

T. P. T 416

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**



UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha ... 19-3-98 .....
ENTRADA NUM. ... 1298 .....

***DISEÑO E INSTALACIÓN DE CÁMARAS***  
***DE CALORIMETRÍA INDIRECTA PARA EL ESTUDIO***  
***DEL METABOLISMO ENERGÉTICO EN PECES***

**CONSUELO ENJUTO VELASCO**  
**TESIS DOCTORAL**

**GRANADA**  
**1998**

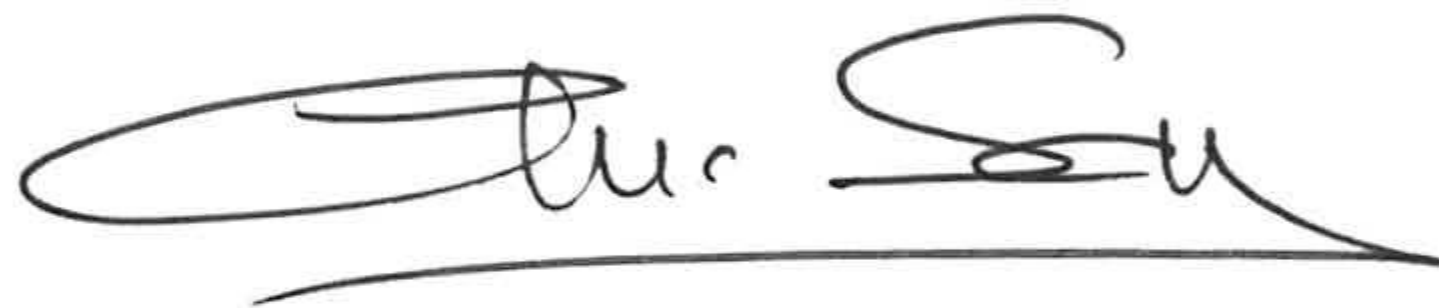
<b>BIBLIOTECA UNIVERSITARIA</b>
<b>GRANADA</b>
N.º Documento <u>513377346</u>
N.º Copia <u>615467685</u>



**DISEÑO E INSTALACIÓN DE CÁMARAS  
DE CALORIMETRÍA INDIRECTA PARA EL ESTUDIO  
DEL METABOLISMO ENERGÉTICO EN PECES**

**Memoria que presenta la licenciada en Ciencias Biológicas  
D<sup>a</sup> CONSUELO ENJUTO VELASCO  
para aspirar al grado de Doctora**

**Los Directores de trabajo:**

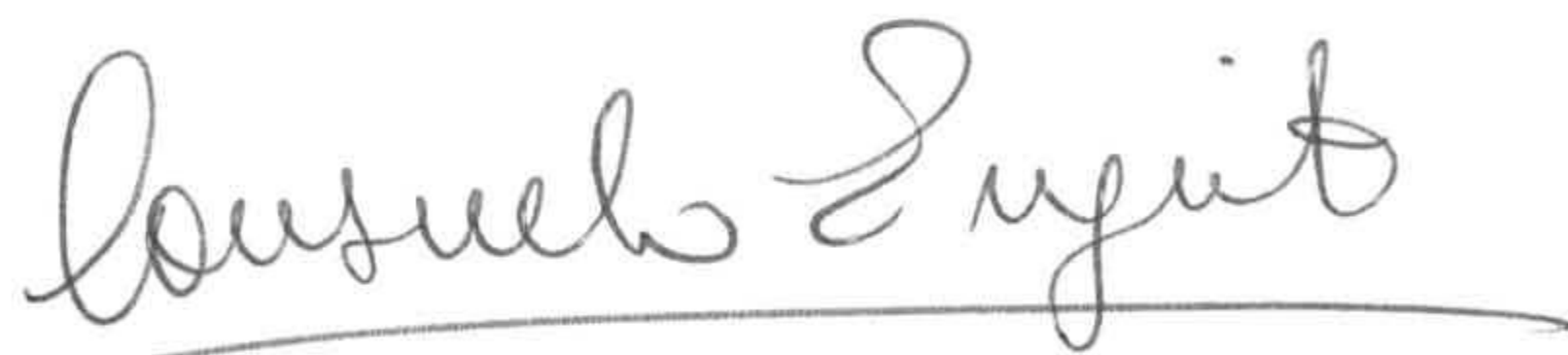


**Fdo.:**  
**Dra. Ana Sanz Rus**



**Fdo.:**  
**Dr. Manuel García Gallego**

**La aspirante:**



**Fdo.:**  
**Lda. Consuelo Enjuto Velasco**

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**Grupo de Investigación**  
**“Alimentación y Nutrición de peces”**

Los trabajos descritos en esta Memoria forman parte de un Proyecto de Investigación subencionado por la C.I.C.Y.T. (proyecto AGF92 - 0813): **“DISEÑO E INSTALACIÓN DE CÁMARAS DE CALORIMETRÍA INDIRECTA PARA PECES”**.

Parte de los resultados de este trabajo han sido presentados a la comunidad científica en:

- VI Congreso Nacional de Acuicultura. Cartajena (Murcia). Junio 1997.



Este trabajo no habría visto la luz sin el ánimo y participación de muchas personas. A todo el que generosamente cedió su tiempo, le damos nuestras sinceras gracias.

Personalmente, debo agradecer profundamente a los directores de esta tesis, la Dra. Ana Sanz Rus y el Dr. Manuel García Gallego su apoyo incondicional, su tiempo y su conocimiento.

También quiero extender este agradecimiento a todo el Grupo de Nutrición y Alimentación de peces que dirige el Dr. Manuel de la Higuera por su apoyo y cooperación.

A la Dra. Encarnación Morales por aportar su experiencia y ayuda en la puesta a punto de los sensores de amoníaco y dióxido de carbono.

A la Dra. Carmen Hidalgo por la inteligencia de sus observaciones y la discreción con la que ha compartido mis buenos y malos momentos durante estos años.

Al Dr. Juan Antonio Madrid de la Universidad de Murcia, que aportó valiosas sugerencias durante la fase de diseño del circuito cerrado.

A todo el equipo de técnicos que aceptaron el reto de la construcción de la cámara metabólica, especialmente a D. Francisco José Moreno que tan generosamente acudió en mi ayuda a cualquier hora del día o de la noche.

A la Piscifactoría Sierra Nevada S.A., por el suministro de los animales utilizados en este trabajo.

A mis amigos D. Manuel Martos García por sus dibujos, al Dr. Fernando Hernández Rojo por el diseño de la portada de mi ejemplar y por haber aguantado pacientemente mis obsesiones.

A todo el grupo de alumnos internos pero muy especialmente a Dña. Cristina Trenzado que cuidó de los animales algunos fines de semana para que yo pudiera descansar.

Finalmente debo expresar mi profundo aprecio a la ayuda indispensable de mi marido, quien no solamente ha soportado pacientemente este período de mi vida, sino que su rigor y su crítica han sido mis mejores aliados en la elaboración de este trabajo.



## ÍNDICE

1. OBJETO .....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 ENERGÉTICA ANIMAL: ASPECTOS GENERALES .....	5
2.2 CÁMARAS METABÓLICAS .....	13
2.3 COMPONENTES DE UN BALANCE ENERGÉTICO .....	37
2.3.1 ENERGÍA BRUTA DEL ALIMENTO (C) .....	42
2.3.1.1 CUANTIFICACIÓN Y VALORACIÓN ENERGÉTICA DE LA DIETA .....	42
2.3.1.2 RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN .....	44
2.3.1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA INGESTA .....	45
2.3.2 TASA METABÓLICA (R) .....	48
2.3.2.1 DISTINTAS FRACCIONES DE LA TASA METABÓLICA (R) .....	49
2.3.2.2 TÉCNICAS CALORIMÉTRICAS DE DETERMINACIÓN DE LA TASA METABÓLICA (R) .....	54
2.3.2.2.1 CALORIMETRÍA DIRECTA .....	54

2.3.2.2.2 CALORIMETRÍA INDIRECTA BASADA EN LA TASA DE CAPTACIÓN DE OXÍGENO .....	55
2.3.2.2.3 CALORIMETRÍA INDIRECTA BASADA EN LA TASA DE CAPTACIÓN DE OXÍGENO Y EXCRECIÓN DE AMONÍACO Y DIÓXIDO DE CARBONO .....	59
2.3.3 ACCIÓN DINÁMICA ESPECÍFICA (SDA) .....	63
2.3.4 ENERGÍA RETENIDA: PRODUCCIÓN Y CRECIMIENTO (P) .....	71
2.3.4.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO .....	74
2.3.5 PÉRDIDAS ENERGÉTICAS DE ORIGEN NITROGENADO (U) .....	79
2.3.5.1 SUSTANCIAS Y FORMAS DE EXCRECIÓN .....	80
2.3.5.2 DETERMINACIÓN DE LA EXCRECIÓN NITROGENADA .....	82
2.3.5.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXCRECIÓN NITROGENADA .....	84
2.3.6 PÉRDIDAS ENERGÉTICAS EN LAS HECES (F) .....	87
2.3.6.1 TÉCNICAS DE RECOGIDA .....	87
2.3.6.2 DETERMINACIÓN: DIRECTA E INDIRECTA .....	88
2.3.6.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXCRECIÓN DE HECES .....	90
2.4 DIÓXIDO DE CARBONO: MÉTODOS DE MEDIDA .....	92
3. RESULTADOS .....	95
3.1 DESCRIPCIÓN DE LA CÁMARA METABÓLICA .....	95
3.1.1 SISTEMA DE MANTENIMIENTO DE ANIMALES .....	96
3.1.2 ACONDICIONAMIENTO DEL AGUA DEL CIRCUITO .....	98
3.1.3 SISTEMA DE MEDIDAS .....	101
3.1.3.1 SENSOR DE OXÍGENO .....	102
3.1.3.2 SENSOR DE AMONÍACO .....	103



3.1.3.3 SENSOR DE DIÓXIDO DE CARBONO .....	106
3.1.4 CONTROL INFORMÁTICO .....	110
3.1.5 TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN .....	133
3.2 VERIFICACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DE LAS INSTALACIONES DE CALORIMETRÍA INDIRECTA .....	142
3.2.1 DETERMINACIONES PREVIAS .....	142
3.2.2 DETERMINACIÓN DE LA TASA METABÓLICA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y RACIÓN DE MANTENIMIENTO EN <i>CARASSIUS AURATUS</i> .....	144
3.2.2.1 INTRODUCCIÓN .....	145
3.2.2.2 MATERIALES Y MÉTODOS .....	146
3.2.2.3 RESULTADOS .....	155
3.2.2.3.1 REGISTROS CONTINUOS DURANTE UN PERÍODO DE 72 HORAS, DE LA TASA METABÓLICA DEL CARPÍN ( <i>CARASSIUS AURATUS</i> ) EN RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN DIARIA A NIVEL DE MANTENIMIENTO .....	155
3.2.2.3.2 REGISTROS CONTINUOS DE LA TASA METABÓLICA EN CICLOS DE 24 HORAS, CON DIFERENTES INGESTAS (A NIVEL DE MANTENIMIENTO) Y A LAS TEMPERATURAS DE 20, 21 Y 25 °C .....	162
3.2.2.3.3 REGISTROS CONTINUOS DEL CONSUMO DE OXÍGENO DURANTE 72 HORAS: EL PRIMER CICLO EN RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN SEGUIDO DE 48 HORAS DE AYUNO, A TEMPERATURAS DE 20, 21 Y 25 °C .....	182
3.2.2.3.4 REGISTRO CONTINUO DE LA EXCRECIÓN NITROGENADA .....	196
3.3 VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS .....	199
3.3.1 ESTABILIDAD DE LA TASA METABÓLICA A TEMPERATURA CONSTANTE Y RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN DE MANTENIMIENTO .....	199
3.3.2 EFECTO DE LA INGESTA Y DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TASA METABÓLICA .....	203
3.3.3 EFECTO DEL AYUNO EN LA TASA METABÓLICA .....	215



3.3.4 EXCRECIÓN DE AMONÍACO A LA TEMPERATURA DE 21 °C E INGESTA A NIVEL DE MANTENIMIENTO .....	221
3.3.5 BALANCE ENERGÉTICO A 21 °C E INGESTA DE MANTENIMIENTO .....	225
3.3.6 CALIBRACIÓN DE LA CÁMARA METABÓLICA .....	229
4. VALORACIÓN GENERAL .....	235
5. APÉNDICES .....	237
5.1 APÉNDICE A: BASES DEL FUNCIONAMIENTO DE UN FILTRO BIOLÓGICO .....	237
5.2 APÉNDICE B: OXÍGENO DISUELTO EN AGUA .....	241
5.3 APÉNDICE C: AMONÍACO DISUELTO EN AGUA .....	249
5.4 APÉNDICE D: DIÓXIDO DE CARBONO DISUELTO EN AGUA .....	257
6. BIBLIOGRAFÍA .....	263

1. OBJETO



## OBJETO

La creación de la infraestructura necesaria para la realización de estudios de metabolismo energético en peces era algo que se nos venía planteando desde hace tiempo. Considerábamos que los estudios de nuestro Grupo de Investigación sobre la utilización nutritiva de la dieta por estos animales quedaban incompletos si, además, no se enfocaban desde un punto de vista energético, ya que en definitiva es el alimento/dieta lo que aporta la energía necesaria para que el animal pueda realizar sus distintos procesos vitales y, en definitiva, vivir.

Desde el punto de vista termodinámico, los seres vivos se consideran sistemas abiertos alejados del equilibrio de forma que, cuando el suministro de energía cesa se tiende a alcanzar dicho equilibrio y el animal muere. Así pues, el aporte más o menos constante de energía al animal es necesario para que éste pueda mantener sus estructuras y funciones, cumpliendo el *Principio de Conservación de la Energía*.

Los estudios de bioenergética nutricional nos permiten determinar la cantidad de energía que un animal necesita para vivir, ya que éste debe conseguir tanta energía en forma de moléculas de alimento como la suma de toda la que disipe y almacene. Para estudiar pormenorizadamente las variables que intervienen en el metabolismo energético de los peces, se emplea la ecuación del *Principio de Conservación de la Energía* desarrollada en los términos siguientes:

$$C = R + U + F + P$$



donde **C** es la energía bruta del alimento ingerido, **R** constituye la energía disipada en forma de calor (tasa metabólica), **U** son las pérdidas energéticas metabólicas asociadas a las excretas nitrogenadas, **F** equivale a las pérdidas energéticas de procedencia fecal y **P** es la fracción de energía que queda retenida en el cuerpo del pez.

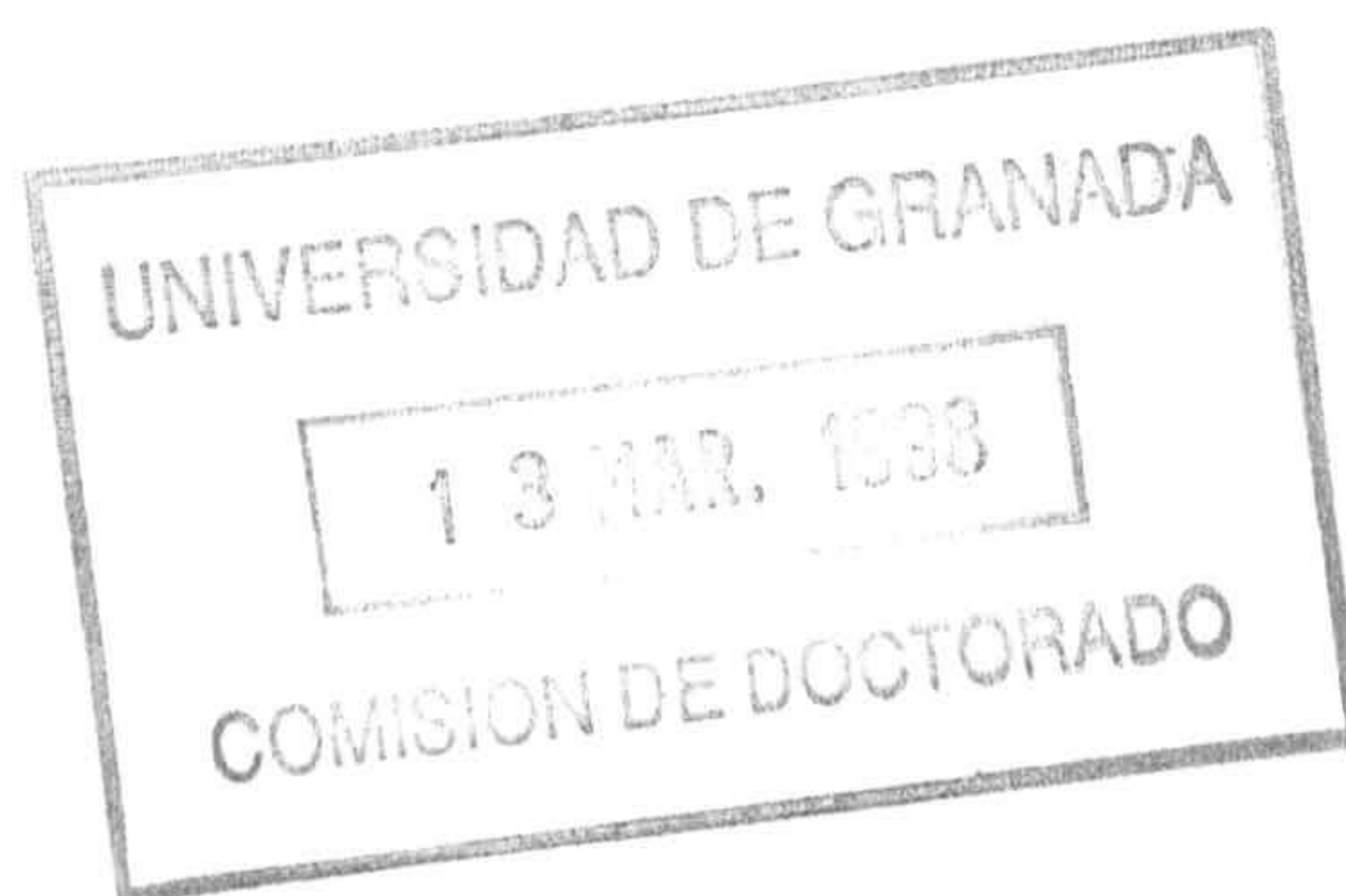
El objetivo primordial en un cultivo de peces es maximizar la supervivencia y el crecimiento al coste más bajo posible; es obvio que gran parte del éxito de estos cultivos depende del aporte de piensos que contengan, entre otras cosas, niveles adecuados de energía, así como unas proporciones apropiadas de los nutrientes que la aportan.

Los estudios de energética de la nutrición en peces se encuentran menos desarrollados que en aves y mamíferos y no hay duda de que el enfoque bioenergético y el uso de modelos predictivos son potencialmente de gran beneficio para la acuicultura. Los balances energéticos se pueden realizar en cortos periodos de tiempo, permitiendo hacer predicciones rápidas de los efectos que sobre el crecimiento pueden tener distintos factores tanto bióticos como abióticos, incluyendo composición de la dieta, tamaño de ración, condiciones de cultivo, etc. Todo ello justifica sobradamente, en nuestra opinión, el interés de este tipo de estudios.

Este trabajo de tesis doctoral, que se ha realizado fundamentalmente gracias a un proyecto subencionado por la CICYT (AGF92.0813), contempla una parte primera y principal que comprende **el diseño y la construcción de cámaras de calorimetría indirecta para realizar estudios de metabolismo energético en peces**. Optamos por el tipo de cámaras para estudios por calorimetría indirecta en vez de directa, por ser éstas más efectivas para medir el componente **R** en animales acuáticos. Además, con las modificaciones pertinentes, permiten que se pueda realizar la determinación de todos los componentes de la ecuación, antes indicada, del reparto energético. El diseño se inspiró inicialmente en lo descrito en la literatura referente al tema (no muy abundante, por cierto) pero se introdujeron modificaciones completamente novedosas y para las que no había referencia anterior en la que basarse. Así pues, aunque disponíamos de los conocimientos teóricos, era necesario llevarlos a la práctica.



El segundo objetivo de la presente tesis doctoral, lógico complemento del anterior, comprende la **verificación de que la instalación diseñada y construida resulta adecuada para realizar los estudios de metabolismo energético** anteriormente comentados. Implica numerosas pruebas de tipo físico (controles de flujo de agua a las cubas de los peces, dispositivos de mantenimiento de la calidad del agua y unidades de medida, etc.), químico - biológico (dimensionamiento y ajuste de los filtros mecánicos, de carbón activo y biológico, calibración y ajuste de sensores, etc.), informático (verificaciones y sucesivas correcciones del *software* y, en menor medida, del *hardware* para adaptarlos a las necesidades concretas del trabajo con peces) y biológico (alimentación, recogida de heces, controles de consumo de oxígeno, excreción de amoníaco y dióxido de carbono, etc. ).



## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



# 2

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ENERGÉTICA ANIMAL: ASPECTOS GENERALES

Una característica esencial de los seres vivos, es que a lo largo de su existencia mantienen un bajo nivel de entropía, es decir son altamente e improbablemente *organizados*. En un Universo en el que existe una tendencia natural hacia el *desorden*, observamos con asombro que una parte del mismo, no sólo se mantiene organizado sino que tiende a propagar ese orden. Este hecho parece desafiar el Segundo Principio de la termodinámica, que nos asegura que la entropía de cualquier sistema *aislado* aumenta de forma espontánea e irreversible hasta hacerse máxima al alcanzar el equilibrio en las condiciones existentes. La aparente paradoja queda resuelta al constatar que los seres vivos no pueden considerarse sistemas *aislados*, sino sistemas *abiertos y muy alejados del equilibrio*, ya que intercambian continuamente materia y energía con su entorno.

La **entropía** de un sistema *abierto* puede variar por dos motivos:

- a) Porque tienen lugar **procesos irreversibles** en su interior.
- b) Por **intercambios de masa y energía** del sistema con su entorno.

Los procesos irreversibles producen siempre **incrementos de entropía**; pero los intercambios de masa y energía pueden hacer que la entropía aumente, permanezca constante o, incluso, **disminuya**. Esto hace que la variación total de entropía del sistema pueda tomar cualquier signo, dependiendo de los valores relativos de las dos contribuciones. Por tanto,



aunque en un sistema abierto se estén llevando a cabo procesos irreversibles, su **entropía total puede disminuir** y aparecer espontáneamente en él un **mayor grado de orden**.

Para el gran físico austriaco E. Schrödinger (1944), un ser vivo es un sistema altamente ordenado que se *alimenta de entropía negativa*, es decir, que se ordena a base de desordenar su entorno.

El desarrollo moderno de la Termodinámica ha conducido a una descripción cuantitativa de los procesos irreversibles en sistemas abiertos. Esta nueva teoría termodinámica tuvo su comienzo en 1931, con la formulación de Onsager de las relaciones que llevan su nombre entre los coeficientes de las ecuaciones fenomenológicas del flujo. La formulación de la teoría Termodinámica de Procesos Irreversible (TPI), basada fundamentalmente en los trabajos de Onsager y Katchalky, ha sido desarrollada en los últimos 30 años por Casimir, Prigogine, de Groot, Maixner y otros muchos.

En esta teoría, a los intercambios de materia y calor se les denominan *flujos*, y *fuerzas* a los gradientes que los originan. Es bien conocido que un gradiente de temperatura produce un flujo de calor (ley de Fourier), un gradiente de concentraciones un flujo de materia (ley de Fick) y un gradiente de potencial eléctrico un flujo de cargas (ley de Ohm). La TPI generaliza los conceptos de *flujos* y *fuerzas* a las reacciones químicas, que se producen dentro del sistema, ya que éstas dan lugar a entradas y salidas de sustancias en el mismo. El flujo se identifica con la *velocidad de la reacción*, medida como la variación del número de moles de cada especie química que entra o sale del sistema por unidad de tiempo, y la fuerza se identifica con la *afinidad* de la reacción  $A_r$  (magnitud que viene expresada a T y P constantes por  $-\Delta G$ ). Se llaman *ecuaciones constitutivas* al conjunto de relaciones entre flujos y fuerzas.

La suma de los productos de cada flujo por su fuerza conjugada es la llamada *función de disipación*  $\Phi$ . La *función de disipación* expresa la *velocidad con que se disipa energía libre en el sistema* y está relacionada directamente con la *tasa de producción de entropía*.

La existencia de la *función de disipación* pone de manifiesto claramente que es necesario un *gasto continuo de energía libre* para que los sistemas abiertos se mantengan fuera del equilibrio. Además, puesto que la  $\Phi$  siempre es



mayor que cero, *cuando sólo ocurre un proceso irreversible*, el flujo y la fuerza han de tener el mismo signo. Es decir, espontáneamente ningún flujo puede ir en contra de su propia fuerza. Una reacción química aislada, por ejemplo, no puede ir en sentido contrario de lo que indica el signo de su afinidad. Ninguna sustancia se puede transportar por sí sola y espontáneamente en contra del gradiente, etc. Para que algún flujo pueda ir en contra de su propia fuerza es necesario que simultáneamente ocurran otros procesos, pudiendo entonces ser algún término del sumatorio negativo, siempre que la suma total sea positiva. Esto ofrece la posibilidad de *acoplamiento* entre procesos (unos serían posentrópicos y otros negaentrópicos) en la misma microrregión del espacio.

La *función de disipación* juega en la TPI un papel análogo al que la entropía representa en la termodinámica clásica y, como ésta, proporciona *criterios de evolución* para sistemas abiertos sometidos a algún tipo de restricción.

En las proximidades del equilibrio, cuando las *ecuaciones constitutivas son lineales*, la función de disipación decrece continuamente hasta hacerse mínima en los estados *estacionarios* (caracterizados porque todos los flujos se hacen constantes). Esto pone de manifiesto que los estados estacionarios próximos al equilibrio son *estables*, es decir, que después de ser perturbados levemente vuelven espontáneamente al estado estacionario haciéndose mínima la función de disipación (mínima producción de entropía).

Ahora bien, en la mayoría de los procesos que ocurren en los seres vivos, dichas ecuaciones son *no lineales*, debido sobre todo a las reacciones químicas, pues en ellas sólo se cumple la condición de linealidad cuando las afinidades son muy inferiores al *fondo térmico* del sistema, ruido caracterizado por el término  $RT$ , que a las temperaturas habituales es ciertamente pequeño (2.48 kJ/mol a 25 °C). Solamente cuando las reacciones están muy próximas al equilibrio (algo que rara vez sucede), sus afinidades son suficientemente pequeñas comparadas con  $RT$  y se cumple la condición de linealidad.

Así pues *los organismos vivos son sistemas a los que hay que suministrar continuamente energía* para que puedan mantener sus estructuras y funciones muy alejados del equilibrio. Por este motivo las estructuras que aparecen en los sistemas alejados del equilibrio han sido denominadas *estructuras disipativas* (Prigogine, Nicolis, 1967). Si el suministro de energía cesa (p. e. si se



interrumpe la respiración) éstas tienden a alcanzar el estado de equilibrio perdiendo el orden espacial y los ritmos temporales, es decir, mueren.

Por otra parte los animales cumplen el Principio de conservación de la energía y pueden considerarse máquinas químicas que utilizan la energía contenida en los alimentos transformándola, mediante los procesos metabólicos, en otras formas de energía, útiles biológicamente, para satisfacer las necesidades energéticas del transporte activo, la contracción muscular, la síntesis de moléculas de alto contenido energético o de moléculas complejas con la subsiguiente organización de éstas en orgánulos, células, tejidos y sistemas de órganos.

El metabolismo, en sentido amplio, engloba la suma total de las reacciones químicas que ocurren en un organismo. Se trata de una compleja red de procesos interrelacionados, que no se producen al azar sino en secuencias ordenadas y reguladas por mecanismos de control genéticos y químicos. El acoplamiento de unos procesos con otros hace posible que algunos de ellos tenga lugar en dirección no natural ( $\Delta G > 0$ ) impulsados por otros en los que tiene lugar una fuerte disminución de la energía libre. Continuamente se producen de forma espontánea decenas de miles de reacciones químicas irreversibles acompañadas de un gasto de energía libre y producción de entropía, por esta razón es ilusorio intentar el cálculo directo de la función de disipación para un organismo vivo en su conjunto. No obstante el principio de conservación de la energía nos dice que la mayor parte de la energía liberada en el metabolismo aparece finalmente en forma de calor; el resto es energía almacenada en nuevos tejidos o trabajo externo. Este hecho nos permite utilizar la producción de calor por unidad de tiempo (tasa metabólica) como *indicador integral* del metabolismo energético (calorimetría directa).

Ahora bien, la mayor parte de los seres vivos son organismos esencialmente aeróbicos que toman oxígeno para la combustión de nutrientes, presentes en los alimentos, con liberación de dióxido de carbono, productos nitrogenados y calor; ello convierte a la *tasa de consumo de oxígeno* en otro *indicador integral* (equivalente a la producción de calor) del metabolismo energético, aunque la glucólisis anaerobia desempeña también un pequeño papel en la mayor parte de los vertebrados durante las actividades repentinas.

Para hacer un balance completo del metabolismo es necesario expresar



todos sus componentes en términos de energía. Es usual medir el contenido energético de la ingesta en bomba calorimétrica pero existe otro método alternativo, aplicable no sólo a la ingesta, sino también a tejidos almacenados e incluso a las heces, que consiste, en analizar su composición y agrupar las moléculas encontradas en tres grupos de macronutrientes: proteínas, grasas y carbohidratos. La oxidación completa de estos sustratos liberan aproximadamente 23.64 kJ/g, 39.5 kJ/g y 17.2 kJ/g de proteína, grasa y carbohidrato respectivamente, aunque los productos finales de la oxidación (en el caso de las proteínas) y la composición de ácidos grasos (en el caso de las grasas) pueden dar lugar, como se verá más adelante a correcciones en los dos primeros valores.

El oxígeno consumido, en cada caso, está en relación con el calor liberado; pudiéndose establecer un valor oxicalórico  $Q_{ox}$  para cada uno de los tres grupos de macronutrientes, y un valor oxicalórico compuesto para cualquier sustrato formado por proteínas, grasas y carbohidratos. Ello nos permite utilizar el consumo de oxígeno como otra forma de medida (además del calor liberado) de la tasa metabólica en los casos en que la glucólisis anaerobia sea despreciable (calorimetría indirecta).

La **tasa metabólica** varía mucho con la temperatura, tamaño corporal y cantidad y tipo de alimentación; pero también con la hora del día, época del año, edad, estrés, sexo y reproducción. En consecuencia las **tasas metabólicas sólo pueden compararse significativamente en condiciones cuidadosamente elegidas y estrictamente controladas**, con el fin de evaluar el coste energético de los procesos y actividades de un organismo.

Para comparar las **líneas de base** de las tasas metabólicas de distintos organismos se ha definido la **tasa metabólica basal** que es *la tasa estable del metabolismo energético, medida en condiciones de **reposo absoluto**, después de que el ayuno detenga temporalmente los procesos absorptivos y digestivos.*

Se comprenden las dificultades que plantea el medir en experimentos controlados la tasa metabólica basal, ya que es prácticamente imposible conseguir que los organismos vivos se mantengan en reposo absoluto durante el periodo de tiempo necesario. Por otra parte, sólo los homeotermos mantienen **su temperatura corporal** próxima a un valor determinado (37 °C en mamíferos y cercano a 40 °C en aves); en cambio los poiquilotermos son organismos cuya



temperatura corporal tiende a fluctuar con la temperatura del medio ambiente. Puesto que la tasa metabólica es muy sensible a la temperatura corporal, es necesario que en poiquilotermos su equivalente a la tasa metabólica basal se mida a una temperatura controlada. Estas razones han aconsejado definir la **tasa metabólica estándar (Rs)** como *la tasa estable del metabolismo energético, medida a una temperatura determinada, en condiciones de mínimo estrés ambiental y fisiológico, después que el ayuno detenga temporalmente los procesos absorptivos y digestivos.*

A pesar de que la **tasa metabólica estándar** presenta fluctuaciones relacionadas con los ritmos circadianos y estacionales, es en la actualidad la mejor **línea de base** para comparar **tasas metabólicas mínimas** en diferentes organismos, sean estos de la mismo especie o no.

Se ha observado que existe una completa coordinación en el crecimiento de los seres vivos ya que el tamaño y forma de los órganos cambia de acuerdo con el tamaño del organismo según una estricta correlación, *no lineal*, llamada **relación alométrica**.

$$y = aW^b$$

Donde:

- **W** es el peso (o masa corporal)
- **b** es el exponente del peso
- **a** es un coeficiente específico

En particular la **tasa metabólica estándar (Rs)** se relaciona de forma alométrica con el peso:

$$Rs = aW^b$$

Su forma logarítmica se representa gráficamente por una recta de pendiente **b** (exponente del peso).

Un hecho notable es que, en una amplia muestra de organismos, el



exponente del peso  $b$  sea muy similar.

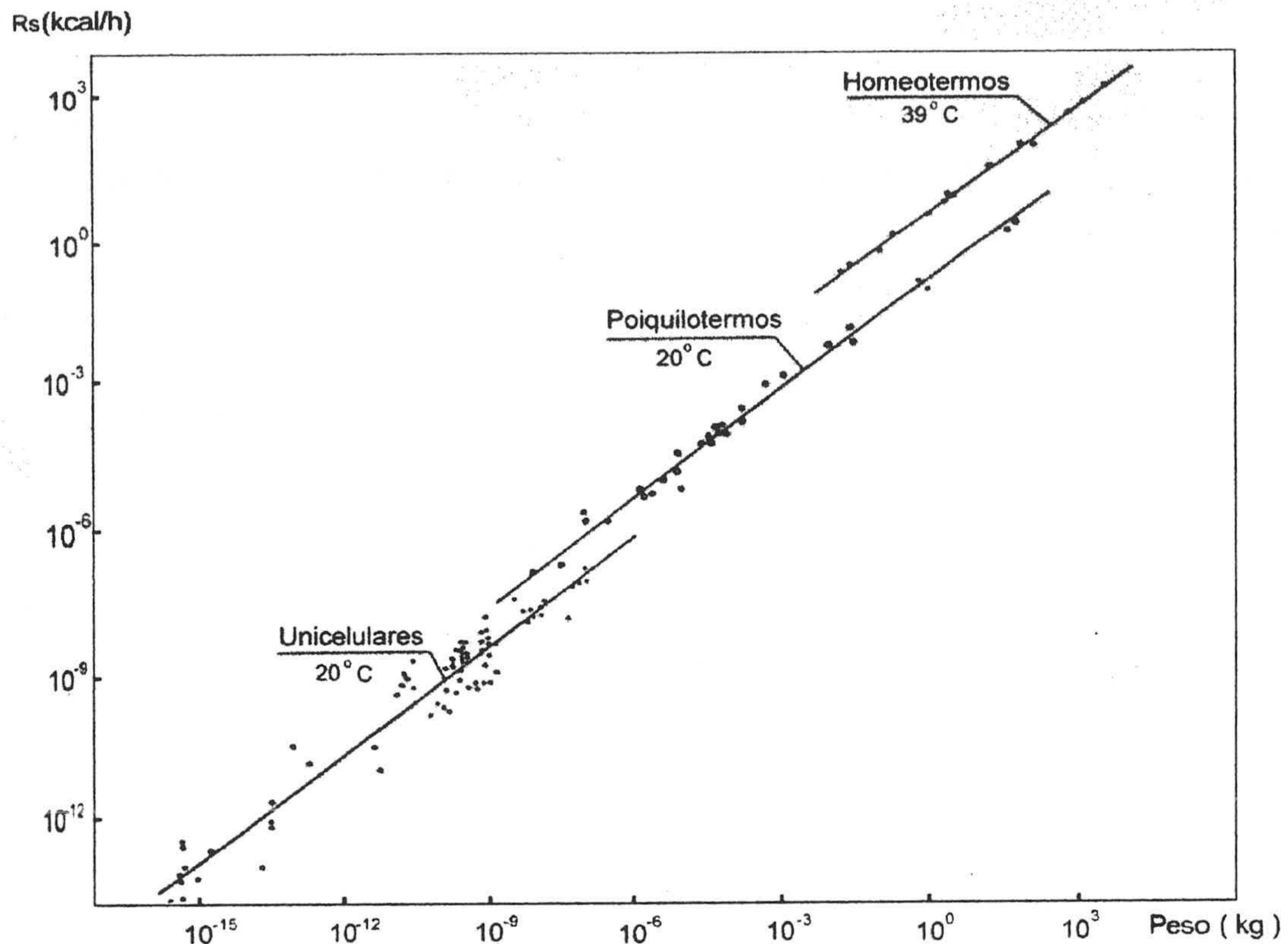


Figura 2 - 1

En el gráfico de la figura 2-1 (Hemmingsen, 1969) se comparan las tasas metabólicas mínimas de animales adultos de distintos pesos (unicelulares y poiquiloterms a 20 °C y homeotermos a 39 °C). Todas las líneas tienen una pendiente de **0.75**

Se demuestra así que la relación alométrica de las tasas metabólicas mínimas no sólo resulta cierta para organismos de la misma especie (alometría intraespecie) sino también para organismos adultos de especies diferentes (alometría interespecies).

