinada: un día, una época concreta o toda la vida de una determinada especie. Consecuentemente, el conocimiento de los costes energéticos de actividades varias, permite dilucidar sobre las causas que dificultan un óptimo uso del medio por el animal que se desenvuelve en libertad.

En lo que respecta a animales en pastoreo las estimaciones más antiguas sobre su gasto energético se han basado en la aplicación de dos procedimientos indirectos. El primero utiliza datos procedentes de análisis de regresión que relacionan la ingesta de alimento con el peso vivo y los cambios que éste experimenta en el animal que pasta ; el segundo aplica la extrapolación de datos procedentes de animales en estabulación obtenidos mediante técnicas calorimétricas convencionales

(Whitelaw, 1974).

A pesar de los avances que estas metodologías proporcionaron al estudio del metabolismo energético de los animales de interés ganadero, el conocimiento del balance energético y, consecuentemente, de las necesidades energéticas de los rumiantes en pastoreo, ha sido y lo es aún, deficiente. Las diferencias halladas al comparar valores generados en animales en estabulación con datos obtenidos en los mismos animales en campo (estimados por cualquiera de los procedimientos citados) son notables y cuestionan seriamente las recomendaciones de ingesta para rumiantes en pastoreo de los sistemas de alimentación vigentes en la actualidad.

En base al cálculo de la ingesta de materia orgánica digestible necesaria para mantener una constancia de peso vivo, se ha encontrado incrementos de las necesidades energéticas de mantenimiento (EM_m) en pastoreo respecto a las del animal estabulado, que oscilan entre el 0 y el 107% en ganado vacuno (Wallace, 1955; Reid, 1958; Corbett y col., 1961; Hutton, 1962) y entre el 25 y el 100% en ganado ovino (Coop y Hill, 1962; Langlands y col., 1963; Lambourne y Reardon, 1963). Es probable que las diferencias tan espectaculares a veces observadas sean causadas por errores de tipo metodológico, ya sea en la estimación de la ingestión de alimento (producidos por la propia técnica per se o por las amplias variaciones usualmente registradas en el consumo diario de alimento) o en la de peso vivo y composición corporal (Lambourne y Reardon, 1963; Graham, 1964; Osuji, 1974; Whitelaw, 1974; Plaza, 1989).

A la vista de estas dificultades metodológicas, el procedimiento más utilizado para estimar el gasto energético de los rumiantes en pastoreo ha sido el método factorial.

Como resultado de la estricta sujeción a las leyes de la conservación de la energía de las transferencias energéticas que ocurren en el organismo animal, se asume que su demanda energética total puede calcularse, de acuerdo con un modelo factorial, como la suma aritmética de los gastos energéticos propios de cada actividad. Este sistema aditivo se ha aplicado al cálculo de las necesidades energéticas de mantenimiento de animales en condiciones naturales, bien con fines teóricos, bien con carácter aplicado, como por ejemplo en el estudio de la viabilidad de sistemas de pastoreo en función de las disponibilidades de nutrientes. La precisión de estos estudios depende del grado de exactitud que se haya alcanzado en las estimaciones de los costes energéticos de actividades específicas. La situación a este respecto está lejos de ser satisfactoria, unas veces porque el gasto energético relacionado con una determinada actividad no es conocido con la deseable precisión; otras, porque no están suficientemente desarrolladas metodologías que permitan contrastar los resultados obtenidos mediante la aplicación del modelo factorial con resultados de medidas directas de balance energético de animales en libertad. Determinadas técnicas, ciertamente clásicas y potencialmente valiosas para estos propósitos, hacia cuyo desarrollo se ha dirigido la investigación científica en este área más recientemente (Whitelaw, 1974; Brockway, 1978), como pueden ser las que hacen uso de agua doblemente marcada (DLW, $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$; Lifson

y col., 1955) o anhídrido carbónico marcado (CERT, $^{14}\text{CO}_2$; Young y col., 1967) no han sido suficientemente evaluadas con animales fuera del laboratorio. Por ejemplo, los trabajos de Young y Corbett (1972) utilizando técnicas de calorimetría indirecta móvil (MIC) y CERT sobreestiman extraordinariamente el gasto energético de ganado ovino en pastoreo (1,86 a 2,56 veces la producción de calor en ayuno) y, en consecuencia, no proporcionan una medida razonablemente exacta del coste energético de actividades inherentes al pastoreo, distintas al mantenimiento de la actividad metabólica basal. No obstante lo anterior, es cierto que la instrumentación analítica actualmente disponible y una cuidadosa metodología deben facilitar la medida rigurosamente exacta del coste energético de actividades diversas y que estas últimas pueden ser identificadas en el animal en libertad y adscritas a periodos concretos en los que el gasto energético del animal es estimado como la suma de varios componentes durante una fracción de tiempo específica. En el rumiante en pastoreo son fácilmente diferenciables las actividades de permanencia en pie, echado, ingestión, rumia y locomoción.

Con la aplicación del método factorial se han obtenido para animales en pastoreo, necesidades energéticas de mantenimiento muy superiores a las de animales estabulados. Para una oveja de 50 Kg Osuji (1974) calculó que el incremento de las necesidades energéticas de mantenimiento en pastoreo era del orden del 30%. Este gasto extra se debía fundamentalmente a la actividad muscular, que representaba sólo un 6,6% del gasto total en confinamiento y un 30,8% en pastoreo, mientras que la contribución de otras de las actividades fue despreciable. A

similares conclusiones llegó Webster (1978), quien estimó para un ternero de 500 Kg el incremento del gasto energético debido a la mayor actividad en pastoreo oscilaba entre el 7 y el 23%.

El método factorial se ha aplicado principalmente a ganado ovino y vacuno en pastoreo (Cook, 1970; Sánchez y Ortiz, 1976; Chávez, 1983; Fierro y Bryant, 1990).

Las técnicas susceptibles de ser aplicadas para determinar directamente en campo el gasto energético de los animales pueden agruparse en tres apartados: intercambio respiratorio, índices fisiológicos y dilución isotópica.

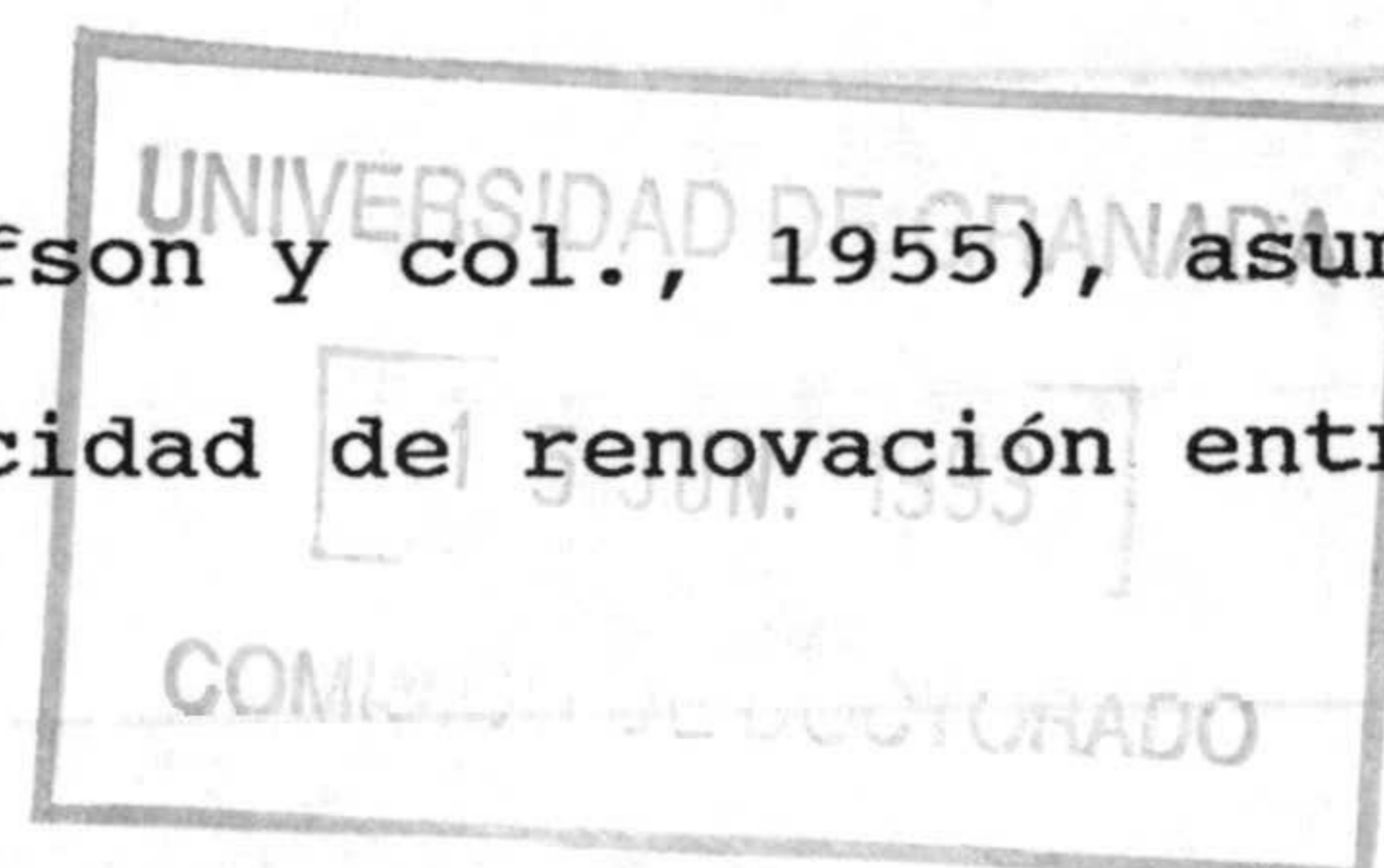
Las técnicas basadas en la medida del intercambio respiratorio hacen uso básicamente de máscaras conectadas a equipos de respirometría portátiles. Este procedimiento, empleado por primera vez en humanos (Zuntz y Col., 1906), se ha utilizado en la determinación del gasto energético asociado a diversas actividades físicas al aire libre (Durning y Passmore, 1967) y también en animales (Brody, 1945), y extensivamente en estudios de locomoción realizados en laboratorio (Taylor y col., 1974; Ribeiro y col., 1977; Boyne y col., 1981). En animales en pastoreo no es posible utilizar máscaras, de aquí que se hayan ideado métodos alternativos basados en el uso de cánulas traqueales, tanto en ganado vacuno (Flatt y col., 1958) como en ovino (Young y Webster, 1963). Esta técnica, en combinación con un sistema móvil para el transporte de un respirómetro, fue contrastada previamente en laboratorio y posteriormente utilizada en ovino en pastoreo (Corbett y col., 1967; Young y Corbett, 1972). Aparte de los problemas analíticos mencionados, que podrían ser fácilmente mejorados en la actualidad, el

procedimiento tiene una serie de desventajas, entre las que figuran posibles modificaciones de la conducta y manejo de los animales, trastornos fisiológicos (disminución de la ventilación pulmonar y de la termorregulación y, sobre todo, dificultades inherentes a las propias intervenciones quirúrgicas (Blaxter y Joyce 1963; Brockway, 1978; Plaza, 1989)).

En lo referente al estudio de índices fisiológicos que pudieran estar relacionados con el gasto energético, el método más utilizado ha sido el de la medida de la frecuencia cardiaca, aunque al menos en rumiantes, su eficacia parece ser muy limitada. Se basa en una presumible relación entre este parámetro y el consumo de oxígeno, que es determinado mediante diferencia entre sus concentraciones arterio-venosas. El principal inconveniente es la gran variabilidad observada en el volumen sistólico de los animales, muy dependiente de factores emocionales (Brockway y McEwan, 1969); se han observado, así mismo, grandes variaciones intra e interindividuales, por lo que se requiere una "ecuación de calibrado" específica en cada caso, lo que parece cuestionar la precisión del procedimiento (Webster, 1967; Yamamoto y col., 1979; Yamamoto y Ogura, 1985), y particularmente su utilización en animales en pastoreo.

En la actualidad se emplean dos técnicas isotópicas para estimar el gasto energético: el método del agua doblemente marcada (DLW, "Doubly labelled water") y el del bicarbonato marcado (CERT, "CO₂-entry rate"), que determinan la producción de CO₂ por dilución isotópica.

El primero de estos métodos (Lifson y col., 1955), asume la existencia de diferencias en la velocidad de renovación entre el



hidrógeno y el oxígeno del agua corporal. El procedimiento consiste en administrar agua marcada ($^2\text{H}_2\text{O}^{18}$ generalmente) y mostrar periódicamente un fluido corporal (por ejemplo, orina) para medir el enriquecimiento en ambos isótopos. Tanto el ^2H como el ^{18}O se eliminan paulativamente en forma de H_2O , pero sólo el ^{18}O puede hacerlo como anhídrido carbónico; la diferencia en la tasa de renovación de ambos isótopos puede ser medida y utilizada para calcular la producción de CO_2 . Coward y col. (1986), en humanos, y Midwood y col. (1989), en animales domésticos, han analizado las posibles aplicaciones y limitaciones del método, que se ha aplicado a humanos no confinados en laboratorio, pero aún no a animales en pastoreo.

La técnica del bicarbonato marcado (Young y col., 1967) requiere la continua infusión de este compuesto y la determinación de la tasa de eliminación del carbono marcado en forma de CO_2 , calculada a partir de la actividad específica del CO_2 en cualquier fluido fisiológico. Esta técnica ha sido la más utilizada hasta la fecha para determinar el gasto energético de los rumiantes en pastoreo, tanto en el caso de ovinos (Young, 1968; Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; Farrell y col., 1972; Salhu y col., 1989; Plaza, 1989) como en el de bovinos (Young, 1970; Havstad y Malechek, 1982; Sánchez y Morris, 1984). Con este método, Young y Corbett (1972) obtuvieron para ganado ovino en pastoreo incrementos de las necesidades energéticas de mantenimiento que oscilaron entre el 50 y el 70% en relación con las de animales estabulados.

Una variante de la técnica del bicarbonato marcado, ensayada con éxito en humanos (Elia y col., 1988), es el uso del isótopo

estable ^{13}C en vez del ^{14}C (radiactivo). Muy recientemente (Salhu y col, 1992) se ha aplicado a ganado caprino, aunque sólo en condiciones experimentales de laboratorio.

Actualmente se acepta que la técnica del agua doblemente marcada proporciona buenas estimaciones del gasto energético a largo plazo (de 2 a 4 semanas en humanos), mientras que la del bicarbonato, por lo general de menor coste económico, es mejor si ha de aplicarse a periodos más cortos de tiempo (de horas a días). Ambos procedimientos estiman realmente la producción de CO_2 , por lo que es necesario relacionar este parámetro con la producción de calor.

Como ya se ha dicho, las técnicas de estimación del gasto energético en pastoreo se han utilizado fundamentalmente en ganado ovino y vacuno. Es evidente la escasez de datos obtenidos como resultado de su aplicación a ganado caprino. Una de sus especies, la cabra de raza granadina, es autóctona, de gran interés socioeconómico y está perfectamente adaptada a las zonas semiáridas del sureste español. Dicha especie es actualmente objeto de especial atención en distintos programas de planificación ganadera.

El objetivo fundamental de estos estudios ha sido, consecuentemente, el desarrollo en laboratorio de técnicas adecuadas para estimar el gasto energético del ganado caprino, susceptibles de ser extrapoladas más tarde a condiciones de pastoreo. De acuerdo con los antecedentes expuestos, esta Memoria de Tesis Doctoral recoge los trabajos realizados con el propósito de determinar mediante técnicas respirométricas el coste energético de las actividades de locomoción, energéticamente el

componente cuantitativamente más importante del animal en pastoreo, e ingestión. Describe también las pruebas realizadas para evaluar la bondad de una técnica isotópica no invasiva, basada en la utilización de $^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$ para calcular la producción de CO_2 del animal y estimar su producción de calor global, es decir, su coste energético. Los trabajos se han llevado a cabo en el marco de la Contribución de Consejo Superior de Investigaciones Científicas al programa LUCDEME, dentro de Subproyecto 4, "Nutrición de caprinos", del Proyecto 12, "Planificación ganadera del S.E. ibérico".

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Estructura del músculo esquelético y regulación de la contracción muscular.

Parece oportuno incluir en esta Memoria de Tesis Doctoral, que recoge resultados de trabajos experimentales en los que se ha determinado las transferencias energéticas relacionadas con la actividad física, un capítulo que describa esquemáticamente el estado actual del conocimiento básico sobre la estructura del músculo esquelético y sobre la fisiología y bioquímica de la contracción muscular. La información ha sido tomada de Lehninger (1975), Douzier (1976), Jordana (1979), Bagshaw (1982), Brafield y Llewellyn (1982), Perry (1985) y Blaxter (1989).

Un 45% aproximadamente del peso total de la canal y un 40 a 45% de la proteína total del animal, están formados por tejido muscular. Sus unidades funcionales, las células o fibras musculares, aparecen individualmente encapsuladas y a su vez reagrupadas por tejido conectivo (endomisio y perimisio, respectivamente). El propio músculo en su conjunto se halla envuelto por tejido conectivo (epimisio). En buena medida la gran capacidad de ajuste de la contracción muscular, se debe a la elasticidad del tejido conectivo que transmite a los tendones, con una cierta amortiguación, la tensión producida por la contracción muscular. Los vasos y nervios, que prestan soporte funcional a las fibras musculares, discurren entre capas de tejido conectivo. En el perimisio se localizan los adipocitos,

que almacenan lípidos en el tejido muscular.

La fibra muscular es cilíndrica, de 10 a 100 μ de diámetro y de longitud variable según el tipo de músculo. En su citoplasma (sarcoplasma) se distinguen varios núcleos. En el sarcoplasma se encuentran las proteínas intracelulares del músculo esquelético, que representa el 20-25% del contenido proteico total del músculo, y las proteínas filamentosas insolubles que componen las miofibrillas. La membrana de envoltura del sarcoplasma es el sarcolema. En él, se invagina parcialmente la terminación nerviosa. El sarcolema forma la placa motora cuya conexión con la terminación nerviosa da origen a la unión o placa neuromuscular, localizada casi exactamente a mitad de la fibra.

Las células que participan en la formación de fibras musculares en el embrión o feto tienen su origen en el mesénquima y se denominan premyoblastos. Por mitosis forman mioblastos. Estos presentan un solo núcleo y la propiedad de fusionarse para formar células polinucleadas, los miotubos, cuyo crecimiento longitudinal y transversal prosigue tras el parto, a menudo con incorporación de mioblastos adicionales. En estos miotubos se inicia la síntesis rápida de las proteínas contráctiles actina, miosina, tropomiosina y troponina, que se agrupan en estructuras filamentosas formando subunidades longitudinalmente repetitivas de aproximadamente 2,5 μ , llamadas sarcómeros. Estas subunidades aparecen demarcadas por las llamadas líneas Z, de 80 nm de ancho y disposición transversal, a las que están ligados, dispuestos en paralelo, filamentos delgados (filamentos I), de 6 nm de espesor, característicos de la denominada banda isotrópica I, más clara, cuya longitud en el músculo en reposo es aproximadamente 1 μ y

que penetran, en mayor o menor medida según el grado de contracción de la fibra muscular, en la llamada banda anisotrópica, más oscura, o banda A, de $1,6 \mu$ de longitud. En la banda A existen, además de los filamentos observados en la banda I, filamentos gruesos o filamentos A, de 15 a 17 nm de diámetro, responsables de la birrefringencia de esta banda, que ocupan en toda su amplitud. La banda I está atravesada por la línea Z, en tanto que en la banda A se aprecia cuando el músculo está en reposo una zona central algo isótropa o zona H, a su vez dividida por una línea densa transversa o línea M. Un corte transversal revela que los filamentos A se disponen hexagonalmente y distan 45 nm entre sí. Cada filamento grueso se halla rodeado de a su vez, de 6 filamentos I, también dispuestos en hexágono. Los filamentos I se extienden desde las líneas Z hasta el borde de la zona central H de las bandas A, en cuyas zonas más densas se observan proyecciones de los filamentos gruesos, dispuestos por pares, que actúan como puentes de unión con los filamentos delgados. El sarcómero acerca o alarga su longitud en hasta el 50 y 120%, respectivamente, de su longitud normal, como resultado del deslizamiento de los filamentos gruesos y delgados, que modifican la magnitud de su solapamiento, lo que sugiere la rápida formación y ruptura de los puentes cruzados entre los filamentos A e I.

Los filamentos A están compuestos esencialmente de miosina. La molécula de miosina (Pm 470000) adopta la forma de un palo de golf de 160 nm de longitud y consta de dos fracciones: una pesada (Pm 450000), formada por dos cadenas con disposición α -helicoidal, cada una compuesta por 1800 aminoácidos, y otra

ligera, globular, constituida por cuatro cadenas, que forman la cabeza o pala del bastón, en la que se diferencian dos fragmentos iguales, donde existen locus con actividad fosfatasa y kinasa. Existen diferentes isoformas de ambas fracciones de la miosina en el músculo esquelético. En general, las formas de miosina presentes en las llamadas fibras β tienen menor actividad ATPásica que las existentes en las fibras α , y ello, como veremos posteriormente, se correlaciona con la velocidad de contracción de la fibra muscular (Barany, 1967). Las moléculas de miosina, se disponen regularmente sobre el filamento A, manteniendo cierta correspondencia con la disposición de la cadena de actina sobre el filamento I. Una región de 200 a 300 nm del centro del filamento A está libre de cabezas de miosina. Los preparados de miosina hidrolizan el fosfato terminal del ATP. Esta actividad ATPásica es estimulada por Ca^{++} e inhibida por Mg^{++} y reside en la cabeza de la molécula miosínica. Grupos sulfhidrilo responsables de esta actividad participan así mismo en la captación de actina. Cuando se forma la actomiosina tiene lugar un cambio significativo en la actividad ATPásica, que ahora es estimulada por Mg^{++} .

Los filamentos I están formados por tres proteínas: actina (Pm 46000), tropomiosina A y B (Pm 130000) y troponina (Pm 86000). La primera es una proteína globular con capacidad de polimerizarse; contiene ϵ -N metil lisina, aminoácido infrecuente, y es rica en prolina. Capta ávidamente Ca^{++} , lo que es importante en la iniciación de la contracción y de la actividad ATPásica. La actina capta ATP y se polimeriza, permaneciendo el ADP formado unido al monómero. Las subunidades monoméricas se disponen en

doble hélice de 6 nm de diámetro total (que es el mismo de los filamentos I), en número de catorce por vuelta. La tropomiosina tiene naturaleza fibrosa; la tropomiosina B está formada por dos cadenas de configuración α -helicoidal de 45 nm de longitud y 2 nm de espesor. La troponina es una proteína globular que aparece a intervalos regulares (40 nm) a lo largo del filamento y que tiene una gran capacidad de captación de Ca^{++} . Cuando esto ocurre, se producen cambios de conformación en la tropomiosina y quedan libres lugares reactivos de la actina. Tropomiosina y troponina son esenciales para la regulación por el Ca^{++} de la actividad Mg ATPásica del complejo actomiosina. En los complejos actomiosínicos la relación entre los monómeros de actina y la miosina es 1:1, por lo que el polímero de actina puede captar muchas unidades de miosina. En presencia de ATP y Mg^{++} estos complejos se disocian. La interacción de las cabezas de miosina de los filamentos A con los monómeros de actina de los filamentos I produce la hidrólisis de ATP a ADP y P, y genera la fuerza con la que se produce el desplazamiento entre filamentos. Los filamentos de miosina presentan una longitud relativamente constante entre los vertebrados, en tanto que los filamentos I son de longitud más variable.

El estímulo para la contracción muscular es un impulso eléctrico que, vía nervio motor, alcanza la unión neuromotora, es transmitido a la célula muscular y se extiende por el sarcolema. El exterior del sarcolema es unos 60 mv más positivo que el interior y esta diferencia de potencial desaparece con el impulso, lo que se llama despolarización. Esta se debe a un rápido aumento de permeabilidad a ciertos cationes que fluyen en

la dirección adecuada para descargar el potencial de membrana (K^+ , Na^+ , Ca^{++}). De gran importancia para la conducción de la señal son el llamado sistema T, formado por invaginaciones tubulares repetidas del sarcolema que contactan con casi todas las miofibrillas, y el retículo sarcoplásmico. El primero se sitúa generalmente sobre las líneas Z, en cuyo caso es sencillo, o entre las bandas A e I. El segundo forma una red de túbulos paralelos a la fibra que ocupa toda la longitud del sarcómero y está compuesto de dos cisternas apicales, una a cada extremo, junto al sistema T, y una zona media formada por anastomosis de túbulos. En reposo las primeras contienen gran cantidad de Ca^{++} , que pierden durante la contracción. El potencial de acción provocado por el estímulo nervioso se propaga no sólo por el sarcolema sino también por el sistema tubular T que comunica el impulso eléctrico casi simultáneamente a todos los sarcómeros de la fibra y libera Ca^{++} de las cisternas terminales del retículo sarcoplásmico, que pasa al sarcoplasma y activa la interacción del ATP con los filamentos A e I. Los iones Ca^{++} no persisten en el sarcoplasma más que unas pocas milésimas de segundo, mientras tiene lugar el impulso eléctrico causado por el potencial de acción. Realizada la contracción, el Ca^{++} vuelve a penetrar en el retículo sarcoplásmico por su zona media reticular. La disminución de Ca^{++} en el sarcoplasma facilita que el Mg^{++} compita con él e inhiba la actividad ATPásica, con ruptura del complejo actino-miosina, y tenga lugar la relajación positiva de la fibra muscular. La acumulación de Ca^{++} en el retículo sarcoplásmico es el resultado de la acción de una bomba de Ca^{++} , dependiente de ATP, existente en la membrana, que transfiere Ca^{++}

al interior vesicular, incluso en contra de gradiente, con consumo de ATP, hasta que el entorno adquiere una concentración de Ca^{++} algo inferior a 10^{-7}M .

El número total de fibras musculares en cada músculo queda determinado antes del nacimiento, aunque excepcionalmente puede continuar su formación en los primeros días de vida tras el parto. Después del nacimiento las fibras musculares continúan su crecimiento longitudinal y transversal. La incorporación a las fibras de células satélite, que residen entre la membrana basal y el sarcolema de las fibras musculares, eleva su número de núcleos. Estas células satélite, mioblastos residuales, juegan un papel esencial en la regeneración del tejido muscular.

Músculo esquelético y músculo liso presentan básicamente la misma estructura. En el primero la cantidad de miosina es 2,5 veces la de actina. En el segundo, la organización del sistema contráctil es más irregular y la actina triplica en cantidad a la miosina. Si bien es en el músculo esquelético donde acontece la mayor parte de la actividad metabólica relacionada con el ejercicio, la contribución del músculo cardíaco y del músculo liso, particularmente el del sistema vascular, no es despreciable. Existen diferencias entre los tres tipos en lo que respecta a su dependencia de determinadas vías metabólicas para la producción de ATP, si bien el proceso de transformación de energía química en mecánica es muy similar.

Los músculos están formados por agrupaciones de fibras que pueden clasificarse en tres tipos fundamentales atendiendo a su velocidad de contracción y a su dependencia del metabolismo aerobio o anaerobio para la obtención de energía útil. De acuerdo

con el sistema de clasificación de Ashmore (Ashmore, 1974) las llamadas fibras blancas (W) tienen predominantemente un metabolismo anaerobio con glucógeno como principal sustrato. Las fibras rojas (R) presentan mayor dependencia del metabolismo oxidativo, escasa capacidad glicolítica y metabolizan sustratos vía ciclo de Krebs. Estas fibras rojas exhiben mayor resistencia a la fatiga debido a su capacidad para obtener energía por mecanismos oxidativos y no depender primariamente de la existencia de depósitos intracelulares de glicógeno. Por otro lado, las fibras musculares muestran un grado de heterogeneidad diferente, fácilmente perceptible durante las primeras fases de desarrollo, que da origen a diferencias en velocidad de contracción. Cabe distinguir en atención a este aspecto, dos tipos de fibras: fibras con velocidad de contracción y relajación rápida, que requieren entre 30 y 40 milisegundos para alcanzar la máxima tensión, y fibras lentas, que necesitan al menos 70 milisegundos para lograr la tensión máxima. Ambos tipos de fibras presentan diferencias estructurales, específicamente en la unión mioneural, en la anchura de las líneas Z, y enzimológicas en relación con la actividad miosina ATPasa (tabla 1r). Métodos de tinción histoquímica que ponen de manifiesto su actividad miosin ATPásica y su dependencia de la glicolisis para la producción de ATP, facilitan su clasificación. La miosina de las fibras rápidas tiene menor número de aminoácidos metilados (Perry, 1970). Las fibras rápidas, llamadas en el sistema de clasificación de Ashmore fibras α (otras clasificaciones las designan como fibras tipo II) muestran actividad ATPásica generalmente elevada, en tanto que las fibras lentas o fibras β

Tabla 1r.- Diferencias bioquímicas entre fibras musculares esqueléticas.

	Tipo de fibra		
	β R (I)	α R (IIA)	α W (IIB)
Contracción	lenta	rápida-oxidativa	rápida-glicolítica
Actividad ATPasica	baja	alta	alta
Velocidad de contracción	lenta	rápida	rápida
Capacidad glicolítica	baja	moderada	alta
Capacidad oxidativa	alta	moderada	baja
Reserva de glucógeno	moderada-alta	moderada-alta	moderada-alta
Reserva de lípidos	alta	moderada	baja
Irrigación capilar	buena	moderada	pobre

(fibras tipo I) son de baja actividad ATPásica.

Cuando se clasifican las fibras atendiendo a los criterios de velocidad de contracción y metabolismo ya mencionados se observa que todas las fibras rojas son lentas y se les puede designar como BR. Algunas fibras rápidas son también rojas, por tanto αR (o tipo II A), pero en los animales domésticos la mayoría de las fibras rápidas son blancas, consecuentemente αW (o tipo II B). Los términos R y W designan extremos de un amplio abanico de posibilidades metabólicas para liberar energía. De hecho es posible inducir el cambio de fibras αR a αW y viceversa. Aunque la mayor diferencia entre fibras musculares descansa en su relativa dependencia del metabolismo aerobio (fibras BR o tipo I y fibras αR o tipo II A) o anaerobio (fibras αW o tipo II B) para producir ATP, los mecanismos de utilización de éste son idénticos. No obstante el sistema de transducción energética es más rápido en las fibras α para adecuarse a su mayor velocidad de contracción (Perry, 1985).

Los músculos de los animales domésticos adultos no están constituidos generalmente por un único tipo de fibra muscular, sino que son heterogéneos con una distribución de tipos de fibras característica de cada músculo que refleja la especificidad de su función. Consecuentemente cada músculo es distinto a los otros respecto a su metabolismo energético total y su composición química y enzimática (Dauzier, 1976).

Al nacimiento todas las fibras musculares son αR o BR (Ashmore y col., 1972, 1973), es decir, dependen de vías metabólicas oxidativas para obtener energía. Tras el nacimiento las actividades metabólicas evolucionan rápidamente. Las fibras

que permanecen rojas mantienen una baja actividad glicolítica, en tanto que las fibras que se transforman en blancas aumentan rápidamente su capacidad glicolítica y disminuyen sus actividades enzimáticas oxidativas.

Por otro lado, ciertos tipos de ejercicio favorecen el desarrollo de fibras αR . En el hombre, concretamente correr. Otras actividades, por ejemplo, levantamiento de peso, favorecen el desarrollo de fibras αW . La conversión es parcialmente reversible. Experimentos con animales de laboratorio ratifican estos resultados.

Aunque se conoce poco sobre el efecto hormonal en relación con la diferenciación de fibras musculares, se sabe que la testosterona acelera la conversión αR a βR . Consecuentemente el tejido muscular de los animales machos tiende a mostrar mayor capacidad glicolítica. Los factores nutricionales no desempeñan papel alguno conocido a este respecto, pero sí lo tienen en el desarrollo muscular. Una ingesta hipoproteica impide el crecimiento del tejido muscular, con disminución del área de la sección transversal de las fibras musculares y del propio músculo (Joubert, 1956) que se acompaña de reducción de tamaño y número de miofibrillas. Las fibras rápidas se afectan antes y en mayor grado (Rowe, 1968).

Los músculos transforman energía química en trabajo mecánico, esto es, energía potencial en energía cinética. La energía deriva de la hidrólisis de ATP y el trabajo se realiza porque la fuerza que ejerce el músculo en contracción se transmite a otros objetos. Además el músculo en contracción produce calor. Contrariamente, la relajación muscular no realiza

trabajo. Muchos músculos están conectados a elementos esqueléticos que forman un sistema de palancas con el que se facilita la aplicación de una gama amplia de fuerzas direccionales.

Como ya se ha dicho la energía necesaria para llevar a cabo el trabajo muscular procede de la hidrólisis del ATP. Sin embargo, la reserva de ATP muscular, como tal, es muy reducida a pesar de su continua e importante demanda. El músculo de mamífero requiere 10^{-3} moles de ATP/gxmin durante la actividad y sólo dispone de 5×10^{-6} moles/g, cantidad sólo suficiente para 0,5 segundos de actividad. La mayoría de los animales tienen un fosfógeno, la fosfocreatina, como reserva de enlaces fosfato ricos en energía que se encuentra en una concentración 4 a 5 veces superior a la del ATP y que transfiere su fosfato al ADP mediante la acción de la creatín-fosfokinasa. Al pH del sarcoplasma, próximo a 6,0, la formación de ATP a partir de la fosfocreatina está muy favorecida, lo que mantiene durante cierto tiempo la concentración de ATP a pesar de su hidrólisis con la contracción muscular. Una fuente secundaria de ATP, procede de la acción de la AMP kinasa, que cataliza la reacción mediante la que dos moles de ADP forman un mol de ATP y un mol de AMP. Esta reacción tiene lugar en el músculo cuando realiza un trabajo cuya intensidad se aproxima a su límite fisiológico y cuando la reserva de fosfato de creatina está casi agotada. Durante la contracción muscular se produce una caída importante de las reservas de fosfocreatina.

La creatina liberada en la desfosforilación de la fosfocreatina es fosforilada de nuevo en las mitocondrias de la

fibra muscular (Bessman, 1985). Con suficiente suministro de oxígeno, las fuentes de ATP necesario para la fosforilación de la creatina son la glicolisis aerobia y el ciclo tricarboxílico. Si el aporte de oxígeno es insuficiente tiene lugar la glicolisis anaerobia con formación de ácido láctico, que se acumula. Sin embargo, como ya se ha dicho, la fuente de energía para la refosforilación no es idéntica en todos los músculos. Aunque todos ellos tienen actividades respiratorias y glicolíticas, su contribución relativa para la regeneración de ATP puede variar considerablemente. En los músculos rojos, muy activos, la respiración es la fuente principal de energía, vía fosforilación oxidativa en las mitocondrias. En los músculos esqueléticos blancos, relativamente inactivos, la glicolisis constituye la principal vía para la refosforilación del ADP, a pesar de que cuenten con buen suministro de oxígeno. El combustible utilizado para la refosforilación del ADP varía también según la actividad muscular. El músculo en reposo del mamífero utiliza principalmente ácidos grasos y acetoacetato (hepático) y apenas glucosa, que durante la actividad se transforma en el principal sustrato energético.

A nivel muscular, el proceso exergónico de formación de ATP está ligado a los procesos endergónicos de la contracción muscular; en primer término, los relacionados con la actividad actomiosin-ATPásica necesaria para que tenga lugar el proceso mecánico y, en segundo término, los relacionados con las actividades Ca^{++} -ATPásica y Na^+ y K^+ -ATPásica involucrados en la transmisión del estímulo nervioso. En el animal, como organismo, la producción de energía

necesaria para transportar el oxígeno y los sustratos al músculo implica reacciones endergónicas adicionales.

Cuando como consecuencia del trabajo muscular se agota la reserva de fosfocreatina, el músculo obtiene ATP, como ya se ha dicho, mediante la oxidación de sustratos; en primer lugar, de glucógeno, y finalmente de los ácidos grasos circulantes. Si el trabajo muscular se prolonga suficientemente el glucógeno muscular se agota. El glucógeno hepático provee entonces la glucosa necesaria para la provisión de energía al músculo. Finalmente la gluconeogénesis hepática reduce su importancia relativa y los ácidos grasos libres circulantes, pero también algunos procedentes de lípidos localizados en tejido muscular, constituyen la principal fuente de energía para la contracción muscular. La formación de glucosa a partir de aminoácidos en soporte de la contracción muscular parece carecer de importancia cuantitativa, (Miller-Graber y col., 1991) aunque se ha observado que durante el ejercicio el tejido muscular libera alanina que en el hígado puede contribuir a la gluconeogénesis. No obstante esta contribución apenas alcanza un 3% de la energía total necesaria al proceso mecánico. Existe, por otro lado, suficiente evidencia experimental de que la actividad física no modifica el balance de nitrógeno, a menos que la ingesta energética sea limitante y el animal se encuentre en crecimiento, en cuyo caso la actividad física reduce la síntesis neta de proteína, elevándose la excreción urinaria de nitrógeno (Clapperton, 1964a). Con frecuencia se observa un mayor nivel de glucógeno muscular tras el ejercicio en comparación con el nivel previo al inicio de la actividad muscular, y ello, puede explicar el aumento en consumo

de oxígeno que se aprecia en el periodo inmediatamente posterior a la actividad física (Leblanc y Labrie, 1981; Bahr y Maehlum, 1986).

La existencia de mecanismos de retrocontrol ajusta la velocidad de la fosforilación oxidativa y, por tanto, de formación de ATP a su ritmo de consumo. En el músculo en reposo la relación ATP/ADP es bastante elevada, por lo que la actividad de la fosfofructoquinasa, que regula la velocidad de la glucólisis, y de la isocitrato-deshidrogenasa que limita la velocidad del ciclo tricarboxílico, son pequeñas al estar inhibidas por el ATP. En condiciones de máxima actividad y, como ya se ha dicho, parte del ADP formado en la contracción se transforma en AMP por la acción de la adenilato-quinasa, y la presencia de éste actúa como modulador positivo de la fosfofructoquinasa, lo que estimula la glucólisis. Durante estos periodos de máxima actividad a la oxidación de la glucosa vía ciclo tricarboxílico se superpone la glucólisis anaerobia, que origina lactato, el cual difunde a la sangre. Ello dará lugar a un periodo de débito de oxígeno, que corresponde a la oxidación de parte del láctico en corazón e hígado. El resto será convertido en glucógeno en el hígado.

Si se expresa el cambio energético que tiene lugar en el músculo en contracción en términos de entalpía (los cambios de entalpía constituyen una medida muy aproximada a los cambios de energía libre), esto es, considerando que la presión se mantiene constante, entonces:

$$\text{Trabajo} + \text{Calor} = \sum^i \sigma \Delta H_i$$

donde i indica el número de reacciones; σ su amplitud e ΔH_i es la entalpía de cada reacción. Esta ecuación no es sino una expresión de la primera ley de la Termodinámica. Su aplicabilidad al proceso de la contracción muscular fue demostrada experimentalmente por Carlsson y col. (1967) y Wilkie (1968). Estos autores observaron en músculo de rana aislado mantenido en anaerobiosis (para evitar la formación de ATP por degradación oxidativa de sustratos) a 0°C y tratado con iodoacetato (para interferir la formación de lactato al inhibir la gliceraldehído-fosfato-deshidrogenasa) que la suma de trabajo y calor producido en la contracción fue -42 y -46 kJ/mol de fosfocreatina, que en sus condiciones de experimentación constituía la única fuente de producción de ATP para la contracción del músculo aislado. -46 kJ/mol es el cambio de entalpía de la degradación de la fosfocreatina obtenido por Meyerhof y Schultz (1935). Posteriores trabajos han mostrado que el cambio de entalpía por mol de fosfocreatina degradado es -34 kJ y que dicho cambio en la contracción muscular en las condiciones de ensayo anteriormente descritas excede dicho valor, lo que se explica admitiendo que determinadas reacciones químicas asociadas a la contracción muscular no han sido consideradas hasta ahora en su balance energético, tales como los cambios de entalpía relacionados con la captación de Ca^{++} en el sarcoplasma (Homsher, 1987).

Lymn y Taylor (1971) esquematizan el ciclo constituido por la contracción-relajación muscular. En el músculo en reposo el

lugar enzimáticamente activo de las cabezas de miosina está saturado con ADP y fosfato inorgánico, productos de la hidrólisis del complejo $MgATP^{2-}$, que se liberan muy lentamente de la miosina cuando ésta no interacciona con la actina. El estímulo nervioso desencadena esta interacción, liberando ADP y P al sarcolema y la energía de la hidrólisis hasta ahora acumulada en la molécula de miosina, provoca cambios de conformación que se traducen en un reajuste posicional entre las dos moléculas. La actina se desplaza lateralmente de 5 a 10 nm respecto a la miosina. La cabeza de la molécula de miosina capta ATP y se produce la disociación del complejo actomiosina. El ATP se hidroliza a ADP y P_i y la energía liberada se utiliza en desplazar la cabeza de la molécula de miosina a su posición de reposo. Esta teoría del desplazamiento relativo de los filamentos de actina y de miosina es comúnmente aceptada para explicar el fenómeno de la contracción muscular. Sin embargo no se conoce con exactitud la naturaleza de los cambios de conformación que provoca el desplazamiento relativo de los dos filamentos. Puede tratarse de un movimiento de bisagra de la cabeza respecto a la cola de la molécula de miosina. Incluso es posible que la molécula de miosina permanezca unida a la actina incluso en estado de reposo. En este caso, la miosina existiría en dos estados y la contracción implicaría un cambio de uno a otro estado asociado a la liberación al sarcoplasma de los productos de la hidrólisis enzimática de ATP. La mayoría de las teorías propuestas para la formación del complejo actomiosina implican en el proceso solamente a uno de los dos fragmentos de la cabeza de la molécula de miosina. Posiblemente ambos fragmentos son

necesarios para la contracción de la fibra muscular, pero se desconoce actualmente su papel (Perry, 1985).

La tensión desarrollada durante la contracción depende del número de puentes activamente involucrados en la formación del complejo actomiosina por unidad de tiempo. Los puentes de unión son probablemente de tipo -SH o -OH. La saturación de todos los lugares activos de ambas proteínas provocaría el máximo deslizamiento, esto es, la máxima tensión.