Exponentes del peso próximos a 0.75 para una amplia muestra de especies de vertebrados, invertebrados y unicelulares son aceptados casi universalmente desde hace mucho tiempo en la bibliografía de estudios metabólicos. En el caso de los peces, el grupo en el que los estudios metabólicos se encuentra más atrasados, los trabajos más completos apuntan a



exponentes comprendidos entre 0.75 y 0.85, siendo frecuente el uso de un exponente del peso intermedio de 0.8. En cualquier caso es de la mayor importancia el hecho de que el exponente del peso sea inferior a 1, pues implica que el metabolismo por unidad de peso decrece exponencialmente a medida que se incrementa el peso, tal como puede verse en la figura 2-2, donde el gráfico de izquierda muestra las formas exponenciales y el de la derecha las formas logarítmicas.

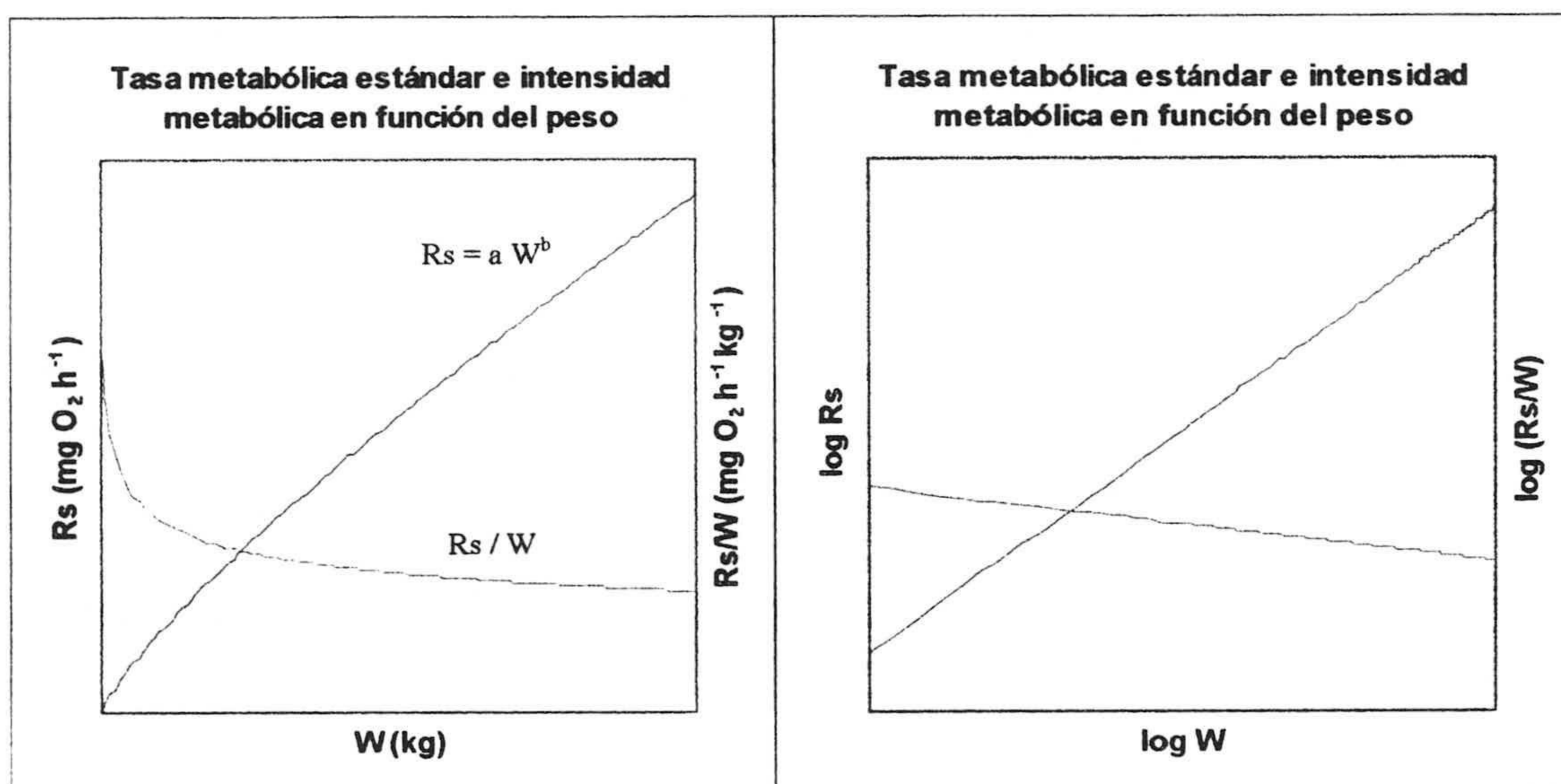


Figura 2-2

Circunstancia esta que hay que tener en cuenta no sólo para comparar tasas metabólicas de animales de distinto peso entre sí, sino también para determinar el nivel de alimentación, ya que éste es a menudo calculado como porcentaje del peso. Una buena alternativa utilizada por muchos autores, es expresar la ingesta por unidad de peso metabólico. La exponencial decreciente del gráfico, es  $R_s/W$  y nos muestra que el metabolismo por unidad de peso decrece al aumentar éste y no permanece constante e independiente de él, cosa que sucedería si el exponente del peso fuera igual a 1.



## 2.2 CÁMARAS METABÓLICAS

La calorimetría directa es un método para medir la tasa metabólica a partir del calor liberado en el metabolismo energético. Para ello, se monta un dispositivo en el que la fuente de calor animal que se quiere medir, provoque variaciones térmicas sobre un cuerpo calorimétrico que en el caso de los peces es agua; calculándose la producción de calor a partir de las variaciones de temperatura que se producen en un intervalo de tiempo dado.

La bibliografía recoge pocos trabajos sobre estudios de calorimetría directa en peces, probablemente porque éstos, no son sujetos ideales para la aplicación de este método, donde, si bien el calor producido por los procesos metabólicos pasa rápidamente al agua circundante sin pérdidas por evaporación, convección y radiación (como puede ocurrir con animales terrestres), la alta capacidad calorífica del agua requiere que se produzcan incrementos significativos de calor para que se puedan medir correctamente. Otro inconveniente que tiene esta técnica, es que la cámara debe de estar térmicamente aislada, lo que limita la variedad y duración de los estudios metabólicos.

Ya en 1966, **Davies** publicaba sus mediciones de la producción de calor en el carpín dorado con un microcalorímetro que constaba de dos vasos Dewar de una pinta (0.57 litros) de capacidad, con idénticas constantes de conductividad y aislados en cilindros de estaño con serrín. El vaso I era el experimental y el II actuaba como control, conteniendo ambos 200 ml de agua saturada de aire. La diferencia de temperatura entre los vasos se medía con un termopar de cobre constatan conectado a un galvanómetro de espejo, calibrado a intervalos regulares de tiempo. Tras introducir 3 peces en el vaso I procurando que la temperatura estuviera ligeramente por debajo de 21.5 °C (temperatura de aclimatación de los animales), se hicieron medidas a intervalos de 6-7 horas en condiciones preabsortivas, obteniendo, en 16 experimentos un valor medio de temperatura de 21.8 °C con una desviación estándar de  $\pm 0.26$  °C.

**Smith (1976)** defiende el método de calorimetría directa por las razones apuntadas antes sobre que las pérdidas de calor por irradiación y evaporación, que habitualmente complican la aplicación de la calorimetría directa a animales terrestres, no tienen relevancia en el medio acuático. Así midió (Smith, 1977) la producción de calor en cuatro especies de salmónidos, usando un calorímetro



adiabático modificado, en el que sustituyó el termómetro original por otro diferencial Beckman, capaz de leer milésimas de grado. También calculó el equivalente térmico del calorímetro y comprobó que sin animales durante 8 horas no se producían cambios de temperatura, de manera que al poner los peces en el calorímetro, cualquier subida de la temperatura debería ser atribuida al calor que producen los animales. Las medidas se hacían en un intervalo de tiempo de 6-8 horas, por lo que según **Van den Thillart (1977)**, los peces del experimento estaban aún bajo los efectos del estrés de manejo y los resultados no reflejaban la verdadera tasa metabólica basal; además, según **Brett y Groves (1979)** los datos presentados llevaban a considerar que la sensibilidad de la respuesta metabólica no era fácilmente detectada debido a la alta capacidad calorífica del agua.

**Lowe (1978)** utilizó un calorímetro con dos termistores situados a la entrada y salida del recipiente para detectar la temperatura del agua que pasa a través de ellos. Estos termistores se incorporan al circuito de un puente de Wheatstone para determinar con exactitud sus correspondientes resistencias y con ello la diferencia de temperatura a la entrada y salida.

**Van Waversveld et al. (1987)** midieron la producción de calor en el carpín dorado en un microcalorímetro de flujo continuo, que les permitía controlar la producción de calor durante un período de tiempo mayor y en animales teóricamente libres de estrés. Finalmente, **Van Waversveld et al., (1989)** recogen en una revisión sobre la producción de calor los resultados de todos estos experimentos y realizan un estudio comparativo que pone de manifiesto una gran disparidad de datos que achacan, en gran medida, a los diferentes protocolos experimentales, tamaño de los peces, duración del período de ayuno, duración de la estancia de los peces en los calorímetros, etc., concluyendo que la calorimetría directa es una técnica cara y complicada, por lo que resulta preferible la utilización de la calorimetría indirecta para medir la producción de calor.

La aplicación de las técnicas de calorimetría indirecta para la determinación del balance energético en los peces ha exigido el diseño y construcción de unas cámaras especiales, donde se mantienen los animales durante el experimento y donde se miden los parámetros adecuados. Estos acuarios especiales se conocen como cámaras metabólicas y, dado que, en gran parte, se diseñan



para medir consumo y/o producción de gases respiratorios, también se les conoce como *respirómetros* o *cámaras de respirometría*.

A lo largo del desarrollo de este tipo de estudios, los diversos autores han diseñado, construido y utilizado diversos ingenios con este fin, por lo que en la literatura correspondiente se encuentra una amplia variedad de sistemas de la que haremos un breve resumen en los párrafos siguientes. No obstante, se puede definir un primer criterio de sistematización de dichos dispositivos en función del carácter cerrado o abierto de los mismos. Las *cámaras cerradas*, sin renovación de agua, son más simples pero también presentan grandes desventajas derivadas, principalmente, de la progresiva disminución de la concentración de oxígeno y acumulación de dióxido de carbono y productos de excreción, circunstancias que pueden afectar de forma notable a los resultados obtenidos, siendo por tanto las *cámaras de flujo*, que permiten la renovación del agua en condiciones controladas, las más usadas en la actualidad.

La mayoría permiten la medida de consumo de oxígeno bajo ciertas condiciones. Son menos las que incorporan la posibilidad de la monitorización continua del oxígeno consumido y el dióxido de carbono y amoníaco (u otros metabolitos) excretados, así como controles secundarios, aunque de gran importancia como la ingesta, pérdidas fecales,...etc.

En esencia todas ellas pretenden medir el consumo de oxígeno por parte de los peces objeto de estudio con la mayor precisión posible y en las condiciones más adecuadas en función del objetivo experimental concreto (peces en reposo o desarrollando una actividad más o menos controlada, en ayunas o tras la ingesta de una comida en cantidad y de composición conocidas, a diferentes temperaturas,...). Difieren, por tanto, en cuestiones tales como flujo de agua, tamaño de los acuarios, dispositivos de control de la calidad del agua, tamaño de los lotes experimentales, grado de control de las condiciones ambientales imperantes (temperatura, fotoperiodo, ...), así como la variedad de los parámetros medidos y la frecuencia de medidas (continuas, a intervalos,...), etc.

Finalmente, es preciso tener en cuenta las condiciones en que se desean medir las tasas metabólicas, lo que implica modificaciones en los sistemas, quizás no tanto en su estructura como en su modo de operación.



A continuación se describen las características esenciales de aquellos dispositivos a los que hemos tenido acceso a través de la bibliografía, ordenados de forma preferentemente cronológica.

Ya en 1968, Kutty publicaba los resultados de un estudio sobre cocientes respiratorios (RQ) en *Carassius auratus* y en *Salmo gairdneri*, enfrentándose a la dificultad que suponía el determinar con exactitud la producción de dióxido de carbono por el pez en relación con el que hay presente en su hábitat natural y, el no tener la certeza de que el dióxido de carbono se libera de los tejidos inmediatamente después de ser producido. La primera de éstas limitaciones se puede superar si el agua que el pez respira se descarbonata y si las técnicas de análisis de dióxido de carbono permiten la extracción del gas de grandes volúmenes de agua. La segunda limitación resulta menos difícil de superar si se puede tener al pez en cualquier condición experimental deseada durante largos períodos de tiempo y si, además, se pueden tomar muestras del agua del respirómetro a intervalos regulares para su posterior análisis .

En éste trabajo se utilizaron dos respirómetros, uno como el que describía Fry, (1957), que es una cámara anular que puede girar, y el otro como el descrito por Blazka, (1958), que es un cámara tubular por donde se hace circular el agua mediante una hélice. En ambos respirómetros los gases se pueden medir mientras se fuerza al pez a nadar a velocidad conocida, aunque en el primero de ellos se puede medir, además, la influencia de la actividad espontánea del pez.

En función de lo comentado unos párrafos más arriba, este autor utilizó una disolución tampón fosfato en lugar del agua corriente del laboratorio porque ésta contenía grandes cantidades de dióxido de carbono. El tampón se mantenía en una botella de 50 litros desde la que, con la ayuda de una bomba sumergible, se enviaba a un segundo sistema de reserva tras pasar un filtro de grava con bacterias para fijar el amoníaco y otro de lana y vidrio para retener sólidos. En este segundo sistema el agua aireada y, por gravedad, pasaba a través de un intercambiador de calor para el control de la temperatura. Cuando se medía la tasa metabólica a concentraciones de oxígeno cercanas a la saturación, el agua iba directamente del intercambiador al respirómetro donde estaba el pez y cuando el experimento se desarrollaba a bajas concentraciones de oxígeno, el agua iba del intercambiador de calor a través de un intercambiador de gas (que



podía funcionar con nitrógeno) antes de entrar a dicho respirómetro.

El oxígeno se medía con un electrodo de goteo de mercurio (Snothern Analytical) y el dióxido de carbono total con un aparato Van Slyke volumétrico modificado.

En los años setenta empiezan a proliferar los trabajos en calorimetría; en 1972, **Solomon y Brafield** estudian las diferentes rutas energéticas en el pez y cómo se relacionan entre sí, considerando muy importante el análisis conjunto de las diferentes rutas energéticas para evitar la, hasta entonces, práctica universal de cuantificar un cierto número de las mismas y deducir el resto por diferencia, lo que conducía a un arrastre de errores.

Utilizaron un respirómetro de flujo continuo para valorar todo el flujo energético de la *Perca fluviatilis*, con diferentes cantidades de alimento. Se oxigenaba el agua que entra al respirómetro y se monitorizaba el agua que salía de él, de manera continua con un electrodo polarográfico de oxígeno (Beckmann, 777), similar al descrito por Brafield y Chapman (1967).

El respirómetro donde se ponía al pez estaba sumergido en un baño de agua fría que actuaba como tanque de reserva de agua saturada de oxígeno; de éste tanque reserva el agua pasaba al respirómetro y de aquí mediante una bomba peristáltica al electrodo de oxígeno. Una vez medido el oxígeno, el agua volvía al tanque de reserva para reoxigenarse.

Además, una aportación interesante era que la base del respirómetro estaba preparada para poder recoger las heces. Adicionalmente, también realizaron medidas de producción de amoníaco, cerrando el flujo de agua después de dar de comer a los animales y tomando muestras que se analizaron por métodos químicos

Para convertir el consumo de oxígeno por peso de pez en términos energéticos aplicaron los siguientes  $Q_{ox}$ :  $3.20 \text{ cal mg}^{-1} \text{ O}_2$  para proteína,  $3.28 \text{ cal mg}^{-1} \text{ O}_2$  para grasas y  $3.53 \text{ cal mg}^{-1} \text{ O}_2$  para carbohidratos.



Pierce y Wissing (1974) (figura 2-3), utilizaron otro respirómetro de flujo continuo para estudiar el coste energético de la utilización del alimento en la especie *Lepomis macrochirus*.

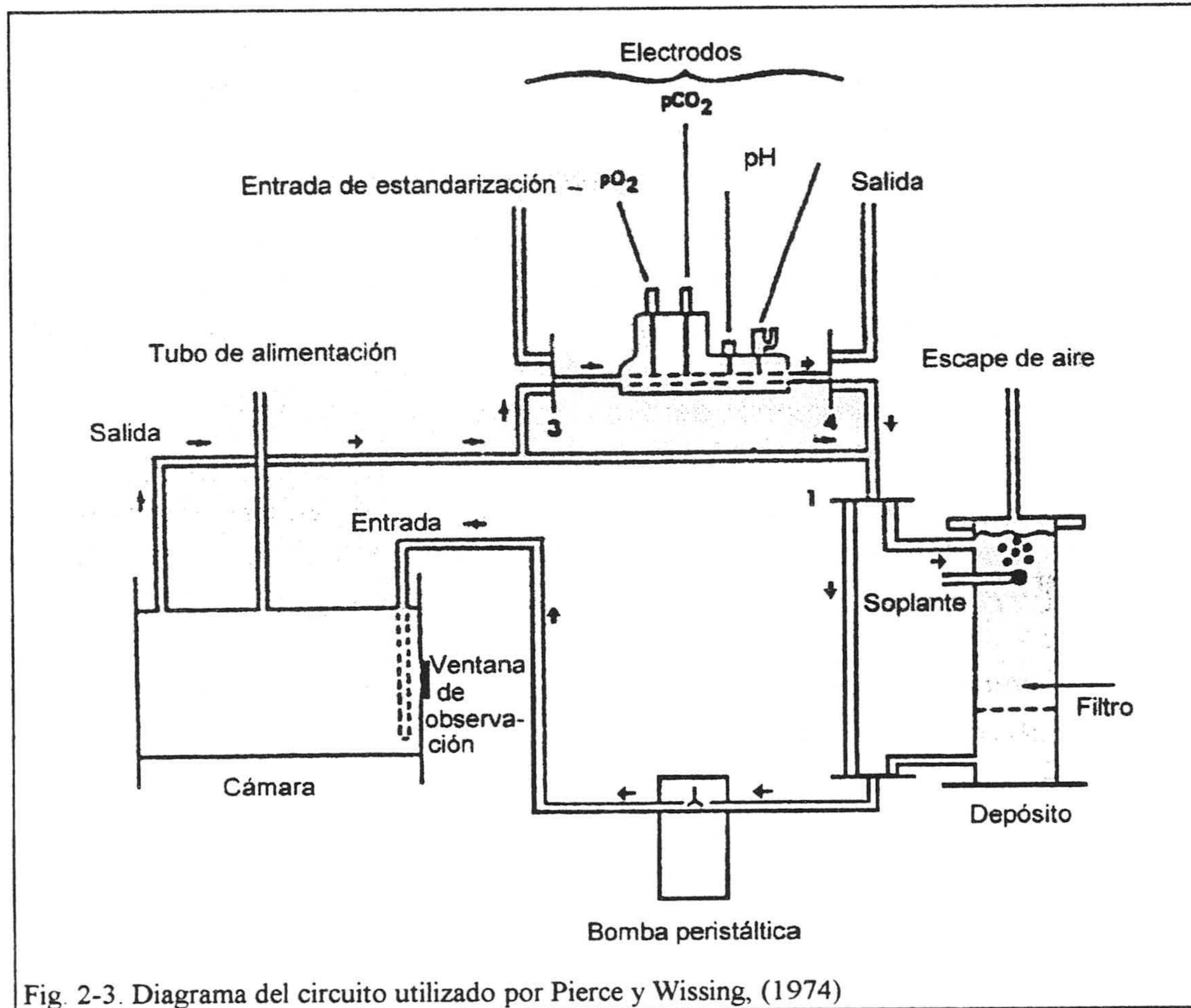


Fig. 2-3. Diagrama del circuito utilizado por Pierce y Wissing, (1974)

Dicho respirómetro constaba de una cuba de plástico acrílico de 6 litros de capacidad, conectada a un tanque de aireación y filtración mediante una bomba peristáltica que regeneraba el agua. La cuba estaba sumergida en un baño termorregulado de 130 litros, provisto de un periscopio que permitía observar al pez sin molestarlo.

El agua que salía de la cuba, pasaba a través de un pequeño recipiente donde se registran las  $P\text{O}_2$  y  $P\text{CO}_2$  en un monitor (Radiometer Copenhagen) y el  $\text{pH}$  con un electrodo doble (vidrio y calomelano); después de realizar las medidas, el agua pasaba al tanque de aireación y filtración. Estos autores



introducen un sistema de control del fotoperíodo.

**Thillart Van den y Kesbeke (1977)** estudiaron la producción de dióxido de carbono anaeróbico y la de amoníaco en *Carassius auratus*. La producción de energía aeróbica en peces se realiza por la oxidación de grasas, proteínas e hidratos de carbono, siendo las grasas las que primero se oxidan cuando el pez nada, mientras que el glucógeno se utiliza cuando se desplaza a altas velocidades, acumulando lactato. Pero en períodos de ayuno (4 meses), grasas y glucógeno solo disminuyen en un 40% del valor inicial mientras que la proteína del músculo blanco lo hace en un 80%, por lo que la mayor parte de la energía es utilizada por el pez en el catabolismo proteico, uno de cuyos productos finales es el amoníaco, cuyo control suministra mucha información.

Utilizaron un respirómetro con una cuba de 25 litros termorregulada a  $20 \pm 0.1$  °C, y con un flujo continuo de agua de  $1 \text{ l min}^{-1}$ . Desde esta cuba se tomaban muestras de agua que pasaban por una sonda de oxígeno conectada a un monitor (E.I.L.-oxígeno, tipo 9401). Cuando la concentración de oxígeno bajaba por el consumo del pez, se activaba una válvula magnética que permitía el paso de agua saturada de oxígeno desde un tanque de reserva termorregulado hasta el respirómetro. Con este dispositivo llegaron a conclusiones tales como que antes y durante períodos de anoxia, la producción de dióxido de carbono y amoníaco no están influenciados por la disponibilidad de oxígeno, que la producción de dióxido de carbono anaeróbico después de haber inyectado glucosa en el pez, es cuatro veces la aeróbica y que después de 10 horas de anoxia el glucógeno se oxida completamente a dióxido de carbono.

**Schwalb y Gropp (1979)** construyeron un sistema que constaba de un tanque de suministro, donde se oxigenaba y termorregulaba el agua y desde el que se enviaba a otro tanque colector que la repartía, por un lado a las cubas y, por otro, al tanque de oxigenación y termorregulación. Para evitar cualquier posible intercambio de oxígeno entre el agua y la atmósfera, se cubrían las cubas con una tapadera perforada en un extremo por un pequeño tubo para la entrada del agua y en el otro extremo por otro tubo que estaba sumergido 5 cm por debajo de la tapadera y que permitía desalojar el agua sobrante.

**Flowerdew y Grove (1980)** utilizaron un respirómetro de flujo continuo para estudiar los requerimientos energéticos de salmonetes juveniles en función de la



temperatura, tamaño y cantidad de alimento y sus efectos sobre el crecimiento. Bombeaban agua salada y oxigenada a un tanque de 600 ml, que estaba sumergido en un baño a 18 °C. Medían el oxígeno en el agua de salida con un electrodo Radiometer E 5046 unido a un registrador Radiometer PHM71MKII pH. Utilizaron peces individuales de 3 a 20 g de peso para medir la actividad durante 2-4 horas y ajustaron el flujo de manera que se consumiera el 10-15% del oxígeno disponible durante su paso a través de la cámara.

**Hogendoorn et al. (1982)** (figura 2-4) también utilizaron un respirómetro de circuito abierto para estudios de bioenergética mediante experimentos de larga duración (semanas), en las que se procuraba molestar mínimamente al animal. La temperatura la mantenían en un rango de 20 a 35 °C, controlando los gases en agua y aire en periodos de varios días. Según estos autores, el respirómetro y las conexiones del aire en el circuito deben ser impermeables al aire y, de producirse pérdidas, éstas no deben influir en el balance de los gases.

El alimento se suministra a través de un embudo introducido en la tapadera que cierra herméticamente el respirómetro, recogándose los restos de comida y las heces.

La cámara en su conjunto estaba compuesta por cinco respirómetros de 90x40x45 cm con una lámina de acero inoxidable de 1.5 mm de espesor, con una pendiente en el fondo de 11 cm para permitir la salida de agua y una ventana en un lateral para la observación del animal.

El agua se suministra a los respirómetros desde un colector con regulación de presión. A su vez, el flujo se regulaba con válvulas de PVC y se medía a través de un registrador Volumag Meterfabriek.

Las entradas de agua se realizaban por la parte superior del respirómetro y la salida por el fondo, de aquí pasaba a un tanque de sedimentación con fondo en forma cónica para la recogida de heces y restos de comida. De la parte superior de este tanque de sedimentación sale el agua hacia un filtro biológico de 60x79x200 cm, con un comportamiento termorregulado, a éste filtro también le llega agua desde una columna de presión del colector. Con una bomba se mandaba el agua desde el filtro biológico hacia el colector para oxigenarla de nuevo.



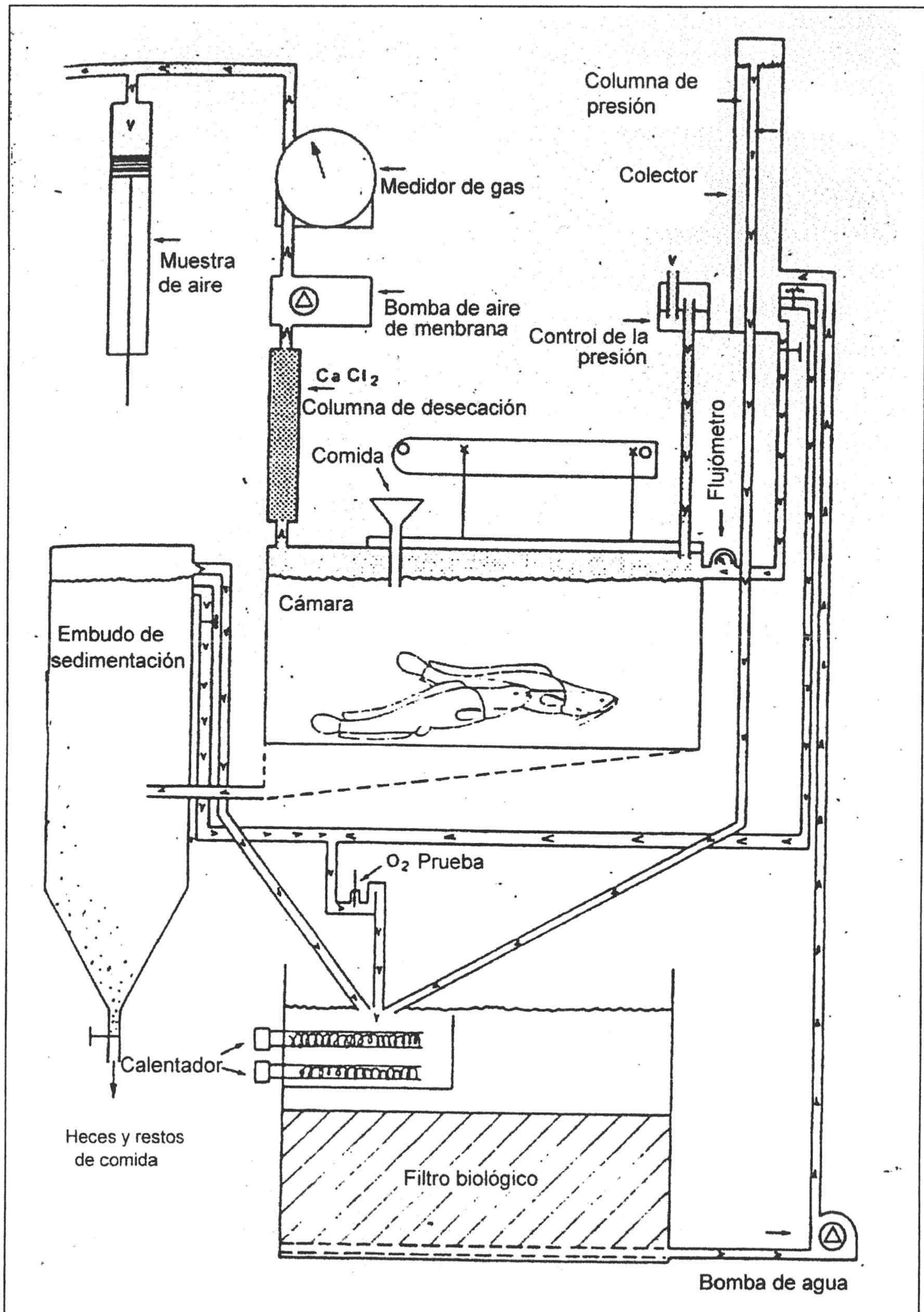


Fig. 2.4. Diagrama del circuito utilizado por Hogendoorn et al., (1982)



La concentración del oxígeno disuelto en el agua que entraba y salía de cada respirómetro se medía con una sonda Oxi 42, W.T.W., D8120 Weilheim, que recibía un flujo continuo de agua, alternativamente, del colector y de los cinco tanques de sedimentación.

Una vez cerrados los respirómetros quedaba una capa de aire de 6 cm, donde se bombeaba continuamente aire a razón de 5 l min<sup>-1</sup>. Las presiones dentro de los respirómetros estaban reguladas a 0.35 mmHg, por debajo de la presión atmosférica para prevenir fugas. El aire que salía de los respirómetros se pasaba a través de una columna de cloruro cálcico para quitarle la humedad y se medía en un medidor de gases (Plastibrand Dijkstra, Ltd; Amsterdam).

**Medlan y Beamish (1985)** estudiaron la influencia de la dieta y la densidad de los animales en el incremento calórico aparente de *Salmo gairdnerii*; usando 6 cubas de 90 litros de capacidad, de forma oval, provistas de una tapadera acrílica transparente y sistemas externos de drenaje en los que se disponía una trampilla que se utilizaba como recolector de heces, teniendo además cada cuba en su parte inferior una pendiente orientada hacia el drenaje central para facilitar la retirada de heces al colector, muy similar al utilizado por Brett et al., (1971). Controlaban el oxígeno del agua de entrada y salida de cada cuba durante 15 minutos cada hora, con un oxímetro modelo YSI 1-54.

**Du Preez et al. (1986)** utilizaron, para medir consumo de oxígeno en *Pomadasys commersonni*, una combinación de los sistemas previamente descritos por Marais et al. (1976), Du Preez (1983) y Emmerson y Strydom (1984). El conjunto consistía en un tanque de reserva de 100 litros que aportaba agua a cuatro cámaras respirométricas. El agua de salida de cada cámara pasaba directamente a un sensor de oxígeno Beckman No. 39556 por medio una válvula solenoide de tres vías Asco No. 832060, permitiendo así un registro automático de cada una de las cuatro cámaras durante 15 minutos de cada hora.

El sensor de oxígeno y el analizador Beckman modelo 0260 se acoplaron a un registrador Linear Instruments, modelo 261E-2. El consumo real de oxígeno estaba representado por la diferencia entre el valor registrado para la cámara de control y la de cada una de las cámaras que contenían a los peces.

Las cámaras eran de cristal, con un rango de volúmenes de 10 a 500 l.



Para sellarlas al paso de agua y aire, aplicaban a los bordes del cristal un lubricante (DowCorning), además de colocar cubiertas de plexiglas de 10 mm de grosor fijadas mediante pinzas.

El agua salada que entraba a las cámaras se mantenía a nivel próximo al de saturación mediante borboteo de aire en los tanques reserva y recipiente. Su flujo a través de las cámaras se midió polarigráficamente dos veces al día y se ajustó de manera que el contenido de oxígeno en las mismas no estuviera por debajo el 60% de saturación. Los laterales y las tapaderas de las cámaras estaban cubiertas con papel blanco para evitar alteraciones de los peces pero permitir un cierto paso de la luz.

**Martinez Palacios y Ross (1986)** estudian los efectos de la temperatura, el tamaño y la hipoxia en el consumo de oxígeno de *Cichlasoma urophthalmus* con un respirómetro basado en el que describen **Ross y Ross (1983)**: se trata de un circuito cerrado con cubas de 300 cm<sup>3</sup> y 1540 cm<sup>3</sup> según el tamaño de los peces, con agua saturada 100% de aire. El oxígeno lo determinaban con medidor YSI modelo 57 recogiendo los datos en un registrador Cole Palmer. El consumo de oxígeno se determinaba por contraste de las concentraciones de salida de las cubas con animales y una control.

**Dabrowski (1986)** utilizó un nuevo tipo de cámara metabólica para estudiar el metabolismo activo en coregónidos y salmones juveniles.

La cámara era un tubo circular de vidrio de dos tamaños (1.5 cm o 2.2. cm de diámetro y 125 ml o 230 ml de volúmen), el diámetro externo es de 19 cm y el área interna de 3.8 cm<sup>2</sup>. El tubo tiene un estrechamiento de 0.8 cm de diámetro y 1.8 cm de longitud. La uniformidad y suavidad de la superficie del estrechamiento fue importante para no molestar al animal mientras nadaba en el respirómetro. Se instalan tubos de entrada y salida de 0.4 cm a ambos lados, por el de entrada se introduce aire y el de salida es de un material poroso.

Alrededor de la cámara circular y a una distancia de 1-2 cm se pinta un tambor de papel con listas verticales de colores blanco y negro que puede girar a distintas velocidades. Se introducen los animales en ayunas en la cámara con el tambor parado durante una hora, después se hace girar el tambor a velocidades crecientes, y cada 15 minutos, los peces pasan por el estrechamiento donde son contados durante 5 minutos. La velocidad natatoria



se calcula conociendo el número de peces que pasan a través del estrechamiento y la circunferencia de la cámara

El oxígeno se mide con un electrodo portátil (Ponselle, France) sumergido en una muestra del agua que sale de la cámara cada 15 minutos. El amoníaco se mide de forma continua cada 5 minutos en periodos de 15 minutos con un autoanalizador Technicon.

Con este respirómetro se puede analizar el efecto de la intensidad de la actividad natatoria, la alimentación o ambas tasas metabólicas del pez.

**Ross y McKinney (1988)** introducen la informática en el tema al construir una cámara respirométrica de seis canales gobernada por ordenador, para el estudio del ciclo respiratorio de *Oreochromis niloticus*.

Las cámaras de respirometría eran de forma rectangular y el suministro de agua se dispersa por las mismas colocando una lámina perforada a 5 mm del orificio de entrada. La salida de cada respirómetro estaba conetada a un dispositivo en forma de Y que permitía dirigir el agua a la bomba de recirculación o a la cámara de medición gracias a la actividad de válvulas solenoides de bajo voltaje controladas electrónicamente. La base de cada respirómetro tenía forma de pirámide de cuatro caras con una pendiente de 30 °C para retener las heces. Este área estaba vedada a los peces mediante la interposición de una lámina de tela plástica de 15 mm de poro. Las heces se retiraban abriendo una pequeña válvula situada en la base de la cámara. Cuando se utilizaban peces más pequeños, el espacio muerto de los respirómetros se reducía introduciendo láminas de material acrílico transparente a cada lado de la cámara con lo que se aseguraba que los animales de experimentación tuvieran una mínima oportunidad de desarrollar una actividad motora intensa.

Las cámaras se hallaban situadas en un sistema de recirculación simple, en el que el agua se borboteaba desde un tanque colector de 30 litros de capacidad a un tanque de cabecera de 17 litros, volviendo al colector que tenía instalado un calentador de 1.2 kW controlado por un sistema Gallemkamp TC1/G. Los calentadores trabajan contra una espiral enfriadora de acero inoxidable que se rellenaba con agua del grifo, de manera que el sistema resultó capaz de mantener la temperatura con una desviación de  $\pm 0.2$  °C. El aire se introducía a través de dos burbujeadores en el tanque de cabecera a una tasa



de  $4 \text{ l min}^{-1}$  para mantener una saturación próxima al 100%.

El agua pasaba, una vez oxigenada y a la temperatura apropiada desde el tanque de cabecera hasta los respirómetros a través de una válvula de seis canales. El flujo a cada respirómetro podía ser individualmente suprimido mediante válvulas de bola y el global distribuido al sistema con una válvula de bola medidora.

El agua del tanque colector era recirculada a través de un filtro Eheim que contenía lana filtrante y carbón activo para retener las partículas y evitar que los niveles de diversos metabolitos llegaran a ser demasiado altos. De esta forma, durante cada periodo experimental de 7 días y con los respirómetros completamente llenos, el pH permanecía prácticamente constante (7.35 a 7.73) y el contenido total de amoníaco no pasó de  $0.045 \text{ mg l}^{-1}$ .

Como se ha indicado antes, el agua de salida de cada respirómetro podía opcionalmente, ser dirigida a una cámara de medida donde se determinaban concentración de oxígeno con un oxímetro YSI modelo 58 y una sonda de oxígeno 5739, flujo y temperatura. Para asegurar un flujo constante de agua sobre la membrana de la sonda se usó un agitador magnético dentro de la cámara. La temperatura se midió con un sensor 590KH (R.S. Components) y el flujo con un flujómetro BF3675 (Farnell Ltd.). Las señales eléctricas originadas en los tres sensores alimentaban tres de los cuatro canales de un convertidor analógico-digital (ADC) de un microordenador BBC modelo B.

La interfase analógica incorporaba un traductor de presión Foxboro mod. 1800, que convertía la presión atmosférica en un voltaje proporcional con el que se alimentaba el cuarto canal del convertidor ADC. Dado que se encontró que el voltaje de referencia del ADC era altamente sensible a la temperatura causando una deriva indeseable de las medidas, se instaló un corrector de precisión de voltaje PMI ref-02 en lugar de la referencia interna del microordenador.

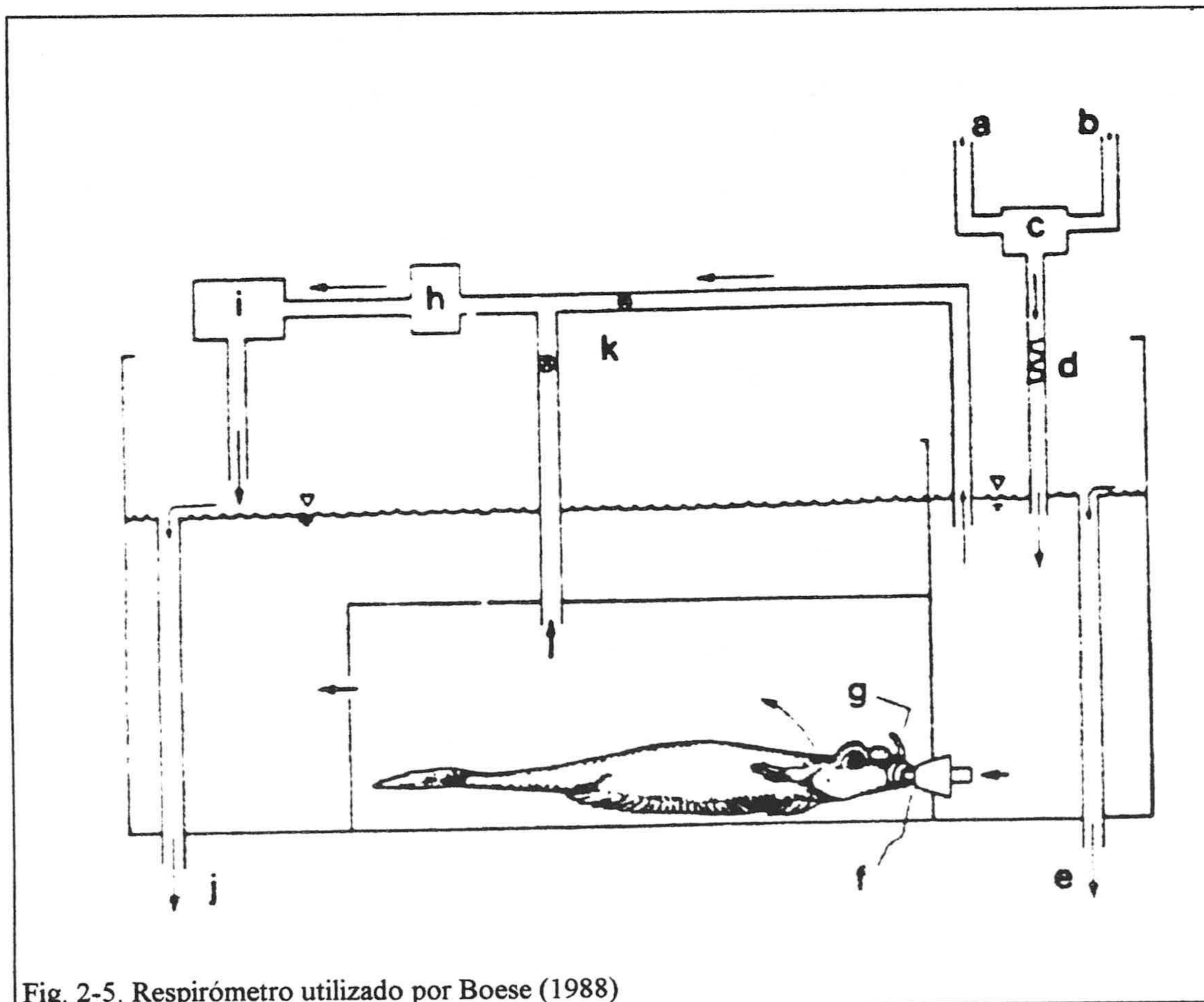
Para controlar la actividad de las válvulas solenoides (secuencia de apertura y cierre) situadas a la salida de los respirómetros se usó el mismo microordenador antes citado, concretamente el puerto usuario de 8 bits, configurado como una salida y utilizado para gobernar una interfase digital Schottky TTL que podía conectar cada válvula activando un módulo interfase Crydom International Rectifier. La interfase TTL también podía ser operada



manualmente para trabajar con las válvulas durante operaciones de limpieza y comienzo de los experimentos.

El conjunto del sistema fue gobernado por un programa escrito en lenguaje BASIC.

**Boese (1988)** (figura 2-5), usa un respirómetro muy parecido a los descritos por Bishop (1976) y Jobling (1982), con dos tamaños de cubas, uno de 425 ml para peces pequeños y otro de 1250 ml para peces de mayor tamaño. Con él realizó tres tipos de experimentos en el lenguado *Parophrys girar* para estudiar las relaciones entre oxígeno disuelto, eficacia de extracción del oxígeno, volúmen de ventilación, consumo de oxígeno, tasa de ventilación y el peso del pez.





Mediante una bomba peristáltica se enviaba el agua al respirómetro que estaba sumergido en un baño a temperatura constante. El agua que salía del respirómetro pasaba a una cuba de aireación.

Se medía el oxígeno disuelto de manera continua en el tanque de saturación con un electrodo YSI modelo 54 equipado con un registrador YSI modelo 80, con éste registro se obtenían los datos del oxígeno que entraba al respirómetro. A intervalos, se medía asimismo el oxígeno presente en el agua de salida, ajustándose el flujo de manera que la diferencia entre el oxígeno de entrada y salida estuviera en el rango de 0.3-1.5 ml O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>.

En otros experimentos utilizaron los mismos respirómetros pero midiendo simultáneamente en el agua de entrada y salida con dos sensores YSI modelo 54 y registradores YSI modelo 80A. Para estudiar los efectos del nivel de oxígeno disponible sobre la tasa metabólica, exponían a los animales a niveles de oxígeno de entrada de 95% a 25% de saturación, con incrementos iguales para cada pez. Para ello, el oxígeno que entraba al respirómetro se controlaba bombeando agua a través de una espiral de vidrio conectada a dos recipientes de 60 litros que contenían agua salada saturada de nitrógeno y oxígeno respectivamente.

También estudiaron la eficacia de extracción de oxígeno utilizando tres respirómetros como los anteriores bombeando el agua a 100-200 ml min<sup>-1</sup>. Se anestesiaba al pez para ponerle una cánula sujeta a su cabeza de forma que el agua entraba en el respirómetro por los movimientos respiratorios del pez. Contando los movimientos operculares por unidad de tiempo se medía la tasa de ventilación.

**Sayer (1988)** (Figura 2-6) investigó la excreción de amoníaco en *Blennius pholis* utilizando un respirómetro como el que describían Davenport y Sayer (1986): un recipiente de 180 ml con agua salada (33% salinidad) y con un flujo continuo de 600 ml h<sup>-1</sup>. Las muestras del agua que sale del recipiente se recogen en tubos de 50 ml cada 5 minutos y se analizan para determinar contenidos de amoníaco y urea con el método de Davenport y Sayer (1986).

Para hacer mediciones continuas utilizó una cuba de dimensiones reducidas para poder detectar cualquier cantidad de amoníaco por pequeña que fuera con un electrodo Philips IS-570-NH<sub>3</sub> conectado a un registrador gráfico



Philips PW9409. Un recipiente sobre la cuba liberaba una disolución alcalina (EDTA 0.93M en NaOH 2M) a 0.5 ml/min para mantener el pH 11 (así los iones amonio se liberan como amoníaco, no se precipitan hidróxidos y se evita un posible bloqueo de la membrana del electrodo).

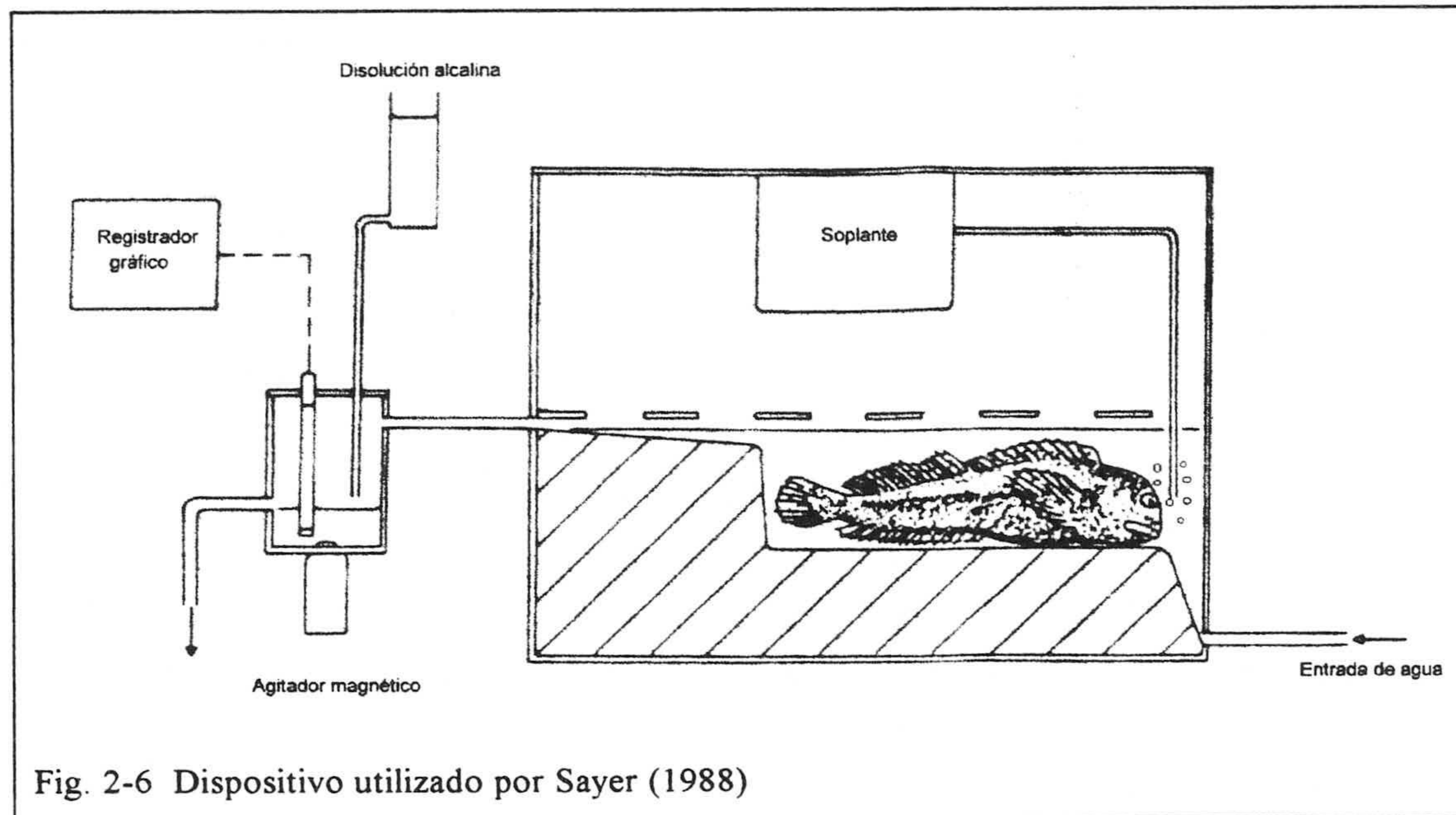


Fig. 2-6 Dispositivo utilizado por Sayer (1988)

**Maxime et al. (1989)** (Figura 2-7), realizaron un estudio comparativo entre las fases *parr* y *smolts* de *Salmo salar* con un respirómetro que constaba de dos cubas de 50 litros de capacidad a las que se suministraba el agua desde un tanque de reserva, las cubas disponían de dispensadores automáticos de comida.

El sistema poseía tres electroválvulas, dos para controlar la toma de muestras de las cubas y la tercera para toma de muestras del agua que se suministra a las cubas. Las electroválvulas estaban controladas por un microprocesador provisto de la interfase apropiada. Medían la presión parcial del oxígeno con un sensor y el ordenador procesaba la media de los valores recogidos los últimos cinco minutos de cada período de diez, para calcular el consumo de oxígeno.



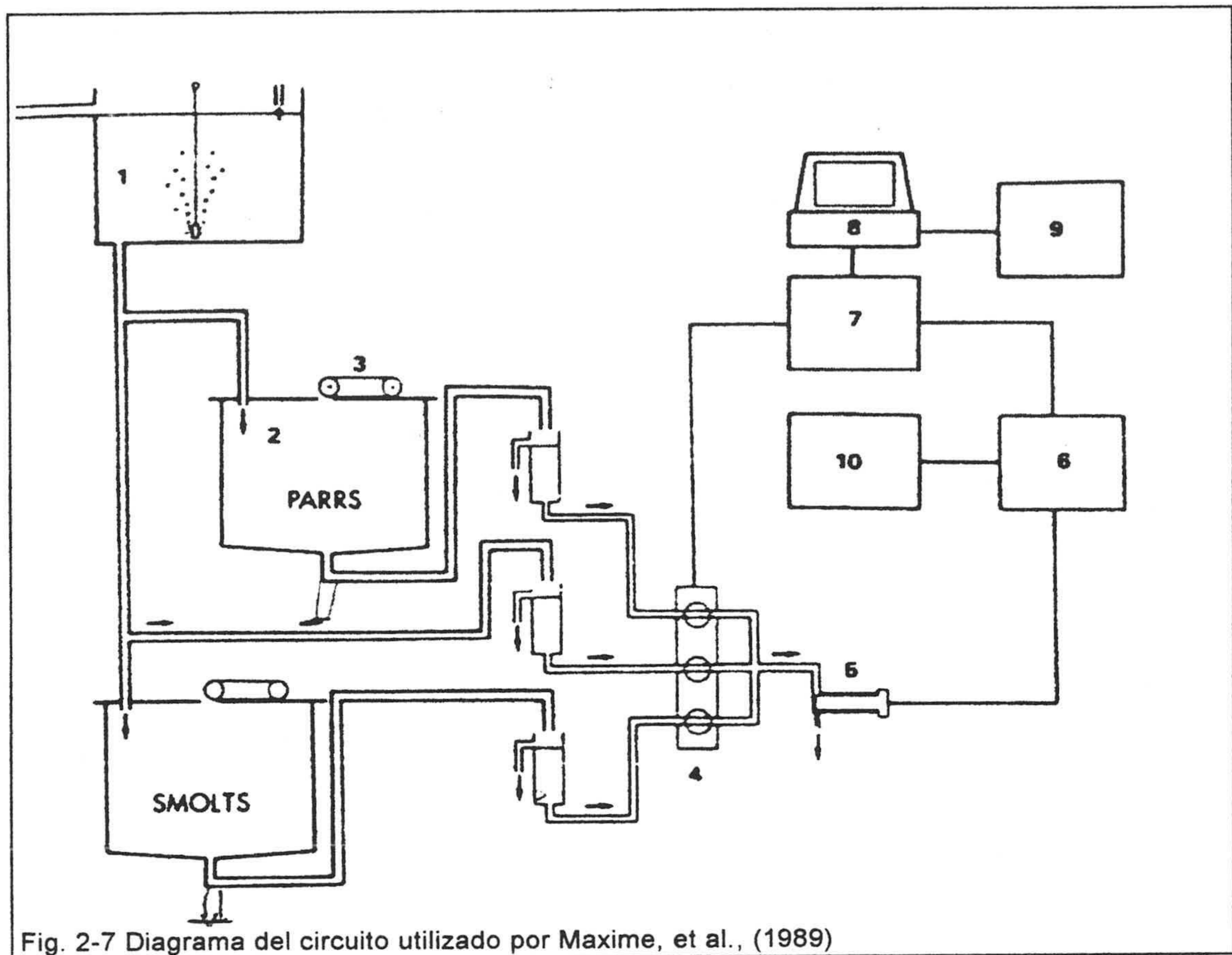


Fig. 2-7 Diagrama del circuito utilizado por Maxime, et al., (1989)

**Forster (1990)** utilizó dos tipos de respirómetros para confirmar la baja tasa metabólica de *Eptatretus cirrhatus*. Se trata de respirómetros de flujo continuo, tanques regulares de plástico, con una capacidad de 6.4 litros. Mide la presión del oxígeno del agua de salida con un electrodo Beckman (39553), se mide también la presión del oxígeno de las muestras de agua de entrada y salida con un electrodo IL 1302.

Con respirómetros de forma rectangular de 14 litros de capacidad, se creó un sistema cerrado y se midió la caída de presión del oxígeno con electrodos Beckman.

**Guinea y Fernández (1991)** (Figura 2-8), estudian la tasa metabólica de *Mugil saliens* utilizando un respirómetro basado en el modelo de Solomon y Brafield (1972) que consta de un acuario de cristal de 14 litros de capacidad, con tapadera hermética. El agua que sale del respirómetro se reoxigenó en un



segundo acuario que estaba termostatzado, de 50 litros de capacidad, mediante una fuente de aireación.

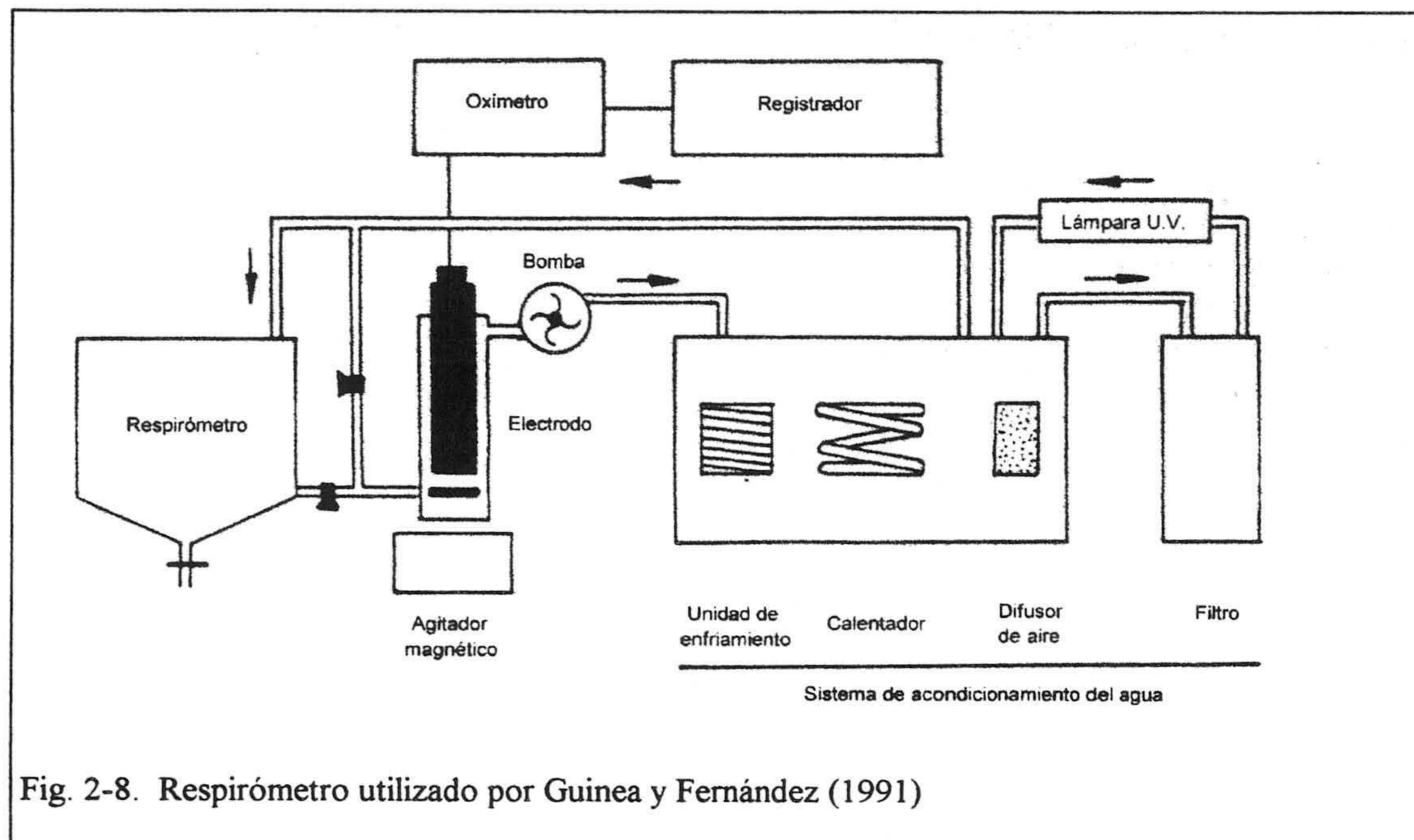


Fig. 2-8. Respirómetro utilizado por Guinea y Fernández (1991)

Se conectó un circuito independiente provisto de un filtro y una lámpara germicida a la unidad de reoxigenación, para evitar acumulación de partículas en suspensión y la proliferación de microorganismos.

El oxígeno de entrada y salida del respirómetro se controló continuamente mediante un oxímetro WTW OXI-90 provisto de un sensor polarográfico WTW EOT-190 conectado a un registrador. La salinidad del agua se determinó por titración (APHA, AWWA, WPCF, 1980), para ajustar las respectivas concentraciones de oxígeno.

**Oikawa et al. (1991)** (Figura 2-9) utilizan un respirómetro para larvas de *Pagrus mayor*. Estudian el metabolismo basal con métodos diferentes dependiendo de la fase de desarrollo; respirómetro cerrado que basa su funcionamiento en la disminución del oxígeno del agua en una cuba cerrada o el método de flujo continuo basado en las pérdidas de oxígeno y control del flujo de agua (el oxígeno en el método cerrado se determinó por valoración de Winkler y en el método de flujo continuo con un electrodo), por último el método



semicerrado que es esencialmente uno cerrado, pero en el que se pasa muy despacio un flujo de agua saturada de aire antes de medir el oxígeno y se cierra durante la medida (para medir el oxígeno se usan valoración de Winkler y sensor).

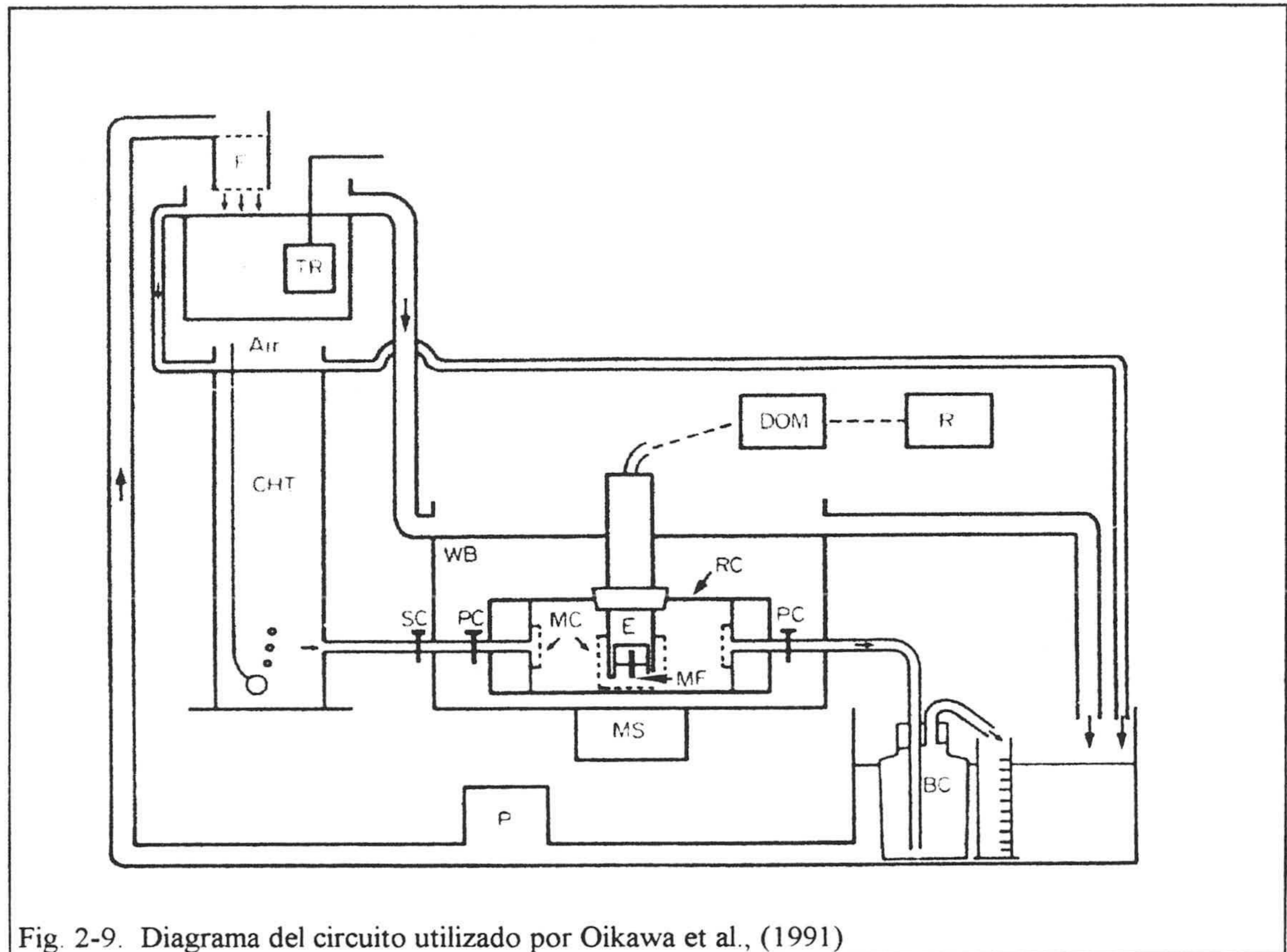


Fig. 2-9. Diagrama del circuito utilizado por Oikawa et al., (1991)

El agua que se suministra a la cuba se filtra y está convenientemente termorregulada y oxigenada. El sensor de oxígeno que se introduce en la cuba con las larvas está equipado con un agitador magnético.

Utilizan una botella conectada a la cuba para eliminar el oxígeno del fondo. En el método semicerrado esta botella, que recibe el agua de salida de la cuba, se utiliza como blanco y, antes de medir el consumo de oxígeno, se cierra herméticamente y se introduce en un baño con la cuba de las larvas. Utilizando el valor inicial de la concentración de oxígeno en la cuba y el valor final en la botella, se elimina el consumo de oxígeno bacteriano de la descomposición de materia orgánica.



En el método de flujo continuo se utiliza como blanco una cuba sin animales, cuya concentración de oxígeno suponen que es la misma que entra en la cuba que contiene las larvas.

**Moreau et al. (1991)** (Figura 2-10) utilizan un ingenioso respirómetro bimodal para estudiar por calorimetría indirecta el metabolismo de *Hoplosternum litorale* que es un pez siluriforme de respiración aérea que vive en los pantanos de America del Sur.

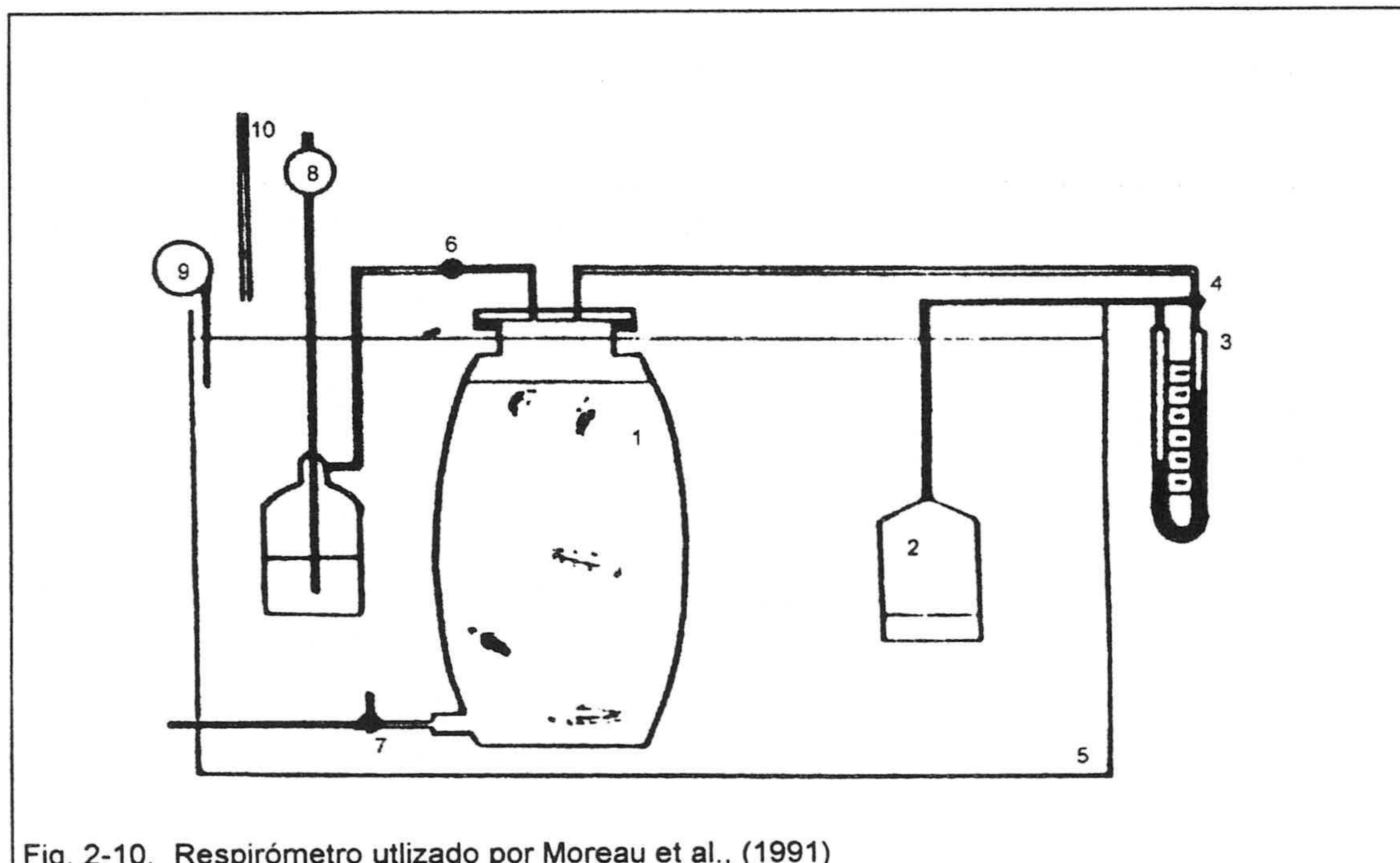


Fig. 2-10. Respirómetro utilizado por Moreau et al., (1991)

El respirómetro consta de un barril de vidrio, de 0.21 m de diámetro, con 10 litros de agua (que no lo llenan por completo) y 1.5 litros de gas. Las variaciones del gas se miden con un manómetro en forma de U que conecta el barril con una botella de referencia que contiene agua destilada y aire.

De acuerdo con Carter y Beadle (1931) éste pez toma oxígeno de ambos medios (acuático y aéreo), mientras que la excreción de dióxido de carbono y nitrógeno los realiza solamente en el medio acuático; para confirmar estas afirmaciones se evaluó el dióxido de carbono en la zona del barril sin agua, utilizando en las pruebas preliminares un analizador de gas IR Licor 6200, encontrándose que los valores de la excreción de dióxido de carbono en el aire



era menor del 1% del total excretado por el pez.

Estiman la disminución en la concentración de oxígeno con método manométrico. El barril y la botella estaban sumergidos en un baño para controlar la homogeneidad térmica de todo el sistema.

Antes de cada experimento se llenaba de agua el baño y se dejaba circulando por el sistema una noche. Al principio de cada experimento se llenaba completamente el barril con agua del baño utilizando una válvula de tres vías situada en el fondo, luego se introducía al pez y se cerraba la cuba con una cubierta de plexiglas hermética al aire.

Se tomaba una muestra inicial de agua de la cuba aspirando del fondo con la válvula que deja entrar aire abierta y el manómetro desconectado. Se ajustó el agua en el interior del barril a 10 litros, se cerraron todas las válvulas y se conectó el manómetro. Se leían, durante dos horas las disminuciones del aire en el manómetro y la temperatura del baño. Se desconectó el manómetro y se llenó la cuba de aire tomándose las muestras finales de agua. Para evitar molestias al animal se dejaba siempre al menos una capa de 5 cm sin agua.

**Yamamoto (1991)** (Figura 2-11), utiliza un respirómetro de pequeñas dimensiones e inmoviliza al pez para estudiar la relación entre respiración y tamaño.

El respirómetro es del mismo tipo que el que describe Yamamoto et al., (1988), con seis tamaños de cuba para diferentes tamaños de peces. Una vez está el pez dentro del respirómetro se le sujeta metiéndole la cabeza (a la altura de boca y ojos) por una membrana muy fina de goma que está unida a un dispositivo fijado en la parte posterior de la cuba para inmovilizar al animal en la posición deseada.

El nivel del agua de la cuba se fija a la altura de la boca del animal. Se recoge en una botella la muestra de agua que sale del respirómetro para medir por método químico el oxígeno disuelto.