Las fibras musculares esqueléticas se contraen en general más rápidamente que las del músculo liso. Mientras aquellas acortan su longitud en aproximadamente un 30%, estas últimas pueden hacerlo hasta en un 80% de su longitud en reposo. Si la tensión ejercida por un músculo es constante conforme reduce su longitud, la contracción se llama isotónica, mientras que si no ocurre reducción de longitud apreciable la contracción es isométrica. La primera realiza un trabajo (fuerza x distancia), en tanto que la segunda genera una fuerza (trabajo interno). El mantenimiento de la postura implica contracción isométrica y el desplazamiento, contracción isotónica. En esta última, la energía utilizada y la producción de calor son altas al inicio de la contracción para caer rápidamente. Se utiliza mucha más energía y se libera más calor en una contracción isotónica, en la que la producción de calor es de hecho superior a la que cabe atribuir a la hidrólisis de ATP o de fosfato de creatina. La máxima fuerza que puede generar un músculo es normalmente $10-40 \text{ Nw/cm}^2$ de su sección transversal. La mayor parte de las contracciones son mezclas de tipo isométrico e isotónico.

Gran parte de la energía disponible para el trabajo muscular se pierde como calor. La proporción varía con el tipo de músculo y las condiciones de la contracción. La eficiencia del proceso de contracción es probablemente del 80 al 90%, pero si se tiene en cuenta la bomba de iones y el proceso completo de contracción y recuperación, la eficiencia global se aproxima al 25%, esto es, los músculos convierten un 25% aproximadamente de la energía metabolizable liberada en la oxidación de sustratos (carbohidratos, grasas y proteínas) en trabajo mecánico (Alexander, 1977; Brafield y Llewellyn, 1982), menor, por tanto, a una máquina diesel cuya eficiencia aproximada es del 40%. Para mantener la funcionalidad efectiva de los músculos debe emplearse energía en mantener operativos los sistemas que le proveen nutrientes: la ventilación pulmonar y la actividad cardiaca son procesos que demandan energía, necesarios para hacer llegar al músculo un suministro adecuado de oxígeno y sustratos.

El tejido muscular tiene la característica singular de multiplicar extraordinariamente su actividad metabólica en un periodo de milisegundos cuando, como resultado de un estímulo nervioso, pasa del estado de reposo al estado activo. Dispone para ello de un sistema de regulación muy eficaz. Ha adaptado con este propósito el sistema universalmente distribuido en todo tipo de células, formado por Ca^{++} y proteínas diana específicas que pueden captar Ca^{++} con gran afinidad. Cuando esto sucede se producen cambios de conformación que se transmiten a otros componentes del sistema contráctil. Este supone alrededor del 60% de la masa celular total del músculo esquelético y su regulación requiere que tengan lugar movimientos de Ca^{++} en el citoplasma,

lo que, como ya se ha indicado, requiere energía, de modo que la regulación de la contracción muscular requiere el consumo de cantidades significativas del ATP producido en la célula muscular que, consecuentemente, no son utilizados propiamente para llevar a cabo el trabajo mecánico de la contracción. Se estima que en las fibras rápidas del músculo esquelético un 20 a 30% del ATP producido, dependiendo de la intensidad del trabajo, puede ser necesario para mantener los gradientes de Ca^{++} correspondientes a los estados de reposo y estimulación (Kushmerick y col., 1969). Más aún, la fatiga puede ser resultado de una pérdida de eficiencia de la bomba de Ca^{++} del retículo sarcoplásmico más que de falta de disponibilidad de ATP para el sistema contráctil. La caída de pH que se produce al elevarse la concentración de ácido láctico tendría, de acuerdo con lo indicado anteriormente, mayor efecto sobre la bomba de Ca^{++} que sobre la formación del complejo actomiosina. La regulación en el músculo estriado depende de la acción de la actina sobre la miosin ATPasa. El sustrato de la ATPasa miofibrilar es MgATP^{2-} . En el músculo la concentración de Mg^{++} libre está en el rango milimolar y probablemente no se altera de modo importante durante la contracción. El complejo MgATP^{2-} no es un sustrato hacia el que la miosin ATPasa muestre gran afinidad; sin embargo, en presencia de actina, bajo la forma de actomiosina, el ritmo de hidrólisis se multiplica por varios cientos. Sólo con actomiosina, en ausencia de los otros componentes de filamento I, específicamente tropomiosina y troponina, la actividad de la Mg ATPasa es alta y no se afecta por cambios en la concentración de Ca^{++} en los rangos observados para los estados de reposo y de contracción muscular. En

presencia de tropomiosina y troponina la enzima MgATPasa se hace sensible a niveles bajos de Ca^{++} . Cuando la concentración de Ca^{++} es inferior a 10^{-7} molar la actividad MgATPasa es baja, similar a la de la miosina sólo. Si la concentración de Ca^{++} aumenta a 10^{-5} molar, aumenta su actividad al valor asociado con la contracción. Por tanto, en el músculo en reposo ($\text{Ca}^{++} \leq 10^{-7}$ molar) la tropomiosina y la troponina evitan que la actina active la MgATPasa de la miofibrilla.

La troponina contiene tres componentes: troponina T, que interacciona con la tropomiosina ; Troponina I, que inhibe la actomiosin MgATPasa en presencia de tropomiosina; y troponina C, que es una proteína que secuestra Ca^{++} , característica del músculo estriado. En el músculo en reposo la troponina C no capta Ca^{++} , pero cuando el Ca^{++} del retículo sarcoplásmico eleva su concentración a 10^{-5} molar los lugares de captación de Ca^{++} de la troponina C son ocupados por este catión. En estas condiciones el sistema tropomiosina-troponina no inhibe la actividad MgATPasa de la actomiosina y la formación del complejo actomiosina tiene lugar rápidamente.

La manera precisa en que la unión de Ca^{++} a troponina C actúa sobre el sistema tropomiosina-troponina para anular su efecto inhibitor de la formación de actomiosina no se conoce con precisión. Se ha propuesto que cuando la concentración de Ca^{++} es baja los filamentos de tropomiosina bloquean físicamente la unión de actina y miosina, cubriendo el lugar de anclaje de cada monómero de actina. Según esta hipótesis, cuando la contracción tiene lugar la tropomiosina se desplaza y deja libres los lugares reactivos de la actina a los que se une la miosina y rápidamente

hidroliza MgATP^{2-} . Este mecanismo requiere que la unión de Ca^{++} a la troponina C inicie una serie de cambios conformacionales en la proteína captadora de Ca^{++} , que son transmitidos a través del complejo troponina y conducen al desplazamiento de la cadena de tropomiosina.

2.2. Coste energético de la locomoción.

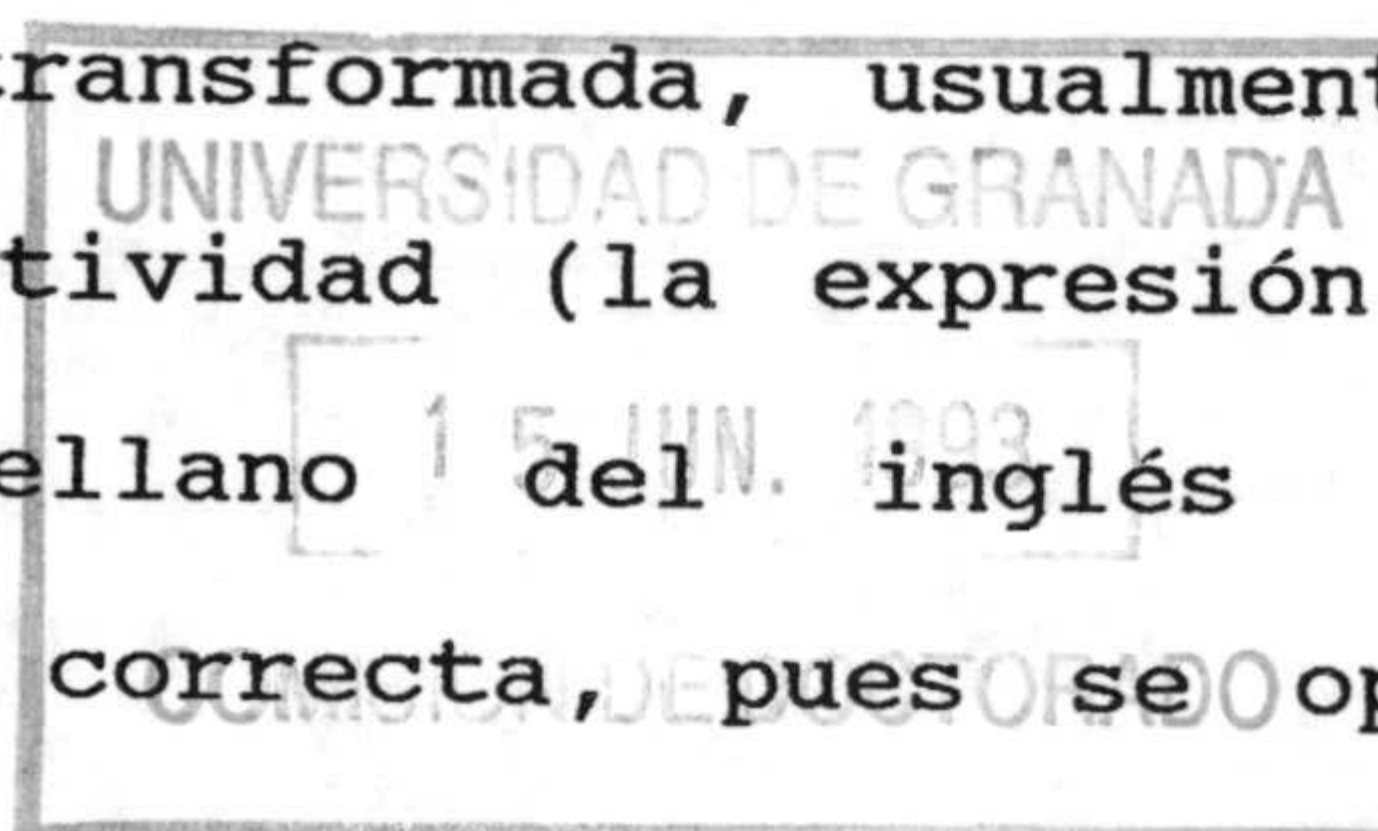
El conocimiento de la eficiencia (k) con la que la energía útil (EM) contenida en los nutrientes es utilizada para realizar trabajo muscular (T), que viene dada por la expresión $k = T/EM$, ha despertado el interés de numerosos especialistas de distintas áreas científicas con variado propósito. En el animal en locomoción su determinación es complicada, cuando no imposible, por la dificultad que a menudo entraña la medida del trabajo realizado. No obstante, en el curso de las dos últimas décadas el progreso científico en este campo ha sido considerable, lo que ha permitido disponer de cálculos fiables de la eficiencia energética del trabajo muscular para desplazamientos cuya dirección y sentido son otros que el movimiento vertical ascendente. En este último supuesto el trabajo total efectuado viene dado por el producto de la masa corporal por la distancia recorrida por $9,81 \text{ m/s}^2$, ya que la fuerza (F) requerida para mover la masa de 1 Kg verticalmente en contra de la gravedad es:

$$F = 1 \text{ Kg} \times 9,81 \text{ m/s}^2 = 9,81 \text{ Nw}$$

y el trabajo (T) realizado:

$$T = 9,81 \text{ Nw} \times 1 \text{ m} = 9,81 \text{ J}$$

No es posible efectuar un cálculo de similar precisión cuando el desplazamiento se verifica en horizontal o sobre pendientes descendentes. En estos casos, y también para otros tipos de actividad muscular, es preferible cuantificar el trabajo muscular en términos de energía transformada, usualmente como gasto o coste energético de la actividad (la expresión "gasto energético", traducción al castellano del inglés "energy expenditure", no es estrictamente correcta, pues se opone al



principio de conservación de la energía; sin embargo, su uso es común y aquí será utilizada, junto a otros términos similares, por cuanto implica degradación de nutrientes que el animal ha de reponer). La medida de la energía utilizada por el animal para desarrollar la actividad muscular puede efectuarse, en cambio, con suficiente precisión a través de la cuantificación del cambio en retención energética que se producirá como resultado de la oxidación de sustratos procedentes de la dieta o de la movilización de reservas orgánicas para proveer la energía necesaria al proceso de contracción muscular. Si se aplica la calorimetría indirecta, los cambios en producción de calor así estudiados miden variaciones en retención energética. De hecho, la mayoría de las estimaciones que se han llevado a cabo sobre la cuantificación de la energía transferida en el trabajo muscular se han obtenido mediante medidas del consumo de oxígeno o de éste y de la producción de anhídrido carbónico del animal (Blaxter, 1989). El empleo de ergómetros o cintas rodantes, ámpliamente difundido en los laboratorios, ha sido extraordinariamente útil en los estudios sobre la energética de la actividad muscular.

Merece la pena exponer dos consideraciones en relación con los aspectos metodológicos empleados en la estimación de la producción de calor asociada al ejercicio. La primera se refiere a las desviaciones que en cálculo de coste energético puede producir el desarrollo esporádico de tensión ejercida por el animal sobre el punto de la estructura exterior del ergómetro al que usualmente permanece atado, aunque con suficiente libertad de movimientos. A este respecto son bien demostrativas las observaciones de Brockway y Boyne (1980) en ganado ovino y de Boyne y col. (1981) en vacuno. Los primeros autores encontraron

un ahorro energético de 0,644 J/Kgxm, equivalente al 12,7% del coste energético observado, como resultado de la tensión ejercida sobre el punto de anclaje cuando el animal caminaba sobre una pendiente de 6°; los citados en segundo lugar observaron que el coste energético del desplazamiento en pendiente ascendente de 5° en ausencia de tensión, medida con un dinamómetro, era de 6 J/Kgxm. Espontáneamente los animales desarrollaron en algunos ensayos, sobre los puntos a los que permanecían atados, tensiones de hasta 150 g/Kg de peso vivo. En estos casos el coste energético aparente descendió a 2,7 J/Kgxm. Los efectos de la tensión ejercida sobre los puntos de atadura variaron con la velocidad y gradiente del desplazamiento y alteraron el gasto energético en hasta 0,04 julios por metro y gramo de tensión.

La segunda observación está en relación con la intensidad del trabajo muscular. Cuando ésta es tan elevada que parte de la energía necesaria para la contracción muscular procede de la degradación anaeróbica de sustratos, tras el ejercicio el consumo de oxígeno permanecerá más alto que en el periodo inmediatamente anterior al de la actividad física y se necesitará el transcurso de un cierto tiempo para que descienda a este último nivel. Este consumo adicional, deuda o débito de oxígeno, que tiene su origen, al menos parcialmente, en la incapacidad de los sistemas respiratorio y circulatorio del animal para suministrar todo el oxígeno necesario para la degradación oxidativa de los sustratos, persigue facilitar la oxidación del lactato acumulado en el músculo y la fosforilación de la creatina y, al cuantificar el gasto energético de la actividad muscular, ha de sumarse al incremento de consumo durante el ejercicio. La máxima capacidad de aerobiosis, es decir, el mayor nivel de consumo de oxígeno que

el animal puede experimentar sin incurrir en deuda de oxígeno fue determinada por Taylor y col. (1980b) en varias especies africanas de mamíferos salvajes y en mamíferos domésticos, a las que obligaron a caminar sobre un ergómetro hasta que observaron aumento de concentración de lactato en sangre. Relacionaron la máxima capacidad aerobia, expresada en términos de producción de calor, utilizando para ello como equivalente energético el factor 20,1 kJ/l O₂ consumido (PC max), con el peso vivo (P, Kg), mediante la función:

$$PC = 2428 P^{0,79}$$

lo que representa entre 8,4 y 10,4 veces el metabolismo del animal en ayuno. Dentro de las especies domésticas y de laboratorio esta relación es muy variable y presenta los valores más bajos en ovino y en vacuno. Contrariamente, el perro y el caballo arrojan las cifras más altas. En general, en las especies animales estudiadas la actividad muscular inherente a la existencia normal no supone más del 30% de su máxima capacidad aerobia.

Cavagna y col. (1963), Alexander y Goldspink (1977), Pedley (1977) y Elder y Trueman (1980) han publicado estudios pormenorizados acerca de la locomoción. En síntesis, puede afirmarse la concurrencia de cuatro componentes en el trabajo total que realiza el animal en locomoción. Un primer componente comprende la suma de las energías cinética y potencial gravitacional ejercida sobre el centro de masa del animal; el segundo, la energía cinética de las extremidades y otras partes del cuerpo en su continua aceleración y desaceleración en cada paso, en relación con el centro de masa del animal; el tercero es la energía potencial elástica acumulada en tendones y otros

elementos elásticos durante parte de cada paso, efectuada la cual, se libera; finalmente el cuarto componente es el trabajo realizado para vencer la fricción externa, debida principalmente a la resistencia que ofrece el aire al desplazamiento. Alexander (1977), Goldspink (1977) y Heglund y col. (1982) señalan que la mayor parte de la energía empleada en la locomoción se destina a producir tensión en tendones, lo que acumula energía, y realizar otro tipo de trabajo interno, mientras que una fracción menor es utilizada en acelerar y desacelerar las extremidades. Schmidt-Nielsen (1972) afirma que una vez que el animal en carrera alcanza una velocidad constante, realiza poco trabajo externo, excepto la energía cinética ligada a los cambios de aceleración de las extremidades en cada paso, lo que constituye el componente cuantitativamente más importante del gasto energético del animal. Cierta grado de conflicto parece existir entre las afirmaciones de éste y los autores anteriormente citados. Estudios anteriores de Taylor y col. (1974) parecen apoyar las sugerencias de Alexander (1977), Goldspink (1977) y Heglund y col. (1982), ya que en ellos se observa que el incremento de gasto energético, medido a través del consumo de oxígeno, con el aumento de la velocidad de desplazamiento es aproximadamente el mismo en guepardo (*Acinonyx jubatus*), gacela (*Gacella gacella*) y cabra (*Capra hircus*), a pesar de las diferencias interespecíficas considerables que presentan en espesor y peso de sus extremidades, que han de originar momentos de inercia ámpliamente divergentes. Estas diferencias en momentos de inercia podrían ser compensadas mediante cambios en la magnitud de la acumulación de energía elástica. Cabe señalar, no obstante, que los tres primeros componentes del trabajo inherente

a la locomoción están interrelacionados y así por ejemplo, la energía perdida en la desaceleración del movimiento del centro de masa corporal cuando el pie se apoya en el suelo, puede utilizarse para acelerar las extremidades en el sentido del desplazamiento. Así mismo, una parte de las energías cinética y potencial puestas en juego en cada paso se almacena como energía potencial en los tendones.

Con la ayuda de técnicas fotográficas de alta velocidad se ha podido evaluar la magnitud de los componentes del trabajo muscular relacionados con la aceleración y desaceleración, que con cada paso y a modo de ciclos continuos, experimentan el centro de masa del animal y sus extremidades. Conocidas sus masas es posible calcular el trabajo mecánico llevado a cabo con el desplazamiento (Heglund y col., 1982). Taylor y Heglund (1982) han relacionado el trabajo mecánico (T_m , wattios) producido por unidad de peso vivo (P , Kg) con la velocidad de desplazamiento (V , m/s) mediante la ecuación:

$$T_m/P = 0,478 V^{1,53} + 0,685 V + 0,072 \quad (a)$$

obtenida con datos procedentes de animales de tamaño ampliamente variable, que no incluye los componentes energéticos tercero y cuarto, anteriormente aludidos.

La información bibliográfica disponible sugiere la existencia de una relación lineal entre consumo de oxígeno (VO_2 , ml $O_2/gxKm$) y velocidad de desplazamiento en horizontal (V , Km/h):

$$VO_2 = a + bV$$

donde b es el coste neto de mover 1 g de masa corporal 1 Km (o lo que es igual 1 Kg de masa 1 m) y la ordenada en el origen " a " (ml O_2/gxh) representa el consumo de oxígeno del animal que permanece

inmóvil en pie. Un examen más detallado indica que dicha relación es curvilínea (Hoyt y Taylor, 1981; Parker, 1983), si bien la curvinealidad es muy ligera. Ello y la considerable variabilidad de los datos, difícil de evaluar en ensayos de campo, induce a asumir la relación lineal entre ambos parámetros (Parker, 1983). Sobre esta relación volveremos más adelante.

El mínimo coste energético del transporte para las diferentes especies animales, depende de su peso vivo y tipo de locomoción. En especies animales que caminan o corren, desde el ratón al caballo, la magnitud de aquel disminuye al aumentar el peso vivo, de acuerdo con la ecuación (Tucker, 1970):

$$PC = (J/Kgxm) = 0,418 \times 10^E \quad (b)$$

donde $E = 1,67 P^{-0,126}$; PC es la producción de calor y P es el peso vivo del animal expresado en Kg.

Taylor y col. (1970) derivan una segunda ecuación que intenta predecir el gasto energético de la locomoción en mamíferos cuadrúpedos:

$$PC = (J/Kgxm) = 10,66 P^{-0,4} \quad (c)$$

donde PC y P tienen el mismo significado que en la ecuación anterior.

Estas dos últimas ecuaciones estiman gastos energéticos de la locomoción en horizontal superiores en los animales de menor tamaño.

Tucker (1970) y Taylor y col. (1970) habían observado que si bien el coste energético neto de mover 1 g de masa corporal 1 Km es independiente de la velocidad de desplazamiento, el coste total por Km recorrido (coste neto más costes adicionales del metabolismo del animal que permanece de pie inmóvil) declina de modo curvilíneo con velocidades crecientes hasta que alcanza un

mínimo asintótico por unidad de distancia. En base a sus datos previos (Taylor y col., 1970) y con datos adicionales obtenidos en distintas especies animales, Taylor y col. (1982) publicaron la siguiente ecuación alométrica:

$$PC/P = V(10,7 P^{-0,316})(W/Kgxm^{-1}xs^{-1}(=J/Kgxm)) + 6,03P^{-0,316}(W/Kg) \quad (d)$$
que relaciona la producción de calor (PC, W), obtenida a partir de los datos de consumo de oxígeno transformados en unidades energéticas de acuerdo con el coeficiente 20,1 kJ/l O₂, con la velocidad de desplazamiento (V, m/s) y el peso vivo (P, Kg). Su coeficiente de regresión estima el coste energético neto por metro de desplazamiento y Kg de masa corporal y el término independiente su producción de calor en función del peso vivo cuando la velocidad de desplazamiento es cero, valor que igualará a la suma de su metabolismo basal, gasto energético del mantenimiento de su postura en inmovilidad y efecto termogénico del alimento ingerido. A medida que la velocidad de desplazamiento se eleva, la contribución de la ordenada en el origen pierde importancia relativa y el primer término de la ecuación representa la porción cuantitativamente más importante del coste del desplazamiento.

Multiplicando por P la ecuación (d) se transforma en:

$$PC = V(10,7 W^{0,684}) + 6,03 W^{0,697} \quad (e)$$

cuyo segundo término representa la producción de calor del animal que permanece de pie inmóvil. Este término parece sobreestimar la producción de calor del animal, si bien se ha observado en buen número de casos una estrecha correspondencia entre determinaciones directas y estimaciones por extrapolación (Brockway y Gessaman, 1977; White y Yousef, 1977; Cohen y col.,

1978; Fancy y White, 1985).

Los resultados que arrojan ensayos realizados con animales de interés ganadero presentan desviaciones a menudo cuantitativamente importantes con los que estima la ecuación (d), lo que cuestiona la utilidad de su aplicación en el cálculo de necesidades energéticas para animales en pastoreo (en ovino, Clapperton (1964b) estima el coste energético del desplazamiento en horizontal en 2,47 J/Kgxm (desv.: -19,6%) y Farrell y col. (1972) en 2,83 J/Kgxm; en vacuno, Brody (1945) en 2,00 (desv.: -43,9%), Ribeiro y col. (1977) en 2,09 J/Kgxm (desv.: +4,7%) y Shibata y col. (1981) en 1,54 J/Kgxm (desv.: -18,8%); en équidos, Brody (1945) en 1,54 J/Kgxm (desv.: 0,0%) y Dijkman (1992) en 0,97 J/Kgxm (desv.: +125,8%)).

El coste neto del desplazamiento, expresado por unidad de distancia recorrida y de peso vivo, obtenido en distintas especies animales, aparece en la tabla 2r.

Se ha observado que los animales jóvenes muestran costes de locomoción más elevados que los maduros de peso equivalente y que los domésticos requieren más energía para su desplazamiento horizontal que los salvajes de peso similar (Farrell y col., 1972).

Dailey y Hobbs (1989) observaron en ganado caprino (*Oreamnos americanus*) y ovino (*Ovis canadensis*) salvaje que el coste energético de la locomoción en horizontal (4,85-5,65 J/Kgxm) fue relativamente independiente del peso vivo y de la especie. Dicho coste es ligeramente mayor que el observado por Taylor y col. (1982) en ovino doméstico (*Ovis ovis*) (4,65 J/Kgxm) y casi duplica los valores obtenidos en otros ensayos realizados también en ovino (2,47 J/Kgxm, Clapperton, 1964b; 2,83 J/Kgxm, Farrel y

Tabla 2r.- Coste neto de la locomoción (a , $J \cdot Kg^{-1} \cdot m^{-1}$) obtenido en distintas especies animales en función de la distancia recorrida (x, m), según $PC/P(J \cdot Kg^{-1}) = ax + b$, o como incremento de la producción de calor por unidad de desplazamiento, $((\Delta PC/P)/X, J \cdot Kg^{-1} \cdot m^{-1})$.

Especie	Peso vivo (Kg)	b ($J \cdot Kg^{-1} \cdot min^{-1}$)	a ($J \cdot Kg^{-1} \cdot m^{-1}$)	Referencia
Caballo (<i>Equus caballus</i>)	91-688		1,54	Brody (1945)
Vacuno (<i>Bos taurus</i>)	383-430		2,00	
Ovino (<i>Ovis ovis</i>)	41		2,47	Clapperton (1964b)
Ovino (<i>Ovis ovis</i>)	30		2,83	Farrell y col. (1972)
Gacela (<i>Gacella gacella</i>)	23	182	3,23	Taylor y col. (1974)
Guepardo (<i>Acinonyx jubatus</i>)	34-44		2,82	
Cabra (<i>Capra hircus</i>)	28		3,63	
Ciervo (<i>Cervus elaphus</i>)	68		2,55	Brockway y Gessaman (1977)
Vacuno (<i>Bos taurus</i>)	120-191		2,09	Ribeiro y col. (1977)
Alce (<i>Cervus canadensis nelsoni</i>)	48	128	4,45	Cohen y col. (1978)
Alce (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	157	22	1,55	Gates y Hudson (1978)
Reno (<i>Rangifer tarandus</i>)	93	136	2,00	White y Yousef (1978)
Vacuno (<i>Bos taurus</i>)	291-453		1,54	Shibata y col. (1981)
Ovino (<i>Ovis ovis</i>)	23	121	4,65	Taylor y col. (1982)
Alce (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	42	166	4,61	Parker (1983)
	125		2,40	
	150		2,26	
Caribú (<i>Rangifer tarandus</i>)	76	193	1,90	Fancy y White (1985)
	95	134	1,66	
Cabra (<i>Oreamnos americanus</i>)	12-51		4,85	Dailey y Hobbs (1989)
Ovino (<i>Ovis canadensis</i>)	22-69		5,65	
Vacuno (<i>Bos indicus</i>)	275-500		1,91	Lawrence y Stibbards (1990)
Búfalo (<i>Bubalus bubalis</i>)	380-650		1,91	
Póney (<i>Equus caballus</i>)	110-230		1,02	Booth y col. (1992)
Burro (<i>Equus asinus</i>)	113-145		0,97	Dijkman (1992)

col., 1972).

De la comparación entre especies se deduce que el coste energético del desplazamiento presenta los valores más bajos en el burro (*Equus asinus*) (0,97 J/Kgxm, Dijkman, 1992), seguido del póny (*Equus caballus*) (1,02 J/Kgxm, Booth y col., 1992) y del caballo (*Equus caballus*) (1,54 J/Kgxm, Brody, 1945). El ganado vacuno (*Bos taurus*) muestra tendencia a necesitar más energía que los équidos (2,00 J/Kgxm, Brody, 1945; 2,09 J/Kgxm, Ribeiro y col., 1977; ganado vacuno Brahman (*Bos indicus*) y búfalo (*Bubalus bubalis*), 1,91 J/Kgxm, Lawrence y Stibbards, 1990). Este coste energético neto es aún más elevado en ovino (*Ovis ovis*) (2,47 J/Kgxm, Clapperton, 1964b; 2,83 J/Kgxm, Farrell y col., 1972). Diferencias anatómicas interespecíficas podrían ser la causa de las divergencias observadas entre especies (Dijkman, 1992).

La mecánica del paso, su longitud y frecuencia, así como la posición relativa de los pies durante la marcha caracterizan a ésta. En los mamíferos ungulados pueden diferenciarse tres tipos fundamentales de marcha: al paso, trote y galope. Dentro de cada tipo de marcha un cambio de velocidad se asocia a un cambio lineal en frecuencia de pasos. Cuando el animal modifica su tipo de marcha se produce una alteración radical en los parámetros anteriores.

Hoyt y Taylor (1981) observaron en caballos que para cada tipo de marcha existía una velocidad a la cual el consumo de oxígeno necesario para mover una masa dada a lo largo de una unidad de distancia descendía a un valor mínimo. Este valor mínimo era muy similar para los tres tipos de marcha antes citados. De aquí concluyeron que el tipo de marcha elegido libremente por el animal para determinadas velocidades de

desplazamiento es aquel que permite, en consecuencia, la mayor eficacia energética. Resultados similares obtuvieron en otras especies animales Mattfeld (1974), Pennycuick (1975), Parker (1983) y Duquette (1984). Por tanto, es razonable concluir que el cambio de tipo de marcha se produce cuando la velocidad de desplazamiento alcanza determinados valores y que este cambio tiene por objeto minimizar el pequeño aumento que en gasto energético neto se produce con la velocidad de locomoción, como demuestran los estudios ya citados de Clapperton (1964b), Ribeiro y col. (1977), Hoyt y Taylor (1981) y Parker (1983), de modo que en un amplio rango de velocidades de desplazamiento se observa una relación prácticamente lineal entre velocidad y gasto energético. En el rango de velocidades de desplazamiento correspondientes a cada tipo de marcha, las velocidades más bajas prolongarían el tiempo en que los músculos y tendones permanecen relajados, con lo que el coste energético de mantenimiento de estas estructuras adquiriría mayor importancia relativa en el conjunto global de consumo energético. Contrariamente, en el sector de velocidades más elevadas dentro de rangos tendría lugar un aumento progresivo de gasto energético para vencer la resistencia a la contracción muscular de las estructuras esqueléticas. Esto explicaría la ligera, pero apreciable, curvilinealidad ya apuntada y, por lo tanto, la existencia de una velocidad de desplazamiento energéticamente más eficiente. En el hombre que camina, Cavagna y col. (1963) indicaron que el trabajo externo alcanza su valor relativo más alto ($0,42 \text{ J/Kgxm}$) a la velocidad de marcha energéticamente más eficiente (4 Km/h), que corresponde a un gasto energético de $2,01 \text{ J/Kgxm}$. A esta velocidad el trabajo interno es prácticamente despreciable y

eleva rápidamente su valor a velocidades de marcha muy bajas o más altas, debido a la mayor contribución de contracciones isométricas, importantes en el mantenimiento del equilibrio, o en generar energía elástica, respectivamente.

Si la ecuación (a), que estima el trabajo mecánico producido por unidad de peso vivo en función de la velocidad de desplazamiento, se divide por el primer término de la ecuación (d), que estima el coste neto del desplazamiento, se obtiene la eficiencia con que la energía derivada de la oxidación de los nutrientes o de la movilización de las reservas se transforma en trabajo. Las eficiencias calculadas de este modo se elevan con la velocidad de desplazamiento y para cualquier velocidad, aumentan con la masa corporal (Taylor y Heglund, 1982). O lo que es lo mismo, el coste energético relativo de la locomoción es menor en los animales de gran talla corporal que en los de menor peso. El ARC (1980) ha aceptado para ganado ovino que se desplaza horizontalmente el valor de 2,6 J/Kgxm y para vacuno el de 2,0 J/Kgxm, considerablemente inferior. En ungulados salvajes (ciervo (*Odocoileus hemionus*) y alce (*Cervus elaphus nelsoni*)) Parker (1983) comprobó que el coste energético neto de la locomoción en horizontal disminuye exponencialmente al elevarse el peso vivo y esto mismo se aprecia al comparar las cifras obtenidas para este parámetro por Brockway y Gessaman (1977) en ciervo (*Cervus elaphus*) de 68,3 Kg de peso vivo medio (2,55 J/Kgxm), White y Yousef (1978) en reno (*Rangifer tarandus*) de 92,8 Kg (2,00 J/Kgxm) y Gates y Hudson (1978) en alce (*Cervus elaphus nelsoni*) de 157,0 Kg (1,55 J/Kgxm). Una conclusión similar puede establecerse como resultado de la comparación entre costes energéticos de la locomoción de ganado ovino y vacuno doméstico

(Clapperton, 1964b; Farrell y col., 1972; Ribeiro y col., 1977; Lawrence y Stibbards, 1990). Las ecuaciones (b) (Tucker, 1970) y (c) (Taylor y col., 1970), anteriormente citadas, constituyen intentos de predecir la magnitud de esta variación. La explicación fisiológica a este fenómeno es compleja, dada la multiplicidad de factores que intervienen (Fancy y White, 1985). A una misma velocidad de desplazamiento cabe esperar un número superior de contracciones de un determinado músculo que participe en el fenómeno si pertenece al animal de menor tamaño, por lo que el transporte de este requerirá mayor consumo energético que el del animal de tamaño superior. Se conoce, además, el mayor contenido en fibras lentas, que operan más eficientemente desde el punto de vista energético que las rápidas (Goldspink, 1977), en los animales de mayor talla.

Con el sistema de cálculo citado anteriormente puede obtenerse en animales de pequeño tamaño valores de eficiencia energética inferiores a los observados en preparaciones musculares aisladas, fenómeno sobre el que ninguna explicación se ha dado hasta ahora. En animales de gran tamaño el cálculo arrojaría cifras, igualmente inaceptables, superiores al 100%, que, al menos parcialmente, serían explicables por la acumulación de energía cinética y potencial como energía elástica en los tendones y otros elementos en una fase de cada paso y su posterior liberación en la fase siguiente, con la que se completa el ciclo (Alexander, 1980). La máxima eficiencia teórica de la contracción muscular, sin soporte de la energía elástica acumulada, es del orden del 25% (Alexander, 1977; Brafield y Llewellyn, 1982). Este cálculo incluye la eficiencia bioquímica para la formación de ATP de la energía contenida en los sustratos

siguiendo su degradación aerobia. Si la eficiencia se expresa en términos de energía contenida en ATP que es transformada en trabajo mecánico, aquel valor teórico se multiplica por 2 ó 3. Taylor y col. (1980a) y Taylor y Heglund (1982) concluyen que el ritmo de oxidación de nutrientes durante la locomoción no está determinado por el trabajo mecánico exterior que se realiza. Este sólo se produce en la contracción isotónica de las fibras musculares. Sin embargo, la contracción isométrica, necesaria para la estabilidad de las articulaciones y la resistencia a la distensión, es un componente importante de la actividad muscular total asociada a la locomoción. Mientras el coste energético de la locomoción varía con el tamaño corporal, el trabajo mecánico de la locomoción es casi independiente de éste (Heglund, 1979). Se desconoce la causa por la que el componente isométrico sería más importante cuantitativamente en el animal de pequeño tamaño corporal. Taylor y col. (1980a) y Taylor y Heglund (1982) señalan finalmente que el factor determinante del ritmo de producción total de calor del animal durante la locomoción es el coste metabólico por unidad de tiempo de la fuerza generadora muscular, lleve a cabo o no trabajo externo. Este coste estaría determinado por la velocidad de contracción, proporcional al ritmo de formación del complejo actina-miosina, de las miofibrillas que operan durante la locomoción, que estaría relacionado directamente con la velocidad de desplazamiento e inversamente con el tamaño del animal.

La textura del terreno y la naturaleza física de la superficie sobre la que el animal se desplaza afectan profundamente al coste energético de la locomoción. El efecto es más importante en el hombre que en los animales cuadrúpedos,

probablemente como resultado de la mayor carga por unidad de superficie de apoyo que implica la locomoción bipedal (White y Yousef, 1978).

El nivel de alimentación tiene escaso efecto sobre el valor aparente de eficiencia energética del trabajo muscular. Ensayos en ganado ovino en el que los animales realizaban la misma cantidad de trabajo indicaron que ésta provocaba una menor reducción de retención energética en los animales que tenían retenciones energéticas positivas que en los que se alimentaron a nivel de mantenimiento o por debajo de él (Clapperton, 1964a). Ello se debe a que el trabajo muscular es una actividad que demanda atención energética prioritaria y a que la deposición neta de proteína y grasa en el animal en crecimiento-cebo es energéticamente un proceso menos eficiente que el mantenimiento.

En comparación con los estudios realizados para determinar el coste energético neto de la locomoción en horizontal, son escasos los trabajos llevados a cabo para determinar la eficiencia energética del desplazamiento en pendiente.

El coste del desplazamiento en pendiente ascendente es superior al del desplazamiento horizontal, pues el animal realiza trabajo para mover su cuerpo verticalmente, en contra de la fuerza de atracción de la gravedad, y también horizontalmente. Si el componente vertical, obtenido por diferencia entre las producciones de calor correspondientes al desplazamiento en pendiente ascendente y al movimiento horizontal, se expresa como energía transferida, es decir, gasto energético por Kg de peso vivo y metro de desplazamiento, ésta es, para pendientes moderadas, prácticamente un valor constante entre especies de interés ganadero, que se sitúa en torno a 27 J/Kgxm (tabla 3r).

Tabla 3r.- Coste energético necesario para elevar 1 Kg de peso vivo 1 m en vertical (J).

Especie	Peso vivo (Kg)	Angulo de pendiente	Coste energético	Referencia
Ovino (<i>Ovis ovis</i>)	41	2,7	25,4	Clapperton (1964b)
	41	5,1	27,0	
Ovino (<i>Ovis ovis</i>)	30	32,0	Farrell y col. (1972)
Chimpancé (<i>Pan troglodytes</i>)	18	15	14,8	Taylor y col. (1972)
Burro (<i>Equus asinus</i>)	254	9,6	30,1	Yousef y col. (1972)
Reno (<i>Rangifer tarandus</i>)	5	21,3	Luick (1974)
	9	30,3	
Perro (<i>Canis familiaris</i>)	13	4,2	22,0	Raab y col. (1976)
	13	6,7	27,6	
	13	11,5	32,3	
Ciervo (<i>Cervus elaphus</i>)	68	7-14	21,5	Brockway y Gessaman (1977)
Vacuno (<i>Bos taurus</i>)	120-191	6	26,0	Ribeiro y col. (1977)
Alce (<i>Cervus canadensis nelsoni</i>)	48	4,2	13,8	Cohen y col. (1978)
	48	11,7	12,1	
Reno (<i>Rangifer tarandus</i>)	94-99	2,9	19,6	White y Yousef (1978)
	94-99	5,1	31,0	
Vacuno (<i>Bos taurus</i>)	291-453	5	24,0	Shibata y col. (1981)
	291-453	10	30,3	
Alce (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	28-145	14,3	24,0	Parker (1983)
Ciervo (<i>Odocoileus hemionus</i>)	14-24	14,3	25,1	
Cabra (<i>Oreamnos americanus</i>)	24	3,4	14,4	Dailey y Hobbs (1989)
	16-42	21,5	37,1	
Ovino (<i>Ovis canadensis</i>)	27	3,4	18,7	
	31-69	21,5	38,2	

Farrell y col. (1972), en ovino (*Ovis ovis*), y Yousef y col. (1972), en burros (*Equus asinus*), encuentran cifras más elevadas, 32,0 y 30,1 J/kgxm, respectivamente. Contrariamente, Brockway y Gessaman (1977) en ciervos (*Cervus elaphus*) y Cohen y col. (1978) en alces (*Cervus canadensis nelsoni*) hallan gastos energéticos inferiores (21,5 y 12,1-13,8 J/Kgxm, respectivamente). Dailey y Hobbs (1989) observan en ganado caprino (*Oreamnos americanus*) y ovino salvaje (*Ovis canadensis*) costes variables según el grado de pendiente (14,4 y 18,7 J/Kgxm, con ángulos de pendiente de 3,4°, y 37,1 y 38,2 J/Kgxm con 21,5° de ángulo de pendiente, respectivamente). En el desplazamiento vertical ascendente el trabajo exterior realizado es 9,81 J/Kgxm y, consecuentemente, la eficiencia energética del proceso sería, de acuerdo con la mayoría de las observaciones, de $9,81/27 = 0,36$, prácticamente invariable con el tamaño del animal. Este coeficiente es superior al que cabe esperar desde un punto de vista bioquímico (Alexander, 1977; Brafield y Llewellyn, 1982) y viene a ser similar al obtenido en ensayos en los que se ha medido el coste energético del arrastre de cargas o del desplazamiento venciendo la resistencia del aire (Pugh, 1971; Lloyd y Zacks, 1972; Davies, 1980; Boyne y col., 1981). La separación de los mencionados componentes vertical y horizontal con el propósito de calcular la eficiencia energética del proceso mecánico no está exenta de crítica, pues parte del trabajo realizado al elevar el centro de gravedad del cuerpo a cada paso durante la locomoción en horizontal queda adscrito al componente vertical, si se sigue este método de cálculo. Sin embargo, dentro de las especies estudiadas, domésticas y salvajes, esta eficiencia parece declinar al aumentar el ángulo de pendiente (Yousef y col., 1972;

Luick, 1974; Brockway y Gessaman, 1977; White y Yousef, 1978; Shibata y col., 1981; ; Dailey y Hobbs, 1989), lo que evidentemente dificulta la interpretación de los resultados. La enorme variabilidad de datos representa un obstáculo difícilmente superable para alcanzar conclusiones definitivas (Cohen y col., 1978). Se añade a ello que otros autores (Robbins, 1983; Fancy y White, 1985) no encuentran efecto de la pendiente sobre la eficiencia energética de elevar 1 Kg 1m. Taylor y col. (1972) indican que el desplazamiento en pendiente ascendente implica un aumento relativo de gasto energético sobre el desplazamiento en horizontal más pequeño en animales de menor talla en comparación con animales de mayor tamaño corporal, lo que se produce como resultado de que los primeros presentan un coste energético relativamente más elevado para moverse horizontalmente y requieren aproximadamente la misma energía para elevar 1Kg de su masa corporal 1m en vertical.