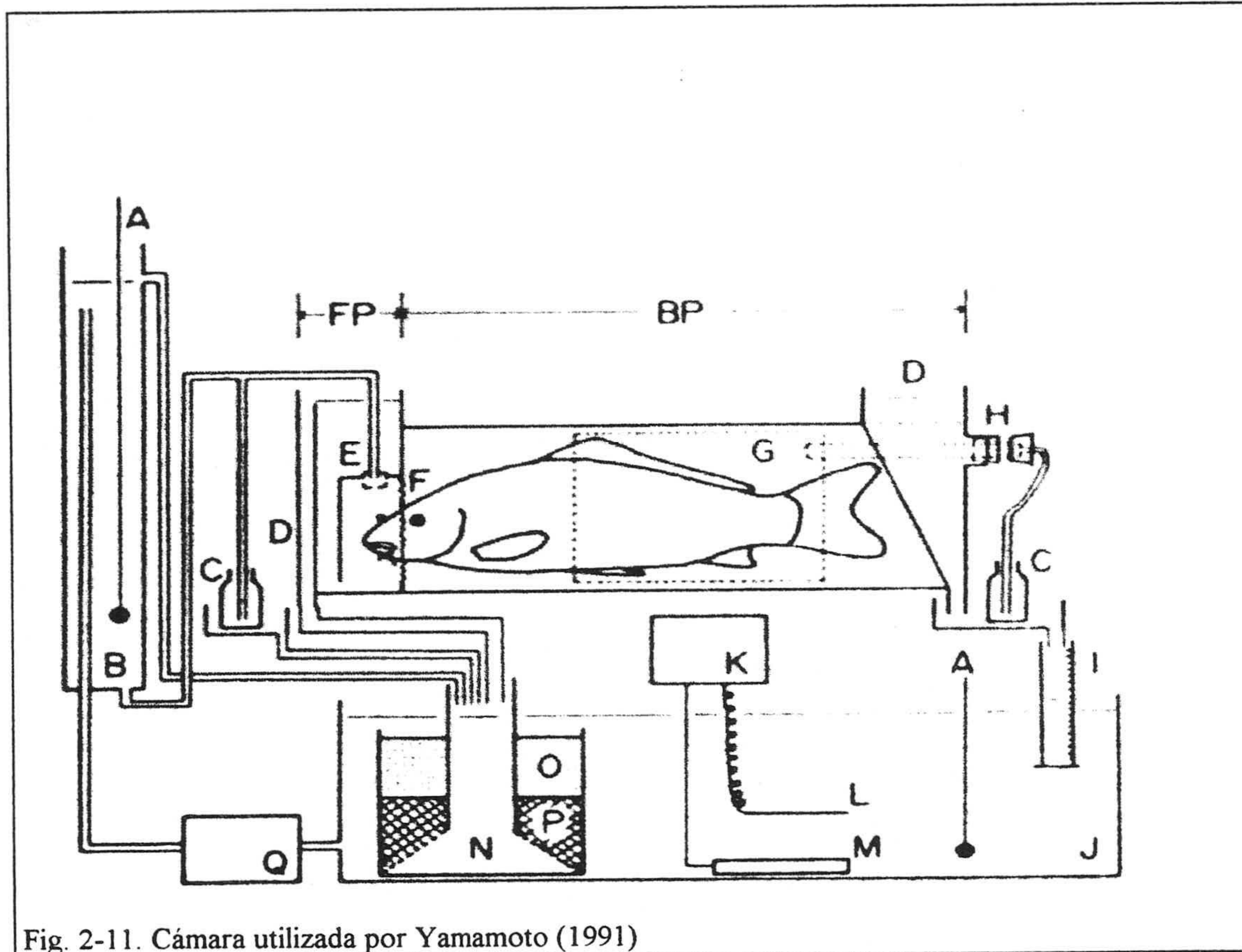


Fig. 2-11. Cámara utilizada por Yamamoto (1991)

El volumen de ventilación lo determinan a partir del agua que sale de la cuba a la botella durante un período de 5 minutos. La frecuencia de ventilación la calculan por los movimientos del nivel del agua en la cámara también durante 5 minutos.

Para determinar la concentración de oxígeno del agua de entrada y salida de la cámara usan el método de Winkler, pero además calculan la utilización del oxígeno por las branquias y a nivel cutáneo, asumiendo que por las branquias se respira el 70% del oxígeno.

**Heinsbroek et al. (1991)** utilizan un respirómetro con circuito abierto como el que describen Hogendoorn et al., (1981) y Heinsbroek et al., (1990) para realizar un estudio comparativo del balance de energía y nitrógeno en anguila y carpa.

El oxígeno del agua que entra y sale del respirómetro se mide con un



electrodo WTW TriOXmatic<sup>R</sup> 601 y 160. Pasan una muestra del agua que entra y sale de cada uno de los cinco acuarios de que consta el sistema por el electrodo de oxígeno durante 6 periodos consecutivos de 5 minutos. La toma de muestras se controla con válvulas magnéticas.

Para la determinación de la excreción de dióxido de carbono y nitrógeno se añade al respirómetro un analizador de flujo continuo Alpkem para medidas en línea de concentraciones de CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>-N y NO<sub>x</sub>-N. Las muestras vienen del sensor de oxígeno y son bombeadas a los canales de una serie de espectrofotómetros paralelos; además de la muestra se bombea aire y los reactivos necesarios para las medidas y aire para ayudar a que se den las reacciones entre muestras y reactivos.

Para medir el dióxido de carbono se acidifica la muestra para pasar todas las formas carbonadas a CO<sub>2</sub> y luego se dializa a través de una membrana permeable al dióxido de carbono en una solución débilmente tamponada de indicador fenoftaleina, el dióxido de carbono produce una bajada de pH del indicador produciéndose una disminución en la absorbancia medida a 550 nm. El nitrógeno amoniacal se mide por reacción hipoclorito fenol y nitroferrocianuro que acelera la formación de azul de indofenol que se mide a 640 nm. La suma de nitrógeno procedente de nitratos y nitritos se realiza reduciendo con cadmio los nitratos a nitritos y midiendo la azo coloración a 543 nm. Los datos del sensor de oxígeno y del analizador de flujo continuo se recogen en un microordenador.

Adicionalmente utilizan un colector de heces automático consistente en un sistema de paletas al que le llega el agua de los acuarios.

La regeneración el agua se realiza haciendo pasar la que sale de los acuarios por un filtro biológico termorregulado y por un sistema de aireación.

**Chakraborty et al. (1992)** utilizan un respirómetro que consta de cinco cámaras de 20 litros de capacidad, para estudiar el efecto de los niveles de la proteína en la dieta y niveles de excreción de amoníaco en *Cyprinus carpio*.

Cada cámara está separada en dos por una membrana diagonal de plexiglás de manera que no hay transferencia de agua entre las dos secciones, para utilizar como control la sección sin animales.



La cámara se rellena de agua desde un tanque de cabeza y desde ella el agua sale hacia una columna de recogida de heces que tiene una salida superior conectada a una válvula de tres vías; gracias a ésta, el agua puede ir a un medidor de flujo, pasar a una cubeta para medir amoníaco y luego al filtro biológico, o bien ir directamente al filtro biológico desde donde se bombea al tanque de cabeza.

Del interior de la cubeta se toman muestras de agua (5 ml) con una aguja hipodérmica de 0.5 mm a través de un tapón de goma situado en la cubierta de la cubeta cada 12 minutos. Utilizan una cuba sin animales como blanco y el amoníaco lo miden con el método de fenol-hipoclorito (Stirling, 1985).



### 2.3 COMPONENTES DE UN BALANCE ENERGÉTICO

Los estudios de bioenergética, nos permiten determinar la energía que necesita un animal para sobrevivir, ya que éste debe conseguir tanta energía en forma de moléculas de alimento como la suma de toda la energía que disipe y almacene, según la ecuación:

$$\text{Energía}_{(\text{entra})} = \text{Energía}_{(\text{sale})} + \text{Energía}_{(\text{retenida})}$$

Para poder estudiar pormenorizadamente las variables que intervienen en el metabolismo energético de los peces, se expresa la ecuación del principio de conservación de la energía en los términos siguientes:

$$C = R + P + U + F$$

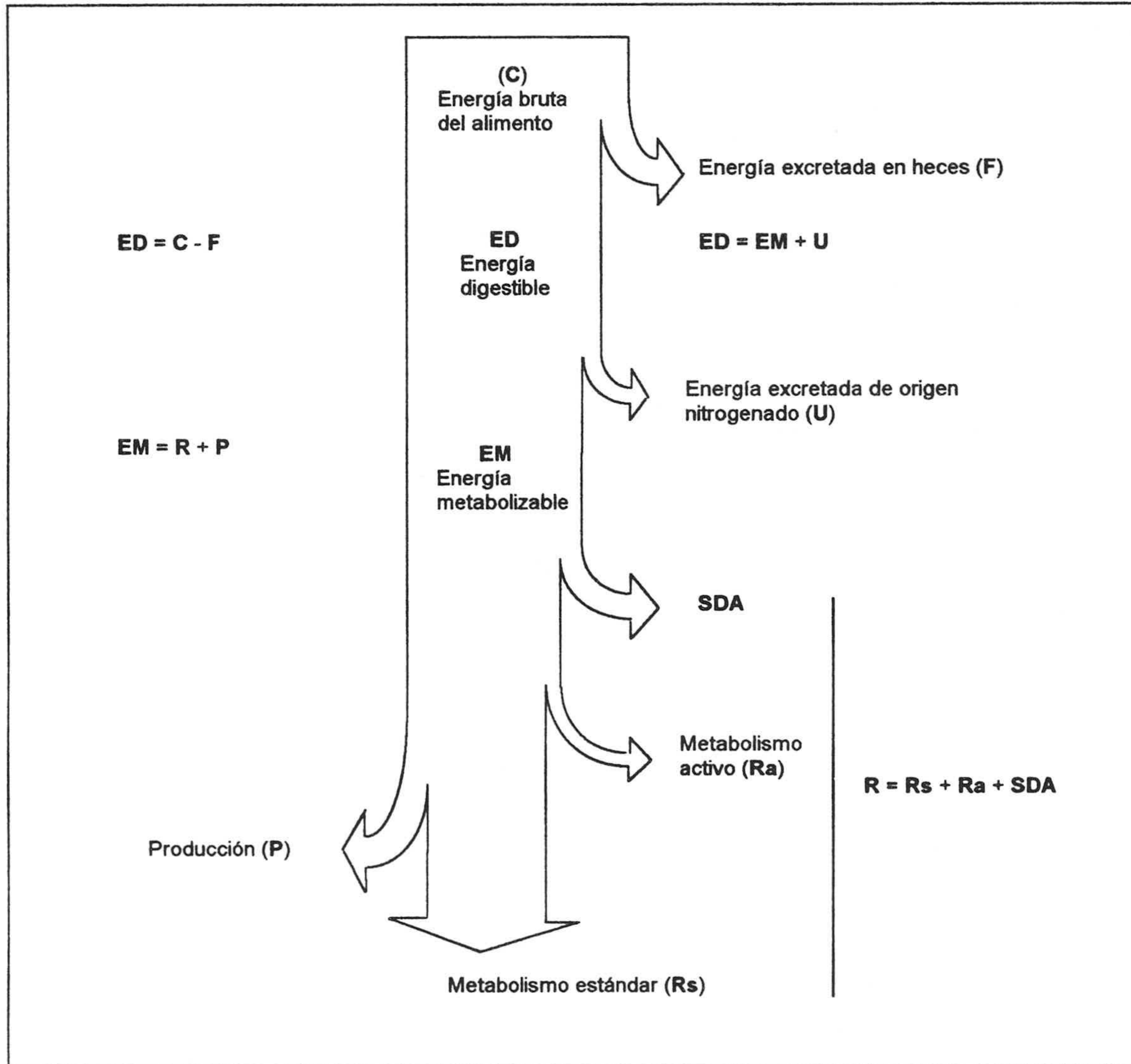
donde:

- **C** es la energía bruta del alimento
- **R** es la tasa metabólica
- **P** es la energía retenida por el pez (crecimiento somático y reproductivo)
- **U** son las pérdidas energéticas metabólicas de origen nitrogenado
- **F** son las pérdidas energéticas en las heces

En el siguiente esquema puede verse como se desglosa la energía en un balance típico.



**Balance energético**





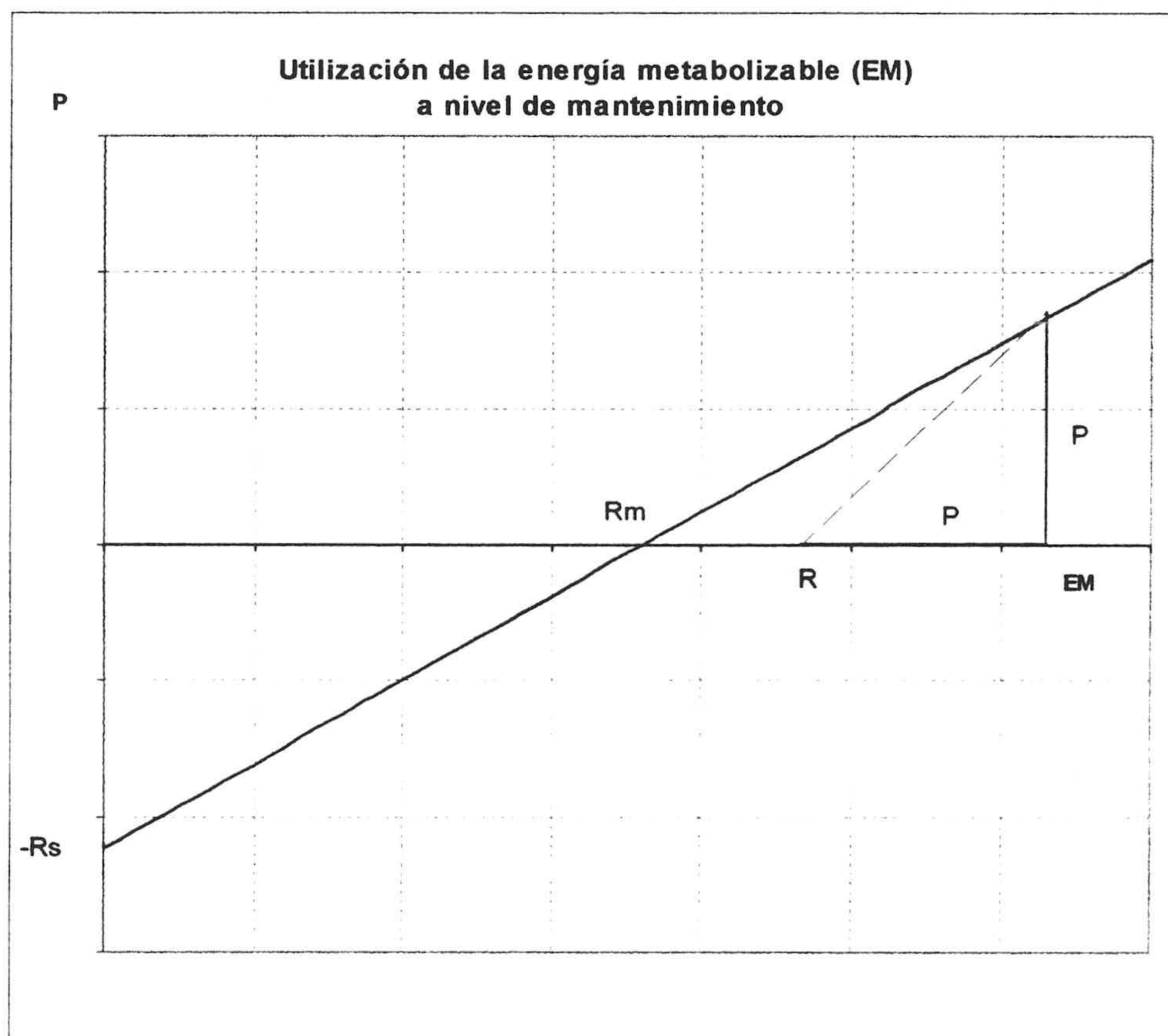
Utilización de la energía metabolizable

Según el balance energético:

$$EM = P + R$$

Esta expresión tiene una validez general, pues se apoya, en el *principio general de conservación de la energía* y expresa el hecho de que la energía metabolizable (EM) se reparte entre la energía neta retenida en los tejidos del animal (P) y el calor liberado (R) o, tasa metabólica.

Si la representamos gráficamente obtenemos:



Se trata de una recta que intercepta a ambos ejes en dos puntos muy interesantes en calorimetría:

- Si  $EM = 0$ , situación que se produce en ayuno, entonces  $P = -R$  siendo  $R = R_s$  la tasa metabólica en ayuno (cuando ha desaparecido el efecto de la alimentación o SDA) o tasa metabólica estándar.



- Si  $P = 0$ , entonces la ingesta es de mantenimiento y se cumple que  $EM = R$ , siendo  $R = R_m$  la tasa metabólica de mantenimiento que, en este nivel de ingesta, es igual a la energía metabolizable de mantenimiento.

La ecuación de la recta que obtenemos es:

$$P = k_m EM - R_s$$

donde:

$$k_m = \frac{R_s}{R_m}$$

es el coeficiente de utilización de la energía metabolizable a nivel de mantenimiento ( Van Es, 1972).

Este coeficiente es muy importante en calorimetría, pues representa la pendiente de la recta que relaciona la energía metabolizable (EM) con la energía retenida (P). Los valores de  $k_m$  obtenidos por diversos autores para *Cyprinus carpio* son:

Autor	$k_m$
Huisman (1976)	0.7
Schwarz y Kirchegessner, (1984)	0.62
Meyer-Burgdorff et al. (1989)	0.60

que comparándolos con el valor obtenido para homeotermos de  $k_m = 0.75 - 0.80$  (Van Es, 1972), se deduce que estos últimos utilizan la energía metabolizable de forma más eficiente, aunque sus necesidades de mantenimiento son del orden de 10 veces la de los peces.

En régimen de engorde, la  $k_m$  se denomina  $k_g$ , cuyos valores para diferentes niveles de ingesta y a una temperatura de 23 °C, en *Cypinus carpio* han sido obtenidos por (Meyer-Burgdorff et al. 1989):

Ingesta (% peso corporal)	2	3.5	4.8	6.1
$k_g$	0.59	0.64	0.70	0.72

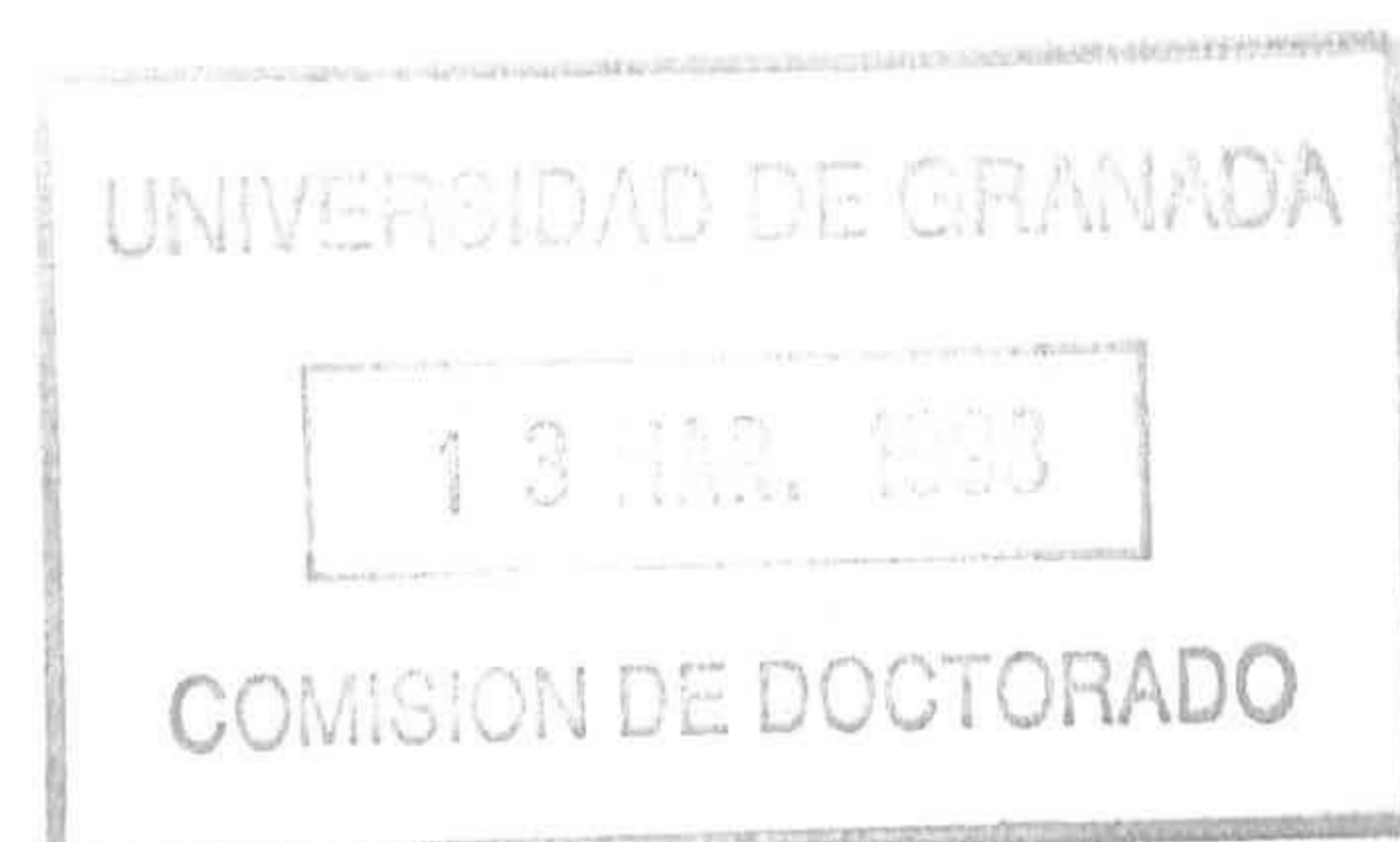


La comprensión y estudio de la energética nutricional de cualquier animal, incluidos los peces, es una base necesaria para la consecución de un régimen dietario equilibrado y adecuado a un determinado ambiente físico. La definición completa de los requerimientos nutritivos y energéticos, depende del conocimiento de la proporción en que la energía contenida en los componentes de una dieta es catabolizada como combustible o anabolizada para constituir reservas tisulares.

Debido a que el objetivo primordial de una piscicultura es maximizar la supervivencia y el crecimiento al coste más bajo posible; es obvio que gran parte del éxito de un cultivo de peces depende del aporte de dietas que contengan niveles adecuados de energía, así como un balance apropiado de nutrientes que permitan el crecimiento más efectivo del animal.

Los estudios de bioenergética en peces se encuentran menos desarrollados que en aves y mamíferos y no hay duda de que el enfoque bioenergético y el uso de modelos predictivos son potencialmente de gran beneficio para la acuicultura, algo que todavía no se termina de reconocer.

Uno de los mayores beneficios de los balances energéticos, es que se pueden realizar en cortos períodos de tiempo en comparación con lo que duran los ciclos biológicos y de cultivo. Permiten realizar predicciones rápidas de los efectos sobre el crecimiento de determinadas dietas, tipos de manipulación, etc., evitándose así, experimentos largos que sobre todo en pisciculturas, están expuestos a interferencias de variables incontroladas (alimentadores, aireación, bombeo del agua, etc.) y que requieren gran número de especímenes, tiempo y dinero. Así mismo, estudios de balances energéticos *acumulativos*, es decir, realizados a intervalos de tiempo, pueden contribuir a suministrar información sobre ciclos naturales que cubran los efectos de la edad, cambios estacionales, fase reproductora, cambios en las constantes ambientales, etc.





### 2.3.1 ENERGÍA BRUTA DEL ALIMENTO (C)

Las necesidades energéticas de los peces son diferentes de las de los mamíferos terrestres, ya que los peces son animales poiquiloterms y no necesitan gastar energía para mantener su temperatura corporal constante. Como son amonotélicos, convierten el nitrógeno proteico en amoníaco, que tiene la ventaja sobre la urea de ser un proceso menos costoso energéticamente. Por otra parte también necesitan menos energía para orientar su posición en el agua, en comparación con los animales aéreos.

Los peces utilizan mal los carbohidratos complejos, por lo que sus fuentes principales de energía son las proteínas y las grasas.

Los piensos granulados son los más utilizados en la alimentación de peces porque ofrecen grandes ventajas, ya que se puede diseñar el tamaño de los granos, contenido energético y las proporciones relativas de carbohidratos, lípidos y proteínas.

Los piensos granulados pueden ser inestables en el agua y se pierden nutrientes que provocan una sobrestimación de C (Talbot, 1985). Estas pérdidas se han estimado en el 4% (Elliott, 1976). Estos problemas se pueden evitar añadiendo a estas dietas agentes aglutinantes que permiten compactar el pienso y hacerlo más estable en el agua, lo que repercute en un mejor aprovechamiento digestivo del mismo. Los más utilizados son los hidrocoloides orgánicos, tales como goma arábica, agar, ácido algínico y carboximetilcelulosa. Brafield (1985), utiliza el alginato Glucol E/RH2 que es soluble en agua fría, pero cuando se le trata con un álcali apropiado se modifica químicamente y se vuelve insoluble cuando está seco. En nuestro laboratorio (Tesis Doctoral de A.E. Morales) hemos utilizado un polímero artificial (Carbapol 941), carboximetilcelulosa y alginato, encontrando en todos la misma efectividad.

#### 2.3.1.1 CUANTIFICACIÓN DE LA INGESTA Y VALORACIÓN ENERGÉTICA DE LA DIETA

En acuicultura es importante desarrollar sistemas intensivos de alto rendimiento y para poder alcanzar estos objetivos, un factor a tener en cuenta es la elección adecuada de la dieta, tanto en su composición, como en la ración que se suministre a los peces, ya sea de mantenimiento o de engorde.



Las raciones de mantenimiento son las que no producen cambios significativos en el peso ni en la composición corporal de los animales. Se consideran raciones de mantenimiento desde un 0.2 a un 0.7 % (peso pez día<sup>-1</sup>) dependiendo de la composición de la dieta (Carter y Brafield, 1992; Meyer-Burgdorff et al., 1989).

Las raciones de engorde son las que producen un aumento en el peso y la composición corporal de los animales. Se consideran raciones de engorde desde un 0.7% hasta un 6% (peso pez día<sup>-1</sup>), dependiendo de la composición de la dieta (Meyer-Burgdorff, 1989),

Una vez que se ha elegido el tipo de ración, es necesario hacer un seguimiento diario de la cantidad de comida que ingieren los animales, para poder realizar correctamente los balances energéticos finales. Con este fin, se debe de pesar la comida antes y después de ofrecérsela a los peces, y retirar de la cuba la que no se hayan comido, para poder cuantificar que cantidad de la ración ofrecida se han comido realmente. Es muy importante el diseño de la cuba, para poder retirar los restos de comida inmediatamente después de la ingesta, y pesarla antes de que se deteriore en el agua, sin tener que molestar a los animales.

La valoración energética de la dieta es el cálculo de su energía bruta. Esta valoración se puede realizar por dos métodos diferentes y complementarios:

- Un método es quemar cantidades conocidas de muestras de la dieta en bomba calorimétrica.
- Otro método es analizar el material del alimento y multiplicar las proporciones de carbohidratos, proteínas y grasas por factores de conversión apropiados; los valores medios más aceptados para la combustión completa de carbohidratos, proteínas y grasas son 17.2, 23.6 y 39.5 kJ g<sup>-1</sup> respectivamente (Brafield y Llewellyn, 1982; Jobling, 1983b), aunque Brett y Groves (1979) opinan que el último valor es más apropiado para los ácidos grasos saturados de mamíferos y dan 36.2 kJ g<sup>-1</sup> para la grasa de los peces que es altamente insaturada.

Este último método tiene la ventaja de que se puede descontar el contenido energético de la excreción nitrogenada, si es necesario. El calor



desprendido por la oxidación completa de 100 g de proteína es de 2364 kJ, pero como en los peces el producto final es el amoníaco, se restan 397 kJ que corresponden a la oxidación del  $\text{NH}_3$ , por lo que el calor de combustión en tal caso será de  $19.67 \text{ kJ g}^{-1}$  en lugar de  $23.6 \text{ kJ g}^{-1}$ . El contenido energético de una dieta granulada, compuesta de una mezcla de los tres nutrientes básicos se sitúa normalmente en un rango de 20 - 25  $\text{kJ g}^{-1}$  (Brafield, 1985).

Una vez que se ha determinado la energía bruta de la dieta, se calcula la energía de la ración que comen los animales cada día.

#### 2.3.1.2 RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN

Cuando se realizan estudios de energética y crecimiento en laboratorio, el principal objetivo es por lo general, obtener información sobre las tasas máximas de crecimiento del pez con diferentes regímenes de alimentación: en exceso, a saciedad o restrictivo.

**La alimentación en exceso** se puede utilizar con alimentos naturales o con dietas granuladas. Si las dietas son granuladas se pueden ofrecer mediante alimentadores automáticos que dispensan cantidades de comida a cortos intervalos de tiempo. Este método garantiza una alimentación más o menos continua, dando la oportunidad al pez de poder consumir raciones máximas que potencien su crecimiento. Las desventajas de este método son el desperdicio de comida y que ésta se puede desintegrar contribuyendo al deterioro de la calidad del agua dentro del tanque experimental.

Para conocer la cantidad de comida que ingiere un pez alimentado a saciedad, se emplean métodos especiales. Las técnicas radiográficas se utilizan para cuantificar el contenido del intestino de un pez, añadiendo a los piensos bajas concentraciones de partículas que se detectan con rayos X. Después de la comida se radiografía a los animales para saber cuántas partículas hay en sus intestinos y se calcula la cantidad de comida ingerida, relacionando dichas partículas con las que hay en una cantidad previamente determinada de alimento. Con este método no hace falta tener a los peces en ayunas antes del experimento, no es invasivo y permite realizar medidas individuales; pero tiene dos inconvenientes: si estas partículas pasan rápidamente al intestino, se



pueden perder con las heces, obteniéndose datos incorrectos sobre la cantidad de alimento consumido y si las medidas son repetitivas, se debe dejar el tiempo suficiente para que todas las partículas de una comida sean evacuadas antes de la siguiente .

**La alimentación a saciedad** se define, como la máxima cantidad de comida que puede consumir un pez cuando se le ofrece el alimento dos o tres veces al día. La precisión de esta definición se puede cuestionar en algunos casos, ya que a pesar de ofrecerle a un pez el alimento varias veces al día, éste puede no tener la misma disposición a comer, pues en muchas especies de peces se producen aumentos y disminuciones de su actividad alimenticia durante ciclos de 24 horas (Stirling, 1977; Smagula y Aelman, 1982; Fabridge y Leatherland, 1987; Cui y Wootton, 1988b; Cui y Liu, 1990), también hay especies cuyas actividades varían con la noche, el día o el crepúsculo y otras, según las estaciones del año.

**La alimentación restrictiva** es una alimentación controlada, en la que se le ofrece al animal una cantidad de alimento que es un % de su peso y que puede variar según las necesidades de los estudios experimentales.

### 2.3.1.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA INGESTA

La mayoría de las características biológicas, incluyendo las funciones fisiológicas (como la ingestión de alimento), dependen del tamaño del animal. La relación entre una variable biológica y el tamaño corporal se puede describir mediante la ecuación:

$$C = aW^b$$

donde la variable biológica **C** (consumo de alimento), aumenta alométricamente cuando aumenta el peso corporal, **W**. Los términos **a** y **b** son constantes, con **a** se expresa el consumo específico y **b** suele variar poco y su valor es menor de 1.

En la mayoría de las especies de peces se han encontrado las tasas máximas de ingestión de alimento en proporción al peso del cuerpo, en una



escala de 0.6 - 0.8 para el exponente  $b$ , aunque Cui y Liu (1990) obtienen en seis especies de teleosteos valores de 0.54 - 1.23. Al exponente  $b$  le afectan entre otros factores la dieta, Fischer (1973) encontró que cuando alimentaba a peces de la especie *Ctenopharyngodon idella* con una dieta herbívora, el exponente  $b$  valía 0.8, mientras que con una dieta omnívora valía 0.49; otro factor es la temperatura, Fonds y Saksna (1977), encuentran que cuando se somete a la especie *Solea solea*, a un rango de temperaturas entre 10 y 26 °C, los valores del exponente  $b$  están entre 0.4 - 0.9, por último, cuando la cantidad y la frecuencia de las comidas disminuye el exponente  $b$  aumenta, porque el pez se vuelve hiperfágico (Jobling, 1983). Ursin (1967), argumentó que la tasa máxima de consumo de alimento está determinada por la superficie de absorción en el canal alimenticio, pero los valores que se han ido obteniendo del exponente  $b$  en diferentes especies y las diferencias interespecíficas del mismo, sugieren que este argumento no está justificado.

En la siguiente tabla (Jobling, 1994) se pueden ver diferentes valores del exponente peso en relación con el peso corporal y el régimen alimenticio en diferentes especies:

Tabla 2-1 Exponentes del peso utilizados en diferentes especies de peces.

Especie	Peso (g)	Régimen alimentario	Exponente $b$
<i>Oncorhynchus nerka</i>	4 - 216	A saciedad, 3 veces al día	0.657
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3 - 1300	A saciedad, 3 veces al día	0.830
<i>Salmo trutta</i>	5 - 300	A saciedad, 4 veces al día	0.761
<i>Micropterus salmoides</i>	8 - 150	A saciedad, 2 veces al día	0.711
<i>Dicentrarchus labrax</i>	2 - 180	A saciedad, 3 veces al día	0.727

Los peces de mayor tamaño consumen más alimento que los peces pequeños, aunque es una práctica común, expresar la ingestión de alimento, o tasas de ingestión en términos relativos (comida ingerida por gramo de peso, o como porcentaje de peso corporal y por día), la ingesta expresada en estos términos, disminuye cuando aumenta el peso corporal. A temperatura constante, el tamaño del cuerpo es el factor que más influye en la tasa máxima de consumo de alimento (Elliott, 1979).



La temperatura del agua es el factor que más influye en la cantidad de alimento que consume un pez. Cuando un pez tiene libre acceso a la comida, al aumentar la temperatura del agua, aumentará su tasa de ingestión, pero este aumento bajará rápidamente en cuanto que la temperatura del agua suba por encima el límite de tolerancia térmica de la especie en cuestión (Elliott, 1979).

En la siguiente tabla se muestra la influencia de la temperatura del agua y el peso en el consumo de alimento de la trucha marrón (Jobling, 1994):

Tabla 2-2 Influencia de la temperatura y el peso en la ingesta de la trucha marrón

<i>Alimento consumido por el pez cada día</i>				
<i>Peso del pez (g)</i>	<i>10 °C</i>		<i>15 °C</i>	
	<i>Materia Seca (mg)</i>	<i>% Peso pez</i>	<i>Materia Seca (mg)</i>	<i>% Peso pez</i>
5	64	5.3	135	11.3
10	108	4.5	230	9.6
50	367	3.1	791	6.6
100	621	2.6	1346	5.6
200	1068	2.2	2290	4.8
300	1429	2	3125	4.3

El alimento que consumen los peces, a menudo, se caracteriza, por grandes variaciones tanto inter como intra-individuales. Cuando se alimenta a un conjunto de peces, se producen interacciones sociales y se establecen jerarquías de dominancia, con el resultado de que algunos individuos disminuyen su ingestión de alimento y su crecimiento, aunque la forma de alimentarles sea a saciedad o en exceso. Estos efectos son más marcados cuando se restringe el suministro de comida o ésta es un recurso defendible; en estas condiciones los individuos socialmente dominantes pueden consumir mayores cantidades de comida que los peces subordinados.

En experimentos con truchas arco iris alimentadas de forma restrictiva con 0.5, 1 y 1.6% del peso total por tanque y suministrando el alimento durante 60



minutos cada día, se ha podido comprobar la importancia de las interacciones sociales de la ingesta. Con la alimentación más restrictiva había peces que consumían 6 veces más alimento que otros, mientras que con la alimentación menos restrictiva los peces socialmente dominantes comían 2.5 veces más alimento que los demás, las variaciones diarias en la toma de alimento eran mínimas en los peces dominantes, mientras que en el resto eran muy grandes, ingiriendo unos días mucho alimento y otros muy poco o ninguno. Para dificultar la monopolización del alimento por unos pocos individuos, se limita el tiempo de suministro, favoreciendo una mejor distribución del alimento en grupo (Jobling, 1994).

Otros factores que disminuyen la cantidad de la ingesta son niveles bajos de oxígeno disuelto en el agua, el sabor del pienso y su composición.

Las tasas de ingestión de alimento (y crecimiento), pueden sufrir variaciones a largo plazo incluso cuando el pez se encuentre en condiciones medioambientales uniformes, como por ejemplo, luz y temperatura constantes. Los peces sexualmente maduros también pueden sufrir variaciones en la ingestión del alimento en los diferentes estadios de su ciclo reproductivo; sin embargo, la importancia de factores medioambientales y endógenos en la regulación a largo plazo del consumo de alimento, está relativamente poco estudiado.

### 2.3.2 TASA METABÓLICA (R)

El metabolismo energético se realiza en los peces, como en cualquier otro organismo, por la oxidación de substratos exógenos o endógenos, con el fin de producir la energía necesaria para su mantenimiento, crecimiento (somático y reproductivo) y actividad.

Las tasas metabólicas medidas en distintas situaciones nos permiten evaluar el coste energético de las actividades que se llevan a cabo. Entre las actividades se incluyen el crecimiento, regeneración tisular, trabajo químico, osmótico, eléctrico y mecánico interno, el trabajo externo de locomoción y las pérdidas por secreciones, orina y heces.



Entre los factores que influyen en las tasas metabólicas están la temperatura ambiental, hora del día, época del año, edad, tamaño, estrés, dieta, sexo y preñez. En consecuencia las tasas metabólicas solo podrán **compararse significativamente** en condiciones cuidadosamente elegidas y estrictamente controladas.

#### 2.3.2.1 DISTINTAS FRACCIONES DE (R)

Los peces pasan a diario por diferentes situaciones metabólicas que podemos evaluar por calorimetría indirecta, midiendo el oxígeno que consumen en cada momento.

En un registro continuo de consumo de oxígeno en ciclos de 24 horas, se observa un periodo estable de dicho consumo, que comienza al apagarse la luz y termina al salir el sol al día siguiente, que muchos autores lo identifican con la **tasa metabólica de reposo o de rutina (Rr)**. Esta tasa metabólica se mide como los valores medios más bajos de consumo de oxígeno, en ciclos de 24 horas, antes de la comida (Guinea y Fernández, 1997); no es independiente ni de la dieta ni de la ración y por esta razón no se la puede tomar como nivel base del metabolismo. En peces alimentados con raciones de mantenimiento la tasa metabólica de rutina (Rr) está por encima de la **tasa metabólica estándar (Rs)**.

La **tasa metabólica estándar (Rs)**, es la *tasa estable del metabolismo energético, medida a una temperatura determinada, en condiciones de mínimo estrés ambiental y fisiológico, después de que el ayuno detenga temporalmente los procesos absorptivos y digestivos*. Es el nivel mínimo de gasto energético para mantener vivo al animal. Resulta difícil asegurar que los peces se encuentran en un estado de reposo muscular, por la necesidad que tienen de mantenerse orientados en el agua, lo que implica cierta actividad, por esta razón algunos autores han calculado el metabolismo estándar como el metabolismo activo extrapolado a una velocidad cero. Sin embargo la tasa metabólica de rutina después de un ayuno de 48 horas, puede ser considerada como una buena aproximación del metabolismo estándar (Elliott, 1976b; Cui y Wootton, 1988b.); esta segunda opción es el método utilizado en este trabajo.



La tasa metabólica estándar se mide a una temperatura controlada, porque los peces son animales poiquiloterms y su temperatura corporal varia con la del medio. Es muy importante aclimatar previamente a los peces de forma gradual (1° cada día), puesto que se deben de activar los mecanismos reguladores que les permiten adaptarse a las nuevas condiciones.

Las variaciones que se producen en la tasa metabólica estándar con los cambios de la temperatura, se pueden apreciar en la tabla 2-3:

Tabla 2-3 Influencia de la temperatura en la tasa metabólica estándar (Rs)

Especie	Número de peces	Peso (g)	t (°C)	Rs		Autor
				(1)	(2)	
<i>Carassius auratus</i>	5	100	20		57.6	Van den Thillart (1977)
<i>Mugil auratus</i>		153	20	113.4		Alekseeva (1967)
<i>Cyprinus carpio</i>	6	820-1970	20		66.1 ± 6.2	Becker et al., (1992)
"	"	"	21		68.2 ± 6.9	"
"	"	"	22		73.2 ± 6.0	"
"	"	"	23		88.9 ± 16.7	"
"	"	"	24		94.3 ± 20.2	"
"	"	"	25		92.3 ± 20.5	"
"	192	79-1370	25		73.15	Yamamoto (1991)
"	6	820-1970	28		114.3 ± 21.2	Becker et al., (1992)
"		65 ± 8	28	166.13 ± 5.66		Chakraborty et al. (1995)
				164.00 ± 7.78		
				157.74 ± 6.50		
"	6	820-1970	30		133.3 ± 24.9	Becker et al., (1992)
<i>Rhinomugil corsula</i>	1	40	30		83.2	Peter Mohamed y Kutty (1986)
<i>Tilapia mossambica</i>	1	17	30		83.2	Kutty (1972)

(1) O<sub>2</sub> en mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>. Alekseeva (1967) datos convertidos de mW g<sup>-1</sup> a mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> con Q<sub>ox</sub> de 13.65 J mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>  
 (2) O<sub>2</sub> en mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.85</sup> y Becker et al. (1992) en mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>, excepto Yamamoto (1991) cuyos datos se han convertido de ml O<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> g<sup>-0.78</sup> a mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.78</sup>

Acompañando a los procesos de digestión y de asimilación del alimento se observa un notable incremento de la tasa metabólica, que alcanza un valor máximo unas horas después de la ingesta, al que le sigue un descenso gradual del consumo de oxígeno hasta alcanzar los niveles que había antes de comer.

La magnitud de este proceso depende entre otros factores de la cantidad de la dieta y de la temperatura. Max Rubner en 1885 le dio el nombre más bien



**impropio de acción dinámica específica (SDA).**

Como los estudios experimentales de bioenergética se realizan en acuarios con cubas cuyo tamaño limita la movilidad que los peces tienen en su hábitat natural, su **tasa metabólica activa (Ra)**, se mide como el aumento del consumo de oxígeno por encima de la actividad espontánea, obligándoles a nadar a una velocidad y en una dirección determinada, en cámaras especiales (descritas en el apartado de Cámaras metabólicas). La unidad que se utiliza para medir la velocidad es BL/s (longitud del cuerpo / segundo). Esta tasa de metabolismo activo puede llegar a ser 10-15 veces la tasa de reposo (Jobling, 1994).

El mayor gasto energético del metabolismo activo se produce con velocidades elevadas y con cambios continuos de la dirección con que se obliga a nadar a los peces (Boisclair y Tang, 1993). Se ha intentado valorar el coste energético de una actividad forzada junto con el efecto de la alimentación, pero ya en el año 1974, Beamish, advierte que se debe ir con mucha precaución en este tipo de estudios, porque los resultados que se obtienen no son concluyentes.

La velocidad de las reacciones enzimáticas depende en gran medida de la temperatura. Por tanto, el metabolismo tisular y, en último término, la vida de un organismo dependen del mantenimiento del medio interno a una temperatura adecuada. La dependencia de una reacción con la temperatura se describe con la *ecuación de Arrhenius* :

$$k = Ae^{\frac{-E_a}{RT}}$$

en la que  $k$  es la constante de la velocidad de la reacción,  $A$  es una constante relacionada con la frecuencia de colisión de las moléculas y  $E_a$  es la energía de activación. Al considerar la influencia de la temperatura en la velocidad de la reacción es útil el obtener un cociente de temperaturas distintas. Se ha elegido como estándar, aunque arbitrario, una diferencia de temperatura de 10 °C como intervalo para determinar la sensibilidad de una función biológica a la temperatura, y se ha denominado  $Q_{10}$  que se calcula empleando la *ecuación de van't Hoff*.



$$Q_{10} = \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{10}{(t_2 - t_1)}}$$

en la que  $k_1$  y  $k_2$  son las constantes de velocidad a las temperaturas  $t_1$  y  $t_2$  respectivamente, que aplicado a la tasa metabólica es:

$$Q_{10} = \left( \frac{R_2}{R_1} \right)^{\frac{10}{(t_2 - t_1)}}$$

en la que  $R_1$  y  $R_2$  son las tasas metabólicas a las temperaturas  $t_1$  y  $t_2$  respectivamente.

La  $Q_{10}$  para  $R$ , disminuye a medida que aumenta la temperatura, (Jobling, 1994); en *Cyprinus carpio* pasa de un valor de 5.5 para un rango de temperaturas de 8 a 13 °C, a 2.1 para un rango de temperaturas de 16-25 °C (Becker et al., 1992).

La tasa metabólica al igual que la demás funciones fisiológicas, depende del tamaño del animal y ambas variables tienen un comportamiento alométrico, que se expresa de la siguiente forma:

$$R = a W^b$$

donde  $a$  es un coeficiente de proporcionalidad llamado metabolismo específico, que varía según la especie y  $b$  es un exponente determinado empíricamente expresa la tasa de cambio de  $R$  al variar la masa corporal. En consecuencia, mientras que la tasa metabólica total aumenta obviamente con la masa corporal, la tasa metabólica específica (tasa metabólica por unidad de masa tisular) disminuye al aumentar la masa corporal.

Para poder determinar el coeficiente  $b$  es necesario utilizar el mayor número de especies posibles y dentro de cada especie escoger una gran variedad de pesos; en el caso de los peces hay ciertas discrepancias respecto al valor de dicho exponente, debido a las diferentes condiciones experimentales, en la siguiente tabla se muestra algunos exponentes del peso medidos o utilizados por diversos autores:



Tabla 2-4 **Exponentes del peso** medidos o utilizados por diversos autores

Especie	Exponente del peso	t (°C)	Nº de peces	Pesos (g)	r <sup>2</sup>	Autores
<i>Teleósteos</i>	0.81	20				Winberg (1956)
<i>Cyprinus carpio</i>	0.84	25				Winberg (1956)
<i>Salmo gairdneri</i>	0.75	15	30	4 - 57	0.846	Smith et al., (1977)
<i>Parophys vetulus</i>	0.70	12	31	2 - 200	0.860	Boese, (1988)
<i>Cyprinus carpio</i>	0.847	25				Oikawa et al., (1984)
<i>Cyprinus carpio</i>	0.78	25	192	79 - 370	0.961	Yamamoto, (1992)
<i>Oreochromis niloticus</i>	0.75	25	195	18 - 720	0.963	Yamamoto, (1992)
<i>Anguilla anguilla</i> <i>Cyprinus carpio</i>	0.80	20 y 25				Heinsbroek, et al., (1991) *
<i>Salmo gairdneri</i> <i>Carassius auratus</i> <i>Oreochromis mossambicus</i> <i>Rhinomugil corsula</i> <i>Tilapia mossambica</i>	0.85	18 30 30 35 30				Van Waversveld et al., (1989) *
<i>Cyprinus carpio</i>	0.80	23				Meyer-Burgdorff et al., (1989) *
<i>Cyprinus carpio</i>	0.80	7 - 33				Becker et al., (1992) *

\* Autores que utilizan exponentes del peso en sus trabajos.

Se han manejado exponentes del peso menores y mayores que los que están reflejados en esta tabla, pero a medida que se han perfeccionado los métodos, los límites superior e inferior se han estrechado, quedando comprendido entre 0.70 y 0.85 para muchas especies de peces.

En particular para *Cyprinus carpio*, los valores obtenidos por Yamamoto (1992) y Oikawa (1984) estrechan aún más los límites entre 0.78 y 0.847. Sin embargo muchos autores prefieren utilizar un valor intermedio de 0.8, no sólo para *Cyprinus carpio* sino para otras especies.



### 2.3.2.2 TÉCNICAS CALORIMÉTRICAS DE DETERMINACIÓN DE LA TASA METABÓLICA (R)

Tres de los factores del balance energético (C, P y F) se pueden medir con facilidad y precisión en bomba calorimétrica, una vez que se han identificado y solucionado algunas de las tradicionales fuentes de error. Por ejemplo el uso de dietas granuladas con agentes aglutinantes ha reducido la sobrestimación de la energía de la ingesta (C) y la utilización de la relación *peso seco/peso húmedo* ha permitido una mejor estimación de (P). Además continuamente están mejorando los métodos para medir la excreción nitrogenada (U), componente minoritario pero significativo del balance energético. La medida del calor liberado (R) ha resultado ser más difícil que cualquier otro componente del balance energético. Se han desarrollado tres métodos para medir R:

- *Calorimetría directa*, a partir del **calor liberado** en el metabolismo energético.
- *Calorimetría indirecta*, basada en la tasa de **captación de oxígeno**.
- *Calorimetría indirecta* basada en la **captación oxígeno y excreción de amoníaco y dióxido de carbono**.

Los dos métodos de calorimetría indirecta han sido aplicados simultáneamente por Musisi (1984), obteniéndose resultados muy parecidos. La calorimetría directa y la calorimetría indirecta basada en la captación de oxígeno, fueron aplicadas simultáneamente por Lowe (1978), también con resultados satisfactorios. Sin embargo no se puede asegurar de forma concluyente que los tres métodos sean igualmente efectivos (Brafield, 1985).

#### 2.3.2.2.1 CALORIMETRÍA DIRECTA

En los procesos metabólicos se desprende energía química que cuando no es utilizada para realizar trabajo o sintetizar nuevas moléculas, se libera finalmente en forma de calor. Por ello se puede determinar la tasa metabólica de un animal midiendo la cantidad de energía liberada como calor en un periodo de tiempo dado. Dichas determinaciones se llevan a cabo en un calorímetro y el método se conoce como *calorimetría directa*. Se coloca al animal en una cámara muy bien aislada y se determina su pérdida de calor por la subida de la



temperatura de una masa conocida de agua.

La calorimetría directa se ha empleado normalmente con aves y mamíferos que tienen tasas metabólicas elevadas. La precisión del método puede no ser adecuada para animales que tengan tasas metabólicas bajas como es el caso de los peces, que es unas 14 veces más pequeña que la de los mamíferos por unidad de peso metabólico (a 20 °C la de los peces y a 39 °C la de los mamíferos) (Zotin, 1990). Otra desventaja de este método es que inevitablemente se altera el comportamiento del animal (y por ello su metabolismo).

#### 2.3.2.2.2 CALORIMETRÍA INDIRECTA BASADA EN LA TASA DE CAPTACIÓN DE OXÍGENO

La determinación de la **tasa metabólica a partir del consumo de oxígeno** se basa en dos postulados importantes. En primer lugar, se asume que las reacciones químicas relevantes son aeróbicas y en segundo lugar, que la cantidad de calor producido, depende del sustrato que se esté oxidando en cada momento.

El método más generalizado para calcular el calor liberado por un pez consiste en medir la cantidad total de oxígeno consumido en un periodo de tiempo determinado y multiplicarlo por un valor equivalente de energía (valor oxalórico).

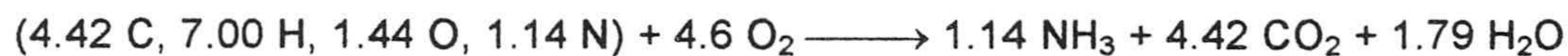
Gracias al perfeccionamiento de las técnicas de fabricación de sensores de oxígeno, hoy día es posible medirlo con facilidad y precisión. El concurso de la informática añade la posibilidad de obtener registros continuos de oxígeno en los que es posible distinguir claramente las distintas fases fisiológicas por las que atraviesa un pez diariamente (reposo, actividad, alimentación, etc.)

El contenido energético de cualquier sustancia se obtiene por combustión de una muestra de la misma, en bomba calorimétrica y, como ya se ha mencionado, también se puede analizar el material del alimento y multiplicar las proporciones de carbohidratos, proteínas y grasas por factores de conversión apropiados; los valores medios más aceptados son 17.2, 23.6 y 39.5 J mg<sup>-1</sup> respectivamente (Brafield y Llewellyn, 1982; Jobling, 1983b), aunque Brett y Groves (1979) opinaron que el último valor es más apropiado para los ácidos



grasos saturados de mamíferos y dieron  $36.2 \text{ J mg}^{-1}$  para las grasas de los peces que es altamente insaturada.

Por otra parte, el calor que se produce en la oxidación de un substrato determinado, está relacionado con el oxígeno necesario para llevarla a cabo. Por ejemplo, en el caso de los carbohidratos, la combustión completa de un mol de glucosa por seis moles de oxígeno (192 g) producen 2833 kJ; lo que equivale a  $14.76 \text{ J mg}^{-1} \text{ O}_2$ . A este valor se le denomina valor oxicalórico (Qox) para carbohidratos. Las grasas varían en su composición por lo que se toma un valor medio de  $13.72 \text{ J mg}^{-1} \text{ O}_2$ . El caso de las proteínas es el más complejo ya que su Qox depende de los productos nitrogenados finales (amoníaco o urea). La siguiente ecuación (Brafield y Llewellyn, 1982), representa la producción de amoníaco por oxidación de 100 g de proteína:



El azufre proteico ha sido ignorado porque representa sólo el 1% y sus productos finales son frecuentemente desconocidos. La energía desprendida en esta reacción es 1967 kJ, que corresponden a la energía de 100 g de proteína (2364 kJ) menos la de 1.14 moles de amoníaco (397 kJ). Cuando este valor se divide por el oxígeno utilizado (147.2 g), el Qox obtenido es  $13.36 \text{ J mg}^{-1} \text{ O}_2$ ; además, si dividimos la energía desprendida (1967 kJ) por la proteína oxidada (100g), obtenemos un factor de conversión corregido de  $19.67 \text{ J mg}^{-1}$  para proteínas, en lugar del  $23.6 \text{ J mg}^{-1}$  anteriormente citado.

En la tabla 2-5 se muestran valores oxicalóricos utilizados por diversos autores:

	Brafield y Llewellyn (1982) ( $\text{J mg}^{-1} \text{ O}_2$ )	Elliott y Davinson (1975) ( $\text{J mg}^{-1} \text{ O}_2$ )	Gnaiger (1983) ( $\text{J mg}^{-1} \text{ O}_2$ )
Carbohidrato	14.76	14.77	14.72
Grasa	13.72	13.72	13.75
Proteína a amoníaco	13.36	13.39	13.97
Proteína a urea	13.60	13.60	13.69



En un pez como en cualquier otro animal, se puede producir la oxidación simultánea de una serie de substratos, por lo que es necesario calcular un  $Q_{Ox}$  compuesto, que sea representativo de la mezcla.

El planteamiento general del problema establece que:

		La oxidación de:		
		C (mg) de carbohidrato	+ G (mg) de grasa	+ P (mg) de proteína
Consumo $O_2$ (mg)	=	a C	+ b G	+ c P
Produce calor R (J)	=	h C	+ i G	+ j P

$$\text{Total oxígeno consumido (mg): } O_2 = a C + b G + c P$$

$$\text{Total calor producido (J): } R = h C + i G + j P$$

Los coeficientes **a**, **b**, **c**, **h**, **i** y **j** se deducen de la siguiente forma a partir de los valores citados anteriormente:

$$a = \frac{17.2 \text{ J}}{\text{mg carbohidrato}} \cdot \frac{\text{mg } O_2}{14.76 \text{ J}} = 1.1653 \left( \frac{\text{mg } O_2}{\text{mg carbohidrato}} \right)$$

$$b = \frac{39.5 \text{ J}}{\text{mg grasa}} \cdot \frac{\text{mg } O_2}{13.72 \text{ J}} = 2.8790 \left( \frac{\text{mg } O_2}{\text{mg grasa}} \right)$$

$$c = \frac{19.67 \text{ J}}{\text{mg proteína}} \cdot \frac{\text{mg } O_2}{13.36 \text{ J}} = 1.4723 \left( \frac{\text{mg } O_2}{\text{mg proteína}} \right)$$

$$h = 17.20 \left( \frac{\text{J}}{\text{mg carbohidrato}} \right)$$

$$i = 39.5 \left( \frac{\text{J}}{\text{mg grasa}} \right)$$

$$j = 19.67 \left( \frac{\text{J}}{\text{mg proteína}} \right)$$

con lo que nos queda:

$$O_2 \text{ (mg)} = 1.1653 C + 2.8790 G + 1.4723 P$$

$$R \text{ (J)} = 17.20 C + 39.50 G + 19.67 P$$



### Cálculo del Qox compuesto

Con ambas ecuaciones se calcula un Qox compuesto de la siguiente forma:

$$Q_{ox} = \frac{R}{O_2} = \frac{17.20C + 39.5G + 19.67P}{1.1653C + 2.8790G + 1.4723P}$$

Es necesario conocer la **proporción** de macronutrientes (proteínas, grasas y carbohidratos) que en cada caso se están oxidando, para poder efectuar el cálculo del Qox compuesto.

En régimen de mantenimiento, cuando la ración que se le ofrece al pez se ajusta a sus necesidades energéticas, no se producen alteraciones en el peso y composición corporal, se puede asumir, si se desconocen las digestibilidades, que los substratos se oxidan en la misma proporción con que se encuentran en la dieta. Por ejemplo, una dieta cuya composición sea de **45%** de proteínas, **21%** de grasas y **27%** de carbohidratos, la proporción de estos sería **2.14:1:1.29**, correspondiéndole un Qox de **13.78 J mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>**. Si las digestibilidades son conocidas, se puede calcular de forma más ajustada la proporción de los substratos que se están oxidando. Por ejemplo para esta misma dieta supongamos que hemos obtenido unos coeficientes de digestibilidad de **0.83** para las proteínas, **0.88** para las grasas y **0.63** para los carbohidratos, las proporciones en que se asimilarán y metabolizarán serán **2.2:1.09:1**, correspondiéndole en este caso un Qox de **13.73 J mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>**. La diferencia, como puede verse, *no es muy significativa*.

En ayuno prolongado, cuando el pez metaboliza una mezcla de grasas y proteínas de sus propios tejidos, se ha obtenido un Qox compuesto de **13.56 J mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>** (Brett y Groves, 1979).

Con raciones de submantenimiento es más problemático el cálculo de un Qox compuesto, ya que contribuyen a R tanto la oxidación de substratos procedentes de la dieta como de los tejidos del pez. En tal caso el Qox compuesto estaría comprendido entre el valor calculado para una ración de mantenimiento y el calculado para ayuno.



Medida de las pérdidas energéticas metabólicas de origen nitrogenado (U) a partir del consumo de oxígeno

Este método calorimétrico ofrece la posibilidad de medir U a partir del consumo de oxígeno (Solomon y Brafield, 1972). En la ecuación expuesta anteriormente de la oxidación de 100g de proteína, se producen 1.14 moles de NH<sub>3</sub>, a los que corresponden 397 kJ por cada 147.2 g de oxígeno consumidos, de manera que se pierden 2.70 J por cada mg O<sub>2</sub> consumido en la oxidación de proteínas. Este hecho, permite calcular la proporción de oxígeno utilizado en la oxidación de proteínas respecto del oxígeno total consumido a partir de la ecuación (2), de la siguiente forma:

$$\frac{1.4723 P}{1.1653C + 2.8790G + 1.4723P}$$

Por ejemplo para una proporción de **2.14:1:1.29** de proteínas, grasas y carbohidratos, la relación anterior vale 0.42 mg O<sub>2</sub> (utilizado en proteínas) / mg O<sub>2</sub>; multiplicando este valor por 2.7 J mg<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> y por el consumo total de oxígeno medido, obtenemos un valor de la energía perdida en la excreción amoniacal (U).

2.3.2.2.3 CALORIMETRÍA INDIRECTA BASADA EN LA TASA DE CAPTACIÓN DE OXÍGENO Y EXCRECIÓN DE AMONÍACO Y DIÓXIDO DE CARBONO

Desde hace tiempo se ha obtenido la tasa metabólica (R) en aves y mamíferos a partir del consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono y excreción nitrogenada, pero esta técnica no se ha podido aplicar a los animales acuáticos hasta que se han perfeccionado los instrumentos capaces de medir la concentración de estos gases en agua.

La aplicación de este método de calorimetría conduce no sólo a la determinación más precisa de la tasa metabólica (R), sino que también permite conocer la composición del substrato que está siendo utilizado y de esta forma establecer qué proporción de cada macronutriente contribuye al crecimiento y la respiración. Además, abre un camino para estudiar lo que sucede en procesos anaeróbicos del metabolismo energético, cuando los cocientes respiratorios alcanzan valores inusualmente altos.



La aplicabilidad de este método depende de la exactitud de las medidas de consumo oxígeno, producción de amoníaco y dióxido de carbono. Kutty (1968) destacó las dificultades asociadas a la medición precisa de dióxido de carbono disuelto en agua debidas principalmente a las cantidades considerables de carbonatos y bicarbonatos presentes en el agua, especialmente en aguas duras (muy carbonatadas), pues el dióxido liberado por el pez produce un incremento comparativamente pequeño.

Basándose en el método desarrollado por Weir (1949) para mamíferos, Brafield (1985) publicó la siguiente ecuación:

$$R \text{ (J)} = 11.18 \text{ O}_2 \text{ (mg)} + 2.61 \text{ CO}_2 \text{ (mg)} - 9.55 \text{ NH}_3 \text{ (mg)}$$

Para obtener esta ecuación hay que hacer el planteamiento general del problema, en los siguientes términos:

La oxidación de:						
		C (mg) de carbohidrato	+	G (mg) de grasa	+	P (mg) de proteína
Consumo O <sub>2</sub> (mg)	=	a C	+	b G	+	c P
Produce CO <sub>2</sub> (mg)	=	d C	+	e G	+	f P
Produce calor R (J)	=	h C	+	i G	+	j P

$$\text{Total oxígeno consumido (mg): } \text{O}_2 = a C + b G + c P$$

$$\text{Total dióxido producido (mg): } \text{CO}_2 = d C + e G + f P$$

$$\text{Total calor producido (J): } R = h C + i G + j P$$

El **coeficiente respiratorio (RQ)** es la relación entre la producción de dióxido de carbono y la de consumo de oxígeno.

$$RQ = \frac{\text{producción de CO}_2}{\text{consumo de O}_2}$$



Se han encontrado valores de RQ para la oxidación de cada uno de los macronutrientes, que se recogen en la siguiente tabla:

<i>Substrato</i>	$\left(\frac{\text{moles } CO_2}{\text{moles } O_2}\right)$	$\left(\frac{\text{g } CO_2}{\text{g } O_2}\right)$
Carbohidrato	1	1.375
Grasa	0.71	0.976
Proteína (a NH <sub>3</sub> )	0.96	1.320

A partir de los coeficientes **a**, **b** y **c** calculados anteriormente y los correspondientes RQ, se obtienen los coeficientes **d**, **e** y **f** tal como se indica a continuación:

$$d = \frac{1.1653 \text{ mgO}_2}{\text{mg carbohidrato}} \cdot \frac{1.375 \text{ mgCO}_2}{\text{mgO}_2} = 1.6023 \left( \frac{\text{mg } CO_2}{\text{mg carbohidrato}} \right)$$

$$e = \frac{2.8790 \text{ mgO}_2}{\text{mg grasa}} \cdot \frac{0.976 \text{ mgCO}_2}{\text{mgO}_2} = 2.8106 \left( \frac{\text{mg } CO_2}{\text{mg grasa}} \right)$$

$$f = \frac{1.4723 \text{ mgO}_2}{\text{mg proteina}} \cdot \frac{1.320 \text{ mgCO}_2}{\text{mgO}_2} = 1.9434 \left( \frac{\text{mg } CO_2}{\text{mg proteina}} \right)$$

El sistema de ecuaciones queda de la forma:

$$O_2 \text{ (mg)} = 1.1653 C + 2.8790 G + 1.4723 P \quad (1)$$

$$CO_2 \text{ (mg)} = 1.6023 C + 2.8106 G + 1.9434 P \quad (2)$$

$$R \text{ (J)} = 17.20 C + 39.50 G + 19.67 P \quad (3)$$

Para resolver este sistema de ecuaciones se puede utilizar cualquiera de los métodos matemáticos para sistemas de ecuaciones lineales, en nuestro caso hemos optado por uno matricial, de manera que:

$$\begin{Bmatrix} O_2 - 1.4723 P \\ CO_2 - 1.9434 P \end{Bmatrix} = \begin{bmatrix} 1.1653 & 2.8790 \\ 1.6023 & 2.8106 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} C \\ G \end{Bmatrix}$$



$$\begin{Bmatrix} C \\ G \end{Bmatrix} = \begin{bmatrix} 1.1653 & 2.8790 \\ 1.6023 & 2.8042 \end{bmatrix}^{-1} \begin{Bmatrix} O_2 - 1.4723 & P \\ CO_2 - 2.8106 & P \end{Bmatrix}$$

$$\begin{Bmatrix} C \\ G \end{Bmatrix} = \begin{bmatrix} -2.1010 & 2.1521 \\ 1.1977 & -0.8711 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} O_2 - 1.4723 & P \\ CO_2 - 1.9434 & P \end{Bmatrix}$$

$$C \text{ (mg)} = -2.1010 O_2 + 2.1521 CO_2 - 1.0892 P \quad (4)$$

$$G \text{ (mg)} = 1.1977 O_2 - 0.8711 CO_2 - 0.0705 P \quad (5)$$

Si el amoníaco es el producto final de la proteína y 100 g de proteína producen 1.14 moles de  $NH_3$  (19.38 g), entonces dividiendo el primero por el segundo obtenemos la relación:

$$P \text{ (mg)} = 5.16 NH_3 \quad (6)$$

Las ecuaciones (4), (5) y (6) nos proporcionan la composición del substrato oxidado. Sustituyendo C, G y P en la ecuación (3) obtenemos R.

$$C \text{ (mg)} = -2,101 O_2 \text{ (mg)} + 2.1521 CO_2 \text{ (mg)} - 5.6203 NH_3 \text{ (mg)}$$

$$G \text{ (mg)} = 1.1977 O_2 \text{ (mg)} - 0.8711 CO_2 \text{ (mg)} - 0.3638 NH_3 \text{ (mg)}$$

$$P \text{ (mg)} = 5,16 NH_3 \text{ (mg)}$$

$$R \text{ (J)} = 11.18 O_2 \text{ (mg)} + 2.61 CO_2 \text{ (mg)} - 9.55 NH_3 \text{ (mg)}$$

Como ya se ha mencionado **Brafield, (1985)** solamente publicó la ecuación de R, aunque para calcularla tuvo necesariamente que desarrollar y calcular todas las ecuaciones que se han expuesto anteriormente.

Van Waversveld, (1988) amplía este modelo para medir el calor producido en condiciones anaerobias.



### 2.3.3 ACCIÓN DINÁMICA ESPECÍFICA (SDA)

Se define como la energía utilizada en el transcurso de la digestión, asimilación y almacenamiento de productos de la digestión, en la desaminación de aminoácidos y síntesis de productos de excreción nitrogenados.

Además de SDA (acción dinámica específica), también se le ha llamado efecto térmico, incremento calórico del alimento (HI), etc. Con el reciente resurgimiento del interés por los nutrientes en la alimentación humana y su estudio en la producción de calor metabólico, se ha acuñado la frase "termogénesis inducida por la dieta" (DIT), pero todos estos términos se utilizan, seguramente, para describir un mismo tipo de procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren en diferentes grupos de animales.

Las tasas metabólicas en peces que son alimentados son más altas que las de los que están en ayuno. Un pez que se alimenta puede utilizar la energía en la búsqueda de alimento, en la captura de presas o simplemente excitarse por la avidez de comer.

El SDA se asocia experimentalmente con un notable incremento en la demanda de oxígeno inmediatamente después de la ingesta (respecto a los niveles que se dan antes de comer), y la duración de este proceso depende de factores, tales como, la cantidad y composición del alimento. En registros continuos y cuando no se está forzando a los animales a realizar ninguna actividad, a menudo se observa un aumento del consumo de oxígeno que suele coincidir con las primeras luces del día y que es debido a la actividad al azar de los animales, pero dicha actividad no puede ser la causa principal del aumento en el metabolismo, ya que *la tasa metabólica más alta se observa unas cuantas horas después de haber comido*. Esta **tasa máxima o pico** tarda en producirse unas horas y su duración depende de la ración.

El aumento de la demanda de oxígeno debido al aumento de la actividad al azar de los animales, se produce tanto en peces en ayunas como alimentados; en este segundo caso, la mayoría de las veces queda enmascarado por el SDA, por lo que muchos autores hablan de **SDA aparente**.

Otros parámetros que se miden en este proceso, son la magnitud y el coeficiente de SDA. Se define como **magnitud del SDA** al área que queda bajo



la curva, cuyo promedio integral se calcula por el *teorema de la media*. El **coeficiente del SDA (SDAC)** es el porcentaje de la energía de la ingesta que se utiliza en el proceso del SDA.

Para calcular **la duración del efecto del SDA**, se toma como referencia la línea base de la tasa metabólica de un ayuno de 48 horas, tiempo suficiente para que se detengan los procesos digestivos y absortivos. La duración del SDA es variable dependiendo de la ración, aunque en general oscila entre 25 y 40 horas, pero como se verá más adelante, existe una gran divergencia entre los valores encontrados por diferentes autores .

Si cada componente el alimento (proteína, grasa y carbohidrato), se comiera por separado, la magnitud del aumento de la tasa metabólica sería del 30% para proteínas, el 13% para las grasas y el 5% para los carbohidratos (Jobling, 1985). En ensayos con animales que comen dietas mixtas, el SDA depende de las proporciones de proteínas, grasas y carbohidratos en los alimentos y se puede expresar en términos de contenido energético del alimento ( $\text{kJ g}^{-1}$  de materia seca).

En trabajos con diferentes especies de peces, tradicionalmente se asume que el SDA depende sobre todo de la cantidad del alimento consumido, de manera que:

$$R_F = m C$$

donde C es la cantidad de alimento consumido y m es una constante de proporcionalidad que depende de la composición de la dieta y que tiene un valor máximo de 0.3 para proteína pura (Weatherley, 1976., Jobling, 1981).

Trabajos recientes cuestionan la validez de este punto de vista y sugieren que el SDA puede representar un gasto de energía asociada con el crecimiento, de forma que:

$$R_F = r P$$

donde P es crecimiento/producción y r es el coste energético por unidad de crecimiento.

Estos dos puntos de vista del SDA revelan algunas diferencias. La



interpretación más tradicional ( $R_F = m C$ ) sugiere que SDA y crecimiento son directamente competitivos, de manera que una dieta que produzca un SDA alto reduciría la cantidad de energía disponible del alimento para el crecimiento. La segunda interpretación ( $R_F = r P$ ), implica que SDA y crecimiento son interactivos, por lo que altas tasas de crecimiento se reflejarían en tasas metabólicas altas y un SDA alto. De manera que la interpretación más tradicional sugiere que el mejor crecimiento se produciría con dietas que indujeran un SDA bajo por energía ingerida, mientras que el segundo punto de vista insinúa que dietas que producen un buen crecimiento también producen un SDA alto.

La forma en la que los resultado de las investigaciones del SDA sean interpretadas, tiene grandes consecuencias a la hora de elaborar dietas que produzcan un tasa óptima de crecimiento.

Estudios recientes en mamíferos sugieren que hay un eslabón entre la cantidad de proteína que se toma y el aumento de la tasa metabólica después de comer, por lo que parece que este efecto está asociado de alguna manera con el metabolismo de proteínas.

Las tasas de excreción nitrogenada pueden aumentar después de la comida, lo que hace pensar que un aumento metabólico es el resultado de los costes energéticos en la desaminación de aminoácidos y síntesis de productos de excreción nitrogenados, sin embargo, no siempre ambos procesos van ligados, como para que ésta pueda ser la única explicación.

Los componentes de los tejidos están en un estado dinámico y en continua síntesis y degradación de las proteínas corporales. Si como resultado de la ingestión de alimento se produce un aumento en la síntesis y degradación proteica, se podría deducir que hay un aumento de gasto energético para mantener el *status quo*, pero cuando los animales comen también crecen y la energía que suministran los nutrientes del alimento se deposita como proteína y grasa. La tasa de retención de proteína en los tejidos corporales es una cantidad neta que representa la diferencia entre la tasa de síntesis y la de degradación de la proteína, siendo fácilmente comprobable, que para que se deposite 1 g de proteína como crecimiento tisular, se requiere sintetizar bastante más de un gramo de proteína. Los resultados de estudios con mamíferos sugieren que la eficacia con que la proteína se deposita es a menudo del 30 -



60% y los escasos resultados disponibles en diferentes especies de peces, indican que se requiere sintetizar de 2 a 3 gramos de proteína por cada gramo de proteína que se deposita como crecimiento de tejido. Sin embargo, el crecimiento tisular es mayor que la proteína depositada, por lo que el gasto energético asociado con la síntesis de lípidos debe de ser también considerado.

Desde que se descubrió el SDA hasta la fecha, han sido numerosos los estudios realizados abarcando un amplio espectro experimental, a continuación se expone una representación de los avances y diferentes puntos de vista que se han desarrollado en los últimos años.

**Beamish, (1974)** relacionó el SDA aparente con la ración y el peso corporal, en la especie *Micropterus salmoides*.

Realizó un experimento en el que obligaba al pez a nadar a diferentes velocidades, alimentándole con raciones de 2-8 % (peso corporal).

El aumento del consumo de oxígeno atribuido solamente al hecho de comer aumenta con la ración desde 1 hasta 3.5 horas.

El consumo de oxígeno tardó en bajar hasta los niveles basales de 20 a 34 horas en animales de 25 g y de 27-70 horas en peces de 200 g.

El SDA aparente aumentó con la ración y el tamaño del animal. Aunque para una ración fija el SDA aumentó con el tamaño del animal, solamente, para raciones muy pequeñas.

La media total del SDA aparente fue el  $14.5 \pm 4.2$  % de la energía de la ingesta.

Los resultados que obtuvo en la determinación del SDA durante el ejercicio, le hicieron llegar a la conclusión de que se debe de ir con mucha precaución en este tipo de estudios.

**Tandler y Beamish, (1980)** midieron el SDA aparente en *Micropterus salmoides*, alimentados con seis dietas de diferente composición y una ración del 0.7 % (peso corporal).