Se dispone de muy poca información respecto al coste del desplazamiento en gradiente de descenso, particularmente de la que hace referencia a animales de interés ganadero. En el desplazamiento en gradiente descendente la energía potencial adquirida contribuye a disminuir el coste energético del desplazamiento, pues esta energía es recuperada como energía cinética durante el descenso. La fracción recuperada se obtiene sustrayendo el coste neto del movimiento en pendiente descendente ($J/Kgxm$) del medido en horizontal y la eficiencia del proceso, dividiendo aquella fracción por $9,81 J/Kgxm$, que es la energía mecánica almacenada en el desplazamiento vertical descendente. A este respecto, los valores que aparecen en la bibliografía muestran una gran variabilidad. Y así, Raab y col. (1976) en

perros (*Canis familiaris*) obtuvieron en pruebas realizadas sobre planos con ángulos de pendiente de $-4,2$, $-6,7$ y $-11,5^{\circ}$, eficiencias en la recuperación de energía de 112, 105 y 62%, respectivamente ; Taylor y col. (1972) hallaron en chimpancés (*Pan troglodytes*) desplazándose sobre superficies con -15° de ángulo de pendiente, una recuperación de energía potencial del 95%; Cohen y col. (1978) en alces (*Cervus elaphus nelsoni*) que caminaban sobre planos con ángulos de pendiente de $-4,2$ y $-11,7^{\circ}$, calcularon una eficiencia de recuperación de energía de 56 y 72%, respectivamente; White y Yousef (1978) en ensayos realizados con renos (*Rangifer tarandus*) sobre superficies con ángulos de pendiente de $-2,9$ y $-5,1^{\circ}$ encontraron eficiencias de 71 y 59%, respectivamente; Yousef y col. (1972) en burros (*Equus asinus*), que caminaron sobre superficies con ángulos de pendiente de $-1,1$, $-5,7$ y $-9,6^{\circ}$, obtuvieron recuperaciones de energía de 0 , 48 y 10%, respectivamente. Esta y otra información adicional (Margaria y col., 1963; Taylor y col., 1972; Margaria, 1976; Parker, 1983; Dailey y Hobbs, 1989) sugiere que la cantidad de energía recuperada durante el descenso disminuye no sólo al aumentar el ángulo de pendiente, (tabla 4r) lo que probablemente se debe al trabajo muscular creciente que el animal realiza para evitar caer, sino que también disminuye al elevarse el peso vivo. Taylor y col. (1972) señalan que en el hombre, la eficiencia de recuperación energética varía con el grado de pendiente desde el 100%, prácticamente cuando éste es de -3° , a 0% para -18° y que para pendientes negativas superiores a -18° requiere más energía para desplazarse que para caminar sobre una superficie horizontal. En concordancia con estas observaciones, Margaria (1976) en pruebas llevadas a cabo en humanos obtuvo 1,5 veces el

Tabla 4r.- Energía recuperada al descender en vertical 1 Kg de peso vivo 1 m (J).

Espece animal	Peso vivo (Kg)	Angulo de pendiente	Energía recuperada	Eficiencia (%)	Referencia
Hombre (<i>Homo sapiens</i>)	70	-2,9	19,9	203	Margaria y col. (1963)
		-5,7	18,2	186	
Chimpancé (<i>Pan troglodytes</i>)	18	-15	9,3	95	Taylor y col. (1972)
Burro (<i>Equus asinus</i>)	254	-1,1	0	0	Yousef y col. (1972)
		-5,7	4,7	48	
		-9,6	1,0	10	
Perro (<i>Canis familiaris</i>)	13	-4,2	11,0	112	Raab y col. (1976)
		-6,7	10,3	105	
		-11,5	6,1	62	
Alce (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	48	-4,2	5,5	56	Cohen y col. (1978)
		-11,7	7,1	72	
Reno (<i>Rangifer tarandus</i>)	96	-2,9	7,0	71	White y Yousef (1978)
		-5,1	5,8	59	
Ciervo (<i>Odocoileus hemionus</i>)	19	-14,3	7,4	75	Parker (1983)
Alce (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	50	-14,3	5,3	54	
	100	-14,3	3,6	35	
	150	-14,3	2,8	28	
Ovino (<i>Ovis canadensis</i>)	35-69	-21,5	-0,2	-2	Dailey y Hobbs (1989)
Caprino (<i>Oreamnos americanus</i>)	36-42	-21,5	0,2	2	
Burro (<i>Equus asinus</i>)	113-145	-5,7	5,6	57	Dijkman (1992)
		-8,5	7,8	79	

consumo energético observado en locomoción horizontal cuando los desplazamientos se realizaron sobre pendientes descendentes del 40%. Resultados análogos hallan Dailey y Hobbs (1989) en especies salvajes de ovino y caprino, que al desplazarse sobre una superficie de $-21,5^\circ$ de ángulo de pendiente experimentaron un gasto energético 1,08 veces mayor que el correspondiente a su movimiento sobre el plano horizontal. El efecto sería más apreciable en los animales de mayor tamaño y, por tanto, con extremidades más largas, cuyo gasto energético en desacelerar una mayor masa corporal al desplazarse en pendiente descendente sería superior que el que experimentaría un animal de menor talla. Parker (1983) observa en ciervo (*Odocoileus hemionus*) y alce (*Cervus elaphus nelsoni*), que la cantidad de energía potencial recuperada con el desplazamiento en pendiente descendente disminuyó al aumentar el peso corporal entre el 75% para un animal de 19 Kg a 28% para un animal de 150 Kg de peso vivo.

Cabe, finalmente, hacer una breve consideración sobre la contribución del trabajo muscular al gasto energético diario del animal. Evidentemente, aunque significativos, los costes de la locomoción, que son los más importantes desde el punto de vista cuantitativo de todos los relacionados con la actividad muscular, no representan más que una modesta fracción del gasto energético diario del animal en libertad. Lo contrario hubiese dirigido fuertemente la selección natural hacia adaptaciones de orden morfológico, fisiológico y de comportamiento que implicaran una mayor eficiencia locomotora (Fancy y White, 1985). Para animales domésticos de interés ganadero es ilustrativo a este respecto el cálculo que realiza el ARC (1980) para un buey de 400 Kg que se desplaza 3 Km y asciende 200 m al día y el correspondiente a un

carnero que recorre diariamente la misma distancia. En el primer caso la energía transformada sería

$$400 \text{ Kg} \times 3000\text{m} \times 2,0 \text{ J/Kgxm} + 400 \text{ Kg} \times 200\text{m} \times 28 \text{ J/Kgxm} = 4,64 \text{ MJ},$$

que representa un componente adicional del 14,5% de su metabolismo en ayuno (32 Mj). En el segundo caso el gasto energético representaría un incremento superior sobre su metabolismo en ayuno (4,2 Mj):

$$50 \text{ Kg} \times 3000\text{m} \times 2,6 \text{ J/Kgxm} + 50 \text{ Kg} \times 200\text{m} \times 28 \text{ J/Kgxm} = 0,67 \text{ MJ},$$

equivalentes al 16% de su actividad metabólica basal.

El gasto energético total del animal puede expresarse como múltiplo del basal (PCB). De acuerdo con ello y en términos de producción de calor, sería de 1,145 x PCB y 1,16 x PCB para los ejemplos anteriores, respectivamente.

En el animal que se mueve en libertad la contribución relativa de la actividad muscular a su metabolismo total puede calcularse, si bien sólo de manera aproximada, mediante la relación que guarda la producción total de calor del animal con su metabolismo en reposo. La causa que limita la exactitud de este cálculo deriva de que la producción total de calor del animal que consume alimento para cubrir sus necesidades energéticas de mantenimiento es la suma de su actividad metabólica basal, del incremento térmico y, si el animal se encuentra en un ambiente cuya temperatura se sitúa fuera de la zona de termoneutralidad, de la producción de calor necesaria para su termorregulación. La eficiencia con que la energía metabolizable del alimento se utiliza para atender las necesidades de mantenimiento, aunque variable según la calidad de

la dieta, se sitúa en la proximidad de 0,85 en el animal monogástrico y 0,75 en los animales con fermentación pregástrica. En consecuencia, el efecto termogénico del alimento supone del 15 al 25% de su producción total de calor. Si el nivel de alimentación supera al de mantenimiento, como cabe esperar en el animal en producción, la formación de tejido o la secreción láctea son procesos que implican la producción de calor adicional, cuya importancia relativa es función del tipo de producción y nivel productivo. En consecuencia, la estimación precisa del gasto energético imputable al trabajo muscular que realiza un animal en libertad presenta grandes dificultades prácticas.

2.3. Coste energético de la ingestión de alimento.

2.3.1. Efecto termogénico del alimento.

El incremento de producción de calor observado en los animales tras el consumo de alimento (efecto termogénico del alimento), fue observado por Lavoisier y más tarde atribuido por Rubner (1902) al metabolismo de los nutrientes absorbidos (efecto dinámico específico), particularmente de la proteína, y por Lusk (1921) al trabajo de la ingestión y digestión del alimento.

Benedict y Ritzman (1972) demostraron que este efecto era mayor y más persistente en animales rumiantes que en monográsticos y sugirieron que ello, podría estar relacionado con la gran cantidad de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos por fermentación en el rumen. Barcroft y col. (1944) establecieron que los AGV eran la principal fuente energética en los rumiantes, y Armstrong y col. (1957, 1958) demostraron que el incremento calórico generado cuando los AGV eran infundidos en rumen de ovino en cantidades suficientes para promover una retención energética, era proporcional a la proporción molar de acetato en la mezcla.

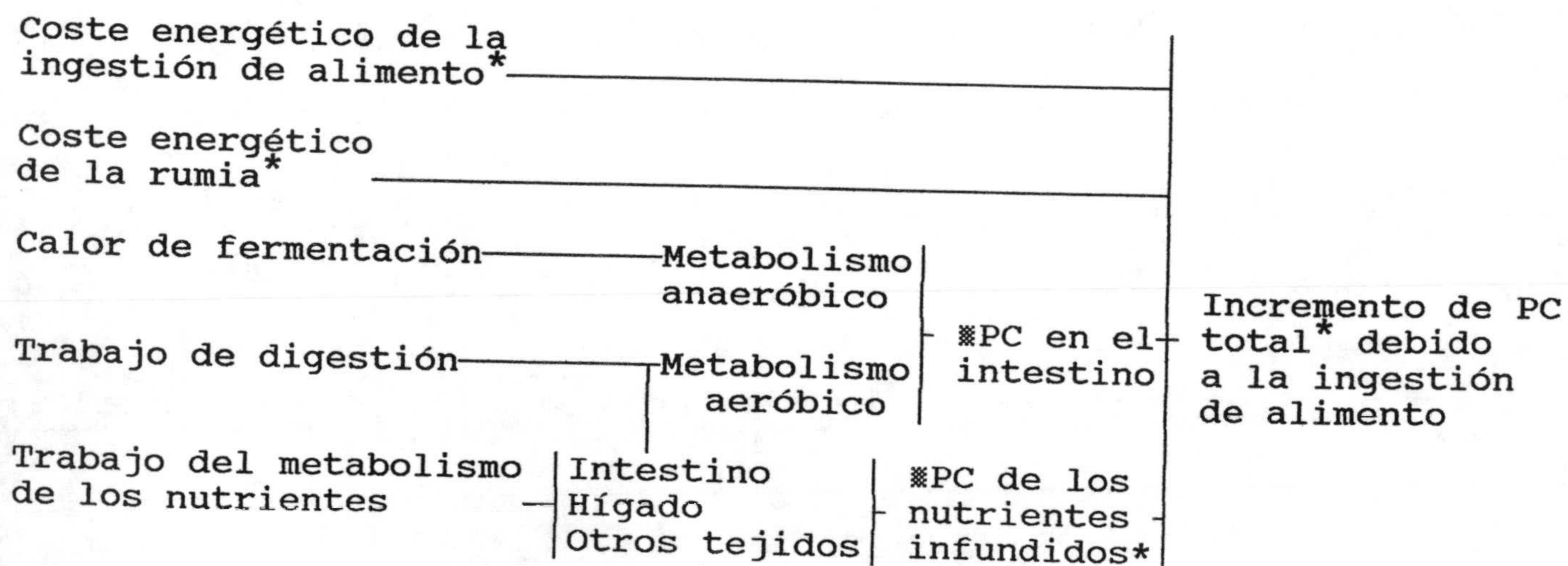
Puesto que el incremento calórico producido por las dietas habituales de los rumiantes, era proporcional al contenido en fibra de la dieta (Annison y Armstrong, 1970), y al estar relacionada la proporción molar de acetato en los productos finales de la fermentación ruminal con el contenido en fibra, Blaxter (1967) propuso que la mayor parte, aunque no toda, de este incremento calórico del alimento en los rumiantes, pudiera explicarse en términos de eficiencias bioquímicas de utilización

de los principales AGV (acético, propiónico y butírico) en relación a la glucosa. Por debajo de mantenimiento, los tres AGV serían utilizados con la misma eficacia pero por encima, cuanto mayor fuera la proporción de acetato menor sería la eficiencia de utilización de la energía para la deposición de grasa. Esto constituyó una elegante interpretación de la relación inversa observada entre el contenido en fibra de una dieta y su capacidad metabólica (como EM) para promover la deposición de grasa.

Actualmente se sabe (Agricultural Research Council, 1980) que los nutrientes absorbidos no se reemplazan entre sí en base a su calor de combustión como proponía Rubner (1902), sino más bien en proporción a la energía libre que proporcionan, la cual puede estimarse a partir de la estequiometría de las oxidaciones implicadas.

Los factores medibles que contribuyen al incremento calórico del alimento en un rumiante adulto, pueden resumirse en el siguiente esquema:

Fig.1 Análisis de los factores que contribuyen al incremento calórico del alimento (kJ/Mj EM) en rumiantes (tomado de Webster, 1978; *indica las contribuciones que pueden medirse directamente "in vivo").



En el esquema anterior, los costes energéticos de la ingestión y rumia, y el trabajo de digestión corresponden al concepto de incremento calórico de Lusk (1921). El trabajo del metabolismo de los nutrientes es equivalente al concepto de "efecto dinámico específico" de Rubner (1902), que en rumiantes, se puede equiparar al incremento calórico producido cuando los productos finales de la digestión, principalmente AGV, son administrados por infusión en el tracto intestinal.

La mayoría de los experimentos relacionados con el efecto termogénico del alimento se han realizado en ovino, pero hay evidencias de que, para la mayoría de las dietas prácticas, el incremento calórico es similar para ovino y vacuno adultos (Osuji y col., 1975; Adam y col., 1984).

Los costes energéticos de la ingestión de alimento, de la rumia y la fermentación representan entre un 15 y un 22% del incremento calórico total del alimento (los límites inferior y superior corresponden a cereales granulados e hierba fresca; para heno, un 20%, Webster y col., 1976).

En experimentos realizados en ovino alimentado exclusivamente por infusión (Armstrong y col., 1957; Orskov y Webster, resultados no publicados), se encontró que el trabajo del metabolismo de los nutrientes, fue rara vez superior al 70% del incremento calórico observado cuando los animales consumieron dietas de EM equivalente. Puede deducirse por consiguiente, que el trabajo de la digestión representa un 8-10% del incremento total (Webster y col., 1976), el resto de los factores contribuye en un 24-32% al incremento calórico total.

2.3.2. Cambios fisiológicos asociados con la ingestión de alimento.

El acto de la ingestión comprende básicamente los procesos de prehensión, masticación y deglución del alimento, los cuales están relacionados con un aumento de la actividad muscular y la producción de saliva, pero también están implicados en este mecanismo factores cardio-respiratorios y complejos procesos neuro-hormonales aún poco conocidos (Webster, 1972). Todos estos cambios fisiológicos contribuyen a un incremento del consumo de O₂ y, por tanto, explican el aumento observado en producción de calor tras la ingestión de alimento. Estos costes energéticos adicionales se ven incrementados, sobre todo, en condiciones de pastoreo.

2.3.2.1. Cambios de fluidos y electrolitos.

Dobson y col. (1966) indicaron que en ovino el cambio de alimentación de pasto (con elevado contenido en K y bajo en Na) a heno o dietas de moderado contenido en K y Na, daba lugar a una caída de la excreción de Na en orina y por consiguiente, había una retención neta de Na. Cuando los animales volvían a consumir pasto, se volvía a perder rápidamente Na en orina. Ellos relacionaron estos cambios con el contenido de agua y electrolitos en el tracto intestinal, y sugirieron que pueden estar influidos por la forma física de la dieta y su actividad osmótica.

Stacy y Warner (1966) comprobaron en ovino, que la velocidad de absorción de Na desde el rumen a la circulación sanguínea era dependiente de la concentración de K del líquido ruminal. Se sabe que el rumen controla la respuesta del animal a los cambios en el contenido de electrolitos de la dieta. Warner y Stacy (1972a) encontraron también en ovino, que al añadir ClK a una dieta de mantenimiento (700 meq/día), el contenido de K del rumen se incrementaba y el de Na disminuía, debido probablemente a que aumentaba la absorción de Na a través de la pared ruminal. También hallaron (Warner y Stacy, 1972b) que cuando se reemplazaba la saliva por una solución sintética, la velocidad de movimiento del agua a través de la pared ruminal era una función lineal de la presión osmótica, concluyendo que la velocidad de absorción de K y Na dependía del estado nutritivo del animal. La morfología del epitelio ruminal sufrió grandes cambios cuando el contenido ruminal se hacía muy hipertónico.

Durante la alimentación, aumenta el volumen de líquido que sale del plasma y del espacio extracelular (EE) hacia el tracto intestinal. Stacy u Warner (1966) hallaron un incremento de 0,29-0,58 l/h en el flujo de líquido desde el EE al rumen durante el consumo de alimento seco, asociado este hecho a un aumento de la producción de saliva. Ternouth (1968) observó en ovino alimentado con paja de alfalfa, un descenso en el volumen del EE del 10%, concluyendo que durante la ingestión se había producido un aumento de producción de saliva y de transferencia de líquido plasmático a través de la pared ruminal. Blair-West y Brook (1969) encontraron en ovino, que a los quince minutos del comienzo de la ingestión de 1 Kg de heno de alfalfa y bromo picado, el volumen plasmático disminuía rápidamente (en 300 ml),

recuperándose luego lentamente cuando se retiraba la comida. Por último, Christopherson y Webster (1972), estimando en ovino los cambios en el volumen del EE a partir de la desaparición del tiosulfato, observaron una bajada significativa que oscilaba entre 1-1,5 l. Blair-West y Brook (1969) hallaron que la concentración de renina en el plasma de ovino aumentaba durante la ingestión de una comida, lo cual indicaba que el sistema renina-angiotensina era activado durante dicho proceso, produciéndose una retención de agua y Na cuando se pierden por el tracto intestinal, procedentes del EE, grandes cantidades de fluido. La alimentación también estimula la liberación de hormona antidiurética en ovino.

Aunque es difícil establecer relaciones cuantitativas precisas entre los efectos de la cantidad y calidad del alimento ingerido y el flujo de electrolitos que entra y sale del tracto gastrointestinal, está claro que estos efectos son considerables. En vista de ello, Webster (1972) sugirió que el incremento calórico de la ingestión de alimento, pudiera ser debido a la redistribución de líquidos corporales observada entre los compartimentos vasculares y extravasculares, y el lumen intestinal. La asociación de la angiotensina con el mecanismo de transporte activo, sugiere la existencia de un posible estímulo hormonal.

Los rumiantes segregan grandes volúmenes de saliva durante la ingestión de alimento y la rumia (Church, 1969). Este incremento de la actividad secretora de las glándulas salivares, implica un coste energético adicional por parte de las células de las glándulas (Duke, 1956).

Se sabe que la secreción salivar está afectada por la naturaleza física de la dieta y su humedad, y también por el ayuno, falta de agua, ingestión de alimento y rumia (Balch, 1958; Wilson, 1964).

Bailey y Balch (1961) encontraron que el flujo de saliva en la glándula parótida, funcionalmente la más importante en rumiantes, es de 10, 20 y 25 ml/min durante el descanso, la ingestión de alimento y la rumia, respectivamente. Bruggeman y col. (1966) hallaron flujos en parótida de 0,9 , 1,8 y 2,9-4,1 ml/min al emplear dietas semipurificadas de diferente forma física (heno granulado más concentrados y heno, respectivamente), así como un incremento superior en un tercio durante la rumia en relación al descanso.

La secreción salivar es, por tanto, un proceso que consume energía. Este hecho se ve incrementado notablemente en un animal en pastoreo, que pasa un tercio de su tiempo diario pastando y segregando gran cantidad de saliva (Wilson, 1963).

2.3.2.2. Cambios cardiovasculares.

El método de la frecuencia cardiaca, que se basa en una posible relación entre el parámetro y el consumo de oxígeno, ha sido muy utilizado para predecir el gasto energético de los animales. Webster (1967) utilizó este procedimiento en ovino para estimar la PC durante el consumo de alimento en la exposición al frío; en tres de los cuatro animales experimentales, los errores asociados con la predicción fueron inferiores al 10%. No obstante, el principal inconveniente del método es la variabilidad observada en el volumen sistólico de los animales,

que es muy dependiente de factores emocionales (Brockway y McEwan, 1969).

A pesar de sus limitaciones, esta técnica se ha empleado para estimar el incremento calórico debido a la ingestión de alimento, tanto en ovino (Young, 1966; Webster, 1967; Webster y Hays, 1968; Berzins, 1969; Christopherson y Webster, 1972) como en vacuno (Ingram y Whittow, 1962).

Young (1964) atribuyó el incremento inicial de la frecuencia cardiaca a la liberación de adrenalina. Puesto que este incremento no era abolido por bloqueo β -adrenérgico, Webster y Hays (1968) concluyeron que este proceso no podía atribuirse al estado de excitación de los animales. No obstante, posteriormente Hays y Webster (1971) comprobaron que la mayor parte del incremento observado cuando el ovino consumía alimento en un ambiente termoneutro podía ser atribuido a una inhibición vagal reducida. Cuando se superponían los efectos estimuladores del frío y de la ingestión de alimento, la frecuencia cardiaca era considerablemente más elevada, superior a 110 latidos/min, una velocidad propia del corazón denervado, incluso cuando las fibras cardioaceleradoras simpáticas eran bloqueadas mediante propranolol. Por consiguiente, sugirieron que la frecuencia cardiaca estaba acelerada en parte por un factor no autónomo, posiblemente la angiotensina, cuya liberación durante la ingestión de alimento era bien conocida (Blair-West y Brook, 1969).

Por otra parte, Christopherson y Webster (1972) observaron en ovino que durante el consumo de alimento se producía en plasma un aumento de la presión parcial de CO_2 , tanto arterial como venosa, y de la concentración de CO_3H libre y una disminución del

pH; la presión parcial de O₂ arterial no se alteraba, pero la venosa disminuía significativamente. La caída en la saturación de O₂ de la sangre venosa estaba relacionada con el descenso de pH. La diferencia arteriovenosa en la concentración de O₂ se incrementaba de 4,4 ml/100 ml antes de la comida a 6 ml/100 ml al final de la comida. El comienzo de la alimentación estaba asociado con un incremento significativo de del hematocrito, el cual persistía y luego declinaba lentamente. La hemoglobina aumentaba de 8,6 a 9,4 g/100 ml, aunque este hecho se atribuyó por completo al incremento del hematocrito. El volumen minuto se incrementó en un 17% y el volumen sistólico descendió durante la comida de 67 a 52 ml.

2.3.2.3. Otros aspectos fisiológicos y neuro-hormonales.

Se ha descrito una reducción de la ventilación pulmonar asociada con la ingestión de alimento (Blaxter, 1989). Young (1966) encontró en ovino una reducción de la frecuencia respiratoria y en el volumen minuto, pero sólo a temperatura ambiente elevada (27°C).

Ingram y Whittow (1962) observaron en vacuno una elevación de temperatura en el tronco carotídeo y en vena yugular cuando los animales comenzaban a consumir alimento.

Osuji (1971) indicó que la palatabilidad, cantidad y forma física de la dieta, tienen repercusiones notables sobre la naturaleza y duración de la motilidad estomacal y rumia. También se ha observado (Gordon, 1955; Freer y Campling, 1965; Christopherson, 1967) que la ingestión de alimento está asociado

con un incremento de la motilidad del retículo-rumen, la cual es superior en el animal alimentado en relación con el que permanece en ayunas (Atteberry y Johnson, 1969) y cuando se administran forrajes en vez de concentrados (Freer y Campling, 1965).

El sistema nervioso central (SNC) está implicado en el control de la ingesta voluntaria de alimento y, por tanto, en la regulación del balance energético (Forbes, 1986). La búsqueda, prehensión, masticación y deglución del alimento están bajo control directo del cerebro. Tal vez menos obvio, aunque igualmente importante, es el papel que juegan en el control de la ingesta las señales procedentes de multitud de receptores que muestrean el medio interno y externo, y envían información al cerebro a través del SNC.

Los centros del hipotálamo están implicados en el control nervioso voluntario de la ingestión de alimento. Desde los primeros experimentos realizados provocando lesiones cerebrales en animales (Hetherington y Ranson, 1940), continuados posteriormente (Zeitelbaum y Epstein, 1962; Larsson, 1967; Baile y col., 1967, 1968, 1969; Tarttelin, 1969), quedó plenamente demostrado que las lesiones del núcleo ventromedial del hipotálamo son causa de obesidad e hiperfagia, mientras que las del área hipotalámica lateral producen una disminución de la ingestión de agua y alimento. Estas regiones cerebrales se denominan centros de la saciedad y del hambre, respectivamente.

En cuanto a los receptores (Forbes, 1986), se han descrito gran cantidad de ellos, entre los que destacan los orofaríngeos, indispensables para la percepción sensorial (sabor y textura) del alimento; los mecanorreceptores, que detectan variaciones de distensión en estómago e intestino; los quimiorreceptores, que

son sensibles a cambios en la concentración de ácidos grasos volátiles (en rumiantes), pH, etc.; los osmorreceptores; los termorreceptores, por ejemplo, a nivel del hipotálamo anterior; etc.

Aunque aún hay poca evidencia experimental que lo confirme plenamente, también se está investigando (Forbes, 1986) el papel desempeñado por los cambios en los niveles sanguíneos de hormonas (insulina, glucagón y, particularmente, el neuropéptido colecistoquinina) y metabolitos (glucosa, ácidos grasos, etc.) como indicadores del estado nutricional.

2.3.3. El coste energético de la ingestión de alimento.

Existen grandes discrepancias en cuanto a la posible contribución del coste energético debido a la ingestión de alimento "per se" al incremento calórico total de los rumiantes. El Agricultural Research Council (ARC, 1980), considera que dicho coste es mínimo y difícil de separar de otros componentes, fundamentalmente del trabajo del metabolismo de los nutrientes (AGV); en cambio, para otros autores (Young, 1966; Webster, 1972; Osuji, 1974), este coste es cuantitativamente importante, se debe a los mecanismos de prehensión, masticación y factores cardio-respiratorios anexos, y va asociado no a la cantidad de alimento ingerido, sino más bien al tipo y naturaleza física del mismo y al tiempo transcurrido durante la ingestión (tiempo de consumo). En consecuencia, en condiciones de campo, donde los rumiantes pastan durante periodos prolongados, dicho coste puede ser considerablemente superior al encontrado en situaciones de

estabulación.

Se han publicado gran número de estimaciones de velocidad y coste energético de la ingestión de alimento en diversas especies animales, las cuales se han resumido en la tabla 1i.

Ustjanzew (1911), utilizando máscaras y técnicas de traqueotomía, midió el intercambio respiratorio en ovino. Tras un ayuno de 13 ó 14 horas, ofreció a los animales diversos tipos de alimentos y observó que el coste energético del heno de *Phleum* o trébol consumido fue similar, independientemente de la forma física (heno largo o picado y evaporado). El incremento calórico producido tras la ingestión fue del 60%. Con respecto al consumo de materia verde fresca (tallos de guisante y alfalfa), el gasto energético producido fue superior al de una cantidad equivalente en materia seca administrada como heno, lo que se debía al mayor tiempo empleado por los animales con el material fresco en ingerir la misma cantidad de materia seca.

Graham (1964) arrancó pequeñas planchas de césped y las trasplantó en el suelo de una cámara de respirometría, permitiendo que fuera consumido por ovino durante 1-2 horas. Entre periodos de pastar, se ofrecían dietas preparadas. Encontró que la velocidad de ingestión variaba en función del tipo de alimento. Los animales que pesaban 40 Kg consumían, por hora, de 0,5 a 1 Kg (60-120 g MS) de hierba fresca pastada, de 2 a 3 Kg (300-400 g MS) de hierba fresca cortada y de 400 a 800 g de heno; es decir la velocidad de consumo de la hierba pastada era inferior a la de una cantidad similar, pero cortada. Cuando se suministró pasto de escasa calidad "ad libitum", la velocidad de ingestión fue muy baja; en cambio, cuando se administraban pequeñas comidas entre periodos largos de ayuno, la velocidad era

Tabla 1i.- Estimaciones de la velocidad y coste energético de la ingestión de diversos alimentos y especies animales*.

Especie animal	Alimento y forma física	Velocidad (g MS/min.)	Coste energético (kJ)		
			por min. de ingestión	por Kg MS ingerida	como % EM de la dieta
Vacuno ($\bar{P}V=353$ Kg)					
	Forraje (cortado y fresco)	20-25	14,2 (12,8-15,5)	688 (480-861)	5,9
	Forraje (largo y seco)	17-37	11,5 (9,8-16,0)	522 (367-780)	4,9
	Forraje (cortado y seco)	39	9,7	279	2,5
	Concentrado (granulado) y grano	130-138	8,4 (6,8-10,2)	81 (78-85)	1,0
	Nabo (cortado y fresco)	30	12,2	512	3,1
	Pasto (simulado)	13-17	13,8 (11,0-20,2)	1207 (1027-1641)	2,5
	$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n}$	45±18	11,6±0,9	548±158	3,3±0,7
Ovino ($\bar{P}V=52$ Kg)					
	Forraje (cortado y fresco)	4-7	1,9 (1,5-2,4)	266 (161-322)	2,6
	Forraje (largo y seco)	8-9	2,98 (2,4-3,2)	361	3,9
	Forraje (cortado y seco)	4-14	2,0 (1,8-2,2)	209 (99-413)	2,5
	Concentrado (granulado) y grano	8-58	1,9 (1,0-3,3)	56 (16-131)	0,4
	Pasto (simulado)	1-2	2,0 (1,1-3,6)	1305	11,4
	$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n}$	12±6	2,1±0,2	439±222	4,2±1,9
Caballar (póney) ($\bar{P}V=202$ Kg)					
	Forraje (cortado y fresco)	13	8,8	687	6,4
	Forraje (largo y seco)	9-13	7,1-8,1	493-893	6,3-12,5
	Forraje (granulado)	13	4,4	335	3,7
	Grano	27	6,7	244	2,2
	Concentrado (granulado)	36	2,9-3,3	83-93	0,7
	$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n}$	20±5	6,1±1,0	409±121	4,5±1,5

*Resumen de valores publicados por Ustjanzew (1911), Graham (1964), Young (1966), Osuji y col. (1975), Holmes y col. (1976 y 1978), Adam y col. (1984) y Vermorel y Mormede (1991).

UNIVERSIDAD DE GRANADA
15 JUN 1993
COMISION DE DOCTORADOS

muy superior. Durante el periodo de ingestión, la PC no estuvo influida ni por la cantidad de alimento suministrado ni por el tiempo transcurrido entre comidas. Aunque el experimento no estuvo diseñado expresamente para ello, se sugirió que parecía haber una relación directa entre la velocidad de ingestión y el coste energético de dicha actividad.

Blaxter y Joyce (1963) en ovino, encontraron que el incremento de PC asociado con la ingestión de alimento (50-60%) desaparecía más tarde, a lo largo del periodo postprandial, asociado este hecho al estado de excitación de los animales previo a su comida regular. Por el contrario, Osuji (1973) demostró que no se producía un incremento de PC en ovino durante las 2 horas previas al suministro de alimento.

Young (1966) ofreció diferentes tipos de alimentos a ovino, y halló que el incremento calórico producido por gramo ingerido variaba con el tipo de dieta. El coste energético de la ingestión (J/Kg PV/g) oscilaba entre 1,3-7,9 y 5,0-7,9, para un concentrado y paja de alfalfa o trigo, respectivamente. Las velocidades de ingestión fueron 40 y 12 g/min, respectivamente. Estos resultados indican, contrariamente a lo indicado por Graham (1964), que el coste energético fue inversamente proporcional a la velocidad de consumo. El rápido incremento inicial de PC tras la ingestión de alimento, fue atribuido a factores psíquicos y a un ligero incremento de la actividad respiratoria, aunque esto último, bien pudiera haber sido un artefacto. En otra serie de experimentos en ovino con fístulas esofágicas, se observó que durante la alimentación simulada (se recuperaba un 77% de la ingesta con la extrusa) no hubo diferencias en la PC con respecto a la alimentación normal. Este hecho descartó la posibilidad de que la

presencia del alimento en el rumen actuase como estímulo metabólico. Se concluyó por tanto, que el incremento calórico producido durante la ingestión de alimento, se debe principalmente a los procesos de prehensión y masticación.

Webster y Hays (1968) demostraron en ovino que el incremento calórico asociado con la alimentación, no está relacionado con el sistema nervioso simpático, ya que el propanolol, un agente bloqueante β -adrenérgico que inhibía casi por completo la taquicardia en animales expuestos a un moderado estrés por frío, redujo sólo ligeramente la frecuencia cardiaca durante la ingestión de alimento.

Osuji (1973) realizó una serie de experimentos en ovino y confirmó de nuevo, que la ingestión de alimento da lugar a un incremento calórico importante. Sus resultados pueden resumirse de la siguiente manera:

1.- El incremento calórico resultante de la ingestión de alimento está relacionado con la forma física de la dieta, pero no con la cantidad de alimento consumido.

2.- El incremento calórico asociado a la ingestión de forrajes secos es muy elevado, debido al mayor tiempo necesario para su consumo; en cambio, el consumo de dietas granuladas produce incrementos de PC muy moderados, debido a que este proceso tecnológico reduce el tamaño de partícula de la dieta y favorece la velocidad de ingestión.

3.- El coste energético de la ingestión de hierba en fresco es aproximadamente el doble que en seco. Ello es debido a la gran cantidad de agua que el animal tiene que ingerir con la hierba fresca hasta igualar la cantidad equivalente de materia seca.

4.- El coste energético de la ingestión de alimento está directamente relacionado con el tiempo necesario para su consumo. Este hecho tiene grandes implicaciones prácticas, puesto que un rumiante cuando está en estabulación consume su dieta en un tiempo relativamente corto, pero en pastoreo pasta durante periodos de tiempo mucho más prolongados (de hasta 8 a 9 horas diarias), lo que contribuye necesariamente a que se incrementen sus necesidades energéticas de mantenimiento.

5.- El coste energético de la rumia es insignificante.

Estos resultados han sido posteriormente confirmados en vacuno (Adam y col., 1984) y ganado caballar (póney; Vermorel y Mormede, 1991).

En base a datos bibliográficos recopilados (tabla 1i), Blaxter (1989) realizó una estimación del incremento calórico producido tras la ingestión como porcentaje de EM de la dieta, calculando que el coste de la ingestión representa, aproximadamente, un 3% de la EM ingerida, variando con el tipo de alimento (el valor más bajo se obtuvo con alimento granulado o con grano que se consumieron muy rápidamente).

Durante la rumia la PC también se incrementa, aunque este incremento es muy pequeño en comparación con el de la ingestión de alimento (Osuji y col., 1975), y representa el 0,3% o menos de la EM consumida, es decir, una décima parte del coste de la ingesta. La magnitud de la masticación y de la producción de saliva durante la ingestión de alimento y la rumia es muy parecida, lo que sugiere que el incremento calórico debido a la ingestión de alimento, no puede ser explicado solamente por un incremento del trabajo muscular o de la secreción salival.

En base a estimaciones calorimétricas y a la predicción de actividades musculares suplementarias, Blaxter (1967) estimó que las necesidades energéticas de mantenimiento de los rumiantes en pastoreo, son superiores en un 10-15% a las de animales estabulados. Las actividades consideradas fueron, fundamentalmente, el mantenimiento de la postura (de pie), la locomoción y la rumia.

Estas recomendaciones, que fueron adoptadas más tarde por el Agricultural Research Council (ARC, 1965), no explican en toda su magnitud las grandes discrepancias halladas entre las distintas estimaciones de las necesidades energéticas de los rumiantes en pastoreo, que suelen ser mucho más elevadas (del 25-100%). Para tratar de explicar estas diferencias, Graham (1964), Webster (1972) y Osuji (1974) propusieron que también se considerase el coste energético de la ingestión de alimento "per se", el cual puede representar en pastoreo, un incremento del 25-50% en las necesidades energéticas de mantenimiento.

Mediante un sistema factorial, en base a datos de duración diaria aproximada de diferentes actividades físicas y a los costes energéticos de dichas actividades obtenidos por calorimetría, se ha comprobado el gasto energético diario de los rumiantes estabulados y en pastoreo. Para una oveja de 50 Kg, Osuji (1974) calculó que el incremento de las necesidades energéticas de mantenimiento en pastoreo, es del orden del 30%, estimando que este gasto extra se debe, fundamentalmente, al coste de la actividad muscular, cuya contribución fue de un 6,6% del gasto total en confinamiento y un 35,9% en pastoreo. De los distintos componentes de esta actividad, las contribuciones más importantes fueron la locomoción y la ingestión de alimento,

representando esta última cerca del 50% de la actividad muscular extra, lo que supone un 18,0% del incremento calórico total, en condiciones de pastoreo. A similares conclusiones llegó Webster (1978), quien estimó de modo similar, que para un ternero de 500 Kg el incremento de PC debido a la actividad extra desarrollada en pastoreo, puede oscilar entre el 7 y el 23%, y que el coste de la ingestión podría representar una contribución importante (del 5,0 al 9,3%) del incremento calórico total en pastoreo.

2.4. Método del bicarbonato marcado (CERT).

2.4.1. Introducción.

Uno de los métodos más prometedores para estimar la producción de calor de los rumiantes en pastoreo es el método del bicarbonato marcado, una técnica de dilución isotópica que fue desarrollada en Australia, a partir de los estudios pioneros de Leng, Corbett y colaboradores, en el C.S.I.R.O. Pastoral Research Laboratory, en la Universidad de New England, Armidale, Nueva Gales del Sur.

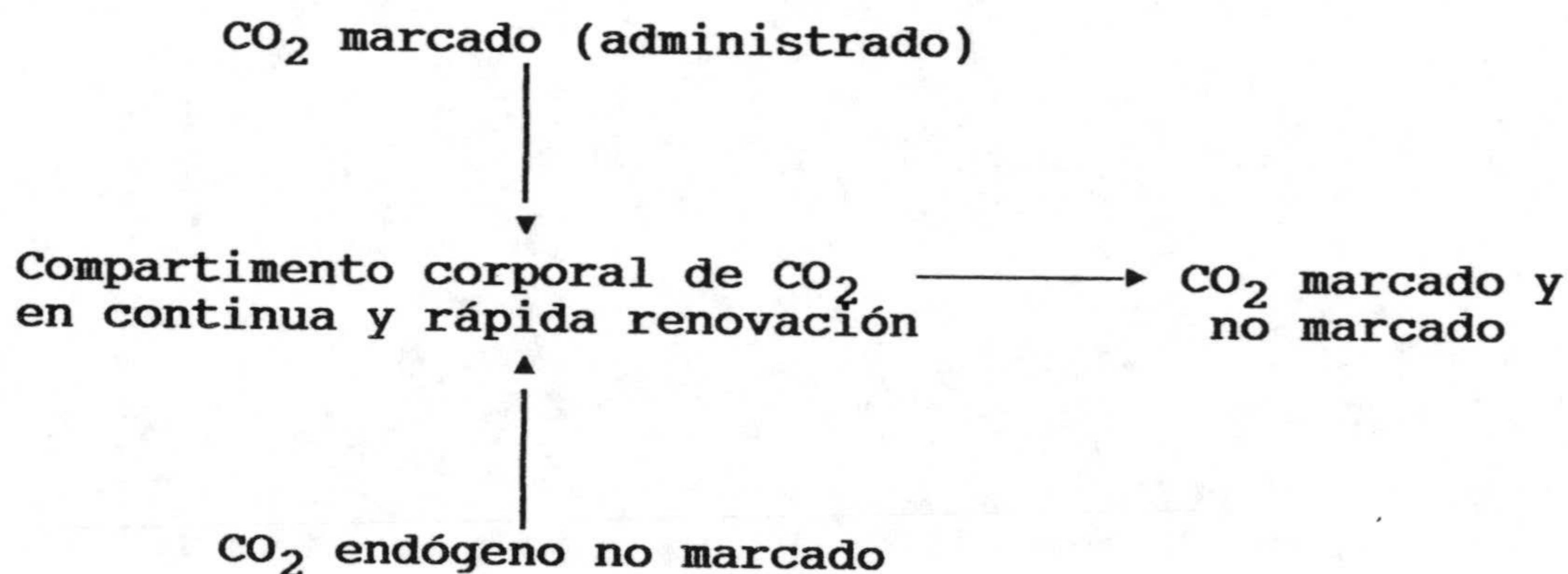
El desarrollo de la técnica se basa en los trabajos de Annison y col. (1967), los cuales administraron una gran variedad de sustratos marcados con ^{14}C a ganado ovino y determinaron la contribución de cada uno de ellos al metabolismo oxidativo total, a partir de la actividad específica (AE) del CO_2 espirado (relación entre la cantidad de CO_2 radiactivo y el CO_2 total). En base a estos resultados dedujeron, a su vez, que la AE del CO_2 podría utilizarse como índice de la producción total de CO_2 y, en consecuencia, de la producción de calor (gasto energético).

El procedimiento más simple para estimar la cinética de los sustratos metabólicos es la técnica de dilución isotópica mediante infusión continua del marcador. Cuando un sustrato marcado, por ejemplo $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$ o $^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$, es infundido continuamente en un animal y se deja transcurrir el tiempo suficiente, se mezcla y diluye con el CO_2 endógeno producido por los tejidos corporales y finalmente se alcanza un equilibrio isotópico con el CO_2 total corporal (compartimiento o "pool" de CO_2). En ese preciso instante se igualan las velocidades de

entrada ("CO₂-entry rate", CERT) y de salida ("pérdida irreversible") de CO₂ y la magnitud de la dilución isotópica producida ("actividad específica" de ¹⁴CO₂ o "enriquecimiento isotópico" de ¹³CO₂) sirve de base para el cálculo de la producción metabólica de CO₂, de acuerdo con la expresión general:

$$\text{CO}_2 \text{ producido} = \frac{\text{dosis de marcador administrada}}{\text{dilución del marcador en el compartimento corporal}}$$

Esta ecuación simple asume que el CO₂ marcado infundido (bicarbonato) se recupera totalmente tras mezclarse en un compartimento corporal único con CO₂ no marcado endógeno, según el modelo metabólico siguiente (Elia y col., 1988):



El término "CO₂" hace referencia a todo el dióxido de carbono corporal de los animales, ya esté presente en forma de CO₂, CO₃H⁻, CO₃²⁻, CO₃H₂ o CO₂-carbamino.

La técnica del bicarbonato marcado fue descrita por primera vez por White y Leng (1968) y por Young (1968) y, desde entonces, ha sido utilizada en numerosas especies animales, incluido el hombre. En los experimentos originales, efectuados en ganado ovino, se realizó una infusión continua de ¹⁴CO₃HNa y se

determinó la producción de carbono marcado en forma de CO₂ a partir de la actividad específica (AE) del CO₂ en sangre venosa, mediante la relación:

$$\text{CERT (l/h)} = \frac{\text{velocidad de infusión de la actividad } (\mu\text{Ci/h})}{\text{AE del CO}_2 (\mu\text{Ci/h})}$$

donde la AE puede también estimarse a partir del CO₂ presente en cualquiera de los fluidos corporales (sangre, orina, saliva, etc.), o bien a partir del CO₂ gaseoso espirado.

White y Leng (1968) obtuvieron también estimaciones de CERT mediante una inyección simple de marcador. Los resultados fueron comparables a los obtenidos por infusión continua. En este caso, es imprescindible realizar frecuentes medidas de la AE y someter los resultados a un complejo análisis matemático (Issekutz y col., 1968; Irving y col., 1985; Sahlu y col., 1992), debido a que se produce una rápida pérdida multiexponencial del marcador.

2.4.2. Ruta de infusión.

El carbono marcado ha sido infundido generalmente como ¹⁴CO₃HNa, a velocidades que oscilan entre 1-10 μCi/h. La ruta de infusión subcutánea ha sido muy empleada en ganado ovino (Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; Whitelaw y col., 1972). Este procedimiento sin embargo, tiene el inconveniente de que a veces da lugar a un embolsamiento de la solución de infusión bajo la piel, de aquí que últimamente haya sido descartado. La ruta intraperitoneal ha sido también muy utilizada, tanto en ovino (Corbett y col., 1971; Prieto y col.,

1982; Sahlu y col., 1988, 1989; Plaza, 1989) como en vacuno (Young, 1970; Sánchez y Morris, 1984) y en caprino (Sahlu y col., 1992). Young (1970) encontró problemas en la implantación "in situ" del catéter de infusión en experimentos de larga duración (36 horas). La vía de infusión intravenosa suele ser la preferida en este tipo de estudios (White y Leng, 1968; Corberty col., 1971; Farrell y col., 1972; Engels y col., 1976; Prieto y col., 1982), aunque Plaza (1989) encontró dificultades prácticas con este procedimiento en ovinos en pastoreo.

2.4.3. Lugar de muestreo.

Se encontró que tras la infusión de $^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$ la actividad específica (AE) alcanzaba finalmente unos niveles constantes que variaban en función de la ruta de infusión y del fluido corporal muestreado, siendo estos valores dependientes a su vez, de la tasa metabólica del animal. Young (1970) y Corbett y col. (1971), consideraron que diferencias locales en la producción y eliminación de CO_2 daban lugar a grandes variaciones en la AE del CO_2 entre los diferentes fluidos corporales, de modo que la elección de la ruta de infusión y del lugar de muestreo pueden tener una gran repercusión a la hora de estimar la producción de CO_2 por el método CERT. Young (1970), en un experimento en vacuno comparó la actividad específica del CO_2 en orina, sangre venosa (yugular), CO_2 espirado, líquido ruminal y leche. La AE en orina fue invariablemente mayor que en el resto de los compartimentos corporales muestreados. Los valores medios obtenidos en sangre y CO_2 espirado fueron un 96 y un 92% inferiores, respectivamente, a los de orina. Las actividades específicas en leche y líquido

ruminal fueron bajas y variables, oscilando entre el 50 y el 75% de la orina. Por su parte, Corbett y col. (1971) en ovino, encontraron que la AE del CO_2 espirado fue un 7% inferior al encontrado en sangre venosa tomada en yugular. Estas discrepancias se explicaron en base a diluciones locales del $^{14}\text{CO}_2$ con CO_2 no marcado. La AE del CO_2 en sangre venosa de yugular está influida por el CO_2 producido localmente en la cabeza. El CO_2 espirado puede contener CO_2 eructado, no marcado o escasamente marcado, procedente de la acción de la microflora ruminal, lo cual explicaría así mismo, los valores de AE tan bajos encontrados en líquido ruminal. En cuanto a la leche, resultó ser un compartimento inadecuado, debido a su naturaleza ácida y bajo contenido en CO_2 .

Estos autores concluyeron que la AE del CO_2 en orina refleja adecuadamente la AE del CO_2 total corporal, puesto que la orina al excretarse continuamente, proporciona un valor medio representativo de la AE durante el periodo de recogida. Además de ello, el CO_2 de la orina deriva fundamentalmente de la sangre arterial, sin que se produzca una dilución significativa del mismo por parte del CO_2 producido en los tejidos renales. No obstante, Whitelaw y col. (1972), detectaron casos de disminución de la AE del CO_2 en orina de ovino asociados con una caída del pH de la orina, lo que produjo sin duda pérdidas de CO_2 y en consecuencia, errores analíticos. Es, por consiguiente, crítico el control del pH si se muestrea orina en este tipo de estudios.

Por último, Engels y col. (1976), en experimentos con ganado ovino, realizaron por primera vez un muestreo continuo de saliva en la glándula parótida. La técnica resultó ser fácil y satisfactoria, siendo la normalmente utilizada con ligeras

variantes (p.e. recogida de saliva total, Prieto y col., 1982) desde entonces, tanto en ovino (Prieto y col., 1982; Salhu y col., 1988, 1989; Plaza, 1989) como en vacuno (Sánchez y Morris, 1984) y en caprino (Salhu y col., 1992).

2.4.4. Tiempo de equilibrio.

Con respecto al tiempo necesario para que el isótopo infundido alcance un equilibrio con el compartimento corporal de CO_2 , hay grandes discrepancias entre los valores publicados. White y Leng (1968), Young y col. (1969) y Corbett y col. (1971) en experimentos realizados en ovino con infusión subcutánea o intraperitoneal, encontraron que la AE del CO_2 en sangre alcanzaba un valor máximo constante a las 3 horas de la infusión. Young (1970), en vacuno infundido intraperitonealmente, comenzaba el muestreo de diferentes compartimentos metabólicos a las 4-5 horas. Prieto y col. (1982) en ovino infundido intravenosa o intraperitonealmente, indicaron que la AE del CO_2 del aire espirado se equilibraba a las 5-6 horas. Whitelaw y col. (1972) en ovino con infusión subcutánea, hallaron un equilibrio isotópico en sangre y orina a las 8 horas, pero en base a la limitada evidencia experimental existente sobre la transferencia de CO_2 entre los diversos compartimentos corporales, recomendaron que se dejase transcurrir un mínimo de 12 horas antes de comenzar los muestreos. Sahlu y col. (1988) en ovino infundido intraperitonealmente, encontraron que el equilibrio en saliva de la glándula parótida se producía a las 12-20 horas, un tiempo similar al hallado posteriormente en caprino (12-16 horas) por Salhu y col. (1992) en similares condiciones experimentales de

infusión y muestreo.

Las diferencias observadas en el tiempo requerido para que se alcance el equilibrio, pueden explicarse en base a cambios producidos en el tamaño del compartimento corporal de bicarbonato de los animales, lo cual puede deberse a múltiples factores, como por ejemplo la composición de la dieta o la frecuencia y nivel de alimentación. Es evidente que el compartimento de bicarbonato no es una entidad bien definida, sino que incluye todo el bicarbonato disuelto en el agua corporal y así mismo, parte del volumen ruminal. En relación con la composición de la dieta, es bien sabido que cuanto mayor es su digestibilidad mayor es su tiempo de paso y, por lo tanto, más reducido es el volumen ruminal (Hart y Polan, 1984). Otro factor que contribuye sin duda al aumento del tamaño del compartimento corporal de bicarbonato, es el incremento de la actividad física, que causa un notable aumento de la producción de CO₂.

2.4.5. Recuperación del CO₂ marcado.

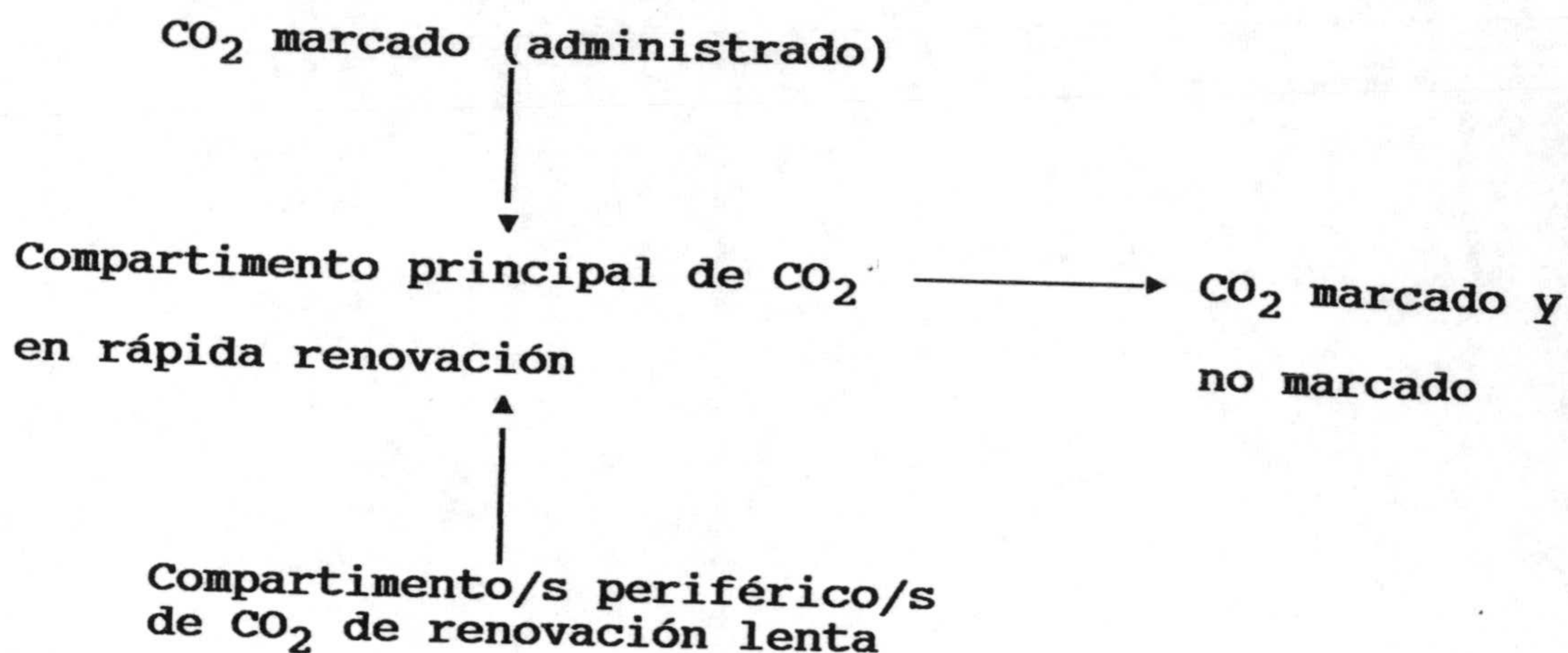
El método del carbono marcado presupone que el isótopo administrado se recupera cuantitativamente, aunque la evidencia experimental demuestra que se producen pérdidas del marcador. Esta recuperación incompleta pudiera explicar en parte las discrepancias encontradas en el tiempo de equilibrio isotópico. En esta situación, la producción metabólica de CO₂ es igual a la suma de todas las pérdidas irreversibles de CO₂ que se producen en el compartimento corporal total. Las principales rutas de pérdida irreversible son el aire espirado, la excreción urinaria (como CO₃H⁻ y urea) y la incorporación de CO₂ a constituyentes

corporales estáticos, como los huesos. El reciclado del marcador, es decir, la incorporación de ^{14}C a partir de $^{14}\text{CO}_3\text{H}^-$ en algún producto que a su vez fuese posteriormente metabolizado para producir $^{14}\text{CO}_2$ (por ejemplo gluconeogénesis a partir de piruvato y propionato), daría lugar a un incremento continuo de la AE de precursor (CO_3H^-) y por tanto, a estimaciones incorrectas de la producción de CO_2 (White y leng, 1968).

Elia y col. (1988) han descrito como posibles causas de recuperación incompleta del marcador la retención o fijación de CO_2 en ciertos procesos metabólicos, como por ejemplo, el ciclo de la urea o la formación de compuestos intermediarios del ciclo de Krebs (paso de piruvato a oxalacetato o malato), y también la retención de carbono en compartimentos de CO_2 de renovación lenta, como es el caso del compartimento de carbonato de los huesos.

Otras posibles pérdidas de CO_2 pueden producirse por difusión cutánea, a partir de la circulación sanguínea y por reducción de CO_2 a CH_4 (Corbett y col., 1971).

Aunque existen controversias al respecto, Elia y col (1988) han propuesto que existe un compartimento corporal principal de CO_2 en continua y rápida renovación, que comprende el CO_2 de la circulación sanguínea (CO_2 libre, bicarbonato, ácido carbónico y carboxihemoglobina) y uno o más compartimentos de lenta renovación (fundamentalmente el de carbonato de los huesos). El modelo puede representarse esquemáticamente de la siguiente manera:



De acuerdo con este modelo, la ecuación más apropiada para calcular la producción de CO₂ por el método CERT es:

$$\text{CO}_2 \text{ producido} = \frac{\text{dosis de marcador administrada} \times f}{\text{dilución del marcador}}$$

donde f es la recuperación fraccional del marcador.

Se ha descrito una pérdida de radioactividad en huesos y posiblemente en otros tejidos, en humanos que respiraban aire enriquecido en ¹¹CO₂ (Matthews y col., 1968). En experimentos con ratas (Solomon y col., 1941), a las 2,5 horas de administración de ¹⁴CO₃HNa sólo el 1,8% de la radioactividad estaba presente en el esqueleto. En gatos, cuyo esqueleto es proporcionalmente mayor en relación con su peso corporal que en otros animales, Kornberg y col., (1952) encontraron en este compartimento un 6% de la radioactividad infundida a las 4 horas. Buchanan y Nakao (1952), en experimentos con ratas adultas y ratones expuestos continuamente a aire marcado con ¹⁴CO₂, demostraron que no se equilibraba la AE del carbonato de los huesos hasta los 45 días aproximadamente.

Con respecto a la eliminación de ^{14}C por otras rutas, Whitelaw y col. (1972) obtuvieron en orina de ovinos una recuperación isotópica del 0,2-0,7%. En otro experimento con ovinos (Sahlu y col., 1988), por orina y heces sólo se eliminó el 2,5 y 0,2% del total de la dosis administrada, respectivamente.

Los valores publicados de recuperación media del $^{14}\text{CO}_2$ administrado suelen oscilar generalmente entre el 77 y el 100%. Corbett y col. (1971), en ovinos en pastoreo infundidos subcutáneamente, obtuvieron en el aire espirado, recogido mediante fístulas traqueales reentrantes, recuperaciones de $^{14}\text{CO}_2$ del 77,4%. En estudios similares, Bergman y Hogue (1967) y Annison y col. (1967) encontraron recuperaciones del 80 ± 3 y del $83\pm 2\%$, respectivamente. Prieto y col. (1982), en ovinos confinados durante 3 días en cámaras de respirometría de circuito abierto y alimentados continuamente a nivel de mantenimiento, hallaron una recuperación media del $^{14}\text{CO}_2$ espirado, mediante cámaras de ionización y trampas químicas de NaOH, del $99,6\pm 0,80$ (CV=2,26%), con independencia de la ruta de infusión (intravenosa o intraperitoneal).

En estudios con humanos se ha comprobado que se producen recuperaciones mayores en el caso de sujetos alimentados que en ayunas (84 y 72% Garlick y col., 1987; 90 y 76% Wenham y col., 1990, respectivamente), lo que confirma que es inadecuado utilizar un único factor de corrección para la retención de carbono marcado en el compartimento de bicarbonato corporal. Elia y col. (1988) en un experimento con sujetos alimentados periódicamente, obtuvieron una recuperación media de $^{14}\text{CO}_2$ espirado, mediante trampas químicas, entre las 12 y 36 horas de infusión, del 95,6 (SD 1,1)%, con un rango del 94-97% (n=6). Este

valor es superior al hallado entre las 3-8 horas de infusión (85%), lo que parece indicar que cuanto mayor tiempo transcurre desde el inicio de la infusión, mayores probabilidades hay de que se produzca un reciclado completo del CO_2 a través de los compartimentos corporales más lentos.

2.4.6. Relación entre CERT y producción real de CO_2 .

Se han publicado numerosas ecuaciones de regresión que relacionan las estimaciones de la producción de CO_2 obtenidas por el método CERT con medidas simultáneas de la producción real de CO_2 mediante procedimientos calorimétricos. En los primeros experimentos, los valores de CERT sobreestimaron la producción de CO_2 entre el 9% (White y Leng, 1968), 18-31% (Corbett y col., 1971) y el 46% (Engels y col., 1976), dependiendo del lugar de muestreo elegido. Estas grandes discrepancias se debieron fundamentalmente, a la imprecisión de los equipos respirométricos empleados por entonces para medir la producción de CO_2 . Whitelaw y col. (1972), realizaron una serie de experimentos en ovino, en los que estimaron simultáneamente la producción de CO_2 por el método CERT y mediante cámaras de respirometría de circuito cerrado durante un periodo de 24 horas, y obtuvieron sobreestimaciones de tan sólo un 3,7% en muestras de orina y de 2,2% en muestras de aire espirado (atrapado mediante trampas químicas). Se consideró que estas discrepancias (2-4%) eran debidas a la retención de la radioactividad infundida en el esqueleto.

Whitelaw (1974) analizó los experimentos publicados hasta la fecha y concluyó que las discrepancias observadas pudieran

deberse a problemas técnicos, resaltando que la técnica CERT es adecuada para predecir la producción de CO_2 . Propuso además, diseñar los experimentos futuros de acuerdo con tres premisas básicas:

1- Debe dejarse transcurrir tiempo suficiente desde el inicio de la infusión hasta que comience el muestreo, con el fin de que se produzca un equilibrio entre todos los compartimentos corporales de CO_2 , a excepción del de carbonato de los huesos. Recomendó un tiempo mínimo de 12 horas.

2- Realizar las medidas durante un periodo de tiempo suficientemente grande, con el propósito de minimizar el efecto de posibles cambios transitorios en los compartimentos de CO_2 .

3- Emplear un equipo para la medida del intercambio gaseoso con una precisión superior a la esperada con la técnica CERT.

Posteriormente Prieto y col. (1982), obtuvieron en experimentos en ovino con medidas simultáneas del CO_2 por el método CERT en aire espirado mediante cámaras de ionización, y de producción de CO_2 con cámaras de respirometría de circuito cerrado, durante periodos de hasta 4 días, una sobreestimación media del CO_2 estimado por el método CERT del 3%. Sahlu y col. (1988), con ovinos alimentados a tres niveles de alimentación, no encontraron diferencias significativas tras 20-24 horas de infusión, entre la producción de CO_2 , medida con cámaras de respirometría de circuito abierto, y la estimada por el método CERT (a partir de saliva de parótida). En este caso, el método CERT subestimaba la producción real de CO_2 en un 1,5%.

Los experimentos anteriores (Whitelaw, 1974; Prieto y col., 1982; Sahlu y col., 1988) parecen confirmar indirectamente, que hay una recuperación prácticamente cuantitativa del isótopo

cuando la infusión se mantiene durante, al menos, 24 horas.

2.4.7. Relación entre producción de calor y CERT.

Una vez estimada la producción de CO_2 , es necesario relacionarla con la producción de calor (PC). Puesto que hay datos experimentales que demuestran que los valores de CO_2 estimados por el método CERT pueden relacionarse con los de producción real de CO_2 , a partir de estas ecuaciones puede derivarse, así mismo, la producción de calor, por referencia a un valor asumido o conocido de coeficiente respiratorio (CR) y el correspondiente equivalente calórico del CO_2 . Ahora bien, este equivalente no es constante, sino que depende del combustible metabólico que está siendo oxidado, variando aproximadamente en un 30% entre CR no proteicos desde 0,71 hasta 1,10 (Brody, 1945; Kleiber, 1972). En consecuencia, si el valor de CR adoptado no es correcto, pueden producirse errores apreciables en la estimación de la PC. Afortunadamente, la evidencia experimental indica que en ovinos confinados en cámaras de respirometría que consumieron una gran cantidad de dietas convencionales (Whitelaw, 1974), el CR osciló sólo entre 0,9 y 1,1, lo cual indica que en este rango de variación el equivalente calórico del CO_2 sería inferior al 10% y por consiguiente, los errores asociados con la estimación de la PC deberían ser de este orden. Quedaría por dilucidar, no obstante, si este rango de valores de CR es adecuado para animales en condiciones de pastoreo, sometidos a variaciones diarias de ingesta de alimento y de actividad física, así como a un posible estrés climático.

En estudios con humanos Elia y col. (1988), utilizando un valor de CR de 0,85, un valor medio adecuado para los individuos de países occidentales, y valores de AE de $^{14}\text{CO}_2$ obtenidos a partir de orina y aire espirado atrapado mediante trampas químicas, obtuvieron con respecto a valores de PC obtenidos por calorimetría indirecta, valores de CERT de 100,8 (SD 5,9%; rango: 92-107%) y 98,4 (SD 2,9%; rango: 94-101%), respectivamente. En el peor de los casos, la PC durante periodos de 24 horas pudo predecirse con un error máximo del 10%.

Se han publicado varias ecuaciones que relacionan directamente la PC, medida directamente mediante cámaras de respirometría, generalmente a partir del consumo de O_2 y la producción de CO_2 y/o CH_4 (el error producido en dicho cálculo al ignorar la contribución de la excreción nitrogenada es inferior al 1-2%: Corbett y col., 1971) y la estimación de la producción de CO_2 por el método CERT, tanto en ovino (White y leng, 1968; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; Whitelawy col., 1972; Engels y col., 1976; Prieto y col., 1982) como en vacuno (Young, 1970) y en caprino (Sahlu y col., 1992).

Hay discrepancias notables entre las relaciones propuestas en la bibliografía, pero gran parte de la variabilidad encontrada puede explicarse por inexactitudes en las técnicas de intercambio gaseoso empleadas y por la diferente duración de los ensayos.

2.4.8. Estudios en condiciones de pastoreo.

El objetivo principal de los estudios realizados con el método del bicarbonato marcado es establecer relaciones empíricas que permitan predecir la PC de animales en condiciones naturales,

no confinados en el laboratorio. En condiciones controladas es fácil conseguir que un animal alcance un equilibrio metabólico, pero cuando está en libertad realizando diferentes actividades físicas y consumiendo una amplia gama de alimentos, se producen con toda seguridad, alteraciones metabólicas que provocan que dicho equilibrio se altere al menos transitoriamente, con las consiguientes variaciones en la AE del CO_2 . Por esta razón es imprescindible que la muestra recogida en situaciones de pastoreo sea representativa y que este muestreo se prolonge durante un periodo de tiempo suficiente, con el objeto de minimizar al máximo los errores.

La técnica del bicarbonato marcado ha sido aplicada con éxito en condiciones de pastoreo, tanto en ovino (Young, 1968; Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; Farrell y col., 1972; Sahlu y col., 1989; Plaza, 1989) como en vacuno (Young, 1970; Havstad y Malechek, 1982; Sánchez y Morris, 1984). Sólo hay comparaciones directas entre la técnica CERT y la medida del intercambio gaseoso en campo en los primeros ensayos (Young, 1968; Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972), en los cuales se utilizaron técnicas de calorimetría indirecta (M.I.C., "Mobile Indirect Calorimetry", Corbett y col., 1969) en animales con cánulas traqueales reentrantes, que transportaban un carrito con un medidor de volumen de aire espirado y recipientes para recogida de una alícuota de dicho aire para analizarlo posteriormente en el laboratorio. En los ensayos posteriores, se utilizaron ecuaciones de predicción calculadas previamente en laboratorio, para relacionar los valores de CERT obtenidos directamente en campo

con los de PC.

En los ensayos del método CERT realizados en pastoreo (Sánchez y Morris, 1984), los animales suelen transportar un equipo que consta de bombas de infusión portátiles y de recipientes adecuados para la infusión del isótopo ($^{14}\text{CO}_3\text{HNa}$) y la recogida de muestras. Se han empleado distintos métodos de infusión (subcutánea: Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; intraperitoneal: Sánchez y Morris, 1984; intravenosa: Farrell y col., 1972) y de muestreo (sangre: Young y col., 1969; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; Sánchez y Morris, 1984; orina: Young, 1970; Corbett y col., 1971; Young y Corbett, 1972; saliva: Sánchez y Morris, 1984).

2.4.9. Estudios con isótopos estables.

El creciente interés público por el control del uso de radioisótopos y sus consiguientes restricciones, dificulta cada vez más su empleo en experimentación animal. La tendencia actual es su reemplazamiento paulatino, cuando ello es posible, por isótopos estables. Este es el caso del bicarbonato marcado con ^{14}C , que puede sustituirse fácilmente por el marcado con ^{13}C , un isótopo estable que al ser natural (no radiactivo), puede ser utilizado sin restricciones, tanto en laboratorio como en campo.

Uno de los inconvenientes de los isótopos estables es su coste, aunque éste se ha reducido mucho como consecuencia de su demanda creciente. Otra desventaja es que su análisis requiere un equipo analítico relativamente costoso y de alta tecnología, como es la espectrometría de masas. No obstante, al ser cada vez mayor la sensibilidad de los modernos espectrómetros (los del tipo IRMS

detectan ppm), cada vez se requieren menores cantidades de muestras biológicas para su análisis, muy inferiores a las precisas para estudios con radioisótopos, lo que supone una gran disminución en los costes.

En los estudios de marcadores tanto radiactivos como estables, la cantidad de isótopo marcado por encima del nivel basal (nivel de abundancia natural) tiene que ser cuantificada. La abundancia natural de los isótopos estables es superior a la de los radiactivos, lo que dificulta más la determinación de pequeños enriquecimientos con isótopos estables. Sin embargo, esto no es un problema real, ya que habitualmente, niveles de enriquecimiento de un sustrato de tan sólo 2-5% sobre el nivel basal, suelen ser suficientes para una precisa determinación analítica.

Los estudios con ^{13}C difieren de los realizados con ^{14}C en que hay un nivel basal natural significativo de ^{13}C , aproximadamente del orden del 1,1% del total de carbono. Por consiguiente, tanto los nutrientes del alimento como los tejidos y las excretas animales, contienen un nivel basal de ^{13}C que varía (rango: 1,08-1,10% átomos) dependiendo de varios factores (Boutton, 1991): las proporciones relativas de plantas C_3 y C_4 ingeridas (las C_4 con mayor contenido relativo en ^{13}C); la mezcla de sustratos metabólicos que están siendo oxidada (los lípidos contienen menos ^{13}C que los carbohidratos y las proteínas); y el estado fisiológico del sujeto experimental (p.e. en ayunas o alimentado, en descanso o activo). Todo ello obliga a realizar ensayos en paralelo sin la administración de ^{13}C , para obtener con precisión los niveles basales correspondientes en cada caso

(Jones y col., 1985).

Hasta hace poco tiempo, el uso de isótopos estables como marcadores ha estado restringido, casi exclusivamente, a la investigación clínica (Pacy y col., 1989). El ^{13}C se ha empleado como marcador en estudios metabólicos, con el fin de estudiar la utilización de nutrientes o de cuantificar la oxidación de diferentes sustratos sobre todo en humanos (Clugston y Garlick, 1983; Garlick y col., 1987; Wenham y col., 1990), pero también, aunque en menor número de estudios, en animales domésticos (Tyrrell y col., 1984; Chevalier y col., 1984; Boutton y col., 1988). Mayes y col. (1984), estudiando en ovinos el flujo de carbono entre la glucosa plasmática y el compartimento de CO_2 sanguíneo, encontraron similares valores al infundir como marcador $^{14}\text{CO}_3\text{Na}_2$ o $^{13}\text{CO}_3\text{Na}_2$.

El único trabajo publicado hasta la fecha sobre el uso de ^{13}C en estudios de CERT ha sido el de Sahlu y col. (1992). Estos autores han estudiado en caprino diversos aspectos de esta técnica, tales como tiempo de equilibrio, evaluación del efecto de la ingesta de plantas C_3 y C_4 sobre los niveles basales de ^{13}C y comparación de posibles lugares de muestreo. Los resultados obtenidos son equiparables a los publicados previamente utilizando ^{14}C .

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Descripción de la cámara de respirometría.

3.1.1. Principio y diseño.

Una característica importante del equipo de respirometría existente en nuestro departamento es su flexibilidad, que le permite funcionar de acuerdo con el principio de calorimetría indirecta en cámara de confinamiento o según el principio de calorimetría indirecta en cámara de circuito abierto. Este último sistema aparece descrito en dos publicaciones de nuestro laboratorio (Aguilera y Prieto, 1985 y 1986).

En el sistema de confinamiento el aire sale de la cámara hacia los analizadores de gases y vuelve nuevamente a ella, formándose un circuito cerrado cámara-analizadores de gases. La actividad metabólica del animal alojado en la cámara produce un aumento en la concentración de CH_4 y CO_2 , a la par que desciende la de O_2 . Estos cambios en composición son detectados por análisis al inicio y final del ensayo. El sistema permite realizar un elevado número de ensayos durante periodos de tiempo que tienen que ser necesariamente cortos para así evitar que la concentración de CO_2 en el interior de la cámara sobrepase el 1% v/v, lo que podría estimular el centro respiratorio del animal. Al final de cada periodo la cámara ha de abrirse para renovar el aire de su interior. La diferencia entre el volumen inicial y el volumen final de CH_4 , CO_2 y O_2 en cámara proporciona una medida

del CH_4 y CO_2 producidos, y del O_2 consumido por el animal.

En el sistema de circuito abierto aire fresco del exterior penetra en la cámara, al crearse una presión negativa en su interior gracias a la acción de una bomba. Esta diferencia de presión evita, al propio tiempo, que puedan producirse fugas no controladas de aire del interior de la cámara, que constituyen en su caso una importante fuente de error de difícil detección. El flujo de aire se determina por medio del principio de presión diferencial, usando un transductor de presión de diafragma y puede ser ajustado en el rango de 0-5000 l/h para que se alcance en el interior de la cámara un nivel de CO_2 algo inferior al 1% v/v. Una muestra alícuota del aire de salida es dirigida hacia la unidad de medida del equipo para el continuo registro de su composición. El sistema está también equipado con indicadores de presión absoluta, temperatura seca y humedad absoluta y es controlado por un ordenador central.

La cámara está formada por una gran campana en forma de prisma rectangular o caja invertida de material acrílico transparente, que se asienta sobre una superficie metálica y presenta la particularidad de que el acceso a su interior requiere que se eleve verticalmente la campana, lo cual se realiza mediante un polipasto. La cámara está dotada de un sistema de ventilación de aire, de condensación del vapor de agua y de indicadores de presión absoluta tanto en la cámara propiamente dicha, como en el circuito que la conecta a la unidad de medida.

3.1.2. Material y dimensiones.

La campana de la cámara está construida en lámina de metacrilato de 7 mm, con unas dimensiones externas de 70,0 x 134,5 x 203,0 cm y un volumen interno o capacidad nominal de 1910 l. Presenta en su interior un perfil de metacrilato de sección cuadrada (15 x 15 mm) en todos los ángulos, como refuerzo, e igualmente, un perfil angular metálico (20 x 20 x 2 mm) en todas sus aristas. Dicho perfil muestra un refuerzo metálico (0,2 x 2 x 3 x 72 cm) en los lados cortos superiores, ya que de su centro parte perpendicularmente un eje metálico (0,5 x 5 x 32 cm) hacia arriba que se une con su simétrico del lado contrario mediante un tubo metálico cuadrangular (0,5 x 5 x 5 cm). Este tubo en su centro geométrico presenta un orificio en el que engarza el cable del polipasto mediante el cual se levanta la campana. El polipasto se encuentra adosado a una pieza que, por medio de cojinetes, se desliza sobre un raíl metálico (0,5 x 5 x 5 cm) que permite el desplazamiento longitudinal de la campana una vez levantada.

La parte superior de la cámara descansa sobre una plataforma de acero inoxidable (81,5 x 215 cm), que muestra en su perímetro un canal (5,5 cm de anchura) en el que se aloja el borde inferior de la campana. Dicho canal contiene cantidad suficiente de agua para sellar la cámara. El canal puede desaguar a través de un orificio que se cierra mediante una llave. Salvo en el canal, la superficie de esta plataforma presenta una suave inclinación para facilitar la recogida y eliminación de las heces y orina que pudieran acumularse durante el ensayo. En la zona más baja un

orificio con una llave de cierre hermético facilita su desagüe y limpieza. Para no dañar la plataforma, el ángulo metálico de refuerzo del perímetro inferior de la campana lleva adosada una goma sobre la que descansa aquella. Al encajar la campana sobre la plataforma, ésta le resta un volumen de 40 l a la cámara.

En la línea media longitudinal superior la cámara presenta dos orificios (8 cm ϕ), con una separación entre ellos de 1 m, en los que se ensambla el sistema de acondicionamiento y ventilación de la cámara, añadiéndole a ésta un volumen de 7 l. El orificio de entrada de aire atraviesa un falso techo, no así el de salida.

La cámara muestra un falso techo, también de metacrilato, a 5 cm del techo verdadero y separado de las paredes laterales por igual distancia, para que el aire procedente de la turbina choque contra él y se distribuya por toda la cámara de forma homogénea. Ocupa un volumen de 9 litros. En consecuencia el volumen final de la cámara es de 1868 l.

La cámara exhibe en uno de los frontales un orificio (3 cm ϕ) a través del cual, en el caso de que funcione según el principio de confinamiento, se introducen cuatro tubos: el 1º (teflón, 4 x 6 mm ϕ) conduce aire de la cámara a los analizadores; el 2º (teflón, 4 x 6 mm ϕ) de retorno, facilita la entrada de aire procedente de los analizadores; el 3º (teflón, 4 x 6 mm ϕ) comunica con un sensor que indica la presión dentro de la cámara; el 4º tubo (teflón, 8 x 11 mm ϕ) se usa para sacar agua de un tanque que se introduce en la cámara cada vez que se realiza un calibrado del sistema. En el caso de que la cámara funcione según el principio de circuito abierto (Aguilera y Prieto, 1985 y 1986) se conecta sólo un tubo (5 cm ϕ interno) por el cual se extrae

aire de la cámara. En este caso opera otro orificio en el lado opuesto, al cual se conecta otro tubo de las mismas características que el anterior, por el cual penetra el aire del exterior.

En confinamiento, existe en el interior de la cámara un termómetro de bulbo seco y otro de bulbo húmedo, necesarios tanto para la medida de la temperatura como de la presión de vapor de agua existente en ella.

3.1.3. Sistema de ventilación y acondicionamiento.

Consta de dos codos de metacrilato acoplados a los dos orificios del techo de la cámara, un receptáculo de metacrilato que aloja un pequeño radiador y una turbina colocada tras el radiador para forzar el paso de aire a su través y homogeneizar el aire en la cámara.

El receptáculo donde se aloja el radiador recoge el agua que condensa éste y para su desagüe presenta un pequeño orificio conectado a un tubo cuyo extremo distal permanece sumergido en agua contenida en un recipiente de 5 l. Dispone de otros dos orificios, uno de entrada y otro de salida, conectados a tubos (15 x 19 mm ϕ) del circuito de líquido refrigerante que llega al radiador. El líquido refrigerante (10% de etilenglycol en agua) es impulsado hacia el radiador mediante una pequeña bomba desde un tanque refrigerador de 400 l que se enfría por un compresor de freon-22 (Linde, tipo L.301 de 18800 kJ/h de capacidad). Una bomba centrífuga (Lefi-Legarda, modelo 25/13) hace circular el líquido de forma constante por el tanque.

La turbina es un extractor S & P del tipo TDM-160 con una potencia a descarga libre de 35 W y un caudal a descarga libre de 160 m³/h.

El metacrilato tiene la propiedad de difundir rápidamente el calor, por lo que la temperatura de la cámara tiende a igualarse con la temperatura existente en el laboratorio. Es posible regular aquella actuando sobre el sistema de termorregulación del laboratorio. También es posible eliminar por condensación el vapor de agua producido por el animal y homogeneizar el aire del interior de la cámara para que la muestra analizada sea en todo momento representativa de éste.

Para evitar que el agua condensada se congele sobre el radiador, lo que obstruiría el sistema, el termostato del tanque de refrigeración ha de colocarse a una mínima temperatura apropiada, cuyo ajuste depende de la temperatura existente en el laboratorio.

3.1.4. Analizadores de gases.

El aire de la cámara llega a la unidad de análisis y circula a través de los analizadores de gases gracias a una bomba hermética de diafragma (Wisa 2, Hartmann & Braunn, Alemania). El flujo de paso se mantiene constante en l/h.

Los analizadores de gases miden las concentraciones de CO₂, CH₄ y O₂ en el aire de la cámara.

El analizador de CH₄ y CO₂ es conjunto (Uras 10E, Hartman & Braunn, Alemania); tiene un rango de 0-0,1% y de 0-1% v/v, respectivamente, que se corresponde con una señal de medida de

0-20,00 mA. El principio de medida de CH_4 y CO_2 según el procedimiento continuo NDIR (absorción no dispersiva de infrarrojos), está basado en la propiedad que tienen los gases poliatómicos no elementales de absorber la radiación en el campo espectral infrarrojo ($2,5 \dots 12 \mu\text{m}$). La absorción se mide en un dispositivo fotométrico de luz alterna con un receptor de radiación lleno de gas que funciona selectivamente. La radiación infrarroja producida por el emisor es modulada mecánicamente e incide en el receptor de forma alterna, a través de un tubo dividido longitudinalmente que con un haz de radiación de medida y uno de referencia forma la cubeta de medida y la de referencia. El receptor se compone de dos cámaras dispuestas una tras otra y está lleno del gas cuya concentración en el gas de medida se quiere determinar. La cámara anterior y la posterior están separadas por el condensador de membrana que genera la señal de medida. Esta señal eléctrica es amplificada y linealizada quedando a disposición como señal de salida continua normalizada para su posterior tratamiento.

El analizador de O_2 (Magnos 2T, Hartman & Braunn, Alemania) tiene un rango de 19-21 % v/v de O_2 , que se corresponde con un rango en la señal de medida de 0-20,00 mA. La concentración de O_2 es determinada mediante el principio del paramagnetismo. La propiedad que poseen los cuerpos paramagnéticos de ser atraídos en un campo magnético heterogéneo en dirección a la creciente intensidad del campo, se aprovecha de la siguiente manera: el gas que se va a analizar se encuentra en un pequeño tubo de vidrio horizontal de pared muy fina en cuyo interior se origina un intenso campo magnético mediante un potente imán permanente. Si

el gas que se va a medir contiene O_2 , este campo magnético ejerce una fuerza que tiende a atraer el gas a la zona de mayor intensidad magnética. Un filamento eléctrico enrollado alrededor del pequeño tubo de vidrio y que calienta el gas que se va a analizar se encuentra en un lugar del mayor gradiente del campo, es decir, en las proximidades del borde de las expansiones polares del imán. Debido a este calentamiento disminuye el paramagnetismo de modo que la fuerza de atracción ejercida sobre la parte calentada del gas es siempre inferior a aquella ejercida sobre la parte todavía fría. Por consiguiente, el campo magnético trata de atraer con mayor fuerza hacia el punto de máxima intensidad el gas frío, lo que hace que el gas calentado por el filamento sea empujado fuera de este campo magnético y con ello, fuera del pequeño tubo de medida. Como el gas incidente más frío es calentado continuamente por la espiral eléctrica, se forma así en el pequeño tubo de medida un flujo continuo de gas que es denominado viento magnético y cuya velocidad es prácticamente proporcional al contenido de O_2 en el gas que se va a medir. El O_2 es el gas más paramagnético que existe. Todos los demás gases son débilmente diamagnéticos y no interfieren la detección de O_2 .

Los analizadores se encuentran montados en serie, siendo continuamente registradas sus lecturas en un registrador lineal (6 canales, Hartman & Braunn, Alemania). Un panel medidor digital (S2101, Hartman & Braunn, Alemania) está también disponible para una medida puntual más exacta. El aire accede a los analizadores seco. Su desecación tiene lugar a su paso por un enfriador de gases (CGEK, Hartman & Braunn, Alemania), se ha determinado que a su salida el aire presenta una presión de vapor

de agua de 5,66 mmHg. Ello produce una ligera desviación en las medidas del analizador Uras 10E, que corrige el factor de calibrado.