El SDA aparente más alto se producía con las dietas de mayor contenido



proteico (100% de proteínas) y el más bajo con las dietas más ricas en carbohidratos (75% de carbohidratos).

El consumo de oxígeno asociado con la ingesta de cualquiera de las dietas no cambiaba para bajas cantidades de comida (0.1 kcal).

Estos autores separan el SDA aparente en SDA mecánico (energía utilizada en el procesamiento físico del alimento) y SDA bioquímico (energía utilizada en los procesos anabólicos y catabólicos asociados con el alimento). Cada uno de ellos lo definen utilizando dietas digestibles y no digestibles. El SDA mecánico se calcula en base al volumen de celulosa en dieta, asumiendo que a volúmenes iguales de dieta se requiere el mismo gasto energético.

La relación SDA mecánico/SDA aparente, dependió de la composición de la dieta, siendo mayor con dietas que llevaban un 100% de carbohidratos y menor con las que llevaban 100% de proteínas; pero no se encontraron diferencias entre el SDA mecánico y aparente con las dietas sólo a base de carbohidratos. Por lo general el SDA mecánico disminuía en relación con el SDA aparente cuando aumentaba la energía de la ingesta.

El SDA bioquímico aumentaba con la cantidad de energía ingerida.

La duración del efecto del SDA estuvo entre 12 y 72 horas, dependiendo de la dieta.

**Jobling y Davies, (1980)** midieron el SDA en *Pleuronectes platessa*, a tres temperaturas diferentes (10, 15 y 20 °C).

El consumo máximo de oxígeno fue el doble que el del metabolismo estándar y siempre inferior al valor energético de la dieta ingerida. Para estos autores, esto se debe, a que los procesos que consumen energía, representados por el SDA tienen un nivel de saturación que está determinado más por el metabolismo celular que por el sistema respiratorio.

La duración del SDA fue proporcional a la cantidad de la ración e inversamente proporcional a la temperatura, oscilando entre 26 y 70 horas. La magnitud del SDA aumentó con la ración y el coeficiente del SDA, aumentó con la proporción de proteína digestible que contenía la dieta.



**Jobling, (1981)** realizó una revisión de los trabajos publicados en los últimos veinte años y llegó a la conclusión de que en ese momento ya era posible realizar un balance de las transformaciones metabólicas en términos de fosfatos de alta energía, que se reponen aumentando la fosforilación oxidativa; por lo que las medidas de la tasa metabólica postprandial, queda anticuada como instrumento de investigación, para comprender los cambios fundamentales que se producen en el procesamiento del alimento.

Se sabe que el almacenamiento de grasa es un proceso que requiere poca energía, mientras que la transformación de la glucosa en glucógeno o grasa son procesos relativamente costosos en términos de fosfatos de alta energía. El almacenamiento temporal de aminoácidos no requiere energía, sin embargo, los costes energéticos de la síntesis de proteínas son substanciales. A la vista de la complejidad de estas transformaciones, no es sorprendente la disparidad de criterios entre los investigadores del tema.

Este autor considera que el crecimiento corporal se relaciona con el consumo de oxígeno postprandial con las tasas de crecimiento y sugiere la posibilidad de que las medidas de la tasa metabólica podrían utilizarse como instrumento de investigación para una estimación rápida del crecimiento potencial del pez o del valor nutritivo de una dieta determinada. Esto sería muy beneficioso para la acuicultura, pero hasta que se comprueben rigurosamente todas las hipótesis, esto no es más que una mera especulación.

El autor sugiere en **1983** que para explicar el SDA, la síntesis de proteínas ofrece mejores bases para la investigación, ya que las tasas metabólicas y la síntesis proteica se deprimen cuando aumenta el período de ayuno.

**LeGrow y Beamish, (1985)** comprobaron la influencia de proteínas y lípidos de la dieta en el SDA en la especie *Salmo gairdneri*.

Obligaban a nadar a los animales a una velocidad de  $20 \text{ cm s}^{-1}$  y les alimentaron con diferentes dietas cuyo contenido en proteínas era 34-60 % y 7-23 % de lípidos, con una ración diaria del 2% (peso corporal).

Expresan el SDA aparente en función de la energía bruta y la energía digestible de la dieta. Para dietas con un 34 -60 % de proteína, el SDA representa 13 - 19 % de la energía bruta y 20 -24 % de la energía digestible.



La duración del efecto del SDA fue  $58 \pm 10$  horas.

**Guinea y Fernández (1991)** midieron el efecto del SDA a diferentes temperaturas (5, 10, 15, 20 y 25 °C) en la especie *Mugil saliens*.

En la tabla (2-7), se muestran algunos de los resultados obtenidos:

Tabla 2-7 Influencia de la temperatura en el SDA

$mg\ O_2\ kg^{-1}\ h^{-1}$			
$t\ (^{\circ}C)$	$R_{media}$	$R_{SDA}$	$R_{pico}$
20	$148 \pm 20.9$	$38.8 \pm 11.4$	$245.6 \pm 101.6$
25	$217.2 \pm 4.5$	$65.5 \pm 4.9$	$430 \pm 58.2$
28	$216.3 \pm 25.3$	$77.9 \pm 17.6$	$433 \pm 114.1$

(para una dieta con 26.34 % de proteínas y 6.35 % de lípidos, 22.26 % de carbohidratos y ración del 2.6%)

En 1997 estos mismos autores, definen una serie de parámetros para estudiar la influencia del número de ingestas y de la temperatura en el SDA, en la especie *Sparus aurata*.

$R_{hora} = (O_2^i - O_2^f) F / W$ . donde  $O_2^i$  y  $O_2^f$  son las concentraciones de oxígeno en  $mg\ O_2/l$  a la entrada y salida del sistema en un periodo de una hora, F es el flujo de la cuba en  $l/h$  y W es peso en kg.

$R_{media}$  = valor medio de  $R_{hora}$  registrado durante 24 horas y representa la media total del metabolismo energético por hora

$R_{reposito}$  = valores medios más bajos de  $R_{hora}$  de ciclos de 24 h cuando los peces no han comido (ayuno de varios días). Representa una estimación de los costes de las funciones corporales de mantenimiento.

$R_{SDA} = R_{media} - R_{reposito}$  (ayuno varios días) y multiplicado por 24 horas es el oxígeno consumido como SDA aparente (alimentación y actividad al azar en ciclos de 24 horas).

$R_{pico}$  = Valor máximo de  $R_{hora}$  durante el período de SDA

$D_{SDA}$  = duración del efecto del SDA

$P_{media}$  = La energía de  $R_{media}$  como porcentaje de la energía de la dieta ingerida.

$P_{reposito}$  =  $R_{reposito}$  como porcentaje de  $R_{media}$

$P_{SDA}$  =  $R_{SDA}$  como porcentaje de  $R_{media}$

$ASDAC$  = Proporción de la energía de la ingesta que se utiliza en el SDA aparente



Utilizan dos raciones: el 0.74% y 1.47% (peso corporal). Para una misma cantidad de comida distribuida en una o dos tomas, no se ven diferencias significativas en el consumo de oxígeno diario.

El aumento de la temperatura influye en la cantidad de la ingesta y también en SDA, Rpico y Rr, pero no tiene ningún efecto en la manera en que se distribuye la energía entre el mantenimiento y el SDA aparente.

Para una ración del 0.74%, el RSDA es de 138.9 ( $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) a 16 °C y con ración de 1.74 %, el RSDA es de 286.4 ( $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) a 21 °C.

El aumento de la ración hace que aumente la magnitud del SDA, pero no así, el tiempo que dura su efecto, que estuvo entre 37 - 48 horas.

Encuentran que el coeficiente del SDA (SDAC), presenta cierta dependencia de la temperatura en la mayoría de los casos y sus valores están en 16-30 % de la energía de la ingesta.

**Charaborty, et al., (1992)** estudiaron como influía la ración y el contenido proteico de la dieta en la especie *Cyprinus carpio*.

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los resultados obtenidos:

Tabla 2-8 Influencia de ración y la proteína de la dieta en el SDA a 28 °C

Proteína de la dieta (%)	Ración (% peso corporal)	Dpico (h)	Pico ( $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	SDA ( $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1}$ )
20	0.4	3.3	227.78	394.5
20	1.0	3.6	332.93	1118.3
35	0.4	3.5	253.78	728.72
35	1.0	3.7	401.77	1972.41
50	0.5	3.2	318.90	1147.14
50	1.0	4.6	413.91	2219.14

Dpico es el tiempo que tarda en aparecer el valor máximo de consumo de oxígeno  
 Peso de los animales: 68.3 - 72.26 g



#### 2.3.4 ENERGÍA RETENIDA: PRODUCCIÓN Y CRECIMIENTO (P)

Un animal utiliza parte de la energía que le aporta el alimento para su crecimiento somático y reproductivo.

En los estudios que se han realizado en peces, generalmente el crecimiento se ha descrito en términos de ganancia de peso y a menudo, se ha sumido que un aumento en el peso es sinónimo de aumento del contenido energético, dando por hecho, que la composición de los tejidos del pez es constante y que un cambio en el peso reflejará fielmente los cambios en el contenido energético del cuerpo. Sin embargo, la calorimetría indirecta puede resolver esta dificultad si tenemos en cuenta que:

$$P = C - (F + U + R)$$

donde **C** es el contenido energético de la ingesta (que es un dato conocido), **F** es el contenido energético de las heces, **U** es el contenido energético de excreción nitrogenada y **R** es la tasa metabólica, todos ellos medibles en una cámara metabólica. También se puede medir **P** eligiendo animales al azar y sacrificarlos para medir su contenido energético en bomba calorimétrica, al inicio y final del ensayo.

La composición del cuerpo de un pez no es constante y las proporciones relativas de proteínas, lípidos, carbohidratos y agua, pueden maquillar una ganancia de peso. El depósito de lípidos aumenta con la cantidad de comida y con la edad, de manera que la cantidad de grasa de un animal adulto es mayor que la de uno joven que aún está creciendo.

El depósito de 1 g de lípido (38 kJ), produce un aumento en el peso de 1 g, mientras que le de 1 g de proteína (24 kJ), hace que se depositen 3-4 g de agua, con lo que el aumento de peso es de 4-5 g; de manera que los cambios en el peso no ocurren siempre como un reflejo exacto de crecimiento en términos de ganancia de energía, pudiéndose sacar conclusiones incorrectas sobre la eficacia con que la energía del alimento se utiliza en la síntesis de nuevos tejidos corporales.

Los resultados de estudios experimentales sobre crecimiento deben de estar relacionados con un periodo determinado de tiempo, por lo que es más apropiado referir el crecimiento como tasa de crecimiento.



Se conoce como **Tasa de crecimiento absoluto**, al aumento de peso que se produce en un período de tiempo determinado:

$$\text{Tasa de crecimiento absoluto} = \frac{W_2 - W_1}{T_2 - T_1}$$

donde  $W_1$  es el peso inicial,  $W_2$  es el peso final,  $T_1$  es el tiempo inicial y  $T_2$  es el tiempo final. Sin embargo, a menudo, el crecimiento se expresa en términos relativos como:

$$\text{Tasa de crecimiento relativo} = \left[ \frac{W_2 - W_1}{W_1 (T_2 - T_1)} \right]$$

Un caso particular de crecimiento relativo es cuando está referido a un instante concreto de tiempo sobre el intervalo escogido y se le llama **Tasa de crecimiento instantáneo** que multiplicado por 100 nos da la **Tasa de crecimiento específico (P)**, que se calcula:

$$P = \left[ \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{T_2 - T_1} \right] 100$$

donde  $W_1$  y  $W_2$  son los pesos inicial y final del periodo de crecimiento del animal y  $T_1$  y  $T_2$  es el periodo de tiempo en días.

Un pez crece más rápidamente cuanto más alimento consume y su tasa límite de crecimiento está condicionada a la cantidad de comida disponible o de la que pueda consumir. La relación entre **P** y **C** (ingesta) es no lineal, por lo que no siempre coincide la tasa de crecimiento máxima con la tasa de crecimiento óptima, que en criterios de producción, son el máximo potencial genético de la especie y el que procura la mejor conversión del alimento, respectivamente.

En términos matemáticos, la relación entre el crecimiento y la ingesta se puede expresar como:

$$P = a C^b$$

o bien:

$$\ln (P + 1) = a + b \ln (C + 1)$$

donde **a** y **b** son la intersección y la pendiente de la regresión respectivamente y



se le añade el valor 1 a las tasas de crecimiento y de ingesta para evitar el cero y valores negativos.

La tasa de crecimiento (**P**) también se puede representar para cualquier tasa de ingesta (**C**), utilizando la siguientes ecuación:

$$P = \left[ \frac{P_{max} (C - C_{man})}{(C_m - C_{man}) + (C - C_{man})} \right]$$

donde **P<sub>max</sub>** es la tasa máxima de crecimiento, **C<sub>man</sub>** es la ración de mantenimiento y **C<sub>m</sub>** es la tasa de ingesta con la que el animal muestra una tasa de crecimiento máximo.

La tasa de crecimiento específico disminuye cuando aumenta el peso del pez; la relación entre la tasa de crecimiento y el tamaño del animal sigue un comportamiento alométrico y se puede describir mediante la función:

$$P = a W^b$$

donde **W** es el peso, **a** representa el crecimiento específico y su valor depende de las características de crecimiento de la especie y de la temperatura del agua. El exponente del peso (**b**) tiene unos valores que están en un rango de **0.7** a **0.85** para salmónidos (Elliott, 1982), pero puede tener valores muy cercanos a **1** en peces muy pequeños (0.85-4 g) (Smith et al., 1978a). En la siguiente tabla se recogen otros valores de **b** obtenidos por diferentes autores:

<i>Especie</i>	<i>coeficiente del peso (b)</i>	<i>Fuente</i>
<i>Gadus morhua</i>	0.88	Jobling, 1982
<i>Clarias lazera</i>	0.78	Hogendoorn, 1983
<i>Salmo trutta</i>	0.74	Elliott, 1975
<i>Salmo gairdneri</i>	0.75	Staples y Nomura, 1976



#### 2.3.4.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO

Cuando se realizan estudios de energética y crecimiento con peces, el principal objetivo es el de obtener las tasas máximas de crecimiento en diferentes condiciones ambientales; por esta razón, es muy importante conocer los factores que influyen en el crecimiento de estos animales.

La programación de ensayos en laboratorio que suministren información suficiente para analizar la influencia de varios factores ambientales simultáneamente, es bastante complicado de realizar en la práctica, por lo que se suelen analizar individualmente. Los factores más importantes pueden ser abióticos y bióticos:

- Factores abióticos

**La temperatura** además de influir en la ingesta y en el metabolismo, afecta también a las tasas de crecimiento; *Sparus aurata*, a 16 °C come el 0.74% de su peso, mientras que a 21 °C 1.47% (Guinea y Fernández, 1997).

Hay que distinguir entre el efecto que tiene la temperatura *per se*, y los efectos inducidos por las entre temperatura y una alimentación limitada. Un aumento moderado de la temperatura provoca el aumento de la ingesta, pero cuando la temperatura es muy alta, se produce un descenso brusco de la toma de alimento. En la trucha marrón (100 g de pez) el crecimiento aumenta con la temperatura hasta los 18 °C, pero se detiene (crecimiento cero) a 19.5 °C (Elliott, 1982).

La temperatura a la que se produce un crecimiento máximo se le llama **temperatura óptima para el crecimiento** y suele ser unos grados centígrados más baja que la temperatura a la que la ingesta es mayor, por lo que solo se puede hablar de temperatura óptima para el crecimiento cuando se alimenta al pez con una dieta máxima.

Hay grandes diferencias de temperatura óptima de crecimiento entre especies, por ejemplo, la mayoría de los salmónidos, tienen su temperatura óptima entre 12-17 °C, mientras que los ciprínidos la tienen en 20 °C o más y en muchas especies, las fases larvianas y juveniles tienen una temperatura óptima de crecimiento mayor que en la fase de adulto (Villarreal y Ocampo, 1993).



**El fotoperiodo** influye en la alimentación y el crecimiento de los peces, de manera que, en condiciones naturales las variaciones estacionales en la duración del día siguen ciclos parecidos a los de la temperatura, por lo que a veces se pueden confundir los efectos de ambas variables.

En condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura, algunas especies de salmónidos experimentan un aumento rápido en el crecimiento y en la ingesta durante la primavera, a medida que se alargan los días (a pesar de que la temperatura del agua sea baja), mientras que en otoño se produce el efecto contrario a medida que los días se hacen más cortos (cuando la temperatura del agua es más alta).

En estudios realizados con salmónidos, la fotoestimulación ha producido un aumento en la producción de somatropina (hormona del crecimiento) y una actividad elevada de la glándula tiroidea, que se han traducido en un aumento de la tasa de crecimiento. Pero los efectos beneficiosos de la luz, también se han observado en otras especies, como por ejemplo, en *Ictalurus punctatus*, que aumenta un 20% su tasa de crecimiento cuando se le somete a un fotoperiodo de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (Jobling, 1994).

**La disponibilidad de oxígeno** afecta a la toma de alimento y por lo tanto al crecimiento. Cuando los niveles de oxígeno son bajos, un pez suprime o reduce su alimentación para evitar las elevadas demandas energéticas que se producirían en la metabolización de mayores cantidades de alimento.

Muchos autores están de acuerdo que el nivel crítico de oxígeno para la ingesta y el crecimiento es de 5 mg/l para la mayoría de las especies, pero esto no es del todo correcto, porque hay especies como *Oncorhynchus kisutch*, que tienen su nivel crítico entre 5-8 mg/l y la trucha arco iris, lo tiene entre 6-7 mg/l de oxígeno, (Brett, 1972).

**La salinidad** : se sabe que los peces gastan una parte de su energía en la regulación osmótica e iónica de sus fluidos corporales y el medio que les rodea. Estos costes metabólicos se reducen cuando el pez está en un medio isotónico e isosmótico, mientras que a medida que el medio se vuelve más hiperosmótico, en muchas especies de agua dulce, disminuye mucho su capacidad de osmorregulación. Estudios con salmónidos y algunas otras especies eurohalinas, reflejan que cuando están en un medio isosmótico, tiene unas



tasas metabólicas menores, poniendo de manifiesto que la energía que el pez emplea en la osmorregulación disminuye cuando los gradientes de concentraciones son menores. Otros experimentos sin embargo, ponen de manifiesto que los costes metabólicos producidos por la osmorregulación son casi indetectables. Los intentos para establecer la validez de estas hipótesis han dado resultados muy dispersos, probablemente porque casi todos los estudios se han realizado con salmónidos muy pequeños (fases larvarias). Con un aumento de la salinidad del 15 por mil, el crecimiento no se ve afectado (Kinne, 1960) y con un aumento del  $10 \pm 2$  por mil, desciende la capacidad de regulación osmótica en especies estenohalinas (Brett y Groves, 1979).

Las variaciones que se observan en el crecimiento de animales expuestos a un ambiente salobre, probablemente no se deban sólo a un aumento del gasto energético para la osmorregulación, ya que el crecimiento refleja el resultado neto de la energía que obtiene el pez del alimento y la que gasta en el metabolismo, por lo que cualquier cambio que se produzca en los procesos de ingestión digestión y absorción, también influirán en el crecimiento. Por ello, no se puede considerar solamente las variaciones del crecimiento para analizar los efectos de los cambios de la salinidad del agua.

- Factores bióticos

**El tamaño del cuerpo** y el crecimiento de un animal, tienen un comportamiento alométrico, de manera que la tasa de crecimiento específico  $P$  disminuye cuando aumenta el tamaño del cuerpo. Cuando se relaciona el peso con el tamaño, se presupone que la alimentación no es limitada.

En peces de diferentes tamaños, las interrelaciones entre las curvas de crecimiento y cantidad de comida, muestran que la tasa de crecimiento máximo disminuye cuando aumenta el tamaño del animal, pero con cantidades de comida por debajo de la ración máxima, los peces grandes crecen más que los pequeños. Hay que tener en cuenta que la ración que se ofrece a los animales experimentales es un % de su peso, por lo que para estudiar el efecto del tamaño del cuerpo en el crecimiento, la alimentación no puede ser restrictiva.

**Factores de comportamiento:** en cualquier colectivo de peces, siempre hay unos que crecen más rápidamente que otros, produciéndose cada vez mayores diferencias en sus tamaños. Algunas de las diferencias observadas en



las tasas de crecimiento, se deben a que los peces más grandes comen más deprisa que los pequeños y el efecto es que unos crecen más que otros. Los peces más grandes se hacen socialmente dominantes y acceden antes a la comida, mientras que los peces pequeños son los subordinados obteniendo cada vez menor cantidad de comida. La dominancia entre los diferentes individuos se establece mediante comportamientos agresivos, pero una vez que se aceptan las jerarquías, los comportamientos individuales cambian poco.

La alimentación restrictiva provoca que los individuos dominantes se vuelvan más agresivos y consuman mucho más alimento que los subordinados, que estarán cada vez más débiles para buscar la comida.

Cuando se ofrece el alimento con dispensadores automáticos, se ha observado que los peces más grandes delimitan sus territorios en las zonas cercanas al alimento y no permiten a los demás acceder a ellas hasta que no se han saciado.

**Densidad de población:** no es fácil distinguir el efecto de la densidad de la población *per se* de otros factores abióticos. Cuando la población es muy grande, el crecimiento disminuye, probablemente porque la calidad del agua se deteriora (disminuye el oxígeno y aumentan los productos nitrogenados). Por otra parte los peces son animales sociales y cuando se les aísla, dejan de comer y no crecen.

Cuando se estudian los efectos de la densidad de población sobre el crecimiento, es importante distinguir entre la influencia de la densidad sobre el crecimiento individual de los peces y los efectos del aumento de la biomasa del grupo, de manera que mientras el crecimiento individual se puede optimizar con una densidad determinada, la producción de biomasa del grupo puede aumentar con una densidad distinta a la anterior.

**Ejercicio prolongado:** cuando se obliga a los peces a nadar contracorriente, se produce un gasto de energía considerable y cabría esperar que su tasa de crecimiento bajara considerablemente, pero estudios experimentales con salmónidos, demuestran que cuando se les obliga a nadar a una velocidad moderada durante periodos prolongados, comen más y aumentan su tasa de crecimiento; pero no es el aumento de la ingesta el factor que influye más en el crecimiento, sino una mejora en la asimilación del alimento lo que



provoca un aumento en la tasa del crecimiento, (Beamish, 1978)

En los salmónidos, el ejercicio moderado y prolongado, produce un aumento en la síntesis y depósito de proteína en el tejido muscular; en el resto de los tejidos, se produce una disminución de la síntesis de proteínas, aunque aumenta el depósito de éstas. Por otro lado, en el músculo blanco aumenta el depósito de proteína un 70%, mientras que en el resto de los tejidos es del 40-50%, (Jobling, et al., 1993).

**Manipulación hormonal:** en la mayoría de las especies de peces, el músculo representa casi el 60% del peso total, por lo que la eficacia del crecimiento muscular es muy importante. La hormona del crecimiento (somatotropina), hormonas tiroideas y la insulina, pueden estimular la síntesis y el depósito de proteína en el músculo. Se han investigado los efectos anabólicos del crecimiento y las hormonas tiroideas, pero sobre todo los esteroides y sus análogos, ya que son hormonas que intervienen en la regulación de la alimentación, metabolismo y crecimiento. El estudio de los esteroides se ha desarrollado con la industria ganadera, donde se ha demostrado que la manipulación hormonal aumenta la eficacia de utilización del alimento en los animales. Los tratamientos hormonales dan buenos resultados en un gran número de especies, pero también se han encontrado efectos negativos en algunos peces.

La somatotropina es una hormona que se produce en las células de la hipófisis y juega un papel muy importante en la regulación del metabolismo y el crecimiento en los peces, ya que cuando se les extirpa la hipófisis, el crecimiento se retrasa o cesa. La eficacia del tratamiento con la hormona del crecimiento, varía según la especie, la edad y el tamaño, obteniéndose los mejores resultados con peces adultos de gran tamaño.

Las hormonas tiroideas son esenciales en el desarrollo y crecimiento. Juegan un papel importante en la metamorfosis de muchas especies de peces, ya que cuando se sumergen las larvas en disoluciones con estas hormonas, se acelera su crecimiento.



### 2.3.5 PÉRDIDAS ENERGÉTICAS METABÓLICAS DE ORIGEN NITROGENADO (U)

En el metabolismo aeróbico, los lípidos y carbohidratos se oxidan completamente a dióxido de carbono y agua, pero en la oxidación de las proteínas, solamente las cadenas carbonadas de los aminoácidos intervienen en el ciclo de producción de energía, mientras que las fracciones nitrogenadas (amino) de los aminoácidos no pueden ser metabolizadas y se deben de excretar.

Aunque el papel principal de los aminoácidos es el de actuar como sillares para la biosíntesis de las proteínas, también se pueden oxidar en tres circunstancias metabólicas diferentes:

1. durante el recambio dinámico normal de las proteínas del cuerpo se liberan aminoácidos, si no son necesarios para la síntesis de nuevas proteínas corporales pueden experimentar degradación por oxidación
2. cuando se ingieren aminoácidos en exceso se produce su catabolización ya que no se pueden almacenar
3. durante el ayuno prolongado, las proteínas corporales se utilizan como combustible. En estas tres circunstancias los aminoácidos pierden su grupo amino y los  $\alpha$ -cetoácidos que se forman se oxidan parcialmente a dióxido de carbono y agua, por la vía del ácido cítrico.

Los grupos  $\alpha$ -amino de los 20 L-aminoácidos que se encuentran en las proteínas se eliminan por degradación oxidativa. Si no se emplean de nuevo para la síntesis de nuevos aminoácidos o de otros productos nitrogenados, estos grupos amino se convierten en un producto de excreción sencillo, que en los peces es el amoníaco. La eliminación de los grupos  $\alpha$ -amino de la mayor parte de los L-aminoácidos está catalizada por enzimas llamadas transaminasas o aminotransferasas y se realiza en una serie de reacciones llamadas transaminaciones:

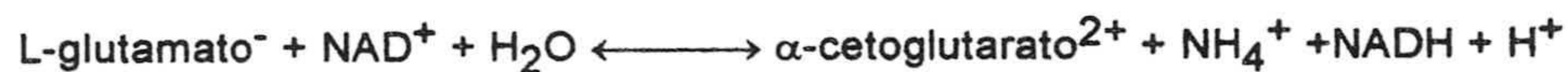


Las reacciones de transaminación recogen los grupos amino de muchos aminoácidos diferentes en forma de un solo aminoácido, el L-glutamato. El  $\alpha$ -cetoglutarato es el aceptor común de los grupos amino de la mayor parte de los



aminoácidos. El L-glutamato que se forma sirve para canalizar los grupos amino hacia rutas biosintéticas o hacia una secuencia final de reacciones por las que se forman y se excretan después los productos nitrogenados de desecho.

El glutamato además de canalizar los grupos aminos de los demás aminoácidos, también forma amoníaco a partir de su grupo amino, mediante una desaminación oxidativa catalizada por la deshidrogenasa del L-glutamato. Este enzima está presente en la mitocondria y es responsable de la mayor parte del amoníaco que se forma en los tejidos animales, ya que el glutamato es el único aminoácido cuyo grupo  $\alpha$ -amino se puede eliminar directa y rápidamente:



Cuando la deshidrogenasa del L-glutamato actúa en sentido inverso, reduce al amoníaco y al  $\alpha$ -cetoglutarato para formar glutamato, de esta forma, el amoníaco se vuelve a emplear en la síntesis de aminoácidos.

#### 2.3.5.1 SUSTANCIAS Y FORMAS DE EXCRECIÓN

Los estudios bioquímicos comparativos que se han realizado sobre especies animales han permitido demostrar que el nitrógeno amínico se excreta principalmente en una de estas tres formas: amoníaco, urea o ácido úrico. La mayor parte de las especies acuáticas excretan el nitrógeno amínico en forma de amoníaco y reciben el nombre de animales amoniotélicos, casi todos los animales terrestres lo hacen en forma de urea y son, por tanto, ureotélicos y los pájaros, reptiles y saurios excretan ácido úrico y se les llama uricotélicos.

En la mayoría de las especies de teleósteos, la excreción de productos de desecho nitrogenados se realiza sobre todo por la superficie de las branquias y el resto por la orina.

El amoníaco y el ion amonio son los principales productos de excreción en los peces y muchos animales acuáticos; la mayor parte se produce en el hígado, pero también se produce en las branquias, riñones y músculos y se transporta por la sangre hasta las branquias. La producción en el tejido muscular es mayor en condiciones de hipoxia o cuando el pez está nadando a gran velocidad.



En los teleósteos, la producción aeróbica de amoníaco se realiza mayoritariamente en el hígado por transaminaciones e hidrólisis de los grupos amino, mientras que una pequeña cantidad se forma en los músculos esqueléticos por el ciclo de la purina; cuando baja la concentración de oxígeno en el agua, la contribución del hígado en la producción de amoníaco es menor y la de los músculos esqueléticos mayor. En el pececillo de oro, la producción anaeróbica del amoníaco se realiza por cuatro vías diferentes: desaminación de aspartato vía ciclo de la purina, conversión de alanina a etanol, dióxido de carbono y amoníaco, oxidación del glutamato vía ciclo de Krebs y desaminación de adenilatos por la adenilato desaminasa (Van Waarde, 1983) .

Los mecanismos más importantes de excreción de amoníaco e ion amonio a través de las branquias son por difusión pasiva e intercambio iónico. El amoníaco es una molécula pequeña y lipofílica que puede pasar fácilmente a través de las membranas biológicas, pero los iones amonio son moléculas más grandes, cargadas positivamente y puesto que las membranas biológicas son relativamente impermeables a los cationes, su contribución a la excreción branquial es relativamente pequeña. Parece que la excreción de iones amonio está acoplada al movimiento de otros cationes, de manera que, la entrada de sodio en el intercambio transepitelial y la expulsión de ion amonio, ayudaría al pez en su regulación iónica y facilitaría la excreción de nitrógeno. No se conoce con exactitud los mecanismo de excreción de nitrógeno por las branquias, aunque parece que el 60% es por difusión, un 20% por intercambio iónico y el resto por difusión pasiva de iones amonio a través de la membrana branquial.

La excreción de  $\text{NH}_3$  disminuye cuando los animales viven en un ambiente amoniacal porque se invierte el intercambio normal de  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  y las lamelas se concentran mucho en las branquias (para evitar la entrada masiva de amoníaco), dañando el funcionamiento de la ATPasa en la membrana. Este fenómeno se puso de manifiesto en el experimento que realizaron Chen y Lai (1992), que consistía en someter camarones jóvenes a diferentes concentraciones de amoníaco (0.031, 5.006 y 10.085 p.p.m. de  $\text{NH}_3$ ), disminuyendo la excreción con la concentración más alta de  $\text{NH}_3$ ; Carter y Brafield (1992), obtienen resultados parecidos con *Cyprinus carpio*.

En branquias y otras superficies excretoras la diferencia de pH entre el medio interno y externo de un animal acuático puede ser un factor determinante



en las tasas de eliminación de amoníaco. El agua salada tiende a retardar esta difusión al medio externo, mientras que el agua dulce que es más ácida, la acelera.

La excreción branquial consiste además del amoníaco e ion amonio, de algunas sustancias muy difusibles como urea, aminos y derivados oxidados amínicos, mientras que el nitrógeno menos difusible como la creatina, creatinina y ácido úrico se excretan por los riñones.

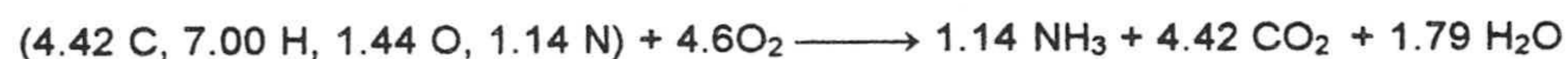
Excepto por su relativa toxicidad, el amoníaco tiene ventajas sobre la urea y el ácido úrico como producto final del metabolismo nitrogenado, ya que para convertir el nitrógeno proteico en amoníaco se precisa gasto energético menor, que junto con el tamaño molecular y solubilidad, permiten la eliminación por difusión.

#### 2.3.5.2 DETERMINACIÓN DE LA EXCRECIÓN NITROGENADA

La fracción proteica del alimento se absorbe y digiere con eficacia, pero si las cantidades de aminoácidos absorbidos son excesivas, inmediatamente se desaminan y se utilizan sus esqueletos carbonados en la síntesis de productos de reserva, el resultado es que los grupos amino se deben de eliminar, produciéndose una **excreción nitrogenada exógena**, que estará influenciada por la tasa de alimento, contenido proteico y composición aminoacídica de la dieta.

La excreción nitrogenada se mide **directamente** por métodos químicos: método de Koroleff (1969), basado en la formación de azul de indofenol y, el método de Richards y Kletsch (1964), que consiste en oxidar el amonio a nitritos. Otro método más moderno son los sensores de amoníaco, que son más precisos.

El contenido energético de la excreción amoniacal se puede calcular de forma **indirecta** a partir del consumo de oxígeno por el método de Solomon y Brafiel, (1972), que se basa en la estequiometría de la reacción de combustión de 100 g de proteína:





En la oxidación de 100 g de proteína se producen 1.14 moles de amoníaco, a los que corresponden 397 kJ (que es el calor de combustión del amoníaco) por cada 147.2 g de oxígeno consumidos, lo que equivale a unas pérdidas de 2.7 J por cada mg de oxígeno consumido en la oxidación de proteínas. Si al consumo diario de oxígeno se le multiplica por 2.7 J y por la energía de la ración y se divide todo por 100, tendremos una estimación de la energía perdida en la excreción de amoníaco.

Otra forma **indirecta** de calcular las pérdidas energéticas nitrogenadas es por el método de Cho y Kaushik (1985), que se resume en las siguientes ecuaciones:

$$NZ + NU = ND - NR$$

$$EZ + EU = (NZ + NU) 24.9 \text{ kJ g}^{-1} \text{ N}$$

donde NZ son las pérdidas de N branquial, NU son las pérdidas de N de la orina, ND es el N digestible ingerido, NR es el N incorporado a los tejidos, EZ son las pérdidas energéticas branquiales y EU son las pérdidas energéticas urinarias.

Es difícil tener una información exacta de las pérdidas energéticas, ya que aumentan como consecuencia de la excreción nitrogenada y pueden variar tanto con la cantidad, como con la composición de los productos de excreción, por ello, se ha sugerido un factor de conversión de **25 kJ por gramo de nitrógeno excretado**, que permite una estimación más realista de las pérdidas de energía asociadas con la excreción nitrogenada en peces. Las proteínas están compuestas aproximadamente de 55% de carbono, 7% de hidrógeno, 20% de oxígeno, 2% de azufre y 16% de nitrógeno, de manera que por cada gramo de proteína utilizada como substrato respiratorio, se excretará 0.16 gramos de nitrógeno. Por cada gramo de proteína metabolizada (24 kJ), se producirá una pérdida de energía de **4 kJ** ( $0.16 \times 25$ ), que representa aproximadamente el **17%** ( $0.16 \times 25/24 \times 100$ ), del contenido energético de la proteína (Jobling, 1994).

Cuando se alimenta a un pez con una dieta sin proteínas, la excreción de productos nitrogenados procederá del catabolismo de las proteínas tisulares; produciéndose una **excreción nitrogenada endógena** como resultado de la



transaminación y desaminación de aminoácidos que provienen de la síntesis y degradación de proteínas tisulares. Debido a que la mayoría de los aminoácidos de la degradación proteica son reutilizados en síntesis de nuevas proteínas, las cantidades de excreción nitrogenada endógena son menores que las exógenas.

En la práctica es muy difícil mantener a un pez con una dieta libre de proteína, por lo que la excreción de nitrógeno endógeno a menudo se estima como la tasa de excreción de un pez al que se mantiene en ayunas durante unos días.