3.1.4.1. Ajuste y calibración de los analizadores de gases.

El ajuste de los analizadores de gases en términos absolutos es efectuado mediante aire atmosférico y de gases de composición conocida (mezclas patrón). Se asume que el aire atmosférico contiene 20,946 % v/v de O_2 , 0,034 % v/v de CO_2 y 0 % v/v de CH_4 . Los gases (mezclas binarias) patrón han sido suministrados por Oxhídrica Malagueña, S.A. Botellas B50 Estas contienen O_2 en N_2 ($19,070 \pm 0,001$ % molar), CO_2 en N_2 ($1,404 \pm 0,001$ % molar) y CH_4 en N_2 ($0,140 \pm 0,001$ % molar).

Con la ayuda del panel medidor digital, que ofrece una señal en el rango de 0-20,00 mA, los analizadores se ajustan exactamente, haciendo uso de las mezclas binarias patrón.

Los analizadores ven afectadas sus medidas por cambios en la presión y en el caudal del gas que circula a su través, principalmente el analizador de O_2 . Para minimizar estos cambios se dispone de una válvula reguladora de aguja a la entrada de los analizadores y de un bypass también con una válvula reguladora, de tal manera que actuando sobre ambas es posible mantener en el circuito de los analizadores unos valores de presión y caudal constantes.

La respuesta del analizador Magnos 2T a la presencia de O_2 se modifica por la concentración de CO_2 en el gas de medida, por

lo que hemos establecido un factor de corrección que cuantifica la magnitud de este efecto: una mezcla terciaria de O₂, CO₂ y N₂ de concentración relativa adecuada se analiza antes y después de la absorción del CO₂ en cal sodada. Se determina la variación en lectura, corregida respecto al decremento en volumen que experimenta el gas analizado debido a la absorción del CO₂ por unidad porcentual de CO₂ en la mezcla original, para obtener dicho factor de corrección. El valor medio del factor de corrección encontrado fue de 0,110 (tabla 1m). En consecuencia:

$$[O_2]_{\text{corregida}}(\%) = [O_2]_{\text{analizada}}(\%) + 0,110 \times [CO_2](\%)$$

En nuestro trabajo empleamos una mezcla de gases (span) suministrada por Oxhídrica Malagueña, S.A., cuyo análisis fue contrastado tomando como referencia las concentraciones conocidas de las mezclas binarias patrón. Su composición en O₂, CO₂ y CH₄ fue 20,580, 0,7803 y 0,0816 % v/v, respectivamente; el resto, N₂.

Para mantener la estabilidad de la línea base y conocer la sensibilidad de los tres analizadores es preciso efectuar chequeos periódicos. La estabilidad de la línea base requiere el ajuste de las lecturas nominales en inicio y final de escala de los analizadores de CO₂ y CH₄, haciendo llegar a sus células de medida aire ambiente y gases patrón, respectivamente; y en el analizador de O₂, gas patrón y aire ambiente respectivamente. El llamado factor de sensibilidad de los analizadores se obtiene mediante la medida de span y aire ambiente al principio y al final de cada muestreo y el cálculo del cambio en lectura por

Tabla 1m.- Efecto de la [CO₂] en la medida de la [O₂] en el analizador Magnos 2T.

[CO ₂] (a)	[O ₂]		Factor de corrección (c-b)/a
	Sin absorbente (b)	Con absorbente (c)	
0,7803	20,4988	20,5854	0,110983
0,7803	20,4970	20,5759	0,101073
0,7803	20,4886	20,5836	0,121746
0,7803	20,5008	20,5905	0,114988
0,7803	20,4876	20,5638	0,097655
0,7803	20,5030	20,5904	0,112008
0,7803	20,4938	20,5765	0,105973
0,7803	20,4796	20,5678	0,113033
		$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n-1}$	0,110±0,0028

unidad de variación en la concentración de cada componente.

3.1.5. Calibrado del sistema.

Consiste en introducir en la cámara unas cantidades de gases exactamente conocidas mediante aplicación de un método gravimétrico, y proceder a su detección haciendo uso de sus instrumentos de medida. La relación entre el volumen de gas inyectado y el detectado ha de ser aproximadamente 1 y mantener una adecuada constancia. En otras palabras la instalación debe proporcionar exactitud y precisión elevada. Los gases inyectados son de gran pureza: CH_4 (99,9995 %), CO_2 (99,998 %) y N_2 (99,9992 %). Están contenidos en botellas de capacidad suficiente, cuya pesada se realiza con una precisión de $\pm 0,01$ g en los casos de CO_2 y CH_4 y de ± 1 g en el caso de N_2 . Esre se inyecta con el propósito de disminuir la concentración de O_2 en el interior de la cámara, con lo que produce el mismo efecto que un animal al consumir O_2 .

Los gases se inyectan en un volumen por unidad de tiempo similar al que pudiera producir (CO_2 y CH_4) un pequeño rumiante adulto (en nuestro caso) o suficiente para provocar una reducción de O_2 análoga a la que induciría la presencia de dicho animal en la cámara, siempre por exceso. De este modo, los flujos de inyección se sitúan en 4 l/h para CH_4 , 15 l/h para CO_2 y 50 l/h para N_2 , medidos mediante caudalímetros. La infusión de gases se extiende durante un periodo de tiempo determinado, cuya duración depende del sistema de calorimetría indirecta elegido. En confinamiento no se inyecta CH_4 por la gran dificultad que

implica conocer con suficiente exactitud la pequeña cantidad del gas que se requiere introducir en la cámara.

En el caso de operar en confinamiento y para evitar el aumento de presión que se produciría en el interior de la cámara al inyectar estos gases -lo que podría contribuir a que se produjeran fugas- se coloca en el interior de la cámara un depósito de agua con un volumen de ésta exactamente conocido y superior al volumen de los gases que se pretende inyectar. De él y con ayuda de una pequeña bomba de inmersión de caudal graduable (SICCE FUTURA x15/20, 20 W), se extrae agua a un caudal igual al de inyección total de gases. En circuito abierto se procede como describen Aguilera y Prieto (1985 y 1986).

3.1.6. Medidas de calibrados y de metabolismo energético.

3.1.6.1. Confinamiento.

Los cálculos son los siguientes:

$$V_{si} = \frac{(V_c - V_{a_i})(P_{c_i} - P_{v_i})}{760 \text{ mmHg}} \frac{273^\circ \text{K}}{T_{c_i}} \left/ \left(1 - \frac{5,66 \text{ mmHg}}{760 \text{ mmHg}}\right)\right.$$

$$V_{sf} = \frac{(V_c - V_{a_f})(P_{c_f} - P_{v_f})}{760 \text{ mmHg}} \frac{273^\circ \text{K}}{T_{c_i}} \left/ \left(1 - \frac{5,66 \text{ mmHg}}{760 \text{ mmHg}}\right)\right.$$

CH₄:

$$\left. \begin{aligned} V_{CH_4 i} &= L_{m A_i CH_4} \times F_{SCH_4} \times V_{s_i} \\ V_{CH_4 f} &= L_{m A_f CH_4} \times F_{SCH_4} \times V_{s_f} \end{aligned} \right\} V_{CH_4 f} - V_{CH_4 i} = V_{CH_4 d}$$

V_{CO_2i} = vol. CO_2 inicial en el interior de la cámara (l).
 V_{CO_2f} = " " final " " " " " "
 LmA_iCO_2 = lectura inicial en miliamperes para el CO_2 .
 LmA_fCO_2 = " final " " " " "
 F_{SCO_2} = factor de sensibilidad para el analizador de CO_2 .
 V_{CO_2d} = aumento de vol. CO_2 detectado en la cámara por el analizador (l).
 V_{CO_2in} = " " inyectado " " " (l).
 Pb_{CO_2i} = peso inicial de la botella de CO_2 (g).
 Pb_{CO_2f} = " final " " " " "
 d_{CO_2} = densidad del CO_2 (g/l).
 F_{cCO_2} = factor de calibrado para el CO_2 .

V_{O_2i} = vol. de O_2 inicial en el interior de la cámara (l).
 V_{O_2f} = " " " final " " " " " "
 LmA_iO_2 = lectura inicial en miliamperes para el O_2 .
 LmA_fO_2 = " final " " " " "
 F_{SO_2} = factor de sensibilidad para el analizador de O_2 .
 F_{cO_2} = factor de calibrado para el O_2 .

(*) A 5,66 mmHg, que ese la P_v de agua en el gas de la cámara a la entrada de los analizadores. En el cálculo de V_{s_i} y V_{s_f} se usa T_{c_i} en ambos, ya que al ser la cámara hermética y rígida consideramos que no se producen en su interior cambios de volumen debidos a cambios en la temperatura. Estos conducen a modificaciones de la presión en el interior de la cámara.

La tabla 2m recoge el valor medio de los factores de calibrado de CO_2 y de O_2 aplicados a un grupo de ensayos.

El cálculo que sigue a la realización de un ensayo respirométrico es el mismo, salvo que $V_{a_i} = V_{a_f} = V_p$, donde V_p es el volumen en litros del animal estimado como su peso en Kg y los volúmenes de gases detectados (V_{CO_2d} , V_{CH_4d} y también V_{O_2d} ($V_{O_2d} = V_{O_2i} - V_{O_2f}$)) han de multiplicarse por sus factores de calibrado (F_{cCO_2} , F_{cCH_4} y F_{cO_2}) correspondientes, asumiendo que F_{cCH_4} es igual a 1, como se explicará en el punto.

Tabla 2m.- Factores de calibrado de CO₂ y O₂. Volúmenes (l) inyectado y detectado de CO₂.

Inyectado	CO ₂		O ₂	
	Detectado	Fc	Fc	
4,658148	4,403566	1,057813		1,006117
4,586876	4,386777	1,045626		1,003588
4,205060	4,131382	1,017834		1,002199
4,563967	4,329002	1,054277		1,004924
4,266151	4,011208	1,063558		1,007404
3,578883	3,330629	1,074537		0,998661
4,220333	4,129542	1,021986		1,001875
3,751973	3,431745	1,093314		0,998079
3,975971	3,714144	1,070495		0,999861
4,105788	3,868290	1,061396		0,999602
3,797790	3,692344	1,028558		1,000579
3,828335	3,555454	1,076750		0,998715
4,149060	3,940643	1,052889		1,000932
3,914881	3,639935	1,075536		0,999217
4,072696	3,885545	1,048166		0,998713
4,052335	3,850496	1,052419		1,000528
	$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n-1}$	1,055885 ± 0,005162		1,001312 ± 0,000711

El cociente respiratorio (CR) es calculado como la relación CO_2 producido (l)/ O_2 consumido (l).

La producción de calor (PC) del animal, en kJ, se obtiene según la ecuación de Brouwer (Brouwer, 1965), a partir del consumo de O_2 (l), y de producción de CO_2 (l) y de CH_4 (l):

$$\text{PC (kJ)} = 16,18 \text{ O}_2(\text{l}) + 5,02 \text{ CO}_2(\text{l}) - 2,17 \text{ CH}_4(\text{l}) - 5,99$$

N_{urinario}

3.1.6.2. Circuito abierto.

La calorimetría de circuito abierto es el método más extendido para la determinación del gasto energético en animales cuyo alojamiento en una cámara es viable. El principio de este sistema se basa en la medida y registro de los cambios de composición del aire de la cámara que se producen como resultado de la actividad metabólica del animal alojado en ella. Gracias a la acción de una bomba de succión situada en el circuito de salida de la cámara, aire del exterior penetra y sale de ella. Para la medida del gasto energético es necesaria la determinación del caudal de aire que abandona la cámara y de las concentraciones de CH_4 , CO_2 y O_2 en el aire que entra y el gas que sale de ella. Se asume que la composición del aire exterior v/v es 20,946% de O_2 , 0,034% de CO_2 , 0% de CH_4 y el resto, 79,020%, de N_2 . El volumen de aire que entra en la cámara se calcula a partir del que sale usando la transformación de Haldane:

$$V_{\text{N}_2} \text{ entrada} = V_{\text{N}_2} \text{ salida}$$

$$V_{\text{aire entrada}} \times [N_2]_{\text{entrada}} = V_{\text{aire salida}} \times [N_2]_{\text{salida}}$$

$$V_{\text{aire entrada}} = (V_{\text{aire salida}} \times [N_2]_{\text{salida}}) / [N_2]_{\text{entrada}}$$

Todos los volúmenes de gases son transformados a condiciones estándar de presión, temperatura y humedad utilizando la ecuación:

$$V_S = V' \times 273 / ((273+T) \times (P - P_{v_i}) / 760)$$

donde,

V_S = volumen estándar.

V' = volumen medido.

T = temperatura en °C.

P = presión barométrica ambiental en mmHg.

P_{v_i} = presión parcial de vapor de H_2O .

La producción de CO_2 y CH_4 , y el consumo de O_2 se calculan a partir del volumen y composición del aire que entra y sale de la cámara de respirometría:

CH_4 (1):

$$V_{CH_4} \text{ producido} = V_{CH_4} \text{ salida} - V_{CH_4} \text{ entrada}$$

$$V_{CH_4} \text{ producido} = V_{\text{aire salida}} \times [CH_4]_{\text{salida}}$$

CO_2 (1):

$$V_{CO_2} \text{ producido} = V_{CO_2} \text{ salida} - V_{CO_2} \text{ entrada}$$

$$V_{CO_2} \text{ producido} = [V_{\text{aire sal}} \times [CO_2]_{\text{sal}}] - [V_{\text{aire entr}} \times [CO_2]_{\text{aire}}]$$

$$V_{CO_2} \text{ producido} = [V_{\text{aire sal}} \times [CO_2]_{\text{sal}}] - 0,00034 \times V_{\text{aire entr}}$$

O_2 (1):

$$V_{O_2} \text{ consumido} = V_{O_2} \text{ entr} - V_{O_2} \text{ sal}$$

$$VO_2 \text{ consumido} = [V_{\text{aire entr}} \times [O_2]_{\text{aire}}] - [V_{\text{aire sal}} \times [O_2]_{\text{sal}}]$$

$$VO_2 \text{ consumido} = V_{\text{aire sal}} \times [(0,20946/0,7902) - [O_2]_{\text{sal}}]$$

Tanto el CR como la PC se calcula como en el apartado de confinamiento.

Los factores de calibrado se obtuvieron de acuerdo con Brockway y col. (1971):

$$FcCH_4 = CH_{4in}(1)/A_1$$

$$FcCO_2 = [0,9996 CO_2(1) + 0,00034 [CH_4(1) + N_2(1)]] / V(A_2 - 0,00034)$$

$$FcO_2 = [0,20946 [CH_4(1) + CO_2(1) + O_2(1)]] / V(0,20946 - A_3)$$

donde V es volumen de gas STPH que pasa a través del medidor de flujo y A₁, A₂ y A₃ representan las concentraciones medias en tanto por uno de los respectivos gases.

La **tabla 3m** recoge el valor medio de los factores de calibrado de CH₄, CO₂ y O₂ aplicados a un grupo de ensayos.

Tabla 3m.- Factores de calibrado de CH₄, CO₂ y O₂. Volúmenes (l) inyectados y detectados de CH₄ y CO₂.

CH ₄			CO ₂			O ₂
Inyectado	Detectado	Fc	Inyectado	Detectado	Fc	Fc
5,879889	5,422505	1,084349	74,443822	68,924360	1,080080	1,001941
5,782122	5,357785	1,079200	63,696991	58,492558	1,088976	1,004167
6,466480	5,987404	1,080014	69,643130	64,450722	1,080564	1,003628
6,480447	6,086092	1,064796	71,923841	66,506181	1,081461	1,001097
$\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n-1}$		1,077090±0,004251			1,082770±0,002088	1,002708±0,000716

3.2. Estimación del gasto energético en la locomoción.

3.2.1. Animales y alimentación.

Se utilizaron seis cabras adultas de raza Granadina con los siguientes pesos al inicio de las pruebas 28,5 , 30,5 , 34,0 , 35,4 , 39,1 y 41,9 Kg. Durante los ensayos consumieron heno de alfalfa granulado a nivel de mantenimiento. La ingesta de energía metabolizable necesaria para este propósito (EM_m) se calculó de acuerdo con Aguilera y col. (1990): $EM_m = 401 \text{ kJ/Kg}^{0,75}$.

3.2.2. Ergómetro.

Se utilizó un ergómetro (mod. Beta Bellarosa, Ilario Denza, Italia) con una cinta rodante de caucho antideslizante (132 cm de largo x 48 de ancho), con el que es posible ensayar velocidades de desplazamiento y pendientes comprendidas entre 0 y 15 Km/h y -5 y +15 %, respectivamente. Ambas se reflejan en un panel de control, si bien con insuficiente exactitud.

Para medir exactamente la velocidad y en consecuencia la distancia recorrida por el animal en un determinado periodo, se instaló en el ergómetro un contador electrónico de vueltas de la cinta rodante. Igualmente, para conocer con exactitud las pendientes usadas, se midieron previamente los ángulos a las que correspondían éstas con un goniómetro y se obtuvo su correspondencia con el amperaje del motor que desplaza el ergómetro en dirección vertical, con lo que un simple amperímetro nos permitió realizar el ajuste de la pendiente exacta en cada

situación. Para obtener la pendiente de -10% hubo de calzarse el ergómetro en su parte posterior.

Una serie de pruebas llevadas a cabo con la cámara en vacío y la máxima velocidad de desplazamiento de la cinta del ergómetro demostró la ausencia de variaciones en las concentraciones de CO₂ y O₂.

3.2.3. Diseño experimental.

Se realizaron dos ensayos. El primero, con el propósito de discernir sobre la posible existencia de efecto postural sobre la producción de calor (PC) del animal que permanece de pie inmóvil, sobre planos de pendiente diversa. Este grupo comprende un total de 60 determinaciones de la producción de calor obtenidas en seis animales sobre cinco pendientes y con dos réplicas por animal y tratamiento. Las velocidades utilizadas fueron 10, 20 y 30 m/minuto. Las pendientes -10, -5, 0, 5 y 10% o, lo que es lo mismo, -5,71 , -2,86 , 0 , 2,86 y 5,71° de ángulo de pendiente, respectivamente.

El segundo ensayo tuvo por objeto determinar el gasto energético imputable a la locomoción, medido como el incremento en la producción de calor del animal en desplazamiento respecto a la que experimenta cuando permanece de pie e inmóvil o estimado mediante regresión de la producción de calor frente a la distancia recorrida. También se determinó por regresión el consumo de O₂ por unidad de distancia recorrida, como índice del coste energético del desplazamiento. El conjunto de determinaciones calorimétricas corresponde a un diseño factorial

3(velocidad) x 5(pendiente) con seis animales y tres réplicas por tratamiento, en el que dentro de cada velocidad de desplazamiento las pruebas para realizar sobre las distintas pendientes van en su conjunto precedidas de una prueba en la que el animal permanece de pie inmóvil sobre el plano horizontal. Comprende este segundo ensayo un total de 324 determinaciones de la producción de calor (o sólo del consumo de O₂) de los animales, de ellas 270 en desplazamiento.

3.2.4. Técnicas experimentales.

La producción de calor del animal que permanecía de pie inmóvil o caminaba sobre la cinta rodante del ergómetro situado en el interior de la cámara de respirometría de confinamiento descrita anteriormente, fue determinada a partir del consumo de O₂ y de las producciones de CO₂ y CH₄, de acuerdo con Brouwer (1965), extrapolados a un periodo experimental de una hora y por Kg de peso vivo:

$$PC \text{ (kJ/Kgxhora)} = 16,18 \times O_2(l) + 5,02 \times CO_2(l) - 2,17 \times CH_4(l)$$

No se ha incluido la excreción urinaria de N en dicho cálculo porque la magnitud de esta corrección es ciertamente despreciable. Datos de nuestro laboratorio (Isac, M.A., 1993) sugieren que la excreción urinaria de N de los animales utilizados en estos ensayos estaría muy próxima a 0,7 g/Kg^{0,75} y día o, lo que es igual, 12 mg/Kgxhora, que reducen la producción de calor en 72 julios/hora) y no tiene efecto alguno sobre la cuantificación del coste energético de la locomoción.

El coste energético de la locomoción se ha calculado según dos

procedimientos:

a) A partir del aumento en la producción de calor que experimenta el animal en ejercicio respecto a la que desarrolla en situación de reposo. Este coste se expresa en julios por Kg de peso vivo y metro de desplazamiento:

$$CE_D \text{ (J/Kgxm)} = PC_D - PC_I$$

donde CE_D es el coste energético debido a la locomoción, que sobre el plano horizontal designaremos como CE_H y en pendiente como CE_P ; PC_D es la producción de calor del animal en desplazamiento y PC_I es dicha producción cuando el animal permanece de pie inmóvil.

El coste energético del desplazamiento en vertical (CE_V), sea este ascendente o descendente, se ha obtenido de acuerdo con la siguiente expresión:

$$CE_V \text{ (J/Kgxm)} = (CE_P - CE_H \times \cos\alpha) / \text{sen}\alpha$$

Esta ecuación asume que el gasto energético del animal que se desplaza en pendiente ascendente 1 m desde el punto A al punto B es igual al que desarrolla por metro de desplazamiento en horizontal multiplicado por la distancia que corresponde a dicha pendiente AC (igual a $1\text{m} \times \cos\alpha$) más el necesario para cubrir la distancia CB, ($CB = 1\text{m} \times \text{sen}\alpha$). La ecuación indica el número de julios necesarios para elevar un Kg de peso vivo un metro. Asume igualmente que el costo del desplazamiento en pendiente descendente de 1m desde E hasta G es suma del requerido para llevar a cabo el recorrido en horizontal FG, ($FG = 1\text{m} \times \cos\alpha$) y

el necesario para alcanzar el punto F desde E ($EF = lm \times \text{sen}\alpha$).

El valor de las pendientes objeto de ensayo es en la práctica lo suficientemente moderado para que $\text{cos}\alpha$ se aproxime a 1, por lo que:

$$CE_H \times \text{cos}\alpha \approx CE_H$$

lo que transformaría la expresión anterior en:

$$CE_V \text{ (J/Kgxm)} = (CE_P - CE_H) / \text{sen}\alpha$$

comunmente citada en la bibliografía.

b) Mediante regresión lineal de la producción de calor del animal expresada en julios por Kg de peso vivo referida a una hora sobre la distancia recorrida y dada en metros. Con este propósito dentro de cada pendiente se hace uso de los desplazamientos habidos a las tres velocidades ensayadas. Se unen a estos datos los que proporcionan las pruebas realizadas con el animal inmóvil expresados en julios por Kg de peso vivo y hora. Las pendientes de las ecuaciones de regresión proporcionan estimaciones de los costes energéticos del desplazamiento por metro recorrido y Kg de peso vivo.

Se han utilizado ecuaciones de regresión múltiple, una para pendientes positivas y otra para pendientes negativas, para obtener los costes energéticos de los componentes horizontal y vertical del desplazamiento. Se utilizan para ello los datos de producción de calor correspondientes a desplazamientos sobre plano horizontal y pendientes positivas (o negativas), cualquiera que sean éstas y las velocidades ensayadas, y los resultados de producción de calor de los animales en situación de reposo. La producción de calor se utiliza como función y la distancia

recorrida en uno y otro eje en que se descompone el desplazamiento en pendiente, como variables independientes. Sus coeficientes estiman los costes energéticos por unidad de desplazamiento en horizontal y vertical. Cuando los cálculos corresponden a pendientes negativas el coeficiente del componente vertical estima la energía recuperada por el desplazamiento descendente.

El consumo de O_2 se determinó de igual manera que en el apartado b para la producción de calor expresado como ml por Kg de peso vivo y hora.

3.2.5. Desarrollo de los ensayos.

Se estableció un periodo preexperimental que se prolongó durante al menos quince días para facilitar la total adaptación de los animales a la cámara y su aprendizaje a caminar sobre la cinta rodante del ergómetro. Los animales caminaron inicialmente durante pequeños periodos de tiempo que fueron prolongándose progresivamente, aumentando igualmente las velocidades de desplazamiento y las pendientes conforme se familiarizaban con el tratamiento experimental y lograban caminar con soltura sobre la cinta.

Entre cada una de estas distintas pruebas se dejaba transcurrir un periodo de tiempo de 5 a 10 minutos para que el animal alcanzara el estado de equilibrio fisiológico a la nueva situación. El procedimiento experimental fue el siguiente:

Se introduce el animal en la cámara y se le sitúa sobre la cinta del ergómetro. Transcurridos 10 minutos se hace descender

la campana y cinco minutos más tarde se toma lectura de la composición del aire en el interior de la cámara y de sus condiciones ambientales. Estas medidas se repiten pasados 15 minutos de tratamiento (uno y otro grupo de datos permiten determinar la producción de calor del animal, que ha permanecido de pie inmóvil). Seguidamente se eleva la campana, a fin de renovar el aire del interior de la cámara, y se repite el proceso descrito sin solución de continuidad con el animal caminando, primero sobre plano horizontal y, en pruebas sucesivas, con pendientes del 5, 10, -5 y -10%, siempre a la misma velocidad. Entre cada una de estas distintas situaciones se deja transcurrir un periodo de 5 a 10 minutos para que el animal alcance el estado de adaptación fisiológica a la nueva situación. Se procede así hasta completar las tres réplicas con las seis cabras y las cinco pendientes antes de pasar a una nueva velocidad. El periodo de 5 a 10 minutos establecido para facilitar la adaptación metabólica del animal a un nuevo tratamiento experimental se adoptó tras los trabajos de Shibata y col. (1981), quienes observaron en novillas la inexistencia de diferencias significativas en la producción de calor y en el ritmo cardiaco medidos en reposo y 5 a 10 minutos después de caminar con velocidades de 30 a 60 m/min. durante 10 minutos, por lo que consideraron no se producían efectos residuales del ejercicio sobre la actividad metabólica del animal en el siguiente tratamiento. Observaron, además, que la producción de calor del animal era significativamente más baja en el primer minuto de ejercicio, debido a un menor consumo de O_2 . Yoshida y col. (1959) obtuvieron estabilidad en el consumo de O_2 de ganado vacuno que desarrollaba trabajo muscular por arrastre

de un peso transcurridos cinco minutos de ejercicio. De aquí que en nuestros estudios hayamos considerado que tras 5 a 10 minutos de tratamiento el animal ha alcanzado el estado de adaptación metabólica estable, dado el menor trabajo mecánico que en términos comparativos hemos impuesto a nuestros animales experimentales.

Los registros de consumo de O_2 y producción de CO_2 obtenidos en nuestro laboratorio con ganado caprino en mantenimiento muestran -como cabe esperar- un aumento en la producción de calor importante en el periodo posterior a la ingestión del alimento y una notable estabilidad transcurridas 6 a 8 horas, si bien con ligerísima tendencia a declinar. Dada la conveniencia de llevar a cabo las pruebas en tiempo de máxima estabilidad en la actividad metabólica del animal, las medidas se iniciaron transcurridas al menos 12 horas de la ingestión de alimento, en el periodo comprendido entre 12 y 20 horas postingesta.

3.2.6. Tratamiento estadístico.

Los datos obtenidos se trataron estadísticamente utilizando el paquete estadístico STATISTICAL GRAPHICS SYSTEM (STSC, 1986) mediante ordenador compatible tipo PC.

El estudio de los efectos principales, así como de las posibles interacciones entre los distintos parámetros estudiados, se realizó mediante análisis de la varianza múltiple siguiendo el modelo $y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij}$, o simple $y_i = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$, donde μ es la media general de las poblaciones de los tratamientos, α_i es el efecto del tratamiento i , β_j es el efecto del tratamiento j , $\alpha\beta_{ij}$

es la interacción de los efectos principales y ϵ_{ij} es el error experimental.

Las diferencias significativas entre grupos se obtuvieron mediante el test de Tukey.

Los valores del gasto energético y de consumo de O_2 se determinaron por regresión lineal y por regresión múltiple, según el modelo $y=a+bx$ e $y=a+bx+cz$, respectivamente. La ecuación exponencial del gasto energético y de consumo de O_2 se obtuvo por regresión exponencial, según el modelo $y=ae^{bx}$.

Se estudiaron mediante un análisis de la varianza múltiple:

-Los posibles efectos de la pendiente y la velocidad sobre la producción de calor (PC).

-Los posibles efectos de la pendiente y la velocidad sobre los costes energéticos de desplazamiento (CE_D).

Se estudió mediante un análisis de la varianza simple:

-El posible efecto de la pendiente con los animales en reposo sobre la producción de calor.

Se obtuvo mediante regresión lineal:

-La ecuación $PC=a+bDR$ para cada pendiente, donde DR es la distancia recorrida.

-La ecuación $O_2=a+bDr$ para cada pendiente, donde DR es la distancia recorrida.

-La ecuación $PC=a+bO_2$, donde O_2 es el consumo de O_2 .

-La ecuación $PC=a+bCO_2$, donde CO_2 es la producción de CO_2 .

Se obtuvieron mediante regresión exponencial:

-La ecuación $PC=ae^{bx}$, donde a son los julios por Kg y por metro de distancia recorrida y x es la pendiente (%).

-La ecuación $O_2=ae^{bx}$, donde a es el consumo de O_2 en ml por Kg y por metro de distancia recorrida y x la pendiente (%).

-La ecuación $CE_D=ae^{bx}$, donde a son los julios por Kg y por metro de distancia recorrida y x es la pendiente (%).

Se obtuvo mediante regresión múltiple:

-La ecuación general $PC=a+bDH+cDV$, para pendientes positivas y negativas, donde DH es la distancia reducida y DV la distancia vertical recorrida.

-La ecuación general $O_2=a+bDH+cDV$, para pendientes positivas y negativas, donde DH es la distancia reducida y DV la distancia vertical recorrida.

3.3. Estimación del gasto energético de la ingestión de alimento.

3.3.1. Animales y alimentación.

Se utilizaron cuatro cabras adultas de raza Granadina canuladas en el rumen según el procedimiento descrito por García (1992) en su Memoria de Tesis Doctoral, con los siguientes pesos 34,2 , 36,7 , 37,8 y 41,2 Kg. Durante el periodo de ensayo, se alojaron, individualmente en jaulas metabólicas y consumieron una dieta formada por dos ingredientes, uno fijo, consistente en heno de alfalfa, y otro variable, constituido por los distintos alimentos que fueron objeto de estudio, incorporados en cantidad igual a la que con posterioridad consumirían presumiblemente en la cámara de confinamiento. La ingesta total de EM se mantuvo constante en cada tratamiento y próxima a las necesidades

energéticas de mantenimiento de los animales.

Los alimentos estudiados fueron siete: cebada grano, haba grano, heno de alfalfa granulado, heno de alfalfa troceado, paja de veza, hojas de lechuga y ramón de olivo (en haces). Estos alimentos fueron elegidos en consideración a su presencia habitual en raciones para ganado caprino. La lechuga trataba de simular a la hierba fresca, no disponible en la época en que se llevó a cabo el ensayo. La composición de los alimentos aparece en la **tabla 2j**.

Los animales fueron adaptados al consumo del ingrediente objeto de estudio durante, al menos, los tres días previos a la determinación en cámara.

3.3.2. Diseño experimental.

Se llevaron a cabo dos de ensayo. El primero, con el propósito de comprobar si la introducción de alimento directamente en el rumen daba lugar, durante el periodo de medida, a un incremento de la producción de calor que, en su caso, sería imputable a la degradación ruminal y/o utilización metabólica del mismo y no a la actividad muscular relacionada con la prensión, masticación y deglución del alimento. Este estudio comprende, por tanto, un total de 32 determinaciones calorimétricas. Su diseño corresponde a un experimento por diferencia con cuatro animales por tratamiento y dos réplicas por animal. El tratamiento está definido por la naturaleza del alimento ensayado (cebada grano o heno de alfalfa) y consta de dos pruebas realizadas sin solución de continuidad, que

Tabla 2i.- Composición de los alimentos empleados.

	Alimento						
	Cebada grano	Haba grano	Heno de alfalfa granulado	Heno de alfalfa troceado	Paja de veza	Ramón de olivo	Hojas de lechuga
Materia seca (MS, g/Kg)	909	906	919	920	916	895	78,0
Composición química de la materia seca (g/Kg)							
Materia orgánica (MO)	963	961	893	913	877	932	754
Fibra neutro detergente (FND)	375	305	438	427	574	418	294
Fibra ácido detergente (FAD)	103	166	319	365	415	290	255
Lignina ácido detergente (LAD)	16,4	18,1	68,9	76,8	84,0	116	47,3
Digestibilidad "in vivo" de la MO (DMO)	0,888	0,834	0,531	0,571	0,592	0,604	0,851
Energía metabolizable (EM, kJ/g MS)*	13,3	12,5	7,39	8,12	8,09	8,77	9,99

*Calculada según $(MO \times DMO) \times 19 \times 0,82$ (ARC, 1980).

corresponden a las medidas de la producción de calor del animal no alimentado y alimentado vía cánula ruminal.

El segundo ensayo tuvo por objeto determinar el coste energético de la ingestión de los diferentes tipos de alimentos. Su diseño, similar al grupo anterior, corresponde a un experimento por diferencia con cuatro animales por tratamiento y dos réplicas. Cada tratamiento, caracterizado por la naturaleza del alimento, consta de dos pruebas, llevadas a cabo sin solución de continuidad, en las que se mide la producción de calor del animal privado de alimento y tras el inicio de la ingestión de éste, durante un periodo apropiado. Las materias primas estudiadas son las que aparecen citadas en el apartado 3.3.1. El número total de medidas calorimétricas correspondientes a este ensayo fue de 112.

3.3.3. Técnicas experimentales.

Se midieron las producciones de CH_4 y CO_2 , y el consumo de O_2 del animal, que permaneció de pie, tanto cuando estuvo privado de alimento como tras la incorporación de éste directamente en el rumen o durante su ingestión. En todos los casos estas medidas se prolongaron durante al menos 15 minutos, periodo que, como resultado de pruebas previas, se consideró suficiente para que el animal consumiera voluntariamente el alimento que se le ofrecía.

Calculada la producción de calor del animal a partir de las medidas anteriores, de acuerdo con Brouwer (1965), el incremento de producción de calor (MPC) imputable a la fermentación ruminal y/o utilización metabólica del alimento administrado

intrarruminalmente, expresado en julios por Kg de peso vivo (con fines comparativos con otras especies) y g de materia seca o fresca de alimento, se obtuvo según la expresión:

$$\text{PC} (\text{J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{g ss}^{-1} \text{ (o sf}^{-1}\text{)}) = \text{PC}_{\text{ar}} - \text{PC}_{\text{na}}$$

donde PC_{ar} es la producción de calor del animal determinada en el periodo inmediatamente posterior (15 minutos) a la administración del alimento a través de la cánula ruminal y PC_{na} es la determinada para el animal no alimentado.

Puesto que (ver capítulo de resultados) PC_{ar} y PC_{na} no fueron significativamente distintos y, por consiguiente, la contribución de los procesos de fermentación ruminal y/o utilización metabólica del alimento fue sensiblemente igual a cero, el PC atribuible a la ingestión de los distintos alimentos se ha calculado directamente por diferencia entre la producción de calor (durante periodos de tiempo de 15 minutos aproximadamente) del animal que ingiere alimento (PC_{a}) y no alimentado (PC_{na}):

$$\text{PC} (\text{J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{g ss}^{-1} \text{ (o sf}^{-1}\text{)}) = \text{PC}_{\text{a}} - \text{PC}_{\text{na}}$$

A lo largo de los 10 días previos al inicio del ensayo, los animales permanecieron periodos prolongados de tiempo en el interior de la cámara de confinamiento para facilitar su total adaptación a las instalaciones y al manejo, evitar estrés y alcanzar un comportamiento absolutamente normal. En esta fase preexperimental, se determinaron las cantidades de los distintos alimentos que los animales podían consumir durante el tiempo de permanencia en cámara (15 minutos) que se estimó apropiado para efectuar medidas precisas de los cambios en composición del aire de su interior, y por lo tanto, cálculos fiables de la producción

de calor del animal.

3.3.4. Desarrollo de los ensayos.

Los animales se alojaron en la cámara de confinamiento dentro de una jaula construida al efecto, dotada de un comedero en su parte frontal al cual accedía el animal a través de una trampilla accionada mecánicamente desde el exterior de la cámara. El alimento objeto de estudio se suministró siempre por la mañana durante los ensayos calorimétricos, lo que satisfacía parte de sus necesidades energéticas. A última hora de la tarde se les suministraba una cantidad suplementaria de heno de alfalfa para cubrir sus necesidades energéticas de mantenimiento. Las determinaciones calorimétricas se realizaron, por lo tanto, en periodos de gran estabilidad en la producción de calor del animal.

En el primer ensayo, una vez el animal en la cámara y cerrada ésta herméticamente, se procedía a realizar la lectura de datos de composición del aire interior y de las condiciones ambientales. Esta lectura se repetía 15 minutos después. Con estos datos se calculaba la producción de calor del animal sin ser alimentado; seguidamente, se abría la cámara introduciéndole el alimento a través de la cánula, en una cantidad igual a la que presumiblemente iba a ingerir en el segundo ensayo y se medía de nuevo el intercambio respiratorio, obteniéndose la producción de calor; en ambos casos no se iniciaban las medidas hasta transcurrido un periodo de, al menos, 5 minutos, con el objeto de que la actividad metabólica del animal estuviese perfectamente

estabilizada.

En el segundo ensayo se procedió de manera similar. Tras la medida de la producción de calor del animal sin ser alimentado, se le permitía acceder al alimento, para lo cual abierta la cámara, se colocaba el alimento en el comedero y una vez cerrada aquella, se tomaba la lectura inicial de los parámetros de composición del aire y condiciones ambientales en el momento de accionar la trampilla y facilitar el acceso del animal al alimento. Las lecturas se repetían 15 minutos después. Finalmente, se registraba el peso de la cantidad de alimento consumida (g).

3.3.5. Técnicas analíticas.

3.3.5.1. Materia seca (MS).

Determinada como la pérdida de peso que experimenta la muestra tras ser sometida a desecación durante un periodo adecuado de tiempo, a $103 \pm 1^{\circ}\text{C}$ en estufa de ventilación forzada.

3.3.5.2. Cenizas totales.

Se obtiene por calcinación de 1 a 2 g de la muestra en horno de mufla a 550°C durante 3 horas.

El contenido en materia orgánica (MO) se determina por diferencia

entre 100 y el contenido porcentual de cenizas totales, referido a materia seca.

3.3.5.3. Fracción fibrosa.

Se determina según el esquema analítico ideado por Van Soest (GOERING y VAN SOEST, 1970).

El material celular soluble se extrae por ebullición en una solución neutra de lauril sulfato sódico que contiene EDTA disódico.

Los componentes solubles, se separan de los insolubles. Este material, insoluble en detergente neutro y libre de cenizas (por calcinación a 550°C), constituye la fibra neutro detergente (FND).

Los materiales solubles en detergente neutro o contenidos celulares se obtienen por diferencia entre 100 y el contenido porcentual de FND de la muestra expresado en sustancia seca.

La fibra ácido detergente (FAD) es el residuo, formado principalmente por lignocelulosa, que se obtiene tras someter la muestra a ebullición con solución de detergente ácido (bromuro de cetiltrimetilamonio) en medio sulfúrico y calcinación a 550°C.

La hemicelulosa se obtiene por diferencia entre los contenidos porcentuales de fibra neutro y ácido detergente de la muestra expresado en materia seca.

La lignina ácido detergente (LAD) es el constituyente de la pared

celular, formado fundamentalmente aunque no exclusivamente por lignina. Esta se cuantifica como material residual al tratar la

fibra ácido detergente con sulfúrico al 72%. El residuo libre de cenizas constituye la fracción denominada lignina ácido detergente.

La celulosa se obtiene por diferencia entre los contenidos porcentuales de fibra ácido detergente y lignina ácido detergente de la muestra.

3.3.5.4. Determinación de la digestibilidad "in vitro".

Se ha seguido la técnica descrita por Tilley y Terry (1963), utilizando líquido ruminal procedente de ganado ovino de raza Segureña, provisto de cánula ruminal y alimentado a nivel de mantenimiento (Aguilera y col. 1986) con heno de alfalfa de buena calidad, suministrado en una sola vez por la mañana. Dos horas después se procede a la extracción, a través de la cánula, de una determinada cantidad del contenido ruminal con la ayuda de un tubo de PVC de 1,5 cm de diámetro, cuyo extremo distal se situa en el saco ventral del rumen y al que se le aplica una pequeña succión. El contenido ruminal se mantuvo en un vaso Dewar. Se filtra a través de cuatro capas de gasa. El filtrado obtenido se mezcla con una solución tampón (McDougall, 1984) en proporción 1:4, se satura seguidamente con CO₂ hasta que la solución fue incolora y se mantiene en estufa a 38°C.

El procedimiento experimental es el siguiente: 0,5 g de la muestra molida se colocan en un tubo de centrifuga de 100 ml de capacidad y se le incorporan 50 ml de la mezcla 1:4 del contenido ruminal filtrado y la solución tampón. Sobre el espacio libre del tubo de centrifuga se hace pasar una corriente de CO₂ y se

cierra con un tapón de caucho provisto de una válvula Bunsen (que se abre únicamente para dar salida a los gases producidos en la fermentación). Finalmente, la muestra se incuba a 38°C en la oscuridad durante 48 horas, agitándose cada 2-3 horas.

Transcurrido el periodo anterior la actividad microbiana se detiene por la adición de 1 ml de Cl_2Hg al 5%. Así mismo y para favorecer la sedimentación, se añaden 2 ml de una solución de CO_3Na_2 1N centrifugándose a continuación a 1800 g durante 15 minutos. Se elimina el sobrenadante y se agrega al residuo 50 ml de una solución de pepsina en medio clorhídrico (2 g de pepsina 1:10000 y 100 ml de ClH 1N llevados a un volumen de 1 litro con agua desmineralizada). Tras la adición de la solución de pepsina las muestras se mantienen en estufa a 38°C durante 48 horas, siendo agitadas cada 2-3 horas. Se lava el residuo repetidas veces con agua desmineralizada caliente sobre crisoles con placa filtrante de porosidad 2, se deseca en estufa de ventilación forzada a $103\pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas y se pesa a continuación. El residuo seco obtenido tras las dos fases de incubación se incinera en horno de mufla a 550°C durante 4-5 horas.

Se llevó a cabo una serie de análisis para determinar la composición nutritiva y la digestibilidad in vitro de la materia seca y materia orgánica de los alimentos empleados en los ensayos diseñados para estimar el coste energético de la ingestión. Se analizaron tres alícuotas de cada uno de los alimentos objeto del ensayo y adicionalmente se determinó la digestibilidad in vitro de dos muestras patrón cuya digestibilidad in vivo se había determinado en nuestro laboratorio: heno de alfalfa y paja de veza. En la serie de análisis in vitro se utilizaron 3 blancos.

La digestibilidad in vivo de los alimentos problema se estima de acuerdo con la ecuación:

$$\text{DMO in vivo}(\%) = 15,9 + 0,758 \text{ DMO in vitro}(\%)$$

(±0,69) (±0,027)

con n=29; r=0,983; RSD=3,50; P<0,001

obtenida en nuestro laboratorio con alimentos de digestibilidad "in vivo" e "in vitro" conocidas.

3.3.5.5. Cálculo de la energía metabolizable.

El contenido en energía metabolizable de los alimentos se calculó a partir de su composición química y la digestibilidad de la materia orgánica (DMO). Los valores de DMO, obtenidos "in vitro", se corrigieron previamente a valores in "vivo".

Las ecuaciones empleadas fueron:

$$\text{MOD} = (\text{DMO} \times \text{MO}) / 100$$

donde MOD es la materia orgánica digestible (g/Kg ss), DMO es la digestibilidad "in vivo" (%) y MO es la materia orgánica (g/Kg ss).

$$\text{ED} = (19 \times \text{MOD}) / 1000$$

donde ED es la energía digestible (Mj/Kg ss) y se asume que el contenido en energía bruta/g MOD es 19 kJ .

$$\text{EM} = \text{ED} \times 0,82$$

donde EM es la energía metabolizable (MJ/Kg ss).

3.3.6. Tratamiento estadístico.

Los datos obtenidos se trataron estadísticamente utilizando el paquete estadístico STATISTICAL GRAPHICS SYSTEM (STSC, 1986)

mediante ordenador compatible tipo PC.

El estudio de los efectos principales, así como de las posibles interacciones entre los distintos parámetros estudiados, se realizó mediante análisis de la varianza simple $y_i = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$, donde μ es la media general de las poblaciones de los tratamientos, α_i es el efecto del tratamiento i y ϵ_i es el error experimental.

El grado de significación estadística de las diferencias entre grupos se obtuvo mediante el test de Tukey.

Se estudiaron mediante análisis de la varianza simple:

-El posible efecto de la incorporación directa del alimento al rumen sobre la producción de calor del animal.

-El posible efecto de la naturaleza físico-química del alimento sobre el coste energético de su ingestión, expresado por gramo de sustancia fresca y seca.

-El posible efecto de la naturaleza físico-química del alimento sobre el coste energético de su ingestión, expresado por unidad de tiempo (por minuto).

-El posible efecto de la naturaleza físico-química del alimento sobre la velocidad de ingestión.

Se obtuvieron mediante regresión lineal:

-La ecuación $V = a + bFAD$, donde V es la velocidad de ingestión ($g\ ss \cdot min^{-1}$) y FAD la fibra ácido detergente ($g/100\ g\ ss$).

-La ecuación $V = a + bLAD$, donde V es la velocidad de ingestión ($g\ ss \cdot min^{-1}$) y LAD la lignina ácido detergente ($g/100\ g\ ss$).

Se obtuvieron mediante regresión exponencial:

-La ecuación $CE = ae^{bFAD}$, donde CE es el coste energético de la ingestión ($J \cdot g\ ss^{-1}$) y FAD la fibra ácido detergente ($g/100\ g$

ss).

-La ecuación $CE = ae^{bLAD}$, donde CE es el coste energético de la ingestión ($J \cdot g \text{ ss}^{-1}$) y LAD la lignina ácido detergente ($g/100 \text{ g ss}$).

-La ecuación $CE = ae^{bV}$, donde CE es el coste energético de la ingestión ($J \cdot g \text{ ss}^{-1}$) y V es la velocidad de ingestión ($g \text{ ss} \cdot \text{min}^{-1}$).

3.4. Estimación de la producción de calor total mediante dilución isotópica.

3.4.1. Animales y alimentación.

En estos ensayos se utilizó una única cabra de raza Granadina de 33 Kg de peso. Durante todo el periodo de tiempo que duraron los ensayos consumió heno de alfalfa troceado, a nivel de mantenimiento.

3.4.2. Diseño experimental.

El ensayo comprende tres tipos de experimentos: el primero trató de establecer en el animal el nivel basal de átomos de ^{13}C (AT^{13}C) y evidenciar si se producen diferencias de éste a lo largo de los distintos periodos del día durante el tiempo que duró el experimento (48 h), corresponde a un factorial 2 (día) x 4 (periodo, 6 horas); el segundo tuvo el propósito de establecer la cinética de enriquecimiento en ^{13}C , así como el tiempo mínimo necesario para alcanzar el equilibrio de AT^{13}C en el animal al que se le infunde de modo continuo una solución que contiene bicarbonato marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$), analizándose 15 periodos sucesivos que totalizaron 72 horas; y el tercero consistió en estudiar en qué medida los cambios en la actividad metabólica del animal, provocados por un ejercicio intermitente (locomoción), se refleja en variaciones en los niveles de AT^{13}C y qué desviaciones en el cálculo de la producción de calor del animal, expresada en kJ/día implican. Comprende tres pruebas cada

una de ocho horas de duración, divididas en periodos de una hora.

3.4.3. Técnicas experimentales.

3.4.3.1. Técnica CERT

Se ha utilizado la técnica de dilución isotópica de Young y col. (1969), modificada por Elia y col. (1988) para adecuarla al uso de ^{13}C .

3.4.3.2. Implantación de catéteres.

Cinco días antes del inicio del ensayo se procedió a implantar dos catéteres al animal, uno de ellos en el conducto de la glándula parótida (*Ductus parotideus*) y otro en la vena yugular, con una técnica estéril, medidas de asepsia y bajo anestesia general. Para ello se empleó Rompún (lab. Bayer, 1 ml) y Ketolar 10 mg (Lab. Parke-Davis, 5 ml), administrados intramuscularmente. Al animal se le privó de alimento y agua 24 horas antes de la intervención quirúrgica. Para instalar el catéter en el conducto de la glándula parótida, se procedió de la siguiente manera:

Con el animal en decúbito lateral, se localizó en el interior de la boca el orificio de salida del conducto, situado a la altura del primer molar. A través de dicho orificio, se introdujo una guía flexible de plástico, con el fin de localizar externamente el conducto por palpación a nivel de la mejilla. Una vez efectuada esta operación, se realizó una pequeña incisión de unos 3 cm en la mejilla en sentido transversal al conducto, se

aisló éste y se practicó un pequeño corte en él, introduciéndose a su través un catéter CT (Catheters and Tubes A/S, Nakskov, Denmark), en cuyo extremo distal se le había realizado un corte en bisel, unos 5 cm en sentido hacia la glándula. Se ligó con seda el extremo distal del catéter al conducto, a unos 3 mm de la zona donde se practicó el corte y el extremo proximal se exteriorizó, por vía subcutánea, en la zona dorsal del cuello, fijándole a la piel con unos puntos de sutura. El catéter permaneció siempre abierto, de tal manera que la saliva fluía libremente.

La cateterización de la vena yugular se realizó de acuerdo con la siguiente técnica quirúrgica:

Se situó al animal en decúbito lateral izquierdo, localizándose por palpación la vena yugular a nivel del cuello. Se realizó una pequeña incisión de unos 3 cm, se disecó la vena y se aisló en una longitud aproximada de 1 cm.. La longitud del catéter (Cavafix Certo, B. BRAUN MELSUNGEN AG; Melsungen, Germany, con un diámetro de 1,4 x 2,1 mm) que debe ser introducido se calculó por estimación de la distancia entre el corazón y el lugar de inserción de éste, con el fin de conseguir que el extremo distal del catéter quedase ubicado en el ventrículo derecho o lo más próximo a él. Dos hilos de sutura de seda (4/0) se pasaban por debajo de ella, proximal y distal al lugar de inserción del catéter. Después de ligar la seda distal, se procedió a hacer un pequeño corte en el vaso sanguíneo de 1,5-2 mm, usando tijeras de microdissección. Se introdujo el catéter y se fijó el vaso mediante una ligadura con la seda proximal. Además, se hizo una segunda ligadura sobre el catéter con la seda distal. Posteriormente se suturó la piel, ligándose

nuevamente el catéter en su salida. Una vez exteriorizado éste se llenó con heparina (Lab. Leo 1%, 1000 UI/ml) y se cerró con un tapón de cierre Lock (PALEX, S.A., Barcelona). Postcirugía, los catéteres eran destapados, lavados con suero salino al 0,9% y llenados nuevamente con heparina, repitiéndose este lavado cada dos o tres días. Tanto el día de la intervención como el posterior, se administró al animal un antibiótico vía intramuscular (30 mg/Kg de peso vivo de Dalacín fosfato, Lab. Upjohn).

3.4.3.3. Determinación de la producción de calor.

Se determinó la producción de calor mientras el animal permanecía de pie inmóvil, o mientras caminaba sobre el ergómetro en el interior de la cámara de tipo circuito abierto, según se describe en el apartado 3.1.6.2..

La producción de calor fue determinada a partir de la producción de CH_4 y CO_2 , y el consumo de O_2 de acuerdo con principios físicos y la ecuación de Brouwer (1965). No se tuvo en cuenta la excreción nitrogenada de la orina.

3.4.4. Desarrollo de los ensayos.

Al tratarse de uno de los animales utilizados en los ensayos de locomoción, no necesitó de periodo de adaptación a las condiciones de la cámara.

En el primer experimento el animal se alojó en una jaula metabólica, en un laboratorio con condiciones ambientales controladas y fue alimentado diariamente por la mañana,

disponiendo de agua a voluntad. La saliva se recogía de forma continua durante 48 horas, en periodos de 6 horas, en un recipiente adecuado, sin aplicar succión alguna. Se tomaron muestras alícuotas de cada periodo de recogida, para su posterior análisis, conservándose a -20°C .

En el segundo experimento el animal se alojó en el interior de la cámara de respirometría de circuito abierto, en la misma jaula utilizada en los ensayos de ingesta, suministrándosele el alimento a las 13 horas y con agua a su disposición durante todo el tiempo. La saliva se recogió a las 4, 6, 8, 10 y 12 horas, y a partir de este momento, cada 6, hasta las 72 horas. El número total de muestreos fue de 15. Las muestras alícuotas fueron tratadas de igual manera que en el experimento anterior. Se realizó una infusión continua a través del catéter yugular de una solución esterilizada en autoclave de un marcador isotópico, constituida por agua químicamente pura libre de CO_2 por sonicación, ClNa al 0,9%, $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ (EURISO-TOP, Centre d'Etudes de Saclay, GIF-SUR-YVETTE FRANCE; 99% de enriquecimiento isotópico) y heparina (1000 UI/ml) en una relación de volumen solución:heparina 9:1; siendo la concentración final de ^{13}C de $5,8235 \mu\text{M/ml}$. Previamente de añadir el $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$, el pH de la solución fue ajustado a 8,15 con una solución 2M de NaOH. La infusión se realizaba desde el exterior de la cámara, por medio de una pequeña bomba (SIROPUMPS, Everest Electronics; Seaford, Australia), a un caudal constante de 5,94 ml/h, a través de un tubo de Tygon (MASTERFLEX, Cole-Palmer Instrument Company; Chicago, Illinois) de 0,8 mm de diámetro interno, con un grosor de pared de 0,8 mm, que previamente era desinfectado con una solución de iodo (Betadine, Lab. Rovi). Simultáneamente, en los

periodos de muestreo se realizaron registros de la composición del aire de la cámara en CH_4 , CO_2 y O_2 , para obtener la producción de calor del animal.

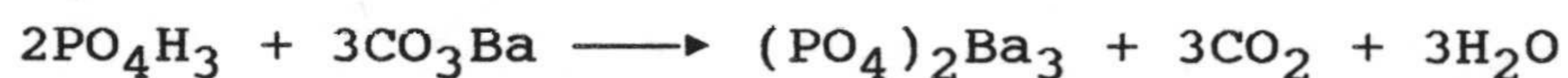
En el tercer experimento, el animal era infundido desde al menos 18 horas antes del inicio de la fase propiamente experimental, y luego se alojó en el interior de la cámara sobre el ergómetro. Dos horas después de efectuada esta operación, se inició el experimento que tuvo una duración de 8 horas, dividido en periodos de 1 hora. Se alternaron periodos de no actividad y actividad del animal. Se recogió saliva durante cada uno de los periodos (con igual tratamiento que en los experimentos anteriores), realizándose paralelamente registros de la composición de aire de la cámara durante éstos. En los periodos 1,5,6,7 y 8 el animal permaneció de pie y en reposo; en los 2,3 y 4 caminando a una determinada velocidad (0,6 ó 1,8 Km/h). Se realizó una prueba previa en la que después de someter a un ejercicio moderado (0,6 Km/h) al animal durante dos horas, se realizaron muestreos de saliva y registros de la composición de aire de la cámara en las tres horas siguientes. En resumen, la experiencia se realizó completa con la velocidad 0,6 Km/h (8 periodos) y 1,8 Km/h (8 periodos), y sólo los periodos 6,7 y 8 con la velocidad 0,6 Km/h. La infusión se práctico de modo continuo durante el transcurso del experimento, con un caudal medio igual al del experimento anterior, es decir, 5,94 ml/hora.

3.4.5. Técnicas analíticas.

La saliva fue recogida en un recipiente de vidrio de capacidad suficiente, éste presentaba un tapón con dos orificios,

uno conectado al tubo colector de la saliva y otro conectado a una trampa de cal sodada para evitar el contacto de la saliva que entra en el recipiente con CO₂ del aire atmosférico. Al final de cada periodo de muestreo una alícuota de 10 ml, era transferida inmediatamente a un frasco de vidrio hermético, dotado de tapón de goma y almacenada en congelador a -20°C hasta el momento de ser analizada. Llegado éste, se introducía en el frasco un pequeño vial con 1 ml de una solución de NaOH 2M y a través del tapón se inyectaba sobre la saliva, con ayuda de una jeringa, 2 ml de una solución constituida por una mezcla de SO₄H₂ 0,5M y SO₄Cu 1% P/V (como antibacteriano) . Se dejaba 24 horas a temperatura ambiente, con lo que el CO₂ liberado de los carbonatos por el ácido era atrapado por la base del vial. El contenido de éste, previo lavado con 2 ml de ClNH₄ 5% P/V, era trasvasado a un tubo de ensayo, donde el CO₂ era precipitado como CO₃Ba, mediante la adición de 1 ml de Cl₂Ba 1M.

Para la determinación isotópica del carbonato formado se utilizó el método de McCrea (1950), consistente en el ataque ácido del carbonato en un portamuestras con ácido fosfórico ultrapuro (100%) durante 12 horas, en un baño termostático a 25±0,1°C, según la siguiente reacción:



El portamuestras se conectó a un sistema de vacío para análisis de carbonatos y tras desgasificar se purificó el CO₂ en cámaras de condensación apropiadas, primero mediante nitrógeno líquido (-195,8°C) y luego con una mezcla de alcohol y nitrógeno líquido (-80°C). Esta temperatura permite la volatilización del

CO₂ pero retiene el vapor de agua y otros posibles gases existentes (Laboratorio de Geoquímica de Isótopos Estables, 1985; Reyes y col., 1989).

El CO₂ así obtenido y purificado fue analizado con un espectrómetro de masas FINNIGAN MAT 251, con doble sistema de admisión para muestra y patrón (Finnigan MAT, Bremen, Alemania), cuya precisión es superior a 0,005%. Se realizó una corrección para la abundancia en ¹⁷O (Craig, 1957).

La composición isotópica del carbono se expresó en unidades delta ($\delta^{13}\text{C}$) frente al patrón PDB ("Pee Dee Bicarbonate", National Institute of Standards and Technology), siendo:

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{R_m - R_p}{R_m} \times 1000$$

donde, R_m y R_p son las razones isotópicas ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) de la muestra y del patrón PDB, respectivamente. El valor adoptado para R_p es de 0,112372 (Craig, 1957).

El patrón PDB ya no está disponible pero otros patrones primarios fueron calibrados frente a él, lo que permite seguir expresando los resultados en relación con el PDB.

Todos los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fueron convertidos a abundancias fraccionales (F), de acuerdo con la ecuación:

$$F = \frac{^{13}\text{C}}{^{13}\text{C} + ^{12}\text{C}} = \frac{R_m}{R_m + 1}$$

El enriquecimiento isotópico en ¹³C de la muestra se calculó como porcentaje de átomos de ¹³C (AT¹³C_m), según la expresión:

$$AT^{13}C(\%) = \frac{R_m}{R_m+1} \times 100$$

A partir de este valor y del enriquecimiento isotópico natural en ^{13}C , siendo éste el nivel basal de ^{13}C previo a la administración del marcador ($AT^{13}C_b$), se obtuvo el porcentaje en exceso de átomos de ^{13}C (APE):

$$APE(\%) = AT^{13}C_m(\%) - AT^{13}C_b(\%)$$

La producción de CO_2 estimada por el método CERT de dilución isotópica se calculó mediante la siguiente ecuación:

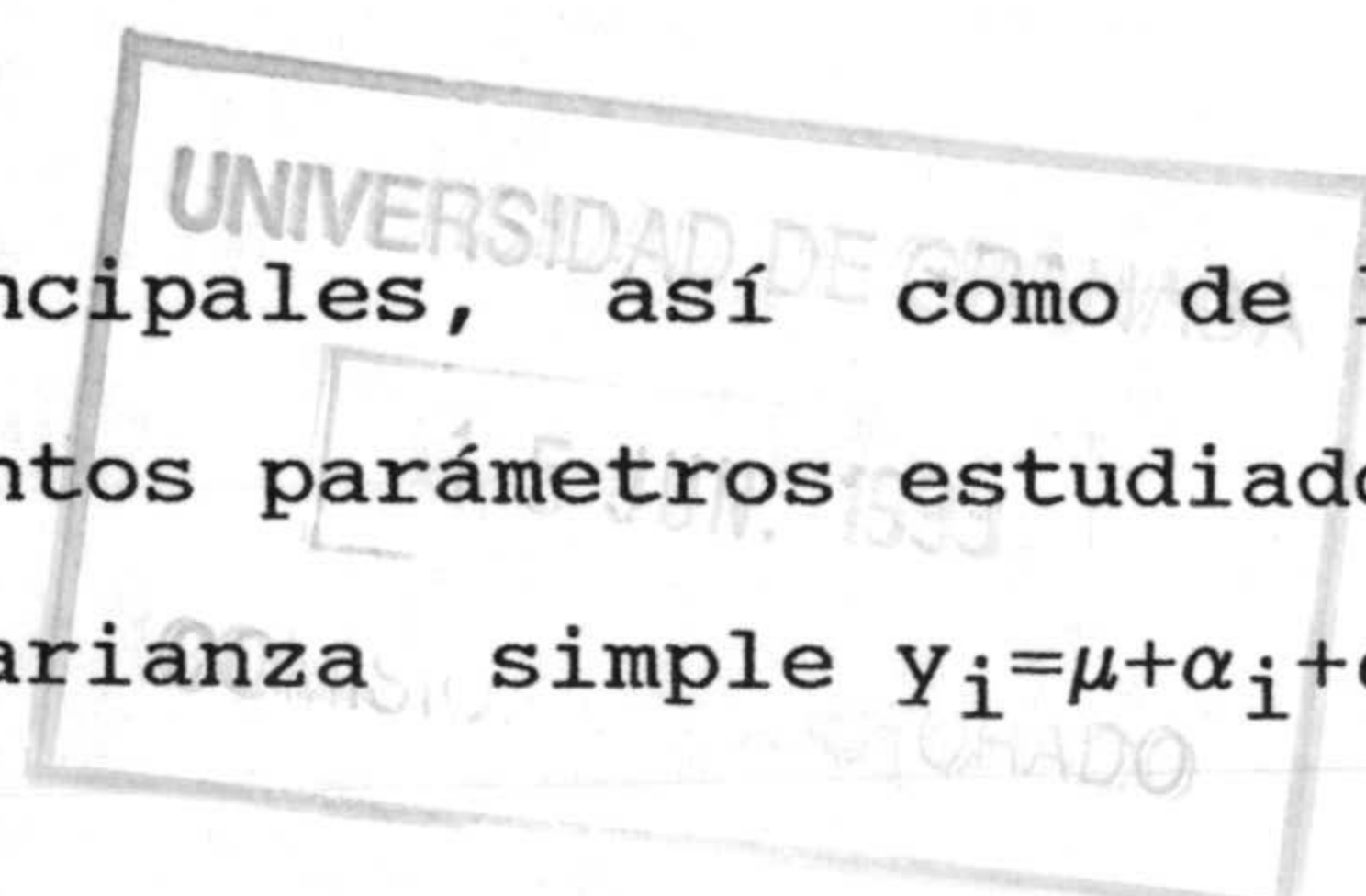
$$CERT(CO_2 l/h) = \left[\frac{Dx(100-1,1)}{APE} \right] \times \frac{22,4}{10^6}$$

donde D es la dosis infundida de $^{13}CO_3HNa$ ($\mu M^{13}C/h$), APE es el enriquecimiento isotópico en ^{13}C sobre el nivel basal en situación de equilibrio isotópico. El factor 1,1 es el nivel basal natural de ^{13}C y el factor 22,4, es el volumen molar de CO_2 .

3.4.6. Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos se trataron utilizando el paquete estadístico STATISCAL GRAPHICS SYSTEM (STSC, 1986), mediante ordenador compatible tipo PC.

El estudio de los efectos principales, así como de las posibles interacciones entre los distintos parámetros estudiados, se realizó mediante análisis de la varianza simple $y_i = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$,



donde μ es la media general de las poblaciones de los tratamientos, α_i es el efecto del tratamiento i y ϵ_i es el error experimental.

Las diferencias significativas entre grupos se obtuvieron mediante el test de Tukey.

Se estudiaron mediante análisis de la varianza simple:

-El posible efecto del día y del periodo de muestreo sobre los niveles basales en $AT^{13}C$ en el animal.

-El posible efecto del tiempo transcurrido desde que se inició la infusión sobre los APE en el animal.

-El posible efecto del método de detección de CO_2 sobre los niveles de CO_2 producidos por el animal, tanto en el experimento 2 como en el 3.

-El posible efecto de la velocidad empleada sobre los APE en el animal.

La ecuación de la cinética de enriquecimiento en ^{13}C se obtuvo por regresión no lineal, según el modelo $y=a+b(1-e^{-ct})$. Las ecuaciones de predicción de la PC y el CO_2 en función del CO_2 estimado por el CERT fueron obtenidas por regresión lineal, según el modelo $y=a+bx$.

4. RESULTADOS

4.1. Coste energético de la locomoción.

Ensayo 1°:

Los datos medios de producción de calor (PC) con los animales sobre las distintas pendientes de pie y sin desplazamiento quedan reflejados en la tabla 11. Los resultados obtenidos demuestran que no hay ningún efecto de la pendiente con los animales de pie en reposo sobre la producción de calor (J/Kg PV/h) (tabla 21). El valor medio del coeficiente respiratorio (CR) fue $0,89 \pm 0,02$. Los valores medios de producción de calor (PC) para las pendientes 10, 5, 0, -5 y -10% fueron 6343 ± 196 , 6367 ± 289 , 6431 ± 225 , 6047 ± 221 y 6471 ± 374 , respectivamente, siendo el valor medio 6339 ± 113 . Estos resultados indicaron la no necesidad de aplicar corrección alguna a la producción de calor obtenida en el ensayo Ensayo 2°, debida a la contribución que a la PC realizaría el supuesto esfuerzo que han de realizar los animales para mantener la postura sobre las distintas pendientes estudiadas.

Ensayo 2°:

Las tablas 31 y 41 muestran los datos medios de PC (J/Kg PV/h) del caprino desplazándose sobre las distintas pendientes y a las distintas velocidades objeto de estudio, respectivamente.

Los valores medios de CR oscilaron entre $0,85 \pm 0,01$ y $0,93 \pm 0,01$, siendo el valor medio total $0,87 \pm 0,01$. Los valores

Tabla 11.- Datos medios de producción de calor del caprino sobre las distintas pendientes (%) de pie y sin desplazamiento.

	Pendiente				
	10	5	0	-5	-10
PC (J/Kg PV/h)	6471±374	6047±221	6431±225	6367±289	6343±196
n	9	9	12	10	12

Tabla 21.- Producción de calor (J/Kg PV/h) del caprino con los animales sobre las distintas pendientes (%) de pie y sin desplazamiento. Análisis de la varianza.

	Pendiente				
	10	5	0	-5	-10
PC	6471	6047	6431	6367	6343
n	9	9	12	10	12
Significación*	a	a	a	a	a

*a: P<0,05

Tabla 3l.-Datos medios de producción de calor del caprino sobre las distintas pendientes (%) con desplazamiento.

	Pendiente				
	10	5	0	-5	-10
Peso vivo medio (Kg)	35,4±0,7	34,9±0,7	35,0±0,7	35,4±0,7	34,3±0,7
PC (J/Kg PV/h)	14732±579	12552±444	10914±333	9680±278	9354±270
n	51	53	54	51	53

Tabla 4l.- Datos medios de producción de calor del caprino con las distintas velocidades (Km/h).

	Velocidad		
	0,6	1,2	1,8
Peso vivo medio (Kg)	35,4±0,6	35,1±0,5	34,5±0,5
PC (J/Kg PV/h)	8988±182	11531±308	13835±392
n	89	86	87

medios de PC para 10, 5, 0, -5 y -10% de pendiente fueron 14732±579, 12552±444, 10914±333, 9680±278 y 9354±270, respectivamente; y para 0,6, 1,2 y 1,8 Km/h de velocidad 8988±182, 11531±308 y 13835±392, respectivamente. La PC media de los animales de pie en reposo sobre el plano horizontal fue 6960±177. Se observó un efecto tanto de la pendiente como de la velocidad sobre la PC (tabla 51). La mayor PC correspondió a 10% de pendiente (14732), que fue significativamente superior a todas las demás ($P < 0,05$); seguidamente la pendiente del 5% (12552), que fue significativamente distinta al resto ($P < 0,05$); luego, el 0% de pendiente (10914) ($P < 0,05$), también diferente significativamente al resto; y por último, el -5 y -10% (9680 y 9354, respectivamente) que no diferían entre sí. Con respecto a la velocidad, la PC difirió significativamente con cada una de las tres velocidades ($P < 0,05$), correspondiendo la mayor a 1,8 Km/h (13835), seguida de 1,2 Km/h (11531) y 0,6 Km/h (8988). La interacción pendiente por velocidad resultó significativa.

Las tablas 61 y 71 muestran los valores medios de los costes energéticos (J/KG PV/m) de la locomoción del caprino sobre las pendientes y con las velocidades objeto de estudio, respectivamente. El coste para 10, 5, 0, -5 y -10% de pendiente fue 6,19±0,19, 4,38±0,17, 3,12±0,17, 2,21±0,18 y 2,09±0,24, respectivamente; y para 0,6, 1,2 y 1,8 Km/h de velocidad 3,62±0,23, 3,49±0,24 y 3,67±0,20, respectivamente. La pendiente tuvo un efecto significativo ($P < 0,05$) sobre los costes energéticos de desplazamiento ((J/Kg PV/m), CE_D), pero no la velocidad (tabla 81). El mayor coste energético correspondió a 10% de pendiente (6,19), que fue significativamente superior a todos los demás ($P < 0,05$); seguido del 5% de pendiente (4,38), que

**Tabla 5l.- Producción de calor (J/Kg PV/h) del caprino en desplazamiento.
Análisis de la varianza: Factorial: 5 (pendiente) x 3 (velocidad) (1).**

	Pendiente					Velocidad		
	10	5	0	-5	-10	0,6	1,2	1,8
PC	14732	12552	10914	9680	9354	8988	11531	13835
n	51	53	54	51	53	89	86	87
Significación*	a	b	c	d	d	a	b	c

(1) Interacción: $P < 0,05$

*a,b,c,d: $P < 0,05$

Tabla 6l.- Datos medios del coste energético (J/Kg/m) de la locomoción sobre las distintas pendientes (%) del ganado caprino.

	Pendiente				
	10	5	0	-5	-10
Coste energético	6,19±0,19	4,38±0,17	3,12±0,17	2,21±0,18	2,09±0,24
n	50	52	52	49	51

Tabla 71.- Coste energético de la locomoción del caprino con las distintas velocidades (Km/h).

	Velocidad		
	0,6	1,2	1,8
Coste energético (J/Kg PV/m)	3,62±0,23	3,49±0,24	3,67±0,20
n	86	78	90

**Tabla 8l.- Coste energético (J/Kg PV/m) de la locomoción del caprino.
Análisis de varianza: Factorial 5 (pendiente) x 3 (velocidad) (1).**

	Pendiente					Velocidad		
	10	5	0	-5	-10	0,6	1,2	1,8
Coste energético	6,19	4,38	3,12	2,21	2,09	3,62	3,49	3,67
n	50	52	52	49	51	86	78	90
Significación*	a	b	c	d	d	a	a	a

(1) Interacción: NS
*a,b,c,d: P<0,05

fue significativamente distinto al resto ($P < 0,05$); luego, el 0% de pendiente (3,12) ($P < 0,05$), también diferente significativamente al resto; y por último, el -5 y -10% (2,21 y 2,09, respectivamente) que no diferían entre sí. Con respecto a la velocidad, el coste no difirió significativamente con la velocidad, siendo $3,62 \pm 0,23$, $3,49 \pm 0,24$ y $3,67 \pm 0,20$ para 1,8, 1,2 y 0,6 Km/h, respectivamente. La interacción pendiente por velocidad resultó no significativa.

La tabla 91 muestra los valores medios de coste energético de la locomoción (J/kg PV/m) obtenidos según el método de regresión (valores de la pendiente de las ecuaciones 11, 21, 31, 41 y 51) o el de diferencia. El método de obtención, no tiene ningún efecto sobre el coste energético (tabla 101).

Al relacionar la PC (J/Kg/hora) con la distancia recorrida (D_r , m) para cada una de las pendientes, 0, 5, 10, -5 y -10%, se obtuvieron, respectivamente, las siguientes regresiones lineales:

$$(11)PC = 6883,71 + 3,35D_r; r=0,85; RSD=1478,45; n=106; CV=16,47\% \\ (\pm 192,09) \quad (\pm 0,20)$$

$$(21)PC = 6831,27 + 4,70D_r; r=0,90; RSD=1635,26; n=105; CV=16,72\% \\ (\pm 212,94) \quad (\pm 0,22)$$

$$(31)PC = 6823,77 + 6,48D_r; r=0,94; RSD=1702,20; n=103; CV=15,75\% \\ (\pm 221,44) \quad (\pm 0,24)$$

$$(41)PC = 6920,64 + 2,30D_r; r=0,75; RSD=1419,01; n=103; CV=17,08\% \\ (\pm 184,41) \quad (\pm 0,20)$$

$$(51)PC = 6968,88 + 1,92D_r; r=0,68; RSD=1511,23; n=105; CV=18,50\% \\ (\pm 195,78) \quad (\pm 0,21)$$

A partir de estas ecuaciones de regresión, utilizando los valores de la pendiente del ergómetro (%) como variable independiente y de las pendientes de las ecuaciones como variable

Tabla 9l.- Datos medios de coste energético de la locomoción del caprino sobre las distintas pendientes (%). Método de regresión y de la diferencia.

Coste energético (J/Kg PV/h)	Pendiente				
	10	5	0	-5	-10
Método					
Regresión	6,19±0,19	4,38±0,17	3,12±0,17	2,21±0,18	2,09±0,24
Diferencia	6,48±0,24	4,70±0,22	3,35±0,20	2,30±0,20	1,92±0,21

Tabla 10l.- Coste energético (J/Kg PV/m) del desplazamiento del caprino con los dos métodos distintos de obtención. Análisis de varianza.

	Método	
	Regresión	Diferencia
Coste energético	3,75	3,60
n	5	5
Significación*	a	a

*a: P<0,05

dependiente, se obtuvo la siguiente regresión exponencial:

$$(6_L) \quad PC = 3,39 e^{0,063P}; \quad r=0,995; \quad RSD=0,057; \quad n=5; \quad CV=1,52\%$$

$(\pm 1,03) (\pm 0,004)$

donde PC es la producción de calor (J/Kg/m) y P el valor de la pendiente (%).

A partir de los valores medios de los costes energéticos de la locomoción para cada una de las pendientes (tabla 61), utilizando los valores de la pendiente (%) como variable independiente y los de los costes propiamente dichos como variable dependiente, se obtuvo la siguiente regresión exponencial:

$$(7_L) \quad CE_D = 3,30 e^{0,057P}; \quad r=0,98; \quad RSD=0,104; \quad n=5; \quad CV=2,89\%$$

$(\pm 1,05) (\pm 0,007)$

donde CE_D es el coste energético de la locomoción (J/Kg/m) y P el valor de la pendiente (%).

Al relacionar la PC (J/Kg/hora) con el componente horizontal (D_h , m) y el vertical (D_v , m) del desplazamiento, se obtuvieron las siguientes ecuaciones, para pendientes positivas y negativas, respectivamente:

$$(8_L) \quad PC = 6684,68 + 3,41D_h + 31,10D_v; \quad r=0,90; \quad RSD=1744,12; \quad n=210; \quad CV=15,47\%$$

$(\pm 203,74) (\pm 0,22) (\pm 2,57)$

$$(9_L) \quad PC = 6873,12 + 3,25D_h - 13,63D_v; \quad r=0,76; \quad RSD=1565,07; \quad n=210; \quad CV=16,94\%$$

$(\pm 181,90) (\pm 0,20) (\pm 2,29)$

El coste energético en el componente vertical del desplazamiento (CE_{Dv}) para pendientes positivas fue $28,43 \pm 1,85$

J/Kg/m (n=102) y para las negativas $-12,30 \pm 2,37$ J/Kg/m (n=100).

Al relacionar el consumo de O_2 (ml/Kg/hora) con la distancia recorrida (D_r , m) para cada una de las pendientes, se obtuvieron las siguientes regresiones lineales:

$$(10_L) \quad O_2 = 333,90 + 0,17D_r; \quad r=0,84; \quad RSD=77,32; \quad n=106; \quad CV=17,62\% \\ (\pm 10,05) \quad (\pm 0,01)$$

$$(11_L) \quad O_2 = 331,73 + 0,24D_r; \quad r=0,89; \quad RSD=87,13; \quad n=105; \quad CV=18,17\% \\ (\pm 11,35) \quad (\pm 0,01)$$

$$(12_L) \quad O_2 = 331,09 + 0,32D_r; \quad r=0,93; \quad RSD=91,41; \quad n=103; \quad CV=17,25\% \\ (\pm 11,89) \quad (\pm 0,01)$$

$$(13_L) \quad O_2 = 335,64 + 0,12D_r; \quad r=0,75; \quad RSD=73,83; \quad n=103; \quad CV=18,15\% \\ (\pm 9,594) \quad (\pm 0,01)$$

$$(14_L) \quad O_2 = 338,58 + 0,09D_r; \quad r=0,64; \quad RSD=77,86; \quad n=105; \quad CV=19,70\% \\ (\pm 10,09) \quad (\pm 0,01)$$

A partir de estas ecuaciones de regresión, utilizando los valores de la pendiente del ergómetro (%) como variable independiente y de las pendientes de las ecuaciones como variable dependiente, se obtuvo la siguiente regresión exponencial:

$$(15_L) \quad O_2 = 0,17 e^{0,065P}; \quad r=0,999; \quad RSD=0,025; \quad N=5; \quad CV=13,30\% \\ (\pm 1,01) \quad (\pm 0,002)$$

donde O_2 es el consumo de O_2 (ml/Kg/hora) y P el valor de la pendiente (%).

Al relacionar el consumo de O_2 (ml/Kg/hora) con el componente horizontal (D_h , m) y el vertical (D_v , m) del desplazamiento, se obtuvieron las siguientes ecuaciones, para pendientes positivas y negativas, respectivamente:

$$(16_L) O_2 = 322,64 + 0,17Dh + 1,55Dv; r=0,89; RSD=92,94; n=210; CV=16,80\%$$

$(\pm 10,86) \quad (\pm 0,01) \quad (\pm 0,14)$

$$(17_L) O_2 = 331,85 + 0,17Dh - 0,74Dv; r=0,76; RSD=80,68; n=210; CV=17,90\%$$

$(\pm 9,377) \quad (\pm 0,01) \quad (\pm 0,12)$

Al relacionar la PC (J/Kg/hora) con el consumo de O₂ (ml/Kg/hora) se obtuvo la siguiente ecuación de regresión:

$$(18_L) PC = 424,71 + 19,62 O_2; r=0,998; RSD=234,16; n=314; CV=2,19\%$$

$(\pm 39,93) \quad (\pm 0,07)$

Al relacionar la PC (J/Kg/hora) con la producción de CO₂ (ml/Kg/hora) se obtuvo la siguiente ecuación de regresión:

$$(19_L) PC = -810,37 + 25,73 CO_2; r=0,958; RSD=1038,37; n=314; CV=9,71\%$$

$(\pm 203,64) \quad (\pm 0,44)$

4.2. Coste energético de la ingestión de alimento.

Primer ensayo:

Los datos medios de producción de calor (PC) de los animales, ya sea privados de alimento en el periodo de medida o bien tras la incorporación directa al rumen de cebada grano o heno de alfalfa, quedan reflejados en la tabla 4i. Dichos valores medios (n=8) fueron ($J \cdot Kg^{-1} \cdot h^{-1}$) 8260 ± 443 y 8052 ± 431 en el tratamiento correspondiente a la cebada grano y 8842 ± 795 y 8503 ± 516 , en el relativo al heno de alfalfa, respectivamente. Los valores medios (n=16) del cociente respiratorio (CR) fueron $0,96 \pm 0,01$ y $0,82 \pm 0,01$ en uno y otro tratamiento. Los resultados obtenidos indican la ausencia de efecto de la incorporación de alimento al rumen sobre la producción de calor del animal cualquiera que sea la naturaleza del recurso nutritivo empleado. Ello nos permite asumir que en el breve periodo en que se determinó la producción de calor tras la adición de alimento al rumen, su degradación es despreciable y no es necesario, en consecuencia, aplicar ninguna corrección debida al calor de fermentación o metabolización del alimento, al calcular, en el siguiente ensayo, el incremento térmico relacionado con el trabajo muscular de la ingestión.

Segundo ensayo:

En la tabla 5i se presentan los datos medios de PC de ganado caprino privado de alimento durante el tiempo de medida de su actividad metabólica o determinada tras el inicio de la ingestión

Tabla 4i.- Producción de calor de ganado caprino no alimentado (PCna) o alimentado vía ruminal (PCar). Datos medios (n=8) y análisis de varianza*.

	Alimentos	
	Cebada grano	Heno de alfalfa
Peso vivo (Kg)	37,9±0,7	37,9±0,6
Ingestión de alimento (g sf)	400	400
PCna (J·Kg⁻¹·h⁻¹)	8260±443 ^a	8842±795 ^a
PCar (J·Kg⁻¹·h⁻¹)	8052±431 ^a	8503±516 ^a

*Dentro de una misma columna los valores con distinto índice difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 5i.- (Continuación).

	Alimento						
	Cebada grano	Haba grano	Heno de alfalfa granulado	Heno de alfalfa troceado	Paja de veza	Ramón de olivo	Hojas de lechuga
PCna** (J·Kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	7008±237	8514±376	7797±414	7693±718	6740±209	7941±314	7483±471
PCa** (J·Kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	9069±198	10806±498	11147±447	10983±557	10006±289	12098±497	11098±363
Incremento PC (J·Kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	2061±277	2292±265	3350±360	3290±423	3267±253	4157±299	3615±355
%	29,4	26,9	43,0	42,8	48,5	52,3	48,3
Coste energético de la ingestión							
J·g sf ⁻¹	49,4±6,7 ^a	56,7±6,5 ^a	78,2±6,6 ^a	167,3±20,1 ^{ab}	288,2±17,1 ^{bc}	370,4±58,3 ^c	60,5±7,4 ^a
J·Kg ⁻¹ ·g sf ⁻¹	1,32	1,50	2,06	4,37	7,51	10,55	1,67
J·g ss ⁻¹	54,4±7,4 ^a	62,6±7,2 ^a	85,2±7,2 ^a	181,8±21,8 ^{ab}	314,8±18,7 ^{bc}	413,6±65,1 ^c	775,4±94,5 ^d
J·Kg ⁻¹ ·g ss ⁻¹	1,45	1,65	2,24	4,75	8,20	11,78	21,36
J·min ⁻¹	5363	2407	4822	2620	2377	2955	5126
J·Kg ⁻¹ ·min ⁻¹	143,0	63,5	126,9	68,4	61,9	84,2	141,2
J·g MOD ⁻¹	63,6±8,7	78,0±9,0	179,6±15,2	348,8±41,9	606,2±36,1	735,2±115,6	1208,8±147,4
% EM***	0,4	0,5	1,2	2,2	3,9	4,7	7,8

*Dentro de una misma fila los valores con distinto índice difieren significativamente (P<0,05).

**PCna: Producción de calor del animal no alimentado; PCa: Producción de calor del animal que consume alimento.

***Calculada en base a la composición química de la dieta y su DMO.

de cebada grano, haba grano, heno de alfalfa granulado, heno de alfalfa troceado, paja de veza, ramón de olivo u hojas de lechuga.

Los valores medios ($n=8$) de CR oscilaron entre $0,79 \pm 0,01$ (ramón de olivo) y $0,99 \pm 0,03$ (cebada grano), cuando los animales no tuvieron acceso al alimento, y entre $0,80 \pm 0,02$ (ramón de olivo) y $0,99 \pm 0,03$ (cebada grano) durante su ingestión. Los incrementos de PC hallados como resultado de la ingestión de las cantidades ofrecidas de alimento (2061, 2292, 3350, 3290, 3267, 4157 y 3615 $J \cdot Kg^{-1} \cdot h^{-1}$) representan, respectivamente, el 29,4 , 26,9 , 43,0 , 42,8 , 48,5 , 52,3 y 48,3% de la producción de calor de los animales no alimentados. Así mismo, la **tabla 5i** resume los datos medios de velocidad y coste energético de la ingestión de los distintos tipos de alimentos empleados. Dado que el contenido en sustancia seca de los alimentos ensayados se encuentra dentro de un rango relativamente estrecho, excepción hecha de las hojas de lechuga, las diferencias entre alimentos respecto a sus velocidades o costes de ingestión siguen una misma pauta, con la excepción apuntada, independientemente de los términos en que aparecen expresados dichos parámetros.