### 2.3.5.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXCRECIÓN NITROGENADA

Cuando se estima la excreción nitrogenada endógena de un pez mediante su tasa de excreción en ayunas, la temperatura del agua y el tamaño del cuerpo influyen notablemente. La relación entre el tamaño del cuerpo y la tasa de excreción nitrogenada, se puede describir como una función alométrica de la forma:

$$U = a W^b$$

**a** y **b** son constantes, el exponente de peso **b** oscila entre los valores **0.47-0.95**.

En las tablas 2-10 y 2-11, se muestran los efectos de la temperatura del agua y del peso en la excreción nitrogenada en varias especies de peces, en ayunas:

Tabla 2-10 Influencia de la temperatura y tamaño corporal en la excreción de amoníaco en ayunas								
Especie	Número de peces	Peso medio (g)	Condiciones	t (°C)	NH <sub>3</sub> (3)	(4)	AQ (5)	Autores
<i>Oncorhynchus mykiss</i>		900	(1)	10	1.57			Jobling (1994)
<i>Carassius auratus</i>		10	(1)	20	3.79			Jobling (1994)
<i>Carassius auratus</i>	5	100	(1)	20	2.66	1.87	0.032	Van den Thillart (1977)
<i>Ctenopharyngo don idella</i>		65	(2)	28	5.04			Chakraborty et al. (1992)
					5.20			
					4.94			
<i>Oreochromis mossambicus</i>	1	45	(2)	30	8.39	5.27	0.082	Sukumaran (1986)
<i>Rhinomugil corsula</i>	1	40	(2)	30	6.89	4.25	0.051	Peter Mohamed y Kutty (1986)

(1) Ayuno prolongado.

(2) Ayuno de 36 horas a 48 horas

(3) NH<sub>3</sub> en mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; calculado a partir de los datos de los autores excepto Chakraborty (1992)

(4) NH<sub>3</sub> en mg kg<sup>-0.85</sup> h<sup>-1</sup>

(5) AQ convertido en unidades de mg NH<sub>3</sub> / mg O<sub>2</sub> a partir de mmoles NH<sub>3</sub> / mmoles O<sub>2</sub>



En condiciones de ayuno, la excreción de amoníaco aumenta con el tamaño de animal, pero la excreción específica (mg N/g/día) disminuye cuando aumenta el tamaño del pez. Carter y Brafield (1992), someten diferentes tamaños de carpa *Ctwnopharyngodon edilla*, a dos periodos de ayuno y obtienen los siguientes datos :

Tabla 2-11 Influencia del tamaño corporal en la excreción de amoníaco en ayunas

<i>Tamaño del pez</i>		<i>2 días de ayuno</i>	<i>30 días de ayuno</i>
Pequeño	Rango de peso (g)	0.70 - 1.90	0.85 - 1.30
	Número de peces	5	5
	NA	0.27 ± 0.008	0.25 ± 0.028
	NU	0.10 ± 0.033	0.00
	NT	0.36 ± 0.033	0.25 ± 0.08
	NU / NT	25.28 ± 6.17	0.00
	U	8.83 ± 0.75	6.25 ± 1.91
Mediano	Rango de peso (g)	2.90 - 5.60	4.05 - 4.40
	Número de peces	5	3
	NA	0.14 ± 0.013	0.07 ± 0.01
	NU	0.05 ± 0.024	0.00
	NT	0.19 ± 0.032	0.07 ± 0.01
	NU / NT	24.60 ± 6.47	0.00
	U	4.68 ± 0.75	1.62 ± 0.24
Grande	Rango de peso (g)	9.80 - 18.70	8.10 - 17.20
	Número de peces	13	13
	NA	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.012
	NU	0.01 ± 0.004	0.1 ± 0.002
	NT	0.13 ± 0.009	0.12 ± 0.012
	NU / NT	11.65 ± 3.34	4.94 ± 1.93
	U	3.15 ± 0.23	2.62 ± 0.31

NA = Nitrógeno amoniacal en mg N/g/día

NT = Nitrógeno total en mg N/g/día

NU / NT = Relación en % de la excreción de urea y la excreción total de nitrógeno

U = Energía perdida en J/g/día



La ingestión del alimento provoca un aumento de la excreción nitrogenada (con un pico máximo), que dura varias horas después de haber comido. La mayoría de los aumentos de excreción nitrogenada se deben al aumento de la excreción amoníaco/amonio y de la producción y excreción de urea, aunque a ésta, le afecta poco la ingesta. Esta excreción exógena baja lentamente hasta alcanzar el nivel basal (previo a la comida), este proceso puede durar desde varias horas hasta días, dependiendo de la cantidad y composición del alimento y de la temperatura.

La excreción nitrogenada exógena se puede esperar que sea alta, cuando se alimenta al pez con dietas ricas en proteínas y cuando el balance de aminoácidos sea inapropiado para facilitar la síntesis proteica y el crecimiento.

Para muchas especies de peces carnívoros, la proteína debe proporcionar el 40-60 % de la energía disponible de la dieta para garantizar un buen crecimiento; cuando se alimenta a un pez con este tipo de dietas, entre 30-50 % (en algunos casos más), del nitrógeno absorbido se puede perder en forma de excreción exógena.



### 2.3.6 PÉRDIDAS ENERGÉTICAS EN LAS HECES (F)

Una parte del alimento que consume un pez pasa a través del tracto gastrointestinal donde se digiere y absorbe y el resto se elimina en las heces.

En las heces además del alimento que no ha sido absorbido, hay mucus, células desprendidas de las paredes del intestino, algunas enzimas digestivas, componentes de la bilis y bacterias de la microflora intestinal. Si asumimos que mucus, células muertas y bacterias son una mínima parte del total del material fecal, el análisis de las heces puede proporcionar una estimación razonablemente exacta de la cantidad de alimento que se ha absorbido.

#### 2.3.6.1 TÉCNICAS DE RECOGIDA

Las heces se deben de retirar lo más rápidamente posible para que no se deterioren en el agua y no se infravalore su contenido energético. Se secan y se pesan para calcular la cantidad de materia seca excretada, posteriormente se queman en bomba calorimétrica, para saber su contenido energético y poder realizar el balance general de asimilación de la dieta.

La forma de recoger las heces es muy importante para evitar su deterioro o pérdida; la sifonación directamente del agua es barato y simple, pero se pueden romper (leaching) y algunos de sus componentes quedar en el agua durante largos periodos de tiempo, sobrestimándose la eficiencia de absorción. El sistema Guelph (Cyaq-2), diseñado por Cho et al., (1982) para la recogida de material fecal, resuelve este problema, pero el autor recomienda extremar las precauciones cuando se trasvasan las heces desde la columna de sedimentación de su dispositivo a los botes de centrifugación. En nuestro laboratorio (Tesis Doctoral de A.E. Morales), hemos eliminado este riesgo diseñando un bote de recogida de heces, que se enrosca directamente a la columna de sedimentación.

La succión anal y la estimulación mediante masaje, son métodos que dan buen resultado en peces grandes, aunque en la estimulación por masaje se pueden obtener heces que estén contaminadas con orina y mucus; además existe el riesgo de que se incluyan en las heces pequeñas cantidades de alimento que no se hayan digerido totalmente, sobrevalorándose la eficiencia de



absorción. La disección intestinal que requiere matar al animal y a menos que el material se recoja de la parte posterior del intestino, puede que no sea representativo de las heces.

#### 2.3.6.2 DETERMINACIÓN: DIRECTA E INDIRECTA

La digestibilidad de los nutrientes del alimento, o **coeficiente de digestibilidad aparente (CDA)**, es el porcentaje de energía remanente del alimento después de haber descontado las pérdidas fecales y se calcula:

$$\text{CDA} = 100 \frac{(C - F)}{C}$$

donde **C** es el contenido de energía o nutriente del alimento y **F** representa las pérdidas fecales. En esta definición no se hacen distinciones entre pérdidas fecales que proceden del alimento no absorbido y derivados del propio animal (nitrógeno de origen endógeno). Cuando se tiene en cuenta los componentes fecales que no proceden de las fuentes alimenticias, se realiza una corrección a la ecuación anterior definiéndose el **coeficiente de digestibilidad verdadera (CD)**, que se calcula:

$$\text{CD} = 100 \frac{[C - (F - F^P)]}{C}$$

donde **F<sup>P</sup>** es el componente de las heces que no procede del alimento.

Cuando las dietas tienen un bajo contenido proteico, es el nitrógeno de origen endógeno el mayoritario en las heces y bajo estas circunstancias, la digestibilidad de la fuente proteica de una dieta se puede subestimar si la contribución del componente fecal metabólico no se corrige para calcular la digestibilidad.

Para la determinación de la digestibilidad del alimento, se han desarrollado una serie de técnicas que se pueden agrupar en dos categorías:

- **método directo**, que consiste en conocer la cantidad de alimento que ha consumido el pez y la recogida de toda la producción de heces, lo que resulta



bastante difícil de realizar en la práctica.

- **método indirecto** que consiste en incluir un marcador inerte en la dieta, para poder calcular la eficiencia de absorción como:

$$\text{CDA} = 100 - \left( 100 \frac{\% \text{ indicador en dieta}}{\% \text{ indicador en heces}} \times \frac{\% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ nutriente en dieta}} \right)$$

$$\text{CDA (total)} = 100 - \left( 100 \frac{\% \text{ indicador en dieta}}{\% \text{ indicador en heces}} \right)$$

Como este cálculo se basa en la relación de nutriente-marcador en alimento y heces, no se necesita conocer el consumo total de alimento y tampoco es necesario recoger todas las heces producidas.

Los marcadores deben de ser inertes, no interferir en los procesos normales de alimentación, digestión y absorción; además no se deben degradar ni ser absorbidos a su paso por el tracto gastrointestinal. El marcador ideal se tiene que poder detectar con facilidad en el alimento y en las heces y pasar al intestino en la misma proporción que los componentes del alimento.

La mayoría de los marcadores que se utilizan (óxido crómico, dióxido de titanio, ceniza insoluble en ácido, etc.), no son componentes de la alimentación natural de los peces o se encuentran en cantidades tan pequeñas que no se pueden utilizar para estimar la eficacia con que las presas se digieren y absorben, por lo que la mayoría de los estudios en peces se realizan con dietas preparadas artificialmente a las que se les añaden los marcadores.

El óxido crómico es el marcador más utilizado, en las proporciones de 0.25 a 1.5% dependiendo del peso de los animales. Este marcador da un color verde al alimento, lo que puede producir ciertos problemas de aceptación con algunas especies y a veces, también provoca trastornos en la digestión.

La ceniza insoluble en ácido tiene la ventaja de ser un componente natural del alimento, pero si se quiere utilizar como marcador, se debe de suministrar al animal una cantidad de comida superior al 1% de su peso. Es barato y fácil de analizar, pero se pierde en pequeñas cantidades durante la digestión y absorción.



La celulosa, lignina, clorofila y ceniza son productos naturales que se pueden utilizar como marcadores, sin embargo, se digieren y absorben en cierta medida, lo que se debe tener en cuenta al interpretar los resultados.

En nuestro laboratorio (Tesis Doctoral de A.E. Morales), se han comparado tres marcadores: óxido crómico, sílice y fibra bruta, proporcionando éste último, resultados parecidos a los obtenidos con el óxido crómico en dietas fabricadas con niveles mínimos de fibra y la utilización de sílice sobrevalora los coeficientes de digestibilidad de los nutrientes de las dietas.

#### 2.3.6.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXCRECIÓN DE HECES

Entre los factores que influyen en la proporción de nutrientes del alimento que se pierde por las heces, son particularmente importantes el tipo y la composición del alimento. En peces carnívoros que consumen presas vivas, la digestibilidad está en un rango de 70 - 95% (Jobling, 1994), aunque otros autores estiman que está entre 65 - 99% (Elliott, 1979; Pabdian y Vivekanandan, 1985; Du Preez y Cockroft, 1988a,b). En carpas pequeñas (17 - 20 g), alimentadas con una dieta rica en proteínas (70.16%), se obtiene una digestibilidad aparente del 91.3%, mientras que con una dieta granulada a base de *Lemna* sp., la digestibilidad baja al 56.6% (Carter y Brafield, 1991). Hay pocos trabajos que estudien como afecta el mismo alimento a especies diferentes: Pandian (1967), encuentra para *Megalops cyprinoides* y *Ophiocephalus striatus*, digestibilidades de 91.5 y 90.6%, utilizando para ambas especies una dieta a base de camarón y Chen et al., (1985), con *Hypophthalmichthys molitrix* y *Aristichthys nobilis*, obtienen unas digestibilidades de 88.48 y 88.05%, alimentando a ambas especies con *Daphnia*, pero como estos estudios se refieren solamente a dos especies, no parece prudente generalizarlos (Cui y Liu, 1990).

Los vegetales se digieren y absorben con menos eficacia, por lo que los peces herbívoros tiene una eficiencia de absorción que oscila entre el 40% y el 80%, como se puede ver en la siguiente tabla (Jobling, 1994):



Tabla 2-12

<i>Tipo de alimento</i>	<i>Especies de peces</i>	<i>Eficiencia de absorción (%)</i>	
		<i>Proteína</i>	<i>Energía</i>
Detritus	<i>Ciclínidos</i>	~ 45	~ 40
Macroalgas	<i>Ciclínidos, Pomacéntridos, Gobidos</i>	45 - 80	30 - 70
Macrófitos acuáticos	<i>Ciclínidos, Ciprínidos</i>	60 - 80	30 - 60
Oligoquetos	<i>Salmónidos, Ciprínidos, Pleuronéctidos</i> <i>Pércidos</i>	80 - 95	70 - 85
Crustáceos	<i>Salmónidos, Pércidos</i>	~ 90	80 - 88
Peces	<i>Pércidos, Gálidos</i>	85 - 98	80 - 97

En las dietas elaboradas artificialmente, su digestibilidad dependerá de los ingredientes que lleven y el tratamiento que se les haya dado. Estos factores pueden producir grandes diferencias de la digestibilidad entre ingredientes del alimento y entre diferentes tipos de dietas, como se puede ver en la siguiente tabla (Jobling, 1994):

Tabla 2-13

<i>Ingredientes de la dieta</i>	<i>Coefficientes de digestibilidad (%)</i>			
	<i>Tilapia</i>		<i>Pez gato</i>	
	<i>Proteína</i>	<i>Energía</i>	<i>Proteína</i>	<i>Energía</i>
Pescado	87	80	87	85
Productos del pollo	74	59	74	67
Soja	91	57	77	56
Trigo	76	58	84	60
Maíz	83	76	66	59

Otros factores que influyen en la eficiencia de digestión y absorción del alimento son la tasa de alimentación, la temperatura del agua, tamaño del pez y régimen alimenticio empleado. La eficiencia de absorción aumenta con la temperatura (Elliott, 1976; Brockesen y Bugge, 1974), aunque otros autores

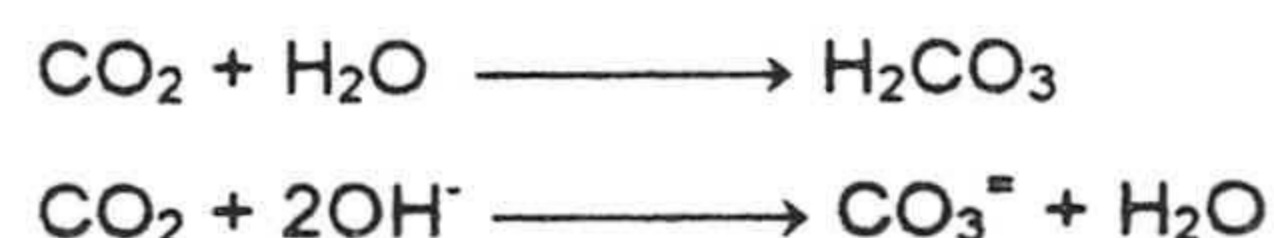


opinan que la temperatura no afecta (From y Rasmussen, 1984). Cui y Wootton (1988), encuentran que la eficiencia de absorción aumenta cuando disminuye la temperatura, y Jobling, (1994) obtiene resultados de menor eficiencia de absorción con peces pequeños que con grandes para bajas temperaturas (entre 7 y 15 °C). Los peces de mayor tamaño tienen una eficacia de absorción mayor (Smith, 1976; Allen y Wootton, 1983). A medida que aumenta el tamaño de la ración de alimento, disminuye la eficiencia de absorción (Elliott, 1976; Cui y Wootton, 1988), pero Cui y Liu (1990) encuentran que la tasa de alimento no afecta a la eficiencia de absorción cuando la forma de alimentación es al máximo. Todas estas diferencias se deben probablemente a los métodos empleados.

#### 2.4 DIÓXIDO DE CARBONO: MÉTODOS DE MEDIDA

Los métodos para medir los niveles de dióxido de carbono en el agua son más recientes y están menos desarrollados que los empleados para medir el consumo de oxígeno. Aunque, cada vez, son más los investigadores que incorporan estos métodos para el estudio del metabolismo de los peces por calorimetría indirecta.

Una de las causas de que estas técnicas estén menos desarrolladas, es el hecho de que el dióxido de carbono reacciona con el agua y forma ácido carbónico:



y la cantidad de dióxido de carbono en forma de carbonatos y bicarbonatos, depende del pH de la disolución. Hasta pH = 5 todo el dióxido de carbono está en forma de CO<sub>2</sub> y por debajo de pH = 5 existen interferencias con otras sustancias, razón por la que se utilizan tampones que consigan que el pH de la disolución esté entre 4.8-5.2 para que carbonatos y bicarbonatos estén en la forma de CO<sub>2</sub> :





Para la determinación de los niveles de dióxido de carbono en el agua, se han aplicado diversos métodos, entre los que se encuentran el método titrimétrico (Van den Thillart, 1977; Van den Thillart y Kesbeke, 1978; Kutty, 1981; Sukumaran, 1986; Peter Mohamed y Kutty, 1986; Kutty, 1972), en la siguiente tabla se muestran algunos de los resultados obtenidos por este método:

Tabla 2-14 Producción de dióxido de carbono en diferentes especies de peces

Especie	Número de peces	Peso medio (g)	Condiciones	t (°C)	CO <sub>2</sub>		RQ	Autores
					(3)	(4)		
<i>Carassius auratus</i>	5	100	(1)	20	87.5	61.6	1.07	Van den Thillart (1977)
<i>Oreochromis mossambicus</i>	1	45	(2)	30	133.8	83.6	1.31	Sukumaran (1986)
<i>Rhinomugil corsula</i>	1	40	(2)	30	171.6	105.6	1.27	Peter Mohamed y Kutty (1986)
<i>Cyprinus carpio</i>	1	17	(2)	30	201.9	114.4	1.37	Kutty (1972)

(1) Ayuno prolongado, medidas realizadas en horas nocturnas.

(2) Ayuno de 36 horas, medidas realizadas en horas diurnas.

(3) CO<sub>2</sub> en mg kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; calculado a partir de los datos de los autores.

(4) CO<sub>2</sub> en mg kg<sup>-0.85</sup> h<sup>-1</sup>

(5) RQ en mg CO<sub>2</sub> / mg O<sub>2</sub>

Todos los valores de la tabla se han convertido de mmoles a mg.

El análisis por infrarrojos (Holopainen y Ranta, 1977) y el método de isótopos marcados (Sorokin, 1968), que se han aplicado a estudios con invertebrados acuáticos.

En la actualidad, se utilizan sensores de CO<sub>2</sub> para el estudio del metabolismo en peces, cuyas bases de funcionamiento se describen en el **apéndice D**.



### 3. RESULTADOS



# 3

## RESULTADOS

En este capítulo se presenta en primer lugar la descripción de la Unidad de metabolismo energético o Cámara metabólica, que constituye el primer bloque de Resultados. Al final del mismo se realiza una valoración global de dicha instalación.

En el segundo bloque de Resultados se describen los datos que hemos obtenido y considerado necesarios para la verificación del funcionamiento de la instalación. Finalizamos con un comentario y valoración general de dichos resultados.

### 3.1 DESCRIPCIÓN DE LA CÁMARA METABÓLICA

La primera y fundamental parte de este trabajo comprende la **construcción de cámaras de calorimetría indirecta para realizar estudios de metabolismo energético en peces**. Optamos por el tipo de cámaras para estudios por calorimetría indirecta en vez de directa, por ser estas más efectivas en animales acuáticos. Dichas instalaciones fueron diseñadas a partir de la información disponible en bibliografía, pero con algunas aportaciones innovadoras basadas en nuestra propia experiencia de trabajo con acuarios. Así pues, disponíamos de los conocimientos teóricos y era necesario llevarlos a la práctica.

Cuando se emprende un trabajo de investigación, existe en los investigadores un doble sentimiento, por un lado la ilusión de la búsqueda y



obtención de resultados y por otro, el temor a que las cosas no se dirijan por el cauce previsto y aparezcan obstáculos difíciles de solventar. Esta última circunstancia se ha dado con creces en el desarrollo del presente trabajo.

Hasta conseguir nuestro primer objetivo, hemos pasado por una serie de avatares que sólo la ilusión y el compromiso de los que hemos venido trabajando en ello, han motivado el que no nos diéramos por vencidos antes de tiempo. Hemos tenido que trabajar con ingenieros técnicos, electricistas, fontaneros, fabricantes de piscinas, informáticos y un largo etcétera, todos sin duda, excelentes profesionales en sus campos respectivos pero que se enfrentaban por primera vez a este desafío y el coordinarlos no ha sido tarea fácil.

### 3.1.1 SISTEMA DE MANTENIMIENTO DE ANIMALES

Este módulo está dedicado al confinamiento y mantenimiento de los animales en experimentación, ocupa la habitación 1 donde está instalado un acuario compuesto de dieciocho cubas con un sistema de aporte y drenaje de agua, control de la temperatura y del fotoperiodo.

La forma de las cubas es cilindro-cónica, doce de las cuales tienen una capacidad de 50 litros y las seis restantes de 12 litros, construidas en fibra de vidrio, con tapadera de metacrilato para dejar pasar la luz y con cierre hermético. Dicha tapadera presenta dos orificios, uno conectado a la tubería que suministra el agua y otro provisto de un tapón para suministro de alimento. Existe una llave regulable y un medidor de flujo, ambos dispositivos intercalados en cada una de las tuberías que lleva el agua a las cubas. La configuración de la parte interior de la cuba (Fig. 3-1), junto con el dispositivo de almacenamiento de heces (bote de plástico para recogida y posterior centrifugación), permite la obtención de las mismas, de forma idónea, para posterior análisis, ya que dicho recipiente se encuentra enroscado en la parte final de la tubería.

Las cubas se conectan con una tubería de desagüe fabricada en PVC, al igual que el resto del conjunto de tuberías, con un diámetro de 25 mm. A su vez, en cada canal de desagüe, existe una derivación fabricada en plástico impermeable a gases de 7mm de diámetro y 13.5 m de longitud.



El agua que llega a las cubas proviene del circuito cerrado situado en la segunda estancia y la que sale de las mismas es recogida por una tubería general que desagua en un tanque de decantación de 150 litros, desde donde,

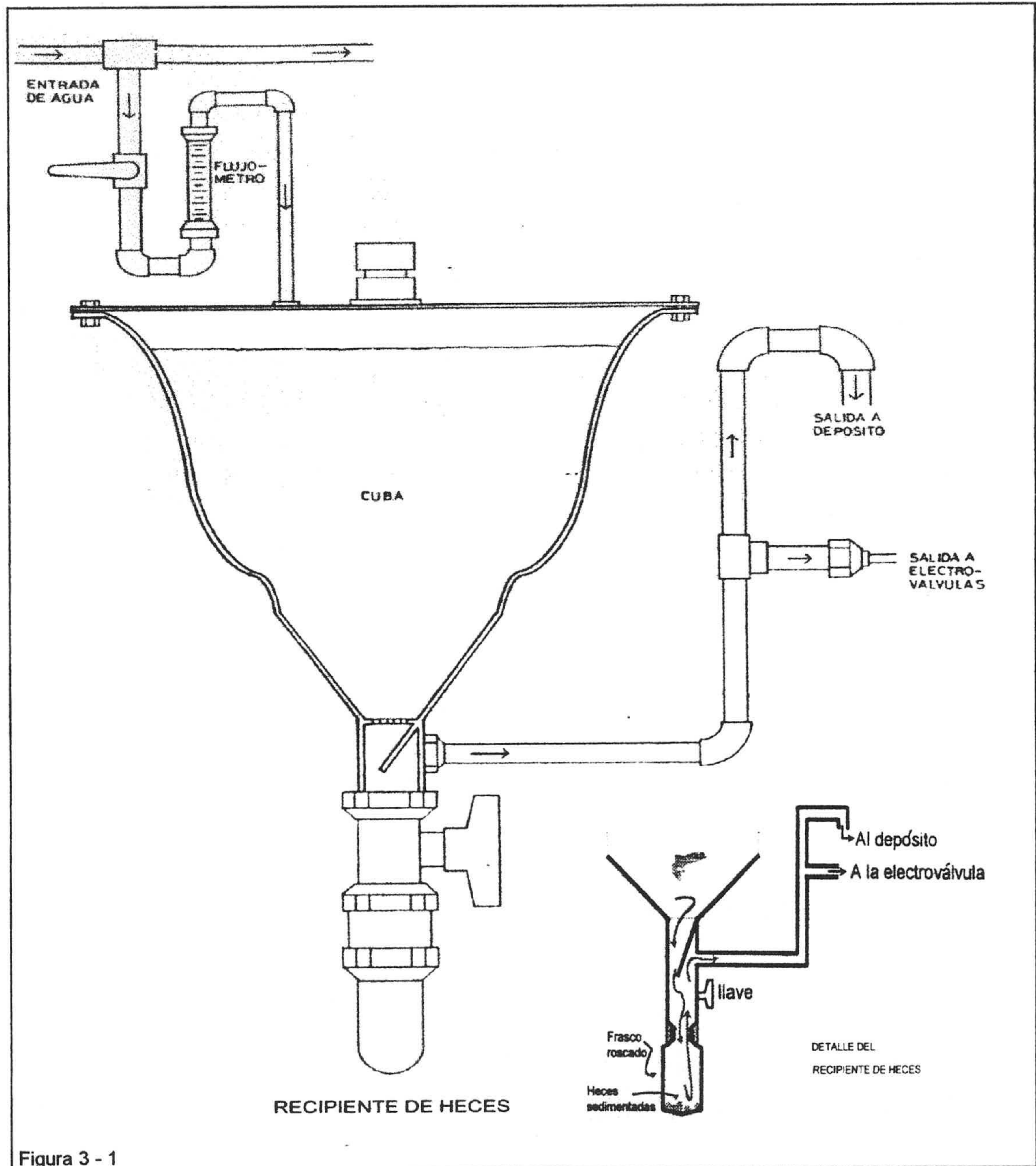
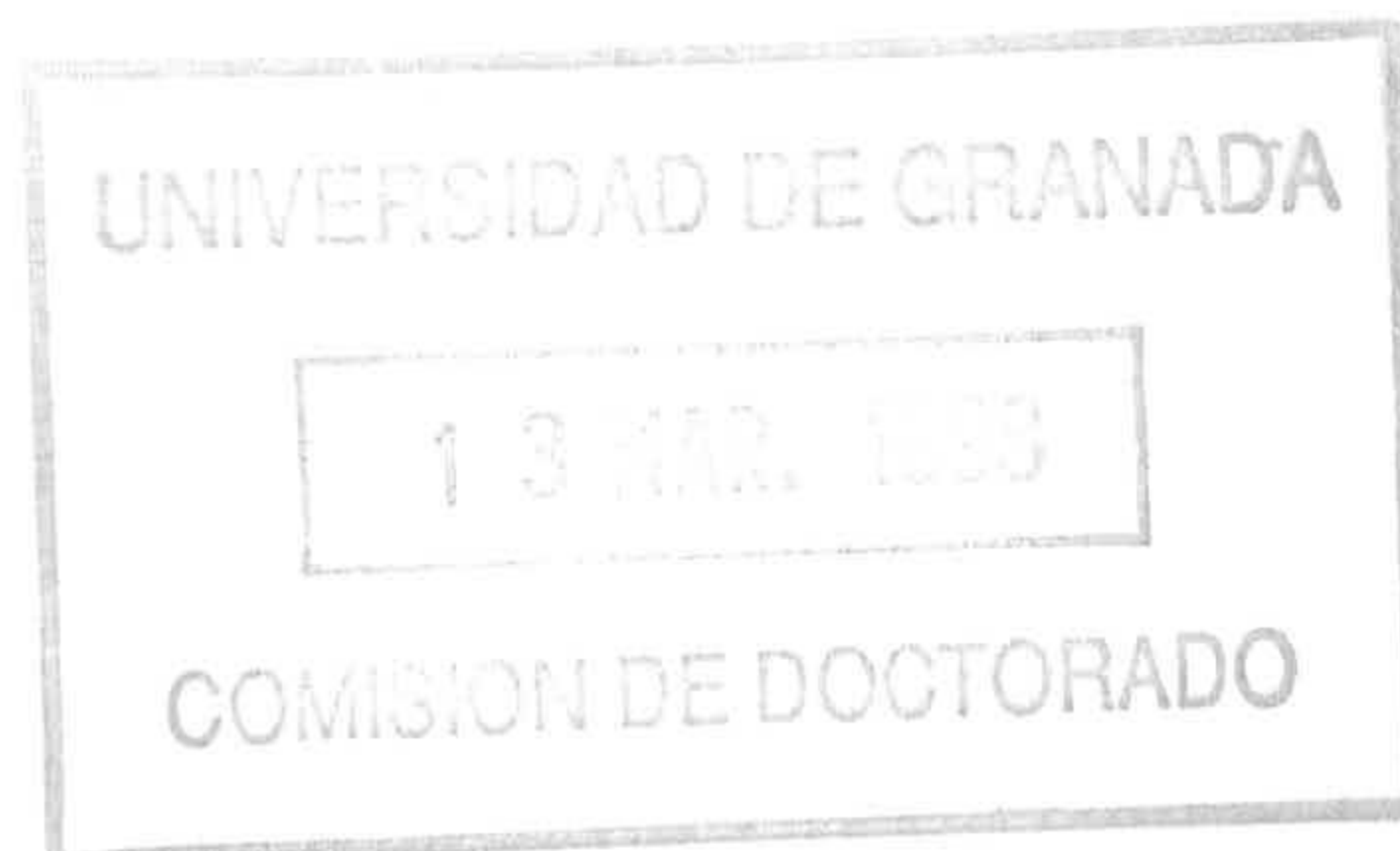


Figura 3 - 1





por gravedad, pasa al tanque control (forma parte del circuito cerrado de circulación del agua, situada en la habitación 2). Asimismo las derivaciones de cada uno de los tubos de desagüe presentan llaves para su desconexión y lavado, evitando la proliferación de algas que puedan interferir en las medidas de los distintos parámetros; todas ellas están conectadas con el sistema de electroválvulas, que van a permitir la recogida de muestras de agua pertenecientes a las distintas cubas, mediante una bomba peristáltica conectada a la salida de las electroválvulas y que va a llevar la muestra de agua a través de tres derivaciones a los electrodos correspondientes situados en la segunda estancia.

### 3.1.2 ACONDICIONAMIENTO DEL AGUA DEL CIRCUITO

En una segunda habitación contigua a la primera, se encuentra el conjunto de dispositivos (bombas, tubería y filtros), que van a permitir el acondicionamiento y aporte de agua a las cubas mediante un sistema de circulación cerrado.

El tanque control de 150 litros de capacidad recibe el agua proveniente de las cubas, ésta previamente ha pasado por el tanque de decantación (las partículas quedan retenidas en algodón sintético) y opcionalmente, filtro biológico suplementario (1600 biosferas para asentamiento de bacterias). En este tanque existe un aporte de aire mediante un soplante insonorizado mecánicamente para evitar contaminación acústica. Del tanque control una bomba marca Saci, tipo K15M, 1.5 HP de potencia, 2850 rpm. y flujo de 1400 l/m, succiona el agua que, mediante un sistema de tuberías y llaves regulables, es distribuida a los siguientes lugares:

- Hacia las cubas de los peces. Esta derivación tiene intercalado un dispositivo de refrigeración y otro de calentamiento, pudiendo opcionalmente pasar el agua por uno u otro según las necesidades. Asimismo existe un pequeño filtro mecánico (ABS) con un tamaño de poro adecuado para retener partículas que hayan escapado del sistema de filtros y evitar el que puedan atorar el conjunto de llaves y medidores de flujo que se encuentran en los tubos que aportan el agua a las cubas. El flujo marcado en esta derivación dependerá del número de cubas funcionales existentes en cada ensayo. De



todas formas, en la habitación 1 existe un sistema de rebosadero que retira el agua sobrante, manteniendo constante el nivel de las cubas.

- Al filtro de carbón vegetal activado, con un flujo de aproximadamente 500/h. Dicho filtro dispone de 2 kg de carbono, renovable cada 6 meses. Permite la adsorción de moléculas de cierto tamaño, quedando así retenidas.
- Al dispositivo de rayos UV, fabricado en cristal de cuarzo, con un flujo de 120 l/h. Ello impide la proliferación, principalmente, de protozoos y microalgas.
- Al filtro biológico, cuya función es eliminar el amoníaco excretado por los peces al medio acuático. Lo constituye un soporte cilíndrico fabricado en PVC y 70 l de capacidad, que en su interior lleva biosferas (Bactoballs) de la marca Dupla, fabricadas en polipropileno, con un coeficiente superficie/volumen de  $200 \text{ m}^2/\text{m}^3$ , con poros apropiados para que las colonias bacterianas se puedan asentar. Las biosferas (Bactoballs) son el soporte para las colonias de bacterias nitrificantes, marca comercial Biozime, la cantidad que es necesaria sembrar es de 12 cápsulas por cada 440 litros de agua. La cantidad de estas biosferas en el interior del filtro es de tres mil seiscientas. Existe una entrada de aire situada en la parte inferior que procede de un soplante, para reponer el oxígeno del agua que consumen las bacterias (**apéndice A**). Este soporte cilíndrico lleva en la parte superior una tapadera con múltiples orificios de 4.5 mm de diámetro que empiezan a 2.5 cm de los bordes para evitar que se forme una vena de agua y conseguir que caiga en gotas finas uniformemente repartidas; la tapadera lleva a su vez, una cubierta de un algodón sintético Perlan, para evitar el paso de partículas en suspensión que pudieran arrastrar a las colonias de bacterias adheridas a las esferas. El agua llega a este filtro con un flujo tal, que permite que todo el agua del circuito pase por él cinco veces a la hora.

La siembra de bacterias nitrificantes se debe realizar antes de utilizar animales y con el filtro de carbono activo y rayos ultravioleta desconectados del circuito.

Se siembran 36 cápsulas de bacterias (12 cápsulas por cada 400 l de agua) y se ponen cantidades crecientes de cloruro amónico al 10% (2, 4, 6, 8, y 10 ml), durante los diez primeros días. Terminado este período, se comprueba diariamente la concentración de nitritos en el agua (con cualquier test rápido de



los que existen en el mercado); cuando la concentración de nitritos baja hasta 0.25 mg/l , el cultivo de bacterias está listo para retirar el amoníaco del circuito, este proceso dura aproximadamente 18 días. Si en este momento no vamos a utilizar animales, deberemos de proveer diariamente de amoníaco a las bacterias, añadiendo 10 ml de  $\text{CINH}_4$  al 10% por cada 100 l de agua, que es el equivalente de amoníaco que aportaría una carga elevada de peces.

Al tanque control además de llegar el agua de las cubas donde se encuentran los peces y que previamente ha pasado por el tanque de decantación y filtro biológico suplementario, también llega el agua que procede directamente del filtro biológico.