Se observó un efecto significativo ($P < 0,05$) de la naturaleza y forma física del alimento sobre la velocidad de ingestión. La mayor velocidad de ingestión expresada en g ss (o sf) ingeridos/min, correspondió a la cebada grano, que fue significativamente superior ($P < 0,05$) a todas las demás, salvo a las hojas de lechuga si la comparación se establece entre los resultados de ingestión de sustancia fresca; no hubo diferencias significativas entre los ritmos de ingestión de haba grano y heno de alfalfa granulado; las menores velocidades de ingestión se

hallaron con heno de alfalfa troceado, paja de veza, ramón de olivo y hojas de lechuga (en este último caso si la comparación se establece en términos de sustancia seca ingerida).

La naturaleza y forma física del alimento tuvieron un efecto notable sobre el coste energético de la ingestión. Expresado como J/g sf ingerido, osciló entre 49,4 y 370,4, equivalentes a 1,31 y 10,78 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$, respectivamente. El menor coste correspondió a los granos (cebada grano, 49,4 y haba grano, 56,70 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$) y al forraje fresco (hojas de lechuga, 60,5 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$); el granulado tuvo también un coste bajo (heno de alfalfa granulado, 78,2 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$); el coste de los forrajes secos cortados fue superior (heno de alfalfa troceado, 167,3 y paja de veza, 288,2 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$); y el mayor de todos correspondió al arbusto (ramón de olivo, 370,4 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ sf}^{-1}$), que fue de 7-8 veces superior al de los granos.

La pauta fue semejante respecto a los costes de ingestión de la sustancia seca, a excepción del correspondiente a las hojas de lechuga, que fue significativamente superior al del resto (775,4 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ ss}^{-1}$), debido a su elevado contenido en agua. Los forrajes presentaron costes energéticos más elevados que los granos (heno de alfalfa granulado, 85,2; heno de alfalfa troceado, 181,8; paja de veza, 314,8; y ramón de olivo, 413,6 $J \cdot Kg^{-1} \cdot g \text{ ss}^{-1}$). En este caso, las diferencias entre tipos de alimentos fue más notoria. El coste del forraje fresco (hojas de lechuga) fue unas 12-14 veces superior al de los granos. Por Kg de peso vivo los costes energéticos imputables al consumo de un gramo de sustancia seca oscilaron entre 1,44-1,67 J para los granos y 4,77-21,18 para los forrajes.

Conocidos la velocidad de ingestión ($\text{g sf} \cdot \text{min}^{-1}$) el coste energético de ésta ($\text{J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{g sf}^{-1}$) es posible calcular este último en términos de energía transferida por unidad de tiempo en soporte de la actividad muscular inherente a la ingestión de alimento ($\text{J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Los resultados así obtenidos aparecen agrupados en dos rangos: paja de veza, heno de alfalfa troceado, haba grano y ramón de olivo presentan valores situados en el intervalo $62,2-84,1 \text{ J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{g sf}^{-1}$; heno de alfalfa granulado, cebada grano y hojas de lechuga se agrupan en el rango de $131,7-154,9 \text{ J} \cdot \text{Kg}^{-1} \cdot \text{g sf}^{-1}$.

Aunque los experimentos no fueron diseñados especialmente para ello, se intentó dilucidar sobre posibles vinculaciones de la velocidad de ingestión (V , $\text{g ss}/\text{min}$) de los alimentos con su contenido en materia orgánica digestible (MOD) y fibra. La velocidad de ingestión parece estar relacionada directamente con la MOD e inversamente con el contenido en fibra del alimento. No obstante, sólo se obtuvieron regresiones significativas con la fibra ácido detergente (FAD, $\text{g}/100 \text{ g ss}$) y la lignina ácido detergente (LAD, $\text{g}/100 \text{ g ss}$):

$$1) V = 105,9 - 2,4 \text{ FAD}; r = -0,740; \text{RSD} = 24,4; n = 48; \text{CV} = 61,9\% \\ (\pm 9,58) (\pm 0,32)$$

$$2) V = 85,6 - 7,3 \text{ LAD}; r = -0,736; \text{RSD} = 24,5; n = 48; \text{CV} = 13,2\% \\ (\pm 7,19) (\pm 0,99)$$

Al confrontar el coste energético de la ingestión (CE, $\text{J}/\text{g ss}$) de los distintos alimentos con el contenido en componentes de la pared celular, se encontraron regresiones significativas en

los casos de la FAD (g/100 g ss) y la LAD (g/100 g ss). El mejor ajuste correspondió a las siguientes ecuaciones exponenciales:

$$3) \text{ CE} = 29,5 e^{0,054 \text{ FAD}}; r=0,684; \text{RSD}=0,64; n=48; \text{CV}=0,34\% \\ (\pm 1,29) (\pm 0,008)$$

$$4) \text{ CE} = 36,4 e^{0,202 \text{ LAD}}; r=0,841; \text{RSD}=0,47; n=48; \text{CV}=0,26\% \\ (\pm 1,15) (\pm 0,019)$$

El CE (J/g ss) estuvo inversamente relacionado con V (g ss/min), según la regresión exponencial:

$$5) \text{ CE} = 274,5 e^{-0,019 \text{ V}}; r=-0,781; \text{RSD}=0,55; n=48; \text{CV}=0,30\% \\ (\pm 1,13) (\pm 0,002)$$

Por último, el coste energético de la actividad muscular inherente a la ingestión supuso sólo el 0,4% de la energía metabolizable de la cebada grano y el 7,8% del contenido en energía útil de las hojas de lechuga. Para los restantes alimentos se obtuvieron valores comprendidos entre ambos extremos.

4.3. Dilución isotópica (CERT).

Experimento 1:

En la tabla 1c aparecen los niveles basales de ^{13}C en la saliva del animal utilizado en el ensayo, recogida continuamente durante 2 días, en 4 periodos de 6 horas cada uno (13-19, 19-1, 1-7 y 7-13 horas).

El análisis estadístico (tabla 1c) confirmó que no había diferencias significativas ni entre días ni entre periodos, esto permitió asumir un valor medio para el nivel basal de AT^{13}C ($\text{AT}^{13}\text{C}=1,09186$, $n=7$), que se utilizó como referencia en los sucesivos experimentos.

Experimento 2:

La cinética de enriquecimiento isotópico en ^{13}C tras la infusión continua de $^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$ aparece en la tabla 2c, ajustándose al modelo a la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} & (1c) \\ \text{APE}(\%) &= -0,0054 + 0,0140(1 - e^{-0,3154t}); r=0,85; \text{RSD}=6,90 \times 10^{-4}; n=15; \text{CV}=8,56\% \\ & (\pm 0,0081)(\pm 0,0080)(\pm 0,1220) \end{aligned}$$

donde APE es el porcentaje de enriquecimiento en átomos de ^{13}C por encima del nivel basal y t el tiempo transcurrido desde el momento en que comenzó la infusión en horas.

El análisis estadístico de los datos de APE (tabla 2c) demostró que el equilibrio isotópico se alcanza a las 18 horas de

Tabla 1c.- Delta ^{13}C y AT ^{13}C (%) en los días y periodos de muestreo en ganado caprino sin infusión de $^{13}\text{CO}_2\text{HNa}$

	<u>Delta ^{13}C</u>	<u>AT ^{13}C (%)</u>
Día 1°		
Periodo 1°	-18,4	1,09099
Periodo 2°	-17,2	1,09231
Periodo 3°	-17,3	1,09222
Periodo 4°	-18,2	1,09118
Día 2°		
Periodo 1°	-17,3	1,09222
Periodo 2°	-17,6	1,09192
Periodo 3°	-17,3	1,09218
Periodo 4°	-	-

Tabla 2c.- Datos de composición isotópica y respirométricos en el ganado caprino infundido con $^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$.

Tiempo (h)	Velocidad de infusión (ml/h)	Composición isotópica			Datos respirométricos			
		Delta ^{13}C	AT ^{13}C	APE (%)*	CERT (l/h)	CO2 (l/h)	CR	PC (kJ/h)
4	6,04	-13,3	1,09659	0,00473	16,46	9,40	0,68	270,97
6	6,08	-12,3	1,09777	0,00591	13,27	9,40	0,68	270,97
8	6,01	-10,01	1,10016	0,00830	9,34	9,00	0,75	238,09
10	6,01	-9,9	1,10031	0,00845	9,17	9,00	0,75	238,09
12	6,01	-10,9	1,09928	0,00742	10,44	9,00	0,75	238,09
18	5,93	-10,7	1,09952	0,00766	9,99	8,61	0,71	238,11
24	5,98	-9,7	1,10062	0,00876	8,80	9,39	0,72	258,33
30	6,04	-10,7	1,09943	0,00757	10,28	12,14	0,89	281,01
36	5,95	-10,7	1,09952	0,00766	10,02	10,95	0,86	258,53
42	5,86	-9,2	1,10117	0,00931	8,11	10,79	0,96	235,50
48	5,87	-9,5	1,10085	0,00899	8,42	10,55	0,89	243,40
54	5,98	-9,9	1,10032	0,00846	9,11	-	-	-
60	5,92	-9,1	1,10126	0,00940	8,12	9,43	0,96	204,55
66	5,82	-9,5	1,10078	0,00892	8,41	8,41	0,91	191,51
72	5,84	-9,2	1,10117	0,00931	8,08	8,61	0,93	193,06

infusión. El CO₂ detectado por el método CERT sobreestima el detectado por la cámara en un 24,26% desde el inicio de la infusión hasta las 18 horas, a partir de este momento ocurre lo contrario, es decir, infraestima el detectado por la cámara en un 13,84%. No obstante, en este periodo (una vez alcanzado el equilibrio), el análisis estadístico demostró que no existían diferencias significativas entre ambos métodos.

Los valores de los coeficientes respiratorios (CR) oscilaron entre 0,68 y 0,96, y los de producción de calor (PC) entre 192 y 271 kJ/h.

Al relacionar la producción de CO₂ (l/h) estimada por la cámara con la estimada por el método CERT, una vez alcanzado el equilibrio isotópico (18 horas), se obtuvo la siguiente regresión lineal:

$$*CO_{2cámara} = 2,05 + 0,93 CO_{2CERT}; r=0,73; RSD=0,89; n=7; CV=9,14\% \\ (\pm 3,45)(\pm 0,39)$$

Al relacionar la producción de calor (kJ/h) obtenidas en la cámara con la estimación de la producción de CO₂ (l/h) por el método CERT, una vez alcanzado el equilibrio isotópico (18 horas), se obtuvo la siguiente regresión lineal:

$$*PC_{cámara} = -0,39 + 27,11 CO_{2CERT}; r=0,81; RSD=19,86; n=7; CV=8,15\% \\ (\pm 76,80)(\pm 8,65)$$

*Debido a que los valores del término independiente de las regresiones no fueron significativos, se obtuvieron las correspondientes ecuaciones sin dicho término:

$$(2_C) \text{CO}_{2\text{cámara}} = 1,16 \text{CO}_{2\text{CERT}}; r=0,997; \text{RSD}=0,84; n=7; \text{CV}=8,65\% \\ (\pm 0,04)$$

$$(3_C) \text{PC}_{\text{cámara}} = 27,07 \text{CO}_{2\text{CERT}}; r=0,998; \text{RSD}=18,13; n=7; \text{CV}=7,44\% \\ (\pm 0,77)$$

Experimento 3:

En la tabla 3c se presentan los valores de enriquecimiento isotópico en ^{13}C (APE) y los datos respirométricos obtenidos cuando el animal experimental fue sometido a diferentes niveles de actividad física, de pie en reposo o con desplazamiento a 0,6 y 1,8 Km/h. El análisis estadístico indicó la existencia de diferencias significativas entre los APE con respecto a la velocidad empleada (tabla 3c). Los valores basales de enriquecimiento se recuperaron de nuevo durante el periodo posterior al último del desplazamiento.

Los valores de CR oscilaron entre 0,65 y 0,77 y los de PC entre 217 y 558 kJ/h.

El CO_2 detectado por el CERT infraestimó el detectado por la cámara (12,92%) tanto cuando el animal se encontraba de pie en reposo (11,34%) como cuando se estaba desplazando, bien a 0,6 bien a 1,8 Km/h (18,66 y 12,19%, respectivamente); sin embargo, el análisis estadístico demostró que no había diferencias significativas entre ambos métodos de detección.

Al relacionar la producción de CO_2 (l/h) detectada por la cámara con la estimada por el método CERT, se obtuvo la siguiente regresión lineal:

$$*\text{CO}_{2\text{cámara}} = 0,13 + 1,14 \text{CO}_{2\text{CERT}}; r=0,98; \text{RSD}=0,59; n=15; \text{CV}=5,87 \\ (\pm 0,53)(\pm 0,06)$$

Tabla 3c.-Datos de composición isotópica y respirométricos en el ganado caprino infundido con $^{13}\text{CO}_3\text{HNa}$.

	Composición isotópica			Datos respirométricos			
	Delta ^{13}C	AT ^{13}C	APE (%)*	CERT (l/h)	CO2 (l/h)	CR	PC (kJ/h)
Velocidad 1,2 Km/h							
Periodo 6	-7,3	1,10321	0,01135	6,75	7,63	0,69	217,32
Periodo 7	-6,5	1,10409	0,01223	6,26	7,63	0,69	217,32
Periodo 8	-6,9	1,10365	0,01179	6,49	7,63	0,69	217,32
Periodo 1	-9,4	1,10096	0,00910	8,41	9,89	0,70	277,30
Periodo 2	-10,4	1,09980	0,00794	9,64	11,30	0,73	306,18
Periodo 3	-10,7	1,09953	0,00767	9,98	12,72	0,76	335,07
Periodo 4	-10,8	1,09936	0,00750	10,21	12,72	0,76	335,07
Periodo 5	-7,7	1,10277	0,01091	7,02	10,88	0,77	283,98
Periodo 6	-9,2	1,10118	0,00932	8,21	9,03	0,77	232,89
Periodo 7	-9,1	1,10123	0,00937	8,17	9,03	0,77	232,89
Periodo 8	-9,3	1,10101	0,00915	8,37	9,03	0,77	232,89
Velocidad 1,8 Km/h							
Periodo 1	-7,8	1,10272	0,01086	7,05	7,74	0,65	229,84
Periodo 2	-11,4	1,09870	0,00684	11,19	13,17	0,69	368,49
Periodo 3	-13,5	1,09640	0,00454	16,86	18,60	0,73	507,15
Periodo 4	-14,8	1,09502	0,00316	24,23	18,60	0,73	507,15
Periodo 5	-13,3	1,09662	0,00476	16,09	12,98	0,69	362,79
Periodo 6	-6,9	1,10370	0,01184	6,47	7,36	0,65	218,44
Periodo 7	-9,5	1,10085	0,00899	8,52	7,36	0,65	218,44
Periodo 8	-7,5	1,10305	0,01119	6,84	7,36	0,65	218,44

Al relacionar la producción de calor (kJ/h) estimada en la cámara (kJ/hora) con la producción de CO₂ (l/h) estimada por el método CERT se obtuvo la siguiente regresión lineal:

$$*PC_{\text{cámara}} = 19,46 + 29,44 CO_{2\text{CERT}}; r=0,977; RSD=18,00; n=15; CV=6,51\% \\ (\pm 16,08)(\pm 1,76)$$

*Debido a que los valores del término independiente de las regresiones no fueron significativos, se obtuvieron las correspondientes ecuaciones sin dicho término:

$$(4_C) CO_{2\text{cámara}} = 1,15 CO_{2\text{CERT}}; r=0,999; RSD=0,57; n=15; CV=5,67\% \\ (\pm 0,02)$$

$$(5_C) PC_{\text{cámara}} = 31,49 CO_{2\text{CERT}}; r=0,998; RSD=18,30; n=15; CV=6,62\% \\ (\pm 0,52)$$

No hubo diferencias significativas entre las ecuaciones 2 y 2* que estiman el CO₂cámara en función del CO₂CERT, sin embargo, sí las hubo entre las que estiman el PC_{cámara} en función del CO₂CERT (ecuaciones 3 y 3*).

5. DISCUSION

5.2. Coste energético de la ingestión

En el ensayo 1°, no se apreciaron diferencias significativas en PC entre los animales en ayuno o alimentados directamente en rumen, lo que sugiere que todo el incremento calórico que se produce tras la ingestión de alimento, es directamente debido a los mecanismos asociados a la ingestión (prehensión, masticación y deglución, principalmente), y no a otros procesos asociados con la digestión y el metabolismo de los alimentos.

A semejantes conclusiones llegó Young (1966) en ovino, con fístulas esofágicas. Suministró a los animales cantidades idénticas de alimento (heno de alfalfa) y midió la PC tanto si éste era ingerido normalmente (fístula cerrada) como en el caso de alimentación simulada (fístula abierta), recogándose la extrusa en una bolsa colocada en el cuello del animal. En ambos casos la PC era similar, lo cual indicaba que la presencia de alimento en el rumen no era causa del incremento calórico producido durante la ingestión.

Por su parte, Osuji y col. (1975) en experimentos con ovino, administraron la misma cantidad de alimentos de distinta forma física (hierba seca cortada, molida o molida y granulada), por vía oral o a través de una fístula ruminal, observando que la PC durante la administración de alimento por vía ruminal era muy inferior a la correspondiente por vía oral, representando tan sólo como media, un 43% de diferencia, lo que significa que la repercusión de la fermentación ruminal en el incremento calórico

producido era insignificante.

En el ensayo 2°, con todos los animales y alimentos ensayados hubo un incremento calórico asociado con la ingestión de alimento (tabla 5i). Este incremento varió en función del tipo de alimento, de acuerdo con lo observado por algunos autores (Blaxter y Joyce, 1963; Young, 1966; Osuji, 1971, 1973), siendo menor con los granos (cebada, 29,4% y haba 26,9%) y mayor con el ramón de olivo (52,3%), apreciándose por tanto, una influencia de la naturaleza y forma física del alimento sobre dicho incremento. Wainman y col. (1970) y Osuji (1971, 1973) encontraron que el granulado de las dietas reduce considerablemente este incremento; en nuestro caso no se observaron diferencias entre el heno de alfalfa granulado (43,0%) y el cortado (42,8%).

Ustjanzew (1911) en ovino alimentado con *Pheum* o trébol, encontró un incremento calórico asociado con la ingestión del 60%, independientemente de la forma física de dicho heno (largo, picado o evaporado). Blaxter y Joyce (1963), en ovino alimentado con diferentes tipos de alimentos, encontraron incrementos del mismo orden (50-60%), por lo general algo superiores a los observados en nuestros experimentos. Vermorel y Mormede (1991) encontraron en pôneys, incrementos del 40-80% durante comidas con una duración de hasta 2 horas.

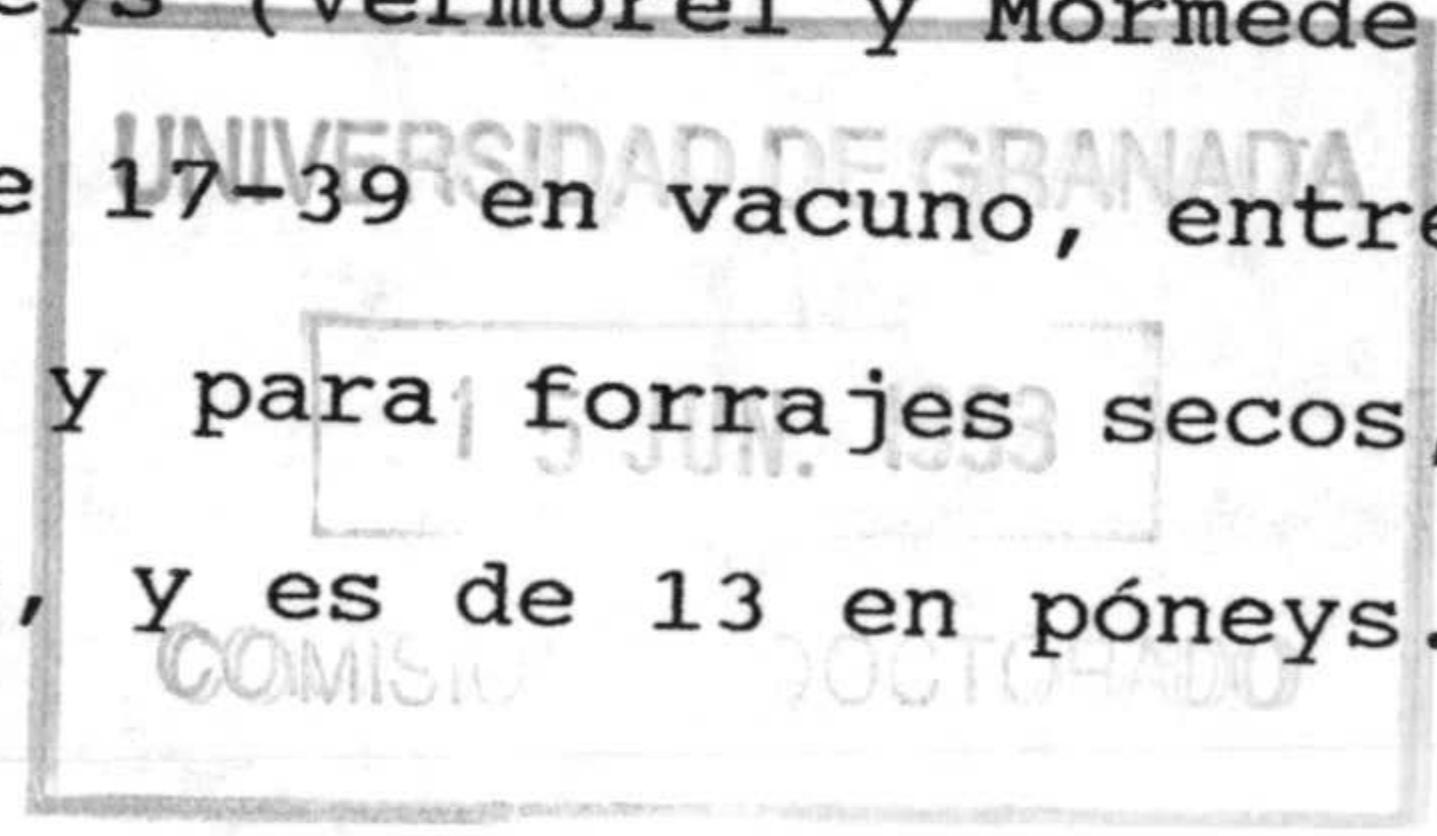
Las velocidades de ingestión (g sf/min o g ss/min) encontradas para el caprino, variaron en función de la naturaleza y forma física del alimento (tabla 5i) y fueron por lo general, comparables a las encontradas en otras especies animales (tabla 1i).

La velocidad de ingestión es muy variable y depende de factores tales como el tamaño del bocado, la palatabilidad, el

apetito, la calidad y el tipo de alimento o el modo de alimentación, los cuales pueden ser causa de diferencias interespecíficas (Adam y col., 1984). También se ha observado (Graham, 1964) que la velocidad es mayor, cuando los animales consumen pequeñas comidas o cuando comen de nuevo tras largos periodos de ayuno. Young (1966) encontró en ovino grandes diferencias interindividuales en la velocidad de ingestión, observando así mismo, que ésta no siempre permanece constante a lo largo de la comida. Así por ejemplo, una ración de concentrado era ingerida muy rápidamente al inicio del experimento durante 10 minutos, para ser consumida luego mucho más lentamente; otras raciones (pajas o forrajes) eran consumidas más lentamente que los concentrados, pero a velocidades prácticamente constantes.

En caprino, las mayores velocidades de ingestión (g ss/min, tabla 5i) correspondieron a los granos (cebada, 99,1 y haba, 45,9) y al heno granulado (60,6), de acuerdo con Osuji (1973), quien indicó que esto es debido a que este proceso tecnológico reduce el tamaño de partícula y favorece la velocidad de ingestión; y las menores a los forrajes secos cortados (heno de alfalfa, 14,7 y paja de veza, 7,8), al ramón de olivo (8,3) y, sobre todo, al forraje fresco (hojas de lechuga, 7,3). El valor medio global fue de 35 ± 13 g MS/min.

Los valores de velocidad de ingestión (g ss/min) publicados en la bibliografía (tabla 1i) oscilan, para granos y granulados, entre 130-138 en vacuno (Adam y col., 1984), entre 8-58 en ovino (Osuji y col., 1975) y entre 27-36 en pôneys (Vermorel y Mormede, 1991); para forrajes secos cortados, entre 17-39 en vacuno, entre 8-58 en ovino, y entre 27-36 en pôneys; y para forrajes secos, entre 20-25 en vacuno, entre 4-7 en ovino, y es de 13 en pôneys.



Los costes globales medios son de 45 ± 18 , 12 ± 6 y 20 ± 5 g MS/min para vacuno, ovino y pónes, respectivamente.

Se ha descrito (Morand-Fehr y col., 1991) que el tiempo de consumo de una determinada cantidad de materia seca es superior en caprino que en ovino, debido a la mayor capacidad de selección de la dieta del caprino.

Cuando se relacionó la velocidad de ingestión con el contenido en fibra ácido detergente y en lignina ácido detergente (ver resultados, ecuaciones 1 y 2), se encontró que cuanto mayor contenido en FAD y LAD tiene la dieta, menor es la velocidad de ingestión. Esta relación inversa ha sido encontrada también en ovino (Forbes y col., 1972) y en vacuno (Frish y Vercoe, 1977; McLeod y Smith, 1989), y es debida a la dificultad que tienen los animales para prehender, formar el bolo alimenticio y masticar las fracciones más fibrosas (Dulphy y col., 1980). Conviene no olvidar a este respecto, que uno de los factores que controla la ingesta voluntaria en los rumiantes, es la velocidad a la que las partículas grandes de alimento son reducidas a un tamaño lo suficientemente pequeño para abandonar el rumen (Freer y col., 1962). La ingestión de alimento y la rumia son los principales responsables de este proceso (McLeod y Minson, 1988), y ambos están afectados por el contenido de fibra en la dieta (Harumoto y Kato, 1978; Fujihara y Nakao, 1982).

El coste energético de la ingestión de alimento está bien documentado en ovino (Osuji, 1971, 1973, 1974) y también, aunque menos, en vacuno (Holmes y col., 1976, 1978; Adam y col., 1984) y en ganado caballar (Vermorel y Mormede, 1991). Hasta la fecha se carecían de datos referentes al caprino. En nuestros experimentos, este coste expresado como J/g MS ingerida, osciló

entre 54,4 y 62,6 para los granos (cebada y haba), fue de 85,2 para el granulado (heno de alfalfa), osciló entre 181,8 y 314,8 para forrajes secos cortados (heno de alfalfa y paja de veza), siendo superior para arbustos (ramón de olivo, 413,6) y, sobre todo, para forraje fresco (hojas de lechuga, 775,4). El coste medio fue de 270 ± 99 . Estos valores son comparables a los obtenidos en la bibliografía para otras especies animales (tabla 1i), los cuales oscilan para granos y granulados, entre 78-85 en vacuno (Adam y col., 1984), entre 16-131 en ovino (Osuji y col., 1975) y entre 83-244 en pôneys (Vermorel y Mormede, 1991); para forrajes secos cortados, entre 279-780 en vacuno, entre 99-413 en ovino y entre 335-893 en pôneys; y para forrajes frescos entre 480-861 en vacuno, entre 161-322 en ovino y 687 en pôneys. El coste medio es de 548 ± 158 , 439 ± 222 y 409 ± 121 kJ/Kg MS para vacuno, ovino y póney, respectivamente.

El elevado coste (J/g ss) observado para el ramón de olivo y la paja de veza (tabla 5i) puede deberse a su alto contenido en fibra. Osuji (1971) encontró un resultado parecido en ovino alimentado con paja de avena, sugiriendo que el contenido en fibra bruta de la dieta, favorece un incremento del movimiento de fluidos corporales y de la motilidad gastrointestinal. En nuestros ensayos (ver resultados, ecuaciones 3 y 4), se ha encontrado una relación significativa entre el coste energético (J/g ss) y el contenido en FAD y LAD.

Osuji (1971) indicó que en ovino, las dietas que eran consumidas más rápidamente, presentaban un menor coste energético. Este hecho se cumple, en general, en nuestros experimentos, siendo especialmente evidente con la cebada grano. Al relacionar el coste energético (J/g ss) con la velocidad de

ingestión de los distintos alimentos (g ss/min), se obtuvo una regresión exponencial significativa (ver resultados, ecuación 5) que corrobora este hecho.

Se ha publicado (Ustjanzew, 1991; Graham, 1964; Webster, 1972; Osuji, 1971, 1973; Osuji y col., 1975; Adam y col., 1984), que el coste energético de la ingestión no depende ni de la cantidad de alimento ingerido ni del periodo de tiempo transcurrido entre comidas, sino del tiempo destinado al consumo de alimento, un hecho de grandes repercusiones prácticas en condiciones de pastoreo, donde el ganado pasta durante periodos de tiempo considerablemente superiores a los de animales estabulados. Aunque nuestros experimentos no estaban especialmente diseñados al efecto, se obtuvo una relación significativa (ver resultados, ecuación 6) entre el coste energético (J/g ss) y el tiempo de consumo (min.) de los distintos alimentos. Con fines comparativos con los datos bibliográficos (tabla 1i), se ha calculado el coste energético de la ingestión del caprino por minuto de consumo de los distintos alimentos ensayados (tabla 5i), en función del coste expresado en J/g ss y la velocidad de ingestión (g ss/min), lo cual es cuestionable, puesto que ésta es extremadamente variable. El coste (kJ/min) osciló entre 2,7 y 5,3 para granos (cebada y haba); fue de 5,0 para el granulado (heno de alfalfa); osciló entre 2,4 y 2,7 para forrajes secos (heno de alfalfa y paja de veza); y fue de 3,0 y de 5,7 para el ramón de olivo y el forraje fresco, respectivamente. El coste medio fue de $3,8 \pm 0,5$ kJ/min. Estos valores son comparables a los publicados en la bibliografía (tabla 1i), que oscilan para granos y granulados, entre 6,8 y 10,2 en vacuno (Adam y col., 1984), entre 1,0 y 3,3 en ovino

(Osuji y col., 1975) y entre 4,4 y 6,7 en pôneys (Vermorel y Mormede, 1991); para forrajes secos cortados, entre 9,7 y 16,0 en vacuno, entre 1,8 y 3,2 en ovino y entre 7,1 y 8,1 en pôneys; y para forrajes frescos, entre 12,8 y 15,5 en vacuno, entre 1,5 y 2,4 en ovino y 8,8 en pôneys. Los costes energéticos medios globales son de $11,6 \pm 0,9$, $2,1 \pm 0,2$ y $6,1 \pm 1,0$ para vacuno, ovino y póney, respectivamente.

Puesto que la forma física de la dieta tiene una influencia sobre el incremento calórico asociado con la ingestión de alimento, puede suponerse que también pudiera afectar a la eficiencia de utilización de la energía metabolizable (EM) para el mantenimiento y la producción. Osuji y col. (1975), en ovino alimentado con forraje troceado o granulado, encontraron diferentes eficiencias de utilización de la energía entre las dos dietas (73 y 78%, respectivamente) y calcularon que hasta la mitad de esta diferencia podía explicarse en base a los distintos costes energéticos de la ingestión de alimento y de la rumia entre las dos dietas (21 y 2,5; 2,3 y 0,1 kJ/MJ EM, respectivamente). Por el contrario, Ekern y col. (1965) hallaron en ovinos que consumían la misma cantidad de forraje fresco o seco, una diferencia en incremento calórico entre las dos dietas de 56 kJ/MJ EM, y entre los respectivos costes energéticos de la ingestión y la rumia, tan sólo de 13 kJ/MJ EM, lo que significa que sólo una cuarta parte de las diferencias entre las eficiencias de utilización de la energía de las dietas, era atribuible a la forma física de la dieta.

En nuestros experimentos, al expresar el coste energético de la ingestión en función de la concentración en EM del alimento (tabla 5i), el rango osciló entre 0,4-0,5% para granos (cebada y

haba); entre 2,3-4,0% para forrajes secos (heno de alfalfa y paja de veza); para granulados (heno de alfalfa) y ramón de olivo se obtuvieron valores de 1,2 y 4,8%, respectivamente; y la lechuga, que presentó un valor anormalmente elevado (71,9%), debido a su bajo valor de EM (1,07 kJ/g MS). El coste medio global, sin considerar la lechuga, fue de $2,4 \pm 1,0\%$. Los valores publicados (tabla 1i) para vacuno (Adam y col., 1984), ovino (Osuji y col., 1985) y pónes (Vermorel y Mormede, 1991) son respectivamente: para granos y granulados de 1,0%, 0,4% y 0,7-2,2%; para forrajes secos cortados de 2,5-4,9%, 2,5-3,9% y de 3,7%; y para forrajes frescos, de 5,9 , 2,6 y 6,4%. El coste medio global es de $3,3 \pm 0,7\%$, $4,2 \pm 1,9\%$ y $4,5 \pm 1,5\%$ para vacuno, ovino y pónes, respectivamente, lo que significa que el coste de la ingestión representa, aproximadamente, un 3-4% de la EM ingerida, dependiendo del tipo de alimento.

En general, los costes energéticos de la ingestión de alimento hallados en el caprino, son equiparables a los publicados para otras especies animales. Estos costes, pueden representar para el caprino en pastoreo una importante contribución a sus necesidades energéticas de mantenimiento. En base a un sistema factorial, teniendo en cuenta el coste energético de la ingestión de distintos tipos de alimentos (determinado calorimétricamente) y la duración estimada de esta actividad en condiciones de pastoreo, Graham (1964) estimó en ovino, que el trabajo muscular relacionado con la ingestión de alimento puede representar el 15,9% de las necesidades energéticas de mantenimiento en pastoreo. Utilizando este mismo procedimiento, Osuji (1971, 1974) calculó que dicho incremento era para ovino en pastoreo, del 12,4 al 18%, y Webster (1978),

para vacuno en pastoreo, del 23%. Vermorel y col. (1989) estimaron experimentalmente en caballos castrados, que este coste representaba del 8,3 al 15,6% de las necesidades de mantenimiento, dependiendo del tipo de alimento.

5.2. Dilución isotópica (CERT).

La ruta de infusión elegida -intravenosa- es la preferida en este tipo de estudios (White y Leng, 1968; Corbett y col., 1971; Farrell y col., 1972; Engels y col., 1976; Prieto y col., 1982). La intervención quirúrgica necesaria para la implantación de un catéter en la vena yugular es sencilla y éste permanece viable durante semanas.

La técnica de recogida de saliva de la glándula parótida resultó ser muy satisfactoria y permitió obtener una muestra representativa de del compartimento de CO₂ corporal, un hecho confirmado previamente por diversos autores (Engels y col., 1976; Prieto y col., 1982; Sánchez y Morris, 1984; Salhu y col., 1988, 1989, 1992). Una vez implantado el catéter, éste permaneció funcional durante al menos 2 semanas, fluyendo la saliva durante todo este periodo de una forma continua sin necesidad de aplicar ninguna succión.

El equilibrio isotópico se alcanzó transcurridas aproximadamente 18 horas desde el inicio de la infusión del marcador. Este valor está en el rango o es ligeramente superior que valores publicados en la bibliografía para condiciones similares, tanto en ovino (12-20 horas: Salhu y col., 1988) como en caprino (12-16 horas: Salhu y col., 1992).

En el experimento 2, los valores medios estimados de producción de CO₂ por el método CERT sobreestimaban los de producción real de CO₂ medidos en la cámara de respirometría en un 24,26% en el periodo comprendido entre el inicio de la infusión y las 18 horas, a partir de este momento, una vez alcanzado el equilibrio isotópico, ambos valores medios fueron

similares ($8,84 \pm 0,35$ y $10,26 \pm 0,45$, lo que representa una infraestimación del método CERT del 13,84%).

El CR medio durante el periodo 0-18 horas fue $0,72 \pm 0,01$ (rango 0,68-0,75), y a partir del momento de equilibrio isotópico (24-72 horas) de $0,88 \pm 0,03$ (rango 0,72-0,96). Estos valores se deben a que el animal permaneció prácticamente en ayunas hasta pasadas las primeras 24 horas del experimento, consumiendo el alimento a partir de este momento.

Hubo una estrecha relación entre el valor del CO_2 estimado por el CERT y el detectado por la cámara. La regresión lineal correspondiente al periodo de equilibrio (24-72 horas, ecuación 2_C) fue significativa ($r=0,997$; $P<0,01$), con un error en la predicción de $\pm 8,65\%$ de la media de la producción de CO_2 ($10'26$ l/h).

La ecuación de predicción de la PC a partir del valor del CO_2 estimado por el CERT (ecuación 3_C) fue también significativa ($r=0,998$; $P<0,01$), presentando un coeficiente de variación del 7,44% de la media de la PC ($239'20$ kJ/h).

Cuando la velocidad empleada fue de 0,6 Km/h, el valor medio de la producción de CO_2 estimada por el CERT ($8,25 \pm 0,45$) infraestimaba la determinada por la cámara ($9,66 \pm 0,62$) en un 17,09%, siendo esta diferencia ligeramente menor a 1,8 Km/h (12,09%; valores medios: $9,68 \pm 1,99$ y $10,85 \pm 2,23$, respectivamente). El aumento de la actividad física (de 0,6 a 1,8 Km/h) quedó reflejada en un aumento de la producción media de CO_2 (de 9,66 a 10,85 l/h) y de calor (260,42 a 308,47 kJ/h). En ambos casos estos valores son superiores al valor medio basal del animal en reposo del experimento 2 ($10,26$ l/h y $239,20$ kJ/h). Los coeficientes respiratorios medios durante el experimento 3,

fueron $0,73 \pm 0,01$ y $0,67 \pm 0,02$ para velocidades de 0,6 y 1,8 Km/h, respectivamente. Ello se debe fundamentalmente, a que el animal permaneció en ayunas desde el día anterior.

Durante los periodos de locomoción, el incremento en la producción de CO_2 y de calor estuvo directamente relacionado con descensos significativos en los niveles de enriquecimiento en ^{13}C (APE). Con respecto a los niveles observados en los periodos en que el animal permanecía de pie y en reposo, los valores de producción de CO_2 se incrementaron en un 43,27 y 112,15%, y los de APE en un 34,10 y 98,54 , para velocidades de desplazamiento de 0,6 y 1,8 Km/h, respectivamente. La disminución del enriquecimiento en ^{13}C , está en concordancia con la dilución isotópica producida en el compartimento corporal de CO_2 por un aumento de éste durante el ejercicio físico.

La relación entre la producción de CO_2 estimado por el CERT y el real detectado por la cámara fue significativa ($r=0,999$, $P<0,01$; ecuación 4_C), con un error estándar de la estimación de $\pm 5,67\%$ de la media de la producción de CO_2 .

La ecuación de predicción de la PC a partir de los valores obtenidos por el método CERT fue también significativa ($r=0,998$, $P<0,01$; ecuación 5_C), con un coeficiente de variación medio de $\pm 6,62\%$ de la media de la PC (276,44 kJ/h).

En la práctica, es improbable que un animal permanezca en libertad sin que realice diferentes actividades físicas. Consecuentemente, su producción de CO_2 no será constante, lo que dificulta la estimación del CO_2 por el método CERT (por alteraciones en el compartimento de CO_2 y, por tanto, de la dilución isotópica).

Se ha publicado en la bibliografía (Barkrie, 1989; Boutton, 1991), que puede haber un incremento de hasta un 5% en los niveles basales de ^{13}C en situaciones de actividad física con respecto a la situación de reposo. En el presente trabajo, sólo se han medido los niveles basales de ^{13}C en el animal durante el reposo (experimento 1), de modo que los valores de enriquecimiento de ^{13}C (APE) calculados podrían estar ligeramente sobreestimados y, en consecuencia, infraestimados los correspondientes valores de CO_2 estimados por el CERT. De todas maneras, la buena correlación observada en las ecuaciones 2_C y 4_C es la mejor prueba de que la técnica es válida en situaciones de desequilibrios metabólicos puntuales, como los que se producen, por ejemplo, en condiciones de pastoreo, donde el animal alterna periodos de reposo y actividad.

Corbett y col. (1971), publicaron resultados de medidas de corta duración en ovino que realizaba ejercicios intermitentes sobre un ergómetro. Cada aumento o disminución de la actividad física quedaba reflejada en cambios de la producción de CO_2 estimada por el CERT, al cabo de 10-20 minutos. Los cálculos realizados indicaron que las estimaciones de los costes energéticos de la locomoción sobre el plano horizontal que se obtienen por esta técnica, son similares a los observados anteriormente para el ganado ovino en ejercicio en experimentos con cámaras de respirometría (Clapperton, 1964). Un hecho similar sucede en nuestros ensayos. Los cálculos del coste energético de la locomoción de la experiencia 3, para un animal de 33 Kg de peso, que recorrió una media de 1'2 Km/h, fue de 3,45 y 4,02 J/Kg y hora, según la ecuación 3_C o la ecuación 5_C , respectivamente. Estos valores son equivalentes al valor medio

obtenido en los ensayos de locomoción ($3,35 \pm 0,20$), lo que confirma también, indirectamente, la validez del método CERT.

Cuando se relacionó la producción de calor, calculada en la cámara de respirometría, con la estimación de la producción de CO_2 por el método CERT, hubo diferencias significativas entre los experimentos 2 y 3 (ecuaciones 3_C y 5_C). Puesto que las estimaciones de la producción de CO_2 son similares en ambos casos (ecuaciones 2_C y 4_C), este hecho es imputable a diferencias en el consumo de O_2 , que es el factor de mayor influencia en la ecuación de Brouwer. A efectos prácticos, esto significa que la ecuación 5_C debe ser la preferida para extrapolar a condiciones de pastoreo, ya que fue obtenida en condiciones experimentales que simulaban dicha situación.

7. BIBLIOGRAFIA

- ADAM, I., YOUNG, B.A., NICOL, A.M. y DEGEN, A.A. 1984. Energy cost of eating in cattle given diets of different form. *Anim. Prod.* 38: 53-56.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. 1965. Nutrient Requirements of Farm Livestock No.2 Ruminants. Her Majesty's Stationery Office, Londres.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, ARC. 1980. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureau. Slough.
- AGUILERA, J.F. Y PRIETO, C. 1985. An open respiration unit for calorimetric studies with small animals. *Arch. Tierernähr.* 35, 12, 825-833.
- AGUILERA, J.F. Y PRIETO, C. 1986. Description and function of an open-circuit respiration plant for pigs and small ruminants and the techniques used to measure energy metabolism. *Arch. Anim. Nutr. Berlín.* 11, 1009-1018.
- AGUILERA, J.F., MOLINA, E., PRIETO, C. Y BOZA, J. 1986. Estimación de las necesidades energéticas de mantenimiento en ganado ovino de raza segura. *Arch. Zootec.* 35, 131, 89-96.
- ALEXANDER, R.McN, 1977. Terrestrial locomotion. En: *Mechanics and Energetics of Animal Locomotion.* R. McN. Alexander y G. Goldspink (eds.). Chapman & Hall. Londres. pag. 168-203.
- ALEXANDER, R.McN. Y GOLDSPINK, G. 1977. *Mechanics and Energetics of Animal Locomotion.* Chapman & Hall. Londres.
- ALEXANDER, R.McN. 1980. Optimum walking techniques for quadrupeds and bipeds. *J. Zool.*, 192: 97-117.
- AMSTRONG, D.G., BLAXTER, K.L. y GRAHAM, N. McC. 1957. The heat increment of mixtures of steam-volatile fatty acids in fasting sheep. *Br. J. Nutr.* 11: 392-408.
- AMSTRONG, D.G., BLAXTER, K.L. y GRAHAM, N. McC. y WAINMAN, F.W. 1958. The utilization of the energy of two mixtures of steam-volatile fatty acids by fattening sheep. *Br. J. Nutr.* 12: 177-188.
- ANNISON, E.F., BROWN, R.E., LENG, R.A., LINDSAY, D.B. y WEST, D.E. 1967. "Rates of entry and oxidation of acetone, glucose, D(-)-3-hydroxy-butirate, palmitate, oleate and stearate, and rates of production and oxidation of propionate in fed and starved sheep". *Biochem. J.* 104, 135-147.

- ANNISON, E.F. y ARMSTRONG, D.G. 1970. Volatile fatty acid metabolism. En: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant (Phyllipson, ed.), Oriol Press, Newcastle-upon-Tyne, pág. 422-437.
- ASHMORE, C.R., ADDIS, P.B., DOERR, L. Y STOKES, H. 1972. Development of muscle fibers in the complexus muscle of normal and dystropic chickens. J. Histochem. Cytochem. 21: 216.
- ASHMORE, C.R., ADDIS, P.B., DOERR, L. 1973. Development of muscle fibers in the fetal pig. J. Anim. Sci., 36: 1088.
- ASHMORE, C.R. 1974. Phenotypic expression of muscle fiber types and some implication to meat quality. J. Anim. Sci., 38: 1158-1164.
- ATTEBERRY, J.T. y JOHNSON, H. 1969. Effects of environmental temperature controlled feeding and fasting on rumen motility. J. Anim. Sci. 29: 734-737.
- BAGSHAW, C. 1982. Muscular contraction. Chapman & Hall. Londres.
- BAHR, R. Y MAEHLUM, S. 1986. Excess post-exercise oxigen consumption. Acta Physiol. Scand., 128 (suppl. 556): 99-104.
- BAILE, C.A., MAHONEY, A.W. y MAYER, J. 1967. Placement of electrodes in the hypothalamus of goats. Journal of Dairy Science, 50: 576-578.
- BAILE, C.A., MAHONEY, A.W. y MAYER, J. 1968. Induction of hypothalamic aphagia and adipsia in goats. Journal of Dairy Science, 51: 1474-1480.
- BAILE, C.A., MAYER, J, MAHONEY, A.W. y McLAUGHLIN, C. 1969. Hypothalamic hiperphagia in goats and some observations of its effect on glucose utilisation rate. Journal of Dairy Science, 52: 101-109.
- BAILEY, C.B. y BALCH, C.C. 1961. Saliva scretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Brit. J. Nutr. 15: 383-402.
- BAKRIE, B. 1989. "Effects of work on the environmental physiology and digestive function of cattle and buffaloes". Tesis Doctoral. Universidad James Cook de North Queensland, Townsville.
- BALCH, C.C. 1958. Observations on the act of eating in cattle. Brit. J. Nutr. 12: 330-345.
- BARANY, M. 1967. J. Gen. Physiol., 50 (suppl. part 2): 179-218.

- BARCROFT, J.R., McANALLY, R.A. y PHILLIPSON, A.T. 1944. The production, absorption and utilization of acetic, propionate and butyric acids in the sheep. *Biochem. J.* 38: II-IV.
- BEERZINS, R. 1969. Physiological changes in sheep during eating. Tesis de Master. Universidad de Alberta.
- BENEDIC, F.G. y RITZMAN, E.G. 1972. The metabolic stimulus of food in the case of steers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 13: 125-140.
- BERGMAN, E.N. y HOGUE, D.E. 1967. "Glucose turnover and oxidation rates in lactating sheep. *Anim. Physiol.*, 1378-1384.
- BESSMAN, S.P. 1985. The creatine-creatinine phosphate energy shuttle. *Annu. Rev. Biochem.*, 54: 831-862.
- BLAIR-WEST, J.R. y BROOK, A.H. 1969. Circulatory changes and renin secretion in sheep in response to feeding. *J. Physiol.* 204: 15-30.
- BLAXTER, K.L. y JOYCE, J.P. 1963. "The accuracy and ease with which measurements of respiratory metabolism can be made with tracheostomized sheep". *Br. J. Nutr.*, 17, 523-537.
- BLAXTER, K.L. 1967. The Energy Metabolism of Ruminants, Hutchinson, Londres, pág. 110-112.
- BLAXTER, K.L. 1989. Muscular work. En: Energy metabolism in animals and man. Cambridge University Press. Cambridge. pag. 147-179.
- BOOTH, M.E., PEARSON, R.A. Y CUDDEFORD, D. 1992. The effect of speed of walking on the energy cost of walking in ponies. En: 43rd Annual Meeting of the EAAP. Madrid. pag. 542.
- BOUTTON, T.W., TYRRELL, H.F., PATTERSON, B.W., VARGA, G.A. y KLEIN, P.D. 1988. "Carbon kinetics of milk formation in Holstein cows in late lactation". *J. Anim. Sci.*, 66, 2636-2645.
- BOUTTON, T.W. 1991. "Tracer studies with ¹³C-enriched substrates: Humans and large animals". En: "Carbon Isotope Techniques", editor D.C. Coleman y B. Fry, Academic Press, Inc., Londres, pág. 219-242.
- BOYNE, A.W., BROCKWAY, J.M., INGRAM, J.F. y WILLIAMS, K. 1981. "Modification, by tractive loading, of the energy cost of walking in sheep, cattle and man". *J. Physiol.*, 315, 303-316.
- BRAFIELD, A.E. Y LLEWELLYN, M.J. 1982. Animal Energetics. Blackie. Glasgow.

- BROCKWAY, J.M. y McEWAN, E.H. 1969. "Oxygen uptake and cardiac performance in the sheep". J. Physiol., 202, 661-669.
- BROCKWAY, J.M., BOYNE, A.W. Y GORDON, J.G. 1971. Simultaneous calibration of gas analyzers and meters. J. Appl. Physiol. 31(2): 296-297.
- BROCKWAY, J.M. Y GESSAMAN, J.A. 1977. The energy cost of locomotion on the level and on gradients for the red deer (*Cervus elaphus*). Q. J. Exp. Physiol., 62: 333-339.
- BROCKWAY, J.M., 1978. "Escape from the chamber: alternative methods for large animal calorimetry". Proc. Nutr. Soc. 37, 13-19.
- BROCKWAY Y BOYNE. 1980 (VER2.1)
- BRODY, S. 1945. Bioenergetics and Growth. Nueva York: Reinhold.
- BROUWER. 1965.
- BRUGGEMAN, J.K., WALSER-KARST y GIESECK, D. 1965. Untersuchungen über die Parotis-secretion bei Schafen. Ztschr. Tierphysiol. Tierernährung Futtermittelk. 20: 295-305.
- BUCHANAN, D.L. y NAKAO, A. 1952. "Turnover of bone carbonate". Journal of Biological Chemistry, 198, 245-257.
- CARLSSON, F.D., HARDY, D. Y WILKIE, D.E. 1976. The relation between the heat produced and phosphorylcreatine split during isometric contraction of frog muscle. J. Physiol. London, 189: 209-235.
- CAVAGNA, G.A., SAIBENE, F.P. Y MARGARIA, R. 1963. External work in walking. J. Appl. Physiol., 18: 1-9.
- CLAPPERTON, J.L. 1964a. The effect of walking upon the utilization of food by sheep. Br. J. Nutr., 18: 39-46.
- CLAPPERTON, J.L. 1964b. The energy metabolism of sheep walking on the level and on gradients. Br. J. Nutr., 18: 47-54.
- CLAPPERTON, J.L. 1964. "Energy cost of locomotion". Br. J. Nutr. 18, 47.
- CLUGSTON, G.A. y GARLICK, P.J. 1983. "Recovery of infused (^{14}C) bicarbonate as respiratory $^{14}\text{CO}_2$ in man". Clin. Sci., 64, 231-233.

- COHEN, Y., ROBBINS, C.T. Y DAVITT, B.B. 1978. Oxygen utilization by elk calves during horizontal and vertical locomotion compared to other species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61A: 43-48.
- COOK, W.C. 1970. "Energy budget of the range and range livestock". Bull. TB109, Colorado State Univ., Fort Collins, Co., U.S.A.
- COOP, I.E. y HILL, M.K. 1962. "The energy requirements of sheep for maintenance and gain. 2. Grazing sheep". *J. Agr. Sci.*, 58, 187-199.
- CORBETT, J.L., LAMGLANDS, P.J. y BOYNE, A.W. 1961. "Energy expenditure for maintenance in cows strip grazing". En: *Proc. VIII Internat. Tarzucht Congr. Hauptberichte*, Hamburg, pág. 193-194.
- CORBETT, J.L., LENG, R.A. y YOUNG, B.A. 1969. "Measurements of Energy Expenditure by Grazing Sheep and the Amount of Energy Supplied by Volatile Fatty Acids Produced in the Rumen". En: *Proc. 4th Symposium on Energy Metabolism (EAAP Publication No. 12)*, eds. K.L. Blaxter, J. Kielanowski y G. Thorbek, Newcastle-on-Tyne: Oriel Press, pág.177-186.
- CORBETT, J.L., FARRELL, D.J., LENG, R.A., McCLYMONT, G.L. y YOUNG, B.A. 1971. "Determination of the energy expenditure of penned and grazing sheep from estimates of carbon dioxide entry rate". *Br. J. Nutr.*, 26, 277-291.
- COWARD, W.A., PRENTICE, A.M., MURGATROYD, P.R., DAVIES, H.L., COLE, T.J., SAWYER, M., GOLDBERG, G.R., HALLIDAY, D. y MACNAMARA, J.P. 1984. "Measurement of CO₂ and water production rates in man using ²H, ¹⁸O-labelled H₂O; comparisons between calorimeter and isotope values". En: *Human energy metabolism: Physical activity and energy expenditure measurements in epidemiological research based upon direct and indirect calorimetry. EURONUT-report 5*. Ed. A.J.H. van Es, Department of Animal Physiology Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, pág. 126-128.
- CRAIG, H. 1957. "Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide". *Geochim. Cosmochim. Acta*, 12, 133-149.
- CHAVEZ, I. 1983. Sheep Behaviour under two Grazing systems in a mid-grass range during the summer season in the central region of Chihuahua. Tesis Doctoral, Univ. Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México.
- CHEVALIER, R., PELLETIER, G. y GAGNON, M. 1984. "Sampling technique for collection of expired CO₂ in studies using naturally labelled ¹³C in calves". *Can. J. Anim. Sci.*, 64, 495-498.

- CHRISTOFERSON, R.J. 1967. Some effects of varying the quantity of poorly digested materials passing through the forestomach and intestinal tract of sheep. Tesis de Master. Universidad de Manitoba.
- CHRISTOFERSON, R.J. y WEBSTER, A.J.F. 1972. Changes during eating in oxygen consumption, cardiac function and body fluids of sheep. *J. Physiol.* 221: 441-457.
- CHURCH, D.C. 1969. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Vol. 1. Oregon State University, Corvallis.
- DAVIES, C.T.M. 1980. Effects of wind assistance and resistance on the forward motion of a runner. *J. Appl. Physiol.*, 48: 702-709.
- DIJKMAN, J.T. 1992. A note on the influence of negative gradients on the energy expenditure of donkeys walking, carrying and pulling loads. *Anim. Prod.*, 54: 153-156.
- DILEY, T.V. y HOBBS, N.T. 1989. Travel in alpine terrain: energy expenditures for locomotion by mountain goats and bighorn sheep. *Can. J. Zool.*, 67: 2368-2375.
- DOBSON, A., SCOTT, D. y BRUCE, J.B. 1966. Changes in sodium requirement of sheep associated with changes of diet. *Quart. J. Exp. Physiol.* 51: 311-323.
- DOUZIER, L. 1976. Diversity of muscular and adipose tissue: structure, growth and development. En: *Energy Metabolism of Farm Animals. Proc. 7 th Symp. Vichy, Francia. EAAP Publ. n°19. M. Vermorel (ed.). pag. 3-36.*
- DUKE, H.H. 1956. *The physiology of Domestic Animals.* Bailliere, Tindal & Cox, Londres.
- DULPHY, J.P., REMOND, B. y THERIEZ, M. 1980. Ingestive behaviour and related activities in ruminants. En: *"Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants"*, Y. Ruckebusch y P. Thivend, ed., pag. 103-122. AVI Publishing Company, Conneticut.
- DUQUETTE, L.S. 1984. Patterns of activity and their implications to the energy budget of migrating caribou. M.S. thesis. University of Alaska, Fairbanks.
- DURNIN, J.V.G.A. y PASSMORE, R. 1967. *Energy, Work and Leisure.* Londres: Heinemann.
- EKERN, A., BLAXTER, K.L. y SAWERS, D. 1965. The effect of artificial drying on the energy value of grass. *Br. J. Nutr.* 19: 417-434.
- ELDER, H.Y. y TRUEMAN, E.R. 1980. *Aspects of Animal Movement.* Cambridge University Press. Cambridge.

- ELIA, M., FULLER, N. y MURGATROID, O. 1988. "The potential use of the labelled bicarbonate method for estimating energy expenditure in man". Proceedings of the Nutrition Society, 47, 247-258.
- ENGELS, E.A.N., INSKIP, M.W. y CORBETT, J.L. 1976. "Effect of change in respiratory quotient on the relationship between carbon dioxide entry rate in sheep and their energy expenditure". En: Proc. 7th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals"(EAAP Publicación No. 19), editor M. Vermorel, pág. 339-342.
- FANCY, S.G. Y WHITE, R.G. 1985. Incremental cost of activity. En: Bioenergetics of Wild Herbivores. R. J. Hudson y R.G. White (eds.). CRC Pres. Boca Ratn, Florida. pag. 143-160.
- FARRELL, D.J., LENG, R.A. Y CORBETT, J.L. 1972. Under nutrition in grazing sheep. II. Calorimetric measurements on sheep taken from pasture. Aust. J. Agric. Res., 23: 466-509.
- FIERRO, L.C. y BRYANT, F.C. 1990. "Grazing Activities and Bioenergetics of Sheep on Native Range in Southern Peru". Small Rumin. Res. 3, 135-146.
- FLATT, W.P., WALDO, D.R., SYKES, J.F. y MOORE, L.A. 1958. "A proposed method of indirect calorimetry for energy metabolism studies with large animals under field conditions". En: 1st. Symposium on Energy Metabolism (EAAP publicación No. 8), eds. G. Thorbek y H. Aersøe. Roma: EAAP, pág. 101-109.
- FORBES, J.M., WRIGHT, J.A. y BANNISTER, A. 1972. A note on rate of eating in sheep. Animal Production, 15: 211-214.
- FORBES, J.M. 1986. The Voluntary Food Intake of Farm Animals. Butterworths, Londres.
- FREER, M., CAMPLING, R.C. y BALCH, C.C. 1962. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 4. The behaviour and reticular motility of cows receiving diets of hay, straw and oat straw with urea. British Journal of Nutrition, 16: 279-295.
- FREER, M. y CAMPLING, R.C. 1965. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 7. The behaviour and reticular motility of cows given diets of hay, dried grass, concentrates and ground, pelleted hay. Brit. J. Nutr. 19: 195-207.
- FRISH, J.E. y VERCOE, K.E. 1977. Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred cattle. Animal Production, 25: 343-358.

- FUJIARA, T. y NAKAO, T. 1982. Eating and ruminating behaviour in sheep given silage made from the fibrous residue of broad bean (*Vicia faba L.*). *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 98: 237-240.
- GARCIA, M.A. 1992. Estudio de la ingestión voluntaria y de la fermentación ruminal de pastos naturales de zonas semiáridas en ganado caprino y ovino. Tesis doctoral. Universidad de Granada.
- GARLICK, P.J., McNURLAN, M.A., MCHARDY, K.C., CALDER, A.G., MILNE, E., FEARN, L.M. y BROOM, J. 1978. "Rates of nutrient utilization in man measured by combined respiratory gas analysis and stable isotopic labelling: effect of food intake". *Human Nutrition: Clinical Nutrition*, 41C, 177-191.
- GATES, C.C. Y HUDSON, R.J. 1978. Energy cost of locomotion in wapiti. *Acta Theriol.*, 23: 365-370.
- GOERING, H.K. Y VAN SOEST, P.J. 1970. Forage Fiber Analyses, (Apparatus, Reagents, Procedures and some Applications). USDA Agriculture Handbook n°379. USDA-ARS. Washington, D.C. pág. 1-20.
- GOLDSPINK, G. 1977. Muscle energetics. En: *Mechanics and Energetics of Animal Locomotion*. R.McN. Alexander y G. Goldspink (eds.). Chapman & Hall. Londres. pag. 57.
- GORDON, J.G. 1955. Ruminantion in the sheep. Tesis doctoral. Universidad de Aberdeen.
- GRAHAM, N. McC. 1964. Energy cost of feeding activities and energy expenditure of grazing sheep. *Austr. J. Agr. Res.* 15: 969-973.
- HART, S.P. y POLAN, C.E. 1984. "Effect of sodium bicarbonate and disodium phosphate on animal performance, ruminal metabolism, digestion and rate of passage in ruminating calves". *J. Dairy Sci.*, 67, 2356-2368.
- HARUMOTO, T. y KATO, M. 1978. Effect of crude fibre content in the diets on ruminating behaviour of sheep. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Shimane University*, 12: 26-30.
- HAVSTAD, K.M. y MALECHEK, J.C. 1982. "Energy expenditure by heifers grazing crested wheatgrass of diminishing availability". *J. Range Manage.* 35, 447-450.
- HAYS, F.L. y WEBSTER, A.J.F. 1971. Effects of cold, eating, efferent nerve and angiotensin on heart rate in sheep before and after autonomic blockade. *J. Physiol.* 216: 21-38.
- HEGLUND, N.C. 1979. Size scaling, speed and the mechanics of locomotion. Ph. D. thesis. Harvard University, Cambridge.

- HEGLUND, N.C., CAVAGNA, G.A. Y TAYLOR, C.R. 1982. Energetics and mechanisms of terrestrial locomotion. 3. Energy changes of the center of mass as a function of speed and body size in birds and mammals. *J. Biol.*, 97: 22-56.
- HETHERINGTON, W. y RANSON, S.W. 1940. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anatomical Record*. 78: 149-172.
- HOLMES, C.W., STEPHENS, D.B. y TONER, J.N. 1976. Heart rate as a possible indicator of the energy metabolism of calves kept out-of-doors. *Livestock Prod. Sci.* 3: 333-341.
- HOLMES, C.W., MCLEAN, N.A. y LOCKYER, K.J. 1978. Changes in the rate of heat production of calves during grazing and eating. *N. Z. J. Agr. Res.* 21: 107-112.
- HOMSHER, E. 1987. Muscle enthalpy production and its relation to actomyosin ATP-ase. *Annu. Rev. Physiol.*, 49: 673-690.
- HOYT, D.F. Y TAYLOR, C.R. 1981. Gait and energetics of locomotion in horses. *Nature*, 292: 239-240.
- HUTTON, J.B. 1962. "Maintenance requirements of dairy cattle". *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 22, 12-34.
- INGRAM, D.L. y WHITTOW, G.C. 1962. The effects of variation in respiratory activity and in the skin temperature of the ears on the temperature of the blood in the external jugular vein of the ox (*Bos taurus*). *J. Physiol.* 163: 211-221.
- IRVING, C.S., LIFSCHITZ, C.H., WONG, W.W., BOUTTON, T.W., NICHOLS, B.L. y KLEIN, P.D. 1985. "Characterization of $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ pool sizes and kinetics in infants". *Pediatric Research*, 19(4), 358-363.
- ISAC, M.D. 1993. Comunicación personal.
- ISSEKUTZ, B., JR., PAUL, P., MILLER, H.I. y BORTZ, W.M. 1968. "Oxidation of plasma FFA in lean and obese humans". *Metabolism*, 17(1), 62-73.
- JONES, P.J.H., PENCHARZ, P.B., BELL, L. y CLANDININ, M.T. 1985. "Model for determination of ^{13}C substrate oxidation rates in humans in the fed state". *Am. J. Clin. Nutr.*, 41, 1277-1282.
- JORDANA, R. 1979. Efectores. Sistema muscular. En: *Fundamentos de Fisiología Animal*. F. Castejón, A. Fraile y F. Ponz. (eds.). Ediciones Universidad de Navarra, S.A. Pamplona. pag. 117-140.

- JOUBERT, D.M. 1956. An analysis of factors influencing postnatal growth and development of the muscle fibre. *J. Agric. Sci.*, 47: 59-102.
- KLEIBER, M. 1972. "Bioenergética animal. El fuego de la vida". Editorial Acribia, Zaragoza.
- KUSHMERICK, M.J., LARSON, R.E. Y DAVIES, R.E. 1969. *Proc. Royal Soc. London*, B174: 293-331.
- LABORATORIO DE GEOQUIMICA DE ISOTOPOS ESTABLES, 1985. Informe interno. Departamento de Fisicoquímica y Geoquímica Mineral. Estación Experimental del Zaidín (C.S.I.C.), Granada.
- LAMBOURNE, L.J. y REARDON, T.F. 1963. "Effect of environment on the maintenance requirements of Merino wethers". *Aust. J. Agr. Res.*, 14, 272-292.
- LANGLANDS, J.P., CORBETT, J.L., McDONALD, I. y REID, G.W. 1963. 2. "Grazing sheep". *Anim. Prod.*, 5, 1-9; 11-16.
- LARSSON, S. 1967. On the hypothalamic organisation of food intake. *Acta Physiologica Scandinavica*, Suppl. 249: 1-82.
- LEBLANC, J. Y LABRIE, A. 1981. Glycogen and non-specific adaptation to cold. *J. Appl. Physiol.*, 51: 1428-1436.
- LEHNINGER, A.L. 1975. *Biochemistry*. 2^a Ed. Worth. Nueva York.
- LIFSON, N., GORDON, G.B. y McCLINTOCK, R. 1955. "Measurement of total carbon dioxide production by means of D₂O¹⁸". *Journal of Applied Physiology*, 7, 704-710.
- LLOYD, B.B. Y ZACKS, R.M. 1972. The mechanical efficiency of treadmill running against a horizontal impeding force. *J. Physiol.*, London, 233: 355-363.
- LUICK, B.R. 1974. Nutrition and metabolism of reindeer and caribou in Alaska. Progress Report, Institute Arctic Biology. University of Alaska. Fairbanks.
- LUSK, G. 1921. *The Science of Nutrition*, Saunders, Philadelphia.
- LYMN, R.W. Y TAYLOR, E.W. 1971. *Biochem.*, 10: 4617-4624.
- MARGARIA, R. 1976. *Biomechanics and Energetics of Muscular Exercise*. Clarendon. Oxford.
- MATTFELD, G.F. 1974. The energetics of winter foraging by white-tailed deer: Perspective on winter concentration. Ph. D. thesis. New York State University, Syracuse.

- MATTHEUS, C.M.E., LASZLO, G., CAMPBELL, E.J.M., KIBBY, P.M. y FREEDMAN, S. 1968. "Exchange of $^{11}\text{CO}_2$ in arterial blood with body CO_2 pools". *Respiration Physiology*, 6, 29-44.
- MAYES, R.W., LAMB, C.S. y COLGROVE, P.M. 1984. "The use of both [^{14}C] and [^{13}C] tracers to derive models of carbon flux through plasma glucose and blood CO_2 pools in sheep". *Can. J. Anim. Sci.*, 64(Supl.), 122-123.
- McCREA, J.M. 1950. "On the isotopic chemistry of carbonates and a paleotemperature scale". *J. Chem. Phys.*, 18, 849-857.
- McDOUGALL, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, 43: 99-109.
- McLEOD, M.N. y MINSON, D.J. 1988. Large particle breakdown by cattle eating ryegrass and alfalfa. *Journal of Animal Science*, 66: 992-999.
- McLEOD, M.N. y SMITH, B.R. 1989. Eating and ruminating behaviour in cattle given forages differing in fibre content. *Animal Production*, 48: 503-511.
- MEYERHOF, O. y SCHULZ, W. 1935. Über die energieverhältnisse bei der enzymatischen milchsauerbildung und der synthese der phosphagen. *Biochem. Z.*, 281: 292-305.
- MIDWOOD, A.J., HAGARTY, P., MCGAW, B.A., ROBINSON, J.J. y FULLER, M.F. 1989. "Application of the heavy water technique for the measurement of energy expenditure to production animals". En: *Proc. 11th Symp. on Energy Metabolism of farm animals (EAAP Publicación No. 43)*, eds. y van der Honing y W.H. Close. Wageningen: Pudoc, pág. 341-344.
- MILLER-GRABER, P., LAWRENCE, L.M., FOREMAN, J.H., BUMP, K.D., FISHER, M.G. y KURCZ, E.V. 1991. Dietary protein level and energy metabolism during treadmill exercise in horses. *J. Nutr.*, 121: 1462-1469.
- MORAND-FEHR, P., OWEN, E. y GIGER-REVERDING, S. 1991. Feeding behaviour of goats at the trough. En: "Goat nutrition". P. Morand-fehr (ed.), Wageningen: Pudoc, pág. 3-24.
- OSUJI, P.O. 1971. Energy exchanges and related phenomena in sheep eating rations of different physical form. Tesis de Master. Universidad de Aberdeen.
- OSUJI, P.O. 1973. Ruminant energy metabolism: An analysis of the heat increment of feeding in sheep. Tesis Doctoral. Universidad de Aberdeen.

- OSUJI, P.O. 1974. The physiology of eating and the energy expenditure of the ruminant at pasture. *Journal of Range Management*, 27(6), 437-443.
- OSUJI, P.O., GORDON, J.G. y WEBSTER, A.J.F. 1975. Energy exchanges associated with eating and rumination in sheep given grass diets of different physical form. *Br. J. Nutr.* 34: 59-71.
- PACY, P.J., CHENG, K.N., THOMPSON, G.N. y HALLIDAY, D. 1989. "Stable isotopes as tracers in clinical research". *Ann. Nutr. Metab.*, 33, 65-78.
- PARKER, K.L. 1983. Ecological Energetics of Mule Deer and Elk: Locomotion and Thermoregulation. Ph. D. thesis. Washington State University, Pullman.
- PEDLEY, T.J. 1977. Scale Effects in Animal Locomotion. Academic Press. Londres.
- PENNYCUICK, C.J. 1975. On the running of the gnu (*Connochaetes taurinus*) and others animals. *J. Exp. Biol.*, 63: 775.
- PERRY, V.S. 1970. Biochemical adaptation during development and growth in skeletal muscle. En: *The physiology and biochemistry of muscle as a food*. E.J. Briskey, R.G. Cassens y B.B. Marsh (eds.). Univ. Wisconsin. Madison. Vol. 2, pag. 537-553.
- PERRY, S.V. 1985. The biochemistry and physiology of the muscle cell. *Proc. Nutr. Soc.*, 44: 235-243.
- PLAZA, J. 1989. "Necesidades energéticas de ovejas gestantes en pastoreo". Tesis doctoral. Universidad de León.
- PRIETO, C., MACRAE, J.C., BROCKWAY, J.M. y LOBLEY, G.E. 1982. "A comparison of different metabolic pools which can be sampled for bicarbonate activity in entry rate or substrate oxidation studies". En: *Proc. 9th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals* (EAAP Publicación No. 29), editores A. Ekern y F. Sundstol, Agricultural University of Norway, Noruega, pág. 70-73.
- PRIETO, C., MACRAE, J.C., BROCKWAY, J.M. y LOBLEY, G.E. 1982. (Resultados no publicados).
- PRIETO, C., AGUILERA, J.F., LARA, L. Y FONOLLA, J. 1990. Protein and energy requirements for maintenance of indigenous Granadina goats. *Br. J. Nutr.* 63, 155-163.
- PRIETO, C., LACHICA, M., GARCIA BARROSO, F., AGUILERA, J.F. y BOZA, J. 1991. "The effect of seasonal variation in grazing activities on the energy requirements of goats". En: *Proc. FAO Network of Cooperative Research on Sheep and Goat Nutrition*. Östersund, Suecia.

- PUGH, L.G.C.E. 1971. The influence of wind resistance in running and walking and the efficiency of work against horizontal and vertical forces. *J. Physiol.*, London, 48: 518-522.
- RAAB, J.L., ENG, P. Y WASCHLER, R.A. 1976. Metabolic cost of grade running in dogs. *J. Appl. Physiol.*, 41: 532-535.
- REID, J.T. 1958. Pasture evaluation-Nutritional and economic aspects of feed utilization by dairy cows. Ed. C.R. Hoglund. Iowa State College press, 135 pág.
- REYES, E., LINARES, J., CABALLERO, E., FIGUERUELA, G., DELGADO, A. y NUÑEZ, R. 1989. Génesis de los "sonajeros" del yacimiento de bentonita de Los Trancos, Cabo de Gata (Almería)". III Congreso de Geoquímica de España, Soria. Tomo I, pág. IV. 21-IV-28.
- RIBEIRO, J.M. DE C.R., BROCKWAY, J.M. Y WEBSTER, A.J.F. 1977. A note on the energy cost of walking in cattle. *Anim. Prod.*, 25: 107-110.
- ROBBINS, C.T. 1983. Wildlife feeding and nutrition. Academic Press. Nueva York.
- ROWE, R.W.D. 1968. Effects of low nutrition on size of striated muscle fibres in the mouse. *J. Exp. Zool.*, 167: 353-358.
- RUBNER, M. 1902. Die Gesetze des Energieverbruchs bei der Ernährung, p. 109.
- SAHLU, T., JUNG, H.G., NIENABER, J.A. y MORRIS, J.G. 1988. "Development and validation of a prediction equation estimating heat production by carbon dioxide entry rate technique". *J. Anim. Sci.*, 66, 2036-2043.
- SAHLU, T., JUNG, H.G. y MORRIS, J.G. 1989. "Influence of grazing pressure on energy cost of grazing by sheep on smooth bromegrass". *J. Anim. Sci.*, 67, 2098-2105.
- SAHLU, T., HART, S.P., KLEIN, P.D., JACQUEMET, N. y CARNEIRO, H. 1992. "Application of $^{13}\text{CO}_2$ measurements to the estimation of energy expenditure in goats". *Can. J. Anim. Sci.*, 72, 245-252.
- SANCHEZ, E. y ORTIZ, V. 1976. "Determinación del gasto energético por el ganado bovino a partir de sus hábitos y comportamiento en pastoreo de verano". *Tec. Pecu. Mex.* 32, 27-31.
- SANCHEZ, M.D. y MORRIS, J.G. 1984. "Energy expenditure of beef cattle grazing annual grassland". *Can. J. Anim. Sci.*, 64(Supl.), 332-334.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1972. Locomotion: Energy Cost of Swimming, Flying and Running. *Science*, 177: 222-228.

- SHIBATA, M., MUKAI, A. Y KUME, S. 1981. Estimation of energy expenditure in dairy heifers walking on the level and on gradients. Bull. Kyushu Natl. Agric. Exp. Stn., 21: 589-609.
- SOLOMON, A.K., VENNESLAND, B., KLEMPERER, F.W., BUCHANAN, J.M. y HASTING, A.B. 1941. "The participation of carbon dioxide in the carbohydrate cycle". Journal of Biological Chemistry, 140, 171-182.
- STACY, B.D. y WARNER, A.C.I. 1966. Balances of water and sodium in the rumen during feeding: osmotic stimulation of sodium absorption in the sheep. Quart. J. Exp. Physiol. 51: 79-93.
- STSC, INC. 1986. STSC User Manual: Statistical Graphics System by Statistical Graphics Corporation Rockville, Maryland, USA.
- TARTTELIN, M.F. 1969. The physiology of ventromedial hypothalamus of the sheep with special reference to food and water intake. Tesis doctoral, Universidad de Londres.
- TAYLOR, C.R., SCHMIDT-NIELSEN, K. Y RAAB, J.L. 1970. Scaling of energetic cost of running to body size in mammals. Ann. J. Physiol., 291: 1104-1107.
- TAYLOR, C.R., CALDWELL, S.L. Y ROWNTREE, V.J. 1972. Running up and down hills: some consequences of size. Science, 178: 1096-1097.
- TAYLOR, C.R., SHKOLNIK, A., DMI'EL, R., BAHARAV, D. Y BORUT, A. 1974. Running in cheetahs, gazelles and goats: energy cost and limb configuration. Ann. J. Physiol., 227: 848-850.
- TAYLOR, C.R., HEGLUND, N.C., McMAHON, T.A. Y LOONEY, T.R. 1980a. Energetic cost of generating muscular force during running: a comparison of large and small animals. J. Exp. Biol., 86: 9-18.
- TAYLOR, C.R., MALOIY, G.M.O., WEIBEL, E.R., LANGMAN, V.A., ZAMAN, J.M.Z., SEEHERMAN, H.J. Y HEGLUND, N.C. 1980b. Design of the mammalian respiratory system. 3. Scaling maximum aerobic capacity to body mass: wild and domestic animals. Resp. Physiol., 44: 25-37.
- TAYLOR, C.R. Y HEGLUND, N.C. 1982. Energetics and mechanics of terrestrial locomotion. Annu. Rev. Physiol., 44: 97-107.
- TAYLOR, C.R., HEGLUND, N.C. Y MALOIY, G.M.O. 1982. Energetics of terrestrial locomotion. I. Metabolic energy consumption as a function of speed and body size in birds and mammals. J. Exp. Biol., 97: 1-21.

- TEITELBAUM, P. y EPSTEIN, A.N. 1962. The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions. *Psychological Reviews*, 69: 74-90.
- TERNOUTH, J.H. 1968. Changes in the thiosulphate space and some constituents of the blood of sheep after feeding. *Res. Vet. Sci.*, 9: 345-349.
- TILLEY, J.M.A. y TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, 18: 104-111.
- TUCKER, V.A. 1970. Energetic cost of locomotion in animals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 34: 841-846.
- TYRRELL, H.F., PELLETIER, G., CHEVALIER, R., HILLAIRE-MARCEL, C. y GAGNON, M. 1984. "Use of carbon 13 as tracer in metabolism studies". *Can. J. Anim. Sci.*, 64(Supl.), 127-129.
- USTJANZEW, W. 1911. Die energetische Aquivalente der Verdauungsarbeit bei den Wiederkauern (Schafe). *Biochem. Z.*, 37: 457.
- VERMOREL, M., VERNET, J. y MARTIN-ROSSET, W. 1989. Energy utilization and diurnal variations of energy expenditure in saddle horses fed near maintenance. En: "Energy Metabolism of Farm Animals", Proc. 11th. Symp., Lunteren, Netherlands (Y. van der Honning y W.H. Close, ed.), EAAP Publ. No.43, Pudoc Wageningen, 267-270.
- VERMOREL, M. y MORMEDE, P. 1991. Energy cost of eating in ponies. En: "Energy Metabolism of Farm Animals". Proc. 12th Symp., Kartause Ittingen, Suiza, pág. 437-440.
- WAINMAN, F.W., BLAXTER, K.L., SMITH, J.S. y DEWEY, P.J.S. 1970. Calorimetric studies of the nutritive value of dried grass. En: "Energy Metabolism of Farm Animals". Proc. 5th Symposium., Vitznau, Switzerland (A. Schürch y C. Wenk, ed.), EAAP Publicación No. 13: 17-20.
- WALLACE, L.R. 1955. "Intake of dairy cows at pasture in relation to their productive performance". *Anim. Res. Div. New Zealand Dep. Agr. Rep.* 1955-6, 20 pág.
- WARNER, A.C.I. y STACY, B.D. 1972a. Intraruminal and systemic responses to variations in intake of sodium and potassium by sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 57: 89-102.
- WARNER, A.C.I. y STACY, B.D. 1972b. Water, sodium and potassium movements across the rumen wall of sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 57: 103-119.
- WEBSTER, A.J.F. 1967. Continuous measurement of heart rate as an indicator of the energy expenditure of sheep. *Brit. J. Nutr.* 21: 769-785.

- WEBSTER, A.J.F. y HAYS, F.L. 1968. Effects of beta-adrenergic blockade on the heart rate and energy expenditure of sheep during feeding and during acute cold exposure. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 46: 577-583.
- WEBSTER, A.J.F. 1972. Act of eating and its relation to the heat increment of feed in ruminants. En: *Bioenergetics International Symposium on Environmental Physiology*, Dublin. Amer. Soc. Exp. Biol., pág. 42-48.
- WEBSTER, A.J.F., OSUJI, P.O. y WEEKES, T.E.C. 1976. Origins of the heat increment of feeding in sheep. En: "Energy Metabolism of Farm Animals". Proc. 7th. Symp., Vichy, France (M. Vermorel, ed.), EAAP Publ. 19: 45-48.
- WEBSTER, A.J.F. 1978. Prediction of the energy requirements for growth in beef cattle. *World Reviw of Nutrition and Dietetics*, Vol. 30, pág. 189-226.
- WENHAM, D., PACY, P.J. y HALLIDAY, D. 1991. "Bicarbonate recovery: feeding v. time". *Proc. Nutr. Soc.*, 50(1), 47A.
- WHITE, R.G. y LENG, R.A. 1968. "Carbon dioxide entry rate as an index of energy expenditure in lambs". *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 7, 335-341.
- WHITE, R.G. Y YOUSEF, M.K. 1978. Energy expenditure in reindeer walking on roads and on tundra. *Can. J. Zool.*, 56: 215-223.
- WHITELAW, F.G., BROCKWAY, J.M. y REID, R.S. 1972. "Measurement of carbon dioxide production in sheep by isotope dilution". *Quarterly Journal of Experimental Phisiology*, 57, 37-55.
- WHITELAW, F.G. 1974. "Measurement of energy expenditure in the grazing ruminant". *Proc. Nutr. Soc.*, 33, 163-172.
- WILKIE, D.R. 1968. Heat, work and phosphorylcreatine breakdown. *J. Physiol. London*, 195: 157-163.
- WILSON, A.D. 1963. The effect of diet on the secretion of parotid saliva by sheep. 3. Observations of the secretion of saliva by grazing sheep. *Austr. J. Agric. Res.* 14: 808-814.
- WILSON, A.D. 1964. Parotid saliva and rumen digestion in sheep. *Brit. J. Nutr.* 18: 163-172.
- YAMAMOTO, S., McLEAN, J.A. y DOWNIE, A.J. 1979. "Estimation of heat production from heart-rate measurements in cattle". *Br. J. Nutr.*, 42, 507-513.
- YOSEF, M.K., DILL, D.B. y FREELAND, D.V. 1972. Energetic cost of grade walking in man and burro, *Equus asinus*: desert and mountain. *J. Appl. Physiol.*, 53: 337-340.

- YOSHIDA, T. NOTSUKI, I. Y OKUBO, T. 1959. Studies on the energy metabolism in Japanese Breed of Cattle. II. Energy metabolism during pulling work, especially on relations of speed and load to energy metabolism. Bull. Chyugoku nat. agric. Exp. Stn. Series B. 4: 75-92.
- YOUNG, B.A. y WEBSTER, M.E.D. 1963. "A technique for the estimation of energy expenditure in sheep". Australian Journal of Agricultural Research 14, 867-873.
- YOUNG, B.A. 1964. Physiological responses in sheep during eating and the energy cost of eating. Tesis Master, Universidad de Nueva Inglaterra, Armidale.
- YOUNG, B.A. 1966. Energy expenditure and respiratory activity of sheep during feeding. Aust. J. Agr. Res. 17: 335-362.
- YOUNG, B.A. 1968. "Maintenance energy requirement of grazing sheep". Tesis Doctoral, Universidad de Nueva Inglaterra, Armidale, Nueva Gales del Sur, Australia.
- YOUNG, B.A., LENG, R.A., WHITE, R.G., McCLYMONT, G.L. y CORBETT, J.L. 1969. "Estimation of energy expenditure from measurements of carbon dioxide entry rate". En: Proc. 4th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals (EAAP Publication No. 12), editores K.L. Blaxter, J. Kielanowski y G. Thorbek, Newcastle upon Tyne: Oriel Press Ltd., pág. 435-436.
- YOUNG, B.A. 1970. "Application of the carbon dioxide entry rate technique to measurement of energy expenditure by grazing cattle". En: Proc. 5th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals (EAAP Publicación No. 13), editores A. Schürch y C. Wenk, Zurich: Juris Druck+Verlag, pág. 237-241.
- YOUNG, B.A., CORBETT, J.L. 1972. "Maintenance energy requirement of grazing sheep in relation to herbage availability. I. Calorimetric estimates". Aust. J. Agric. Res., 23, 57-76.
- ZUNTZ, N., LOEWY, A., MULLER, F. y CASPARI, W. 1906. Hohenklima und Berwanderungen. Berlin: Deutsches Verlaugshaus Bong and Co.