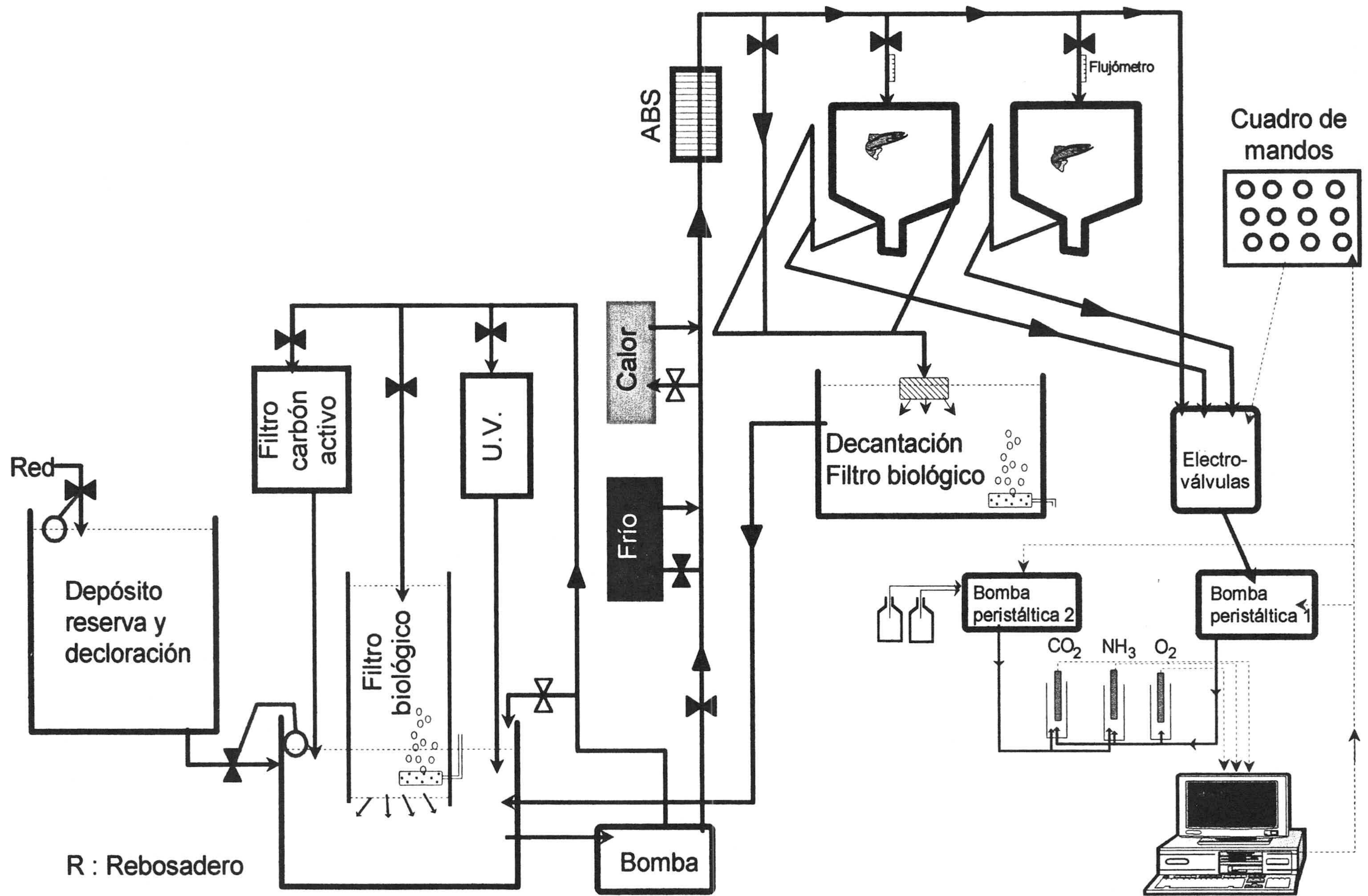
Para compensar las pérdidas de agua por evaporación y, sobretodo, por la toma de muestras, se utiliza un tanque de 300 litros de capacidad, abastecido por agua de la red cuando el sistema de sensor de nivel así lo indique. La permanencia del agua en este tanque permite su dechloración por evaporación. Existe otro sensor de nivel en el tanque control, permitiendo la entrada de agua a dicho tanque procedente del tanque de almacenamiento.

El filtro de carbón vegetal y el dispositivo de rayos UV, se encuentran dispuestos en paralelo para promover la eficacia de ambas estructuras. Cada una de ellas necesita una velocidad de paso del agua específica para que actúen de forma óptima. Asimismo, esta disposición facilita el que se puedan realizar tratamientos sanitarios a los peces, evitando en este caso que el agua pase por dichas estructuras y así no quedar depleccionada por los agentes germicidas, fungicidas, insecticidas, etc.

Hemos de decir que todo el sistema funciona no sólo para agua dulce, sino también para agua salada, ya que el conjunto de tuberías fabricadas en PVC, y el de llaves, fabricadas en latón, así lo permiten. El agua de mar se situaría en el tanque de almacenamiento para ser distribuida al resto del sistema.

La habitación o estancia 1, se encuentra comunicada con la 2 mediante una ventana de crista - espejo, que permite observar a los animales sin que éstos sean molestados. Ambas habitaciones se encuentran aisladas del exterior mediante la colocación de espuma de poliuretano en las ventanas. Asimismo, en cada una de ellas existe un sistema de termorregulación del aire marca







Mitsubishi Electric, modelos MSH-09 LV y MSH-12 LV y, en la habitación 1, un reloj temporizador para el establecimiento del fotoperiodo.

### 3.1.3 SISTEMA DE MEDIDAS

En este módulo se realiza la toma de muestras de agua por apertura y cierre de electroválvulas, y su posterior traslado a los sistemas de medida (sensores) con una bomba peristáltica. Estos procesos se pueden realizar de forma manual o mediante un ordenador.

Como se ha descrito anteriormente, cada cuba tiene una derivación de 13.5 m de longitud y 7 mm de diámetro conectada mediante una electroválvula al sistema de recogida de muestras, todas las derivaciones tienen las mismas dimensiones para garantizar a cada muestra el mismo tiempo de llegada a los sensores. El tiempo mínimo necesario para que una muestra de cualquier cuba, llegue a los sensores, se ha medido utilizando sulfato de cobre que tiñe el agua de azul, siendo éste de 120 segundos.

Una bomba peristáltica regulable, de 80 W de potencia, succiona el agua de la cuba cuya electroválvula se encuentre abierta y la envía a través de tres derivaciones de 1 metro de longitud y 7 mm de diámetro hasta los recipientes donde están sumergidos los sensores. Cada una de estas tres derivaciones tienen una válvula reguladora de flujo para ajustar el que necesita cada sensor.

Estos procesos se pueden realizar de forma manual o automática desde un panel principal de control, compuesto por 21 conmutadores (19 para las electroválvulas y 2 para bombas). Estos conmutadores constituyen el control principal del sistema pudiendo permanecer cada uno de ellos en tres posiciones: desactivado, actuación manual y control cedido al sistema automático. En la posición de actuación manual, se activa el dispositivo, electroválvula o bomba manualmente. La posición de control automático es la que permite al ordenador gobernar el dispositivo.

Tres sensores son los responsables de analizar las muestras: sensor de oxígeno, sensor de dióxido de carbono y sensor de amoníaco.



### 3.1.3.1 SENSOR DE OXÍGENO

El **oxígeno disuelto**, se mide con un sensor marca **Royce Modelo 95**, conectado a un **Analizador Modelo 9000**, que es un instrumento digital diseñado para realizar medidas continuas de oxígeno disuelto en agua en partes por millón (ppm). Mide el oxígeno disuelto en un rango de 0 a 100 ppm con una resolución de 0.1 ppm o en un rango de 0 a 10 ppm con una resolución de 0.01 ppm. Opcionalmente el oxígeno disuelto puede ser medido en porcentaje de saturación (% SAT). También mide la temperatura en un rango de 0 a 50 °C con resolución de un grado centígrado.

El microprocesador de que está dotado este analizador le proporciona una gran flexibilidad y fácil uso. La calibración "al aire" es muy simple, pero puede también calibrarse a concentración conocida. La compensación automática de temperatura lo hace mucho más fiable que cualquier instrumento analógico disponible. La corrección por altura y contenido en cloro se realiza de forma simple introduciendo los datos mediante el teclado.

El analizador se comunica con un ordenador que recibe la información a través de un puerto serie usando un *interface* RS-485.

El sensor es de tipo galvánico formado por un cátodo con la punta de platino y ánodo de plomo sumergido en un electrolito. Una membrana, que es permeable a gases pero no a líquidos, está colocada sobre el cátodo y separa la célula galvánica de la disolución. El oxígeno disuelto difunde a través de la membrana hacia la punta de platino donde es reducido. La difusión a través de la membrana se produce porque la presión parcial del oxígeno dentro de la célula es cero, ya que todo el gas oxígeno es reducido, mientras que en la muestra el oxígeno disuelto tiene una presión parcial proporcional a  $[O_2]$ . La cantidad de oxígeno reducido en el cátodo y por ello la corriente generada en la célula galvánica está determinada por la presión parcial del oxígeno en la disolución. El sensor proporciona a la salida una tensión producida por esta corriente que es directamente proporcional a la concentración de oxígeno disuelto en la muestra. Cada medición consume oxígeno, tanto más cuanto mayor sea la superficie del cátodo, por lo que hay que agitar la disolución para evitar que se empobrezca en oxígeno en las proximidades del sensor.



La difusión del oxígeno a través de la membrana depende de dos factores fundamentales: el **espesor de membrana** y la **temperatura** de la disolución.

Una membrana más delgada permite una difusión más rápida y por tanto una respuesta más rápida del sensor.

La temperatura plantea un problema mucho más serio pues la permeabilidad de la membrana, de cualquier membrana, varía con la temperatura de la disolución. Así, una misma concentración de oxígeno a distintas temperaturas no proporcionaría con este método la misma lectura, si el sensor no dispusiera de un dispositivo compensador. Este dispositivo es un **termistor** incorporado al circuito eléctrico del sensor. Un termistor es una **resistencia eléctrica variable con la temperatura** que se diseña con unas características adecuadas a la variación de la permeabilidad de la membrana con la temperatura. Al pasar por el **termistor** la corriente eléctrica generada en la célula galvánica da lugar, en los extremos de éste, a una tensión de salida que depende de la presión parcial del  $O_2$  disuelto (o bien de la  $[O_2]$ ) pero **no de la temperatura**, ya que la tensión eléctrica de salida ha sido corregida automáticamente en el **termistor**.

Para más información sobre la calibración del sensor y tabla de oxígeno disuelto en agua a diferentes presiones y temperaturas, ver **apéndice B**.

### 3.1.3.2 SENSOR DE AMONÍACO

El amoníaco disuelto se mide con un sensor marca **Orión Modelo 95-12**, conectado al **Medidor 720A**, de dos canales con todas las funciones accesibles desde el teclado. El **modelo 720A** dispone de dos entradas para sensores con conector tipo BNC. También dispone de una entrada para sonda de temperatura. Se comunica con el ordenador que recibe la información a través de un puerto serie usando un *interface* RS-232.

Las especificaciones del fabricante dicen que el sensor exhibe una buena respuesta en un rango de 0.07 ppm ( $4 \times 10^{-6}$  M) hasta 1750 ppm (1M) de amoníaco disuelto en agua. Para valores inferiores a 0.07 ppm, se debe realizar una calibración para medidas de bajo nivel; en concentraciones superiores a 1



M, el amoníaco se evapora rápidamente en el aire, por lo que las muestras deben ser previamente diluidas.

Posee un electrodo de referencia interno y un electrodo activo sensible al ion  $\text{OH}^-$ .

El electrodo de referencia está alojado en el interior del cuerpo interno del sensor y su potencial de referencia  $E_0$  está parcialmente determinado por la concentración de cloruro existente en la disolución interna.

El electrodo activo, sensible al ion  $\text{OH}^-$  está situado en la punta del cuerpo interno del sensor. Una membrana selectiva, permeable a gases, separa la disolución muestra de la disolución interna del electrodo. Las características especiales de esta membrana y las de la disolución interna son las que le convierten en un sensor de  $\text{NH}_3$  ya que el amoníaco disuelto en la muestra difunde a través de la membrana hasta que se establece el equilibrio entre la presión parcial del  $\text{NH}_3$  en la muestra y en la disolución interna del sensor. Cuanto mayor sea la concentración de  $\text{NH}_3$  en la muestra más rápidamente se alcanzará el equilibrio ya que la presión parcial es proporcional a la concentración. El tiempo de respuesta del sensor está relacionado con el tiempo que tarda en alcanzarse el equilibrio de presiones parciales del  $\text{NH}_3$  a uno y otro lado de la membrana.

Las disoluciones requeridas son :

Ajustador de pH (ISA), cuya composición es: NaOH 5 M, EDTA disódica 0.05 M y 10% de metanol.

Disolución interna del electrodo.

Disolución estándar de cloruro amónico 0.1 M.

Dos tampones para el chequeo interno del electrodo. Un tampón pH 4.01 (con NaCl 0.1 M añadido) que se prepara añadiendo 200 ml de un tampón pH 4, 1.16 gramos de NaCl; y un tampón pH 7 (con NaCl 0.1 M añadido) que se prepara añadiendo a 200 ml de un tampón pH 7, 1.16 gramos de NaCl.



El sensor se calibra por un método de calibración directa que consta de los pasos siguientes:

- se preparan dos disoluciones estándar que contengan en su rango el valor esperado de la muestra y cuyas concentraciones difieran en un factor de 10. Las disoluciones estándar y la muestra deben estar a la misma temperatura.
- se ponen 100 ml de la estándar más diluida en un vaso de 150 ml y se añaden 2 ml de ISA para ajustar el pH de la disolución a un rango de 11-14. Se agita.
- se lava el electrodo con agua destilada, se seca y se coloca en el vaso. Se espera hasta que la lectura sea estable; entonces se ajusta la medida de pantalla al valor de la disolución estándar.
- se ponen 100 ml de la estándar más concentrada e un vaso de 150 ml y se añaden 2 ml de ISA. Se agita.
- se repite el segundo paso.
- se ponen 100 ml de disolución muestra en un vaso de 150 ml y se añaden 2 ml de ISA. Se agita y se introduce el electrodo en la muestra. La concentración puede leerse en el medidor.

Puesto que las medidas se centralizan en un ordenador y se utilizan dos bombas para hacer llegar las muestras y los reactivos hasta los recipientes de medida, se han adaptado las cantidades de tampón y muestra de la siguiente forma: se hace llegar de manera continua 75 ml/minuto de muestra y 1.5 ml/minuto de ISA hasta el recipiente de medida, se agita (con agitador magnético), para que la mezcla se homogenice, y se lee la concentración que es enviada al ordenador.

Para comprobar que el sensor funciona correctamente se le somete a las siguientes pruebas:

- si el sensor ha estado guardado sin su disolución interna, hay que ponérsela y esperar al menos dos horas.



- sacar el cuerpo interno del sensor y lavarlo con agua destilada, después sumergirlo en un tampón pH 7 con ClNa 0.1 M añadido (ver disoluciones requeridas), de manera que el elemento de referencia quede cubierto y registrar cuando sea estable la lectura del potencial en mV.
- lavar de nuevo el cuerpo interno del sensor con agua destilada y sumergirlo en un tampón pH 4 con ClNa 0.1 M añadido (ver disoluciones requeridas), la lectura deberá ser de 100 mV en menos de 30 segundos y el medidor deberá estabilizar su lectura en 3 o 4 minutos. La diferencia en mV entre pH 7 y pH 4 deberá ser mayor de 150 mV para estar seguros de que los elementos sensibles del cuerpo interno están funcionando correctamente.

La curva de calibración y otras aclaraciones sobre teoría del sensor de amoníaco se encuentran en el **apéndice C**.

### 3.1.3.3 SENSOR DE DIÓXIDO DE CARBONO

El **dióxido de carbono**, se mide con un sensor marca **Orión, Modelo 95-02**, conectado al mismo medidor que el sensor de amoníaco.

Este sensor está diseñado para medir dióxido de carbono, carbonato y bicarbonato en disolución acuosa. Según las especificaciones ofrecidas por el fabricante, el sensor exhibe buena respuesta para concentraciones de dióxido de carbono comprendidas entre 22 ppm ( $5 \times 10^{-4}$  M) hasta 880 ppm ( $2 \times 10^{-2}$  M); por encima de este valor la presión parcial del dióxido de carbono en la disolución es muy superior a la presión parcial del dióxido de carbono en la atmósfera normal y el resultado es que el dióxido de carbono pasa rápidamente al aire, por esta razón muestras con concentraciones superiores a  $2 \times 10^{-2}$  M deben ser previamente diluidas.

Posee un electrodo de referencia interno y un electrodo activo sensible al ion  $H^+$ . El electrodo de referencia, está alojado en el interior del cuerpo interno del sensor y su potencial de referencia  $E_0$  está parcialmente determinado por la



concentración de cloruro existente en la disolución interna.

El electrodo activo, sensible al ion  $H^+$  está situado en la punta del cuerpo interno del sensor. Una membrana selectiva, permeable a gases, separa la disolución muestra de la disolución interna del electrodo. Las características especiales de esta membrana y las de la disolución interna son las que le convierten en un sensor de  $CO_2$ , ya que el  $CO_2$  disuelto en la muestra se difunde a través de la membrana hasta que se establece el equilibrio entre la presión parcial del  $CO_2$  en la muestra y en la disolución interna del sensor. Cuanto mayor sea la concentración de  $CO_2$  en la muestra más rápidamente se alcanzará el equilibrio ya que la presión parcial es proporcional a la concentración. El tiempo de respuesta del sensor está relacionado con el tiempo que tarda en alcanzarse el equilibrio de presiones parciales del  $CO_2$  a uno y otro lado de la membrana.

Disoluciones requeridas:

- Ajustador de pH (ISA) cuya composición es: tricitrato de sodio al 10% y ácido cítrico 0.2 M.
- Disolución de bicarbonato sódico 0.1 M.
- Disolución estándar de dióxido de carbono de 1000 ppm, que se prepara diluyendo 22.7 ml de bicarbonato sódico 0.1 M en 100 ml de agua destilada.
- Disolución de cloruro sódico 0.1 M para guardar el sensor.
- Disolución interna del sensor.
- Dos tampones para el chequeo interno del electrodo. Un tampón pH 4.01 (con NaCl 0.1 M añadido), que se prepara añadiendo 1.16 gramos de NaCl, a 100 ml de un tampón pH 4, y un tampón pH 7 (con NaCl 0.1 M añadido), que se prepara añadiendo 1.16 g de NaCl a 100 ml de un tampón pH 7.

Se calibra por un método de calibración directa que se realiza de la siguiente manera:



- Se preparan dos disoluciones estándar que contengan en su rango el valor esperado de la muestra y cuyas concentraciones difieran en un factor de 10. Las disoluciones estándar y la muestra deben estar a la misma temperatura.
- Se preparan 50 ml de la estándar más diluida en un vaso de 150 ml y se añaden 5 ml del tampón de dióxido de carbono (ISA), para mantener el pH de la disolución en un rango de 4.8 y 5.2. Se agita.
- Se lava el sensor con agua destilada, se seca y se coloca en el vaso. Cuando la medida es estable se ajusta la medida de pantalla al valor de la concentración de la disolución estándar.
- Se ponen 50 ml de la estándar más concentrada en un vaso de 150 ml y se añaden 5 ml de tampón de CO<sub>2</sub> (ISA).
- Se repite el segundo paso.
- Se toman 50 ml de disolución muestra en un vaso de 150 ml y se añaden 5 ml de ISA. Se agita. Se lava el electrodo con agua destilada, y se seca y se introduce en la muestra. Se lee el valor de la concentración en el medidor.

Puesto que las medidas se centralizan en un ordenador y se utilizan dos bombas para hacer llegar las muestras y los reactivos hasta los recipientes donde están los sensores, se han adaptado las cantidades de disolución tampón y muestra de la siguiente forma: se hace llegar de manera continua 15 ml/minuto de muestra y 1.5 ml/minuto de ISA hasta el recipiente de medida, se agita (con agitador magnético), para que la mezcla se homogenice, y se lee la concentración que es enviada al ordenador.

Para comprobar que el sensor funciona correctamente se le debe someter a las siguientes pruebas:

- Si el sensor ha estado guardado sin su disolución interna, hay que ponérsela y esperar al menos dos horas.
- Sacar el cuerpo interno del sensor y lavarlo con agua destilada,



después sumergirlo en un tampón pH 7 con ClNa 0.1 M añadido (ver disoluciones requeridas), de manera que el elemento de referencia quede cubierto y registrar cuando sea estable la lectura del potencial en mV.

- Lavar de nuevo el cuerpo interno del sensor con agua destilada y sumergirlo en un tampón pH 4 con ClNa 0.1 M añadido (ver disoluciones requeridas), la lectura deberá ser mayor de 100 mV en menos de 30 segundos y el medidor deberá estabilizar su lectura en 3 o 4 minutos en un rango de 150 - 190 mV. La diferencia en mV entre pH 7 y pH 4 deberá ser mayor de 150 mV para estar seguros de que los elementos sensibles del cuerpo interno están funcionando correctamente.

La curva de calibración y otras aclaraciones sobre teoría del sensor de dióxido de carbono se encuentran en el **apéndice D**.



### 3.1.4 CONTROL INFORMÁTICO

El control automático de la cámara metabólica se realiza mediante el sistema informatizado ICTIOS, elaborado por la empresa Pandanus, S.L. siguiendo nuestras indicaciones, que consta de un soporte físico (*hardware*) y otro informático (*software*).

El soporte físico (*hardware*) está formado por los elementos siguientes:

- 19 electroválvulas de apertura o cierre total, alimentadas por una tensión de 24 V y una potencia de 9 W, 18 de las cuales corresponden a las cubas y una a la tubería general.
- una bomba peristáltica, alimentada con una tensión de red de 220 V y una potencia máxima de 80 W, que succiona agua de la cuba tras la apertura de la correspondiente electroválvula.
- una bomba con dos canales para tubos de silicona de 3 mm de diámetro, alimentada con tensión de 220 V y potencia máxima de 13 W, que se utiliza para suministrar los reactivos necesarios para realizar las medidas de amoníaco y dióxido de carbono.
- un panel compuesto por 21 conmutadores (19 para electroválvulas y 2 para bombas) de tres estados: desactivado, control manual y control automático. En la posición manual se activan electroválvulas y bombas manualmente y la posición automática es la que permite al ordenador gobernar el sistema.
- un ordenador tipo PC/AT, que puede estar basado en CPUs desde 286 hasta Pentium, con tarjetas de puertos de salida y puertos de comunicaciones. La tarjeta de puertos de salida con 21 salidas digitales, ha sido fabricada por la empresa Pandanus, S.L. Las tarjetas de puertos de comunicaciones disponen de tres puertos serie, dos de ellos RS-232 y uno RS-485.
- un registrador (*data logger*) marca Royce para las medidas de oxígeno disuelto y temperatura, con interface RS-485 a una velocidad de 300 bps.
- un registrador (*data logger*) marca Orión de dos canales, con interface RS-232



a una velocidad de 1200 bps. Por un canal se mide amoníaco y temperatura y por el otro dióxido de carbono y temperatura.

- una caja con 21 relés gobernados por la placa de puertos de salida, para controlar las 19 electroválvulas y las 2 bombas. Las tarjetas de los relés han sido fabricadas por la empresa Pandanus, S.L.

El soporte informático (*software*) para el control y adquisición de datos ha sido diseñado específicamente para esta instalación; es ejecutable en ordenadores PC bajo sistema operativo MS-DOS. Su cometido es actuar sobre los 21 relés que activan las electroválvulas y bombas de succión así como recibir información de los registradores (*data logger*) a los que están conectados los sensores.

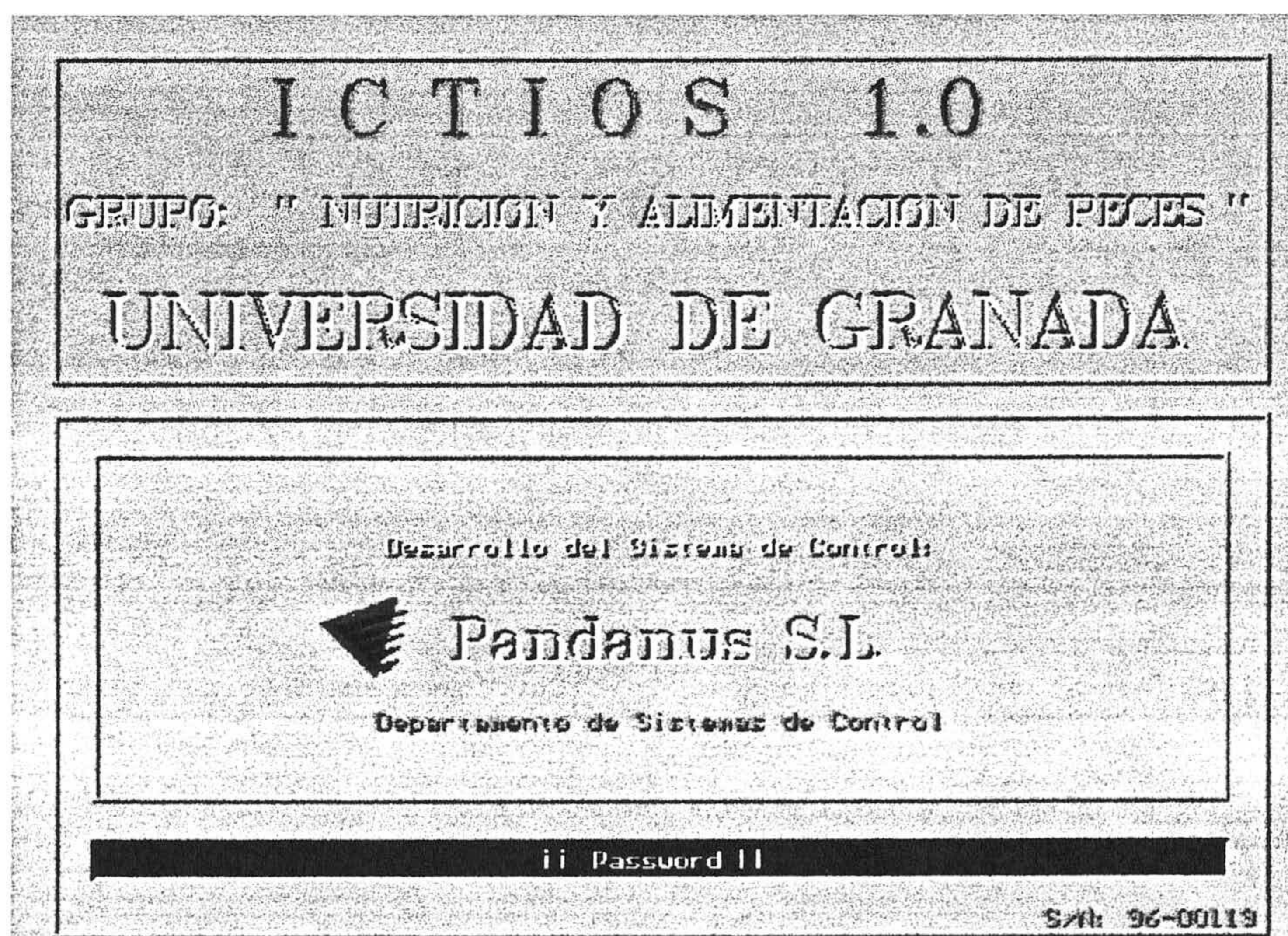


Figura 3 -3

Las diferentes pantallas que aparecen durante la programación de un experimento y la realización del mismo son "amigables" en el sentido de que permiten una fácil visualización de las diferentes etapas, así como de los últimos resultados obtenidos. Los parámetros del ensayo y los datos obtenidos son almacenados (ficheros con extensión *.tra* y *.med*, respectivamente), para su posterior análisis mediante programas convencionales (hojas de cálculo, estadística, representación



gráfica,...). Otras opciones adicionales son el almacenamiento de las características del experimento para su posterior réplica, salida instantánea de datos por impresora, programación por anticipado de experimentos, etc.

El proceso de medida de una cuba cualquiera consta de la apertura de su electroválvula, seguida de la actuación de las dos bombas (de succión y de reactivos). Tras un tiempo suficiente de apertura de electroválvula, necesario para que llegue el agua de la cuba a los sensores (tiempo programable), se procede a interrogar a los *data logger* (oxígeno, amoníaco y dióxido de carbono). El sistema permite rechequeo de datos en caso de error y la realización de cuatro lecturas consecutivas de la misma muestra. Finalizado el proceso de medida se procede a la parada de las bombas y al cierre de las electroválvulas.

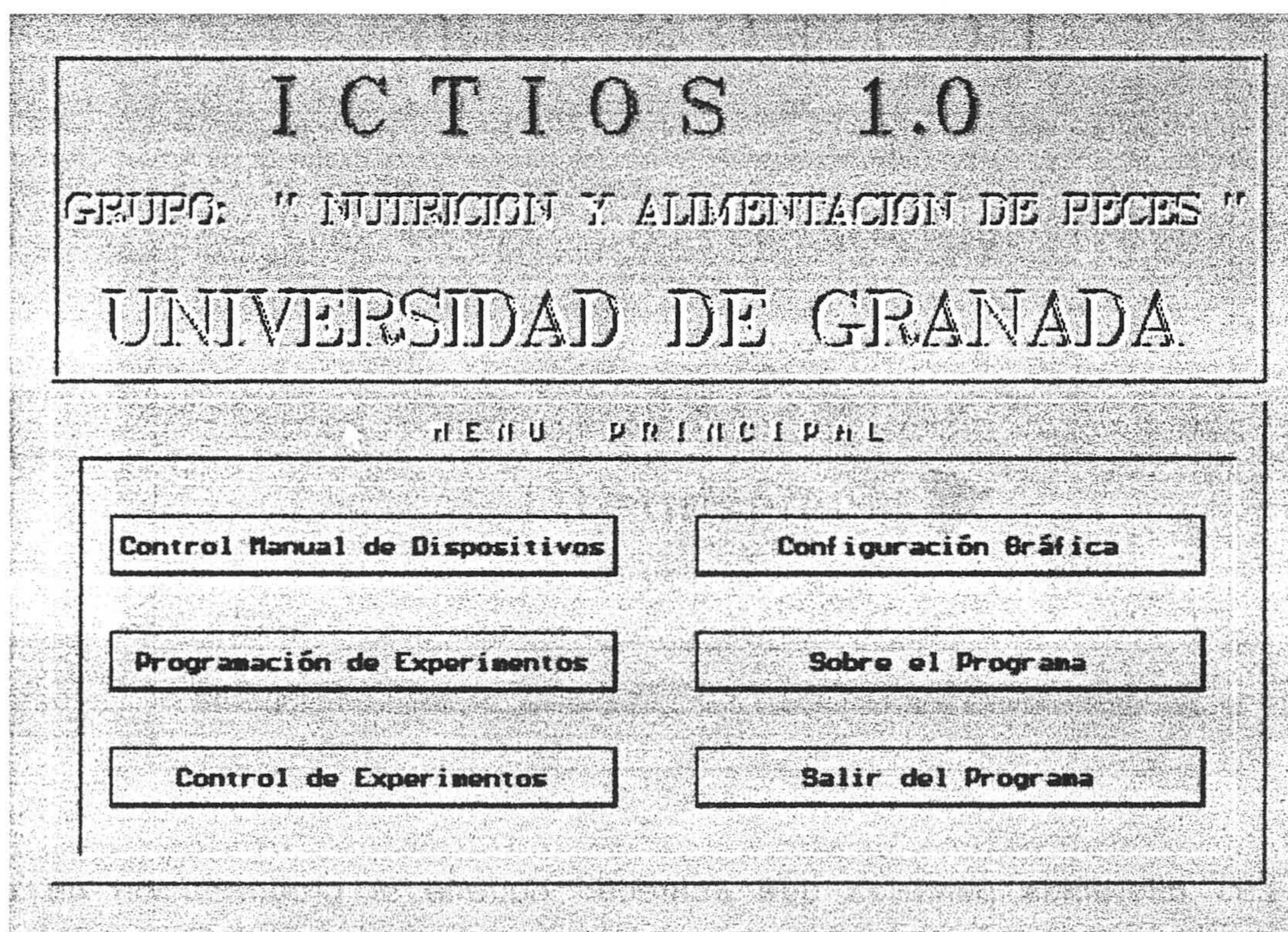


Figura 3 -4

En la pantalla de la Fig. 3-4, está representado el menú principal cuyas opciones fundamentales son:



- **Control Manual de Dispositivos**, esta opción la incorpora el programa para hacer pruebas del funcionamiento. Mediante ella podemos actuar directamente sobre los 21 interruptores del sistema (haciendo "clic" con el ratón).
- **Programación de Experimentos** que nos introduce en la pantalla de configuración y programación de los ciclos de medida.
- **Control de Experimentos** que activa la pantalla donde se visualiza lo que está sucediendo en cada momento con las cubas programadas. Desde esta pantalla se ordena el inicio y final de cada experimento.

Las tres opciones restantes ofrecen las posibilidades siguientes:

**Configuración Gráfica** para cambiar los colores de pantalla si se desea, **Sobre el Programa** que hace referencia a la empresa que lo ha realizado y finalmente **Salir del programa** que cierra el programa y retorna al MS-DOS.

- **Control manual de Dispositivos** (Fig. 3-5).

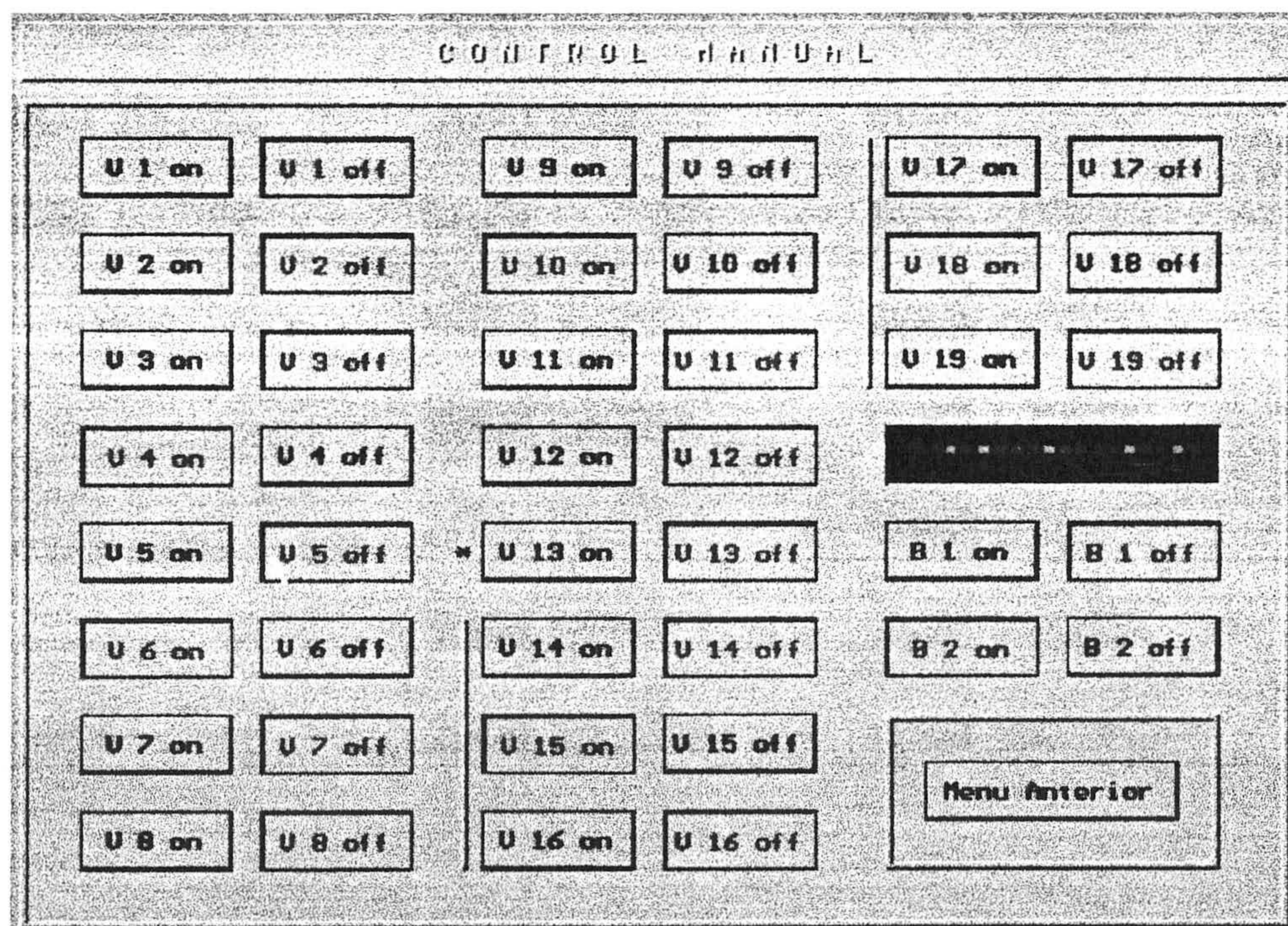


Figura 3 -5



Desde aqui se actua manualmente sobre la apertura de electroválvulas y funcionamiento de las bombas (succión y reactivos). Cuando los interruptores estan activos quedan oprimidos y marcados en color destacado ("on" en color rojo); en este ejemplo las electroválvulas que estan abiertas son las de las cubas 4, 6, 10, 15 y 18. Los pilotos luminosos a la derecha de la pantalla, situados debajo de los indicadores de la válvula 19, nos informan del número de electroválvulas que estan conectadas.

Estas operaciones se realizan para limpiar los conductos que llevan las muestras de agua desde las cubas hasta los sensores y comprobar el funcionamiento correcto de electroválvulas y bombas.

• Programación de Experimentos (Fig. 3- 6 ).

En esta pantalla existe un área para cada una de las 19 electroválvulas, informando sobre las cubas que participan en el experimento ("activo" en color rojo)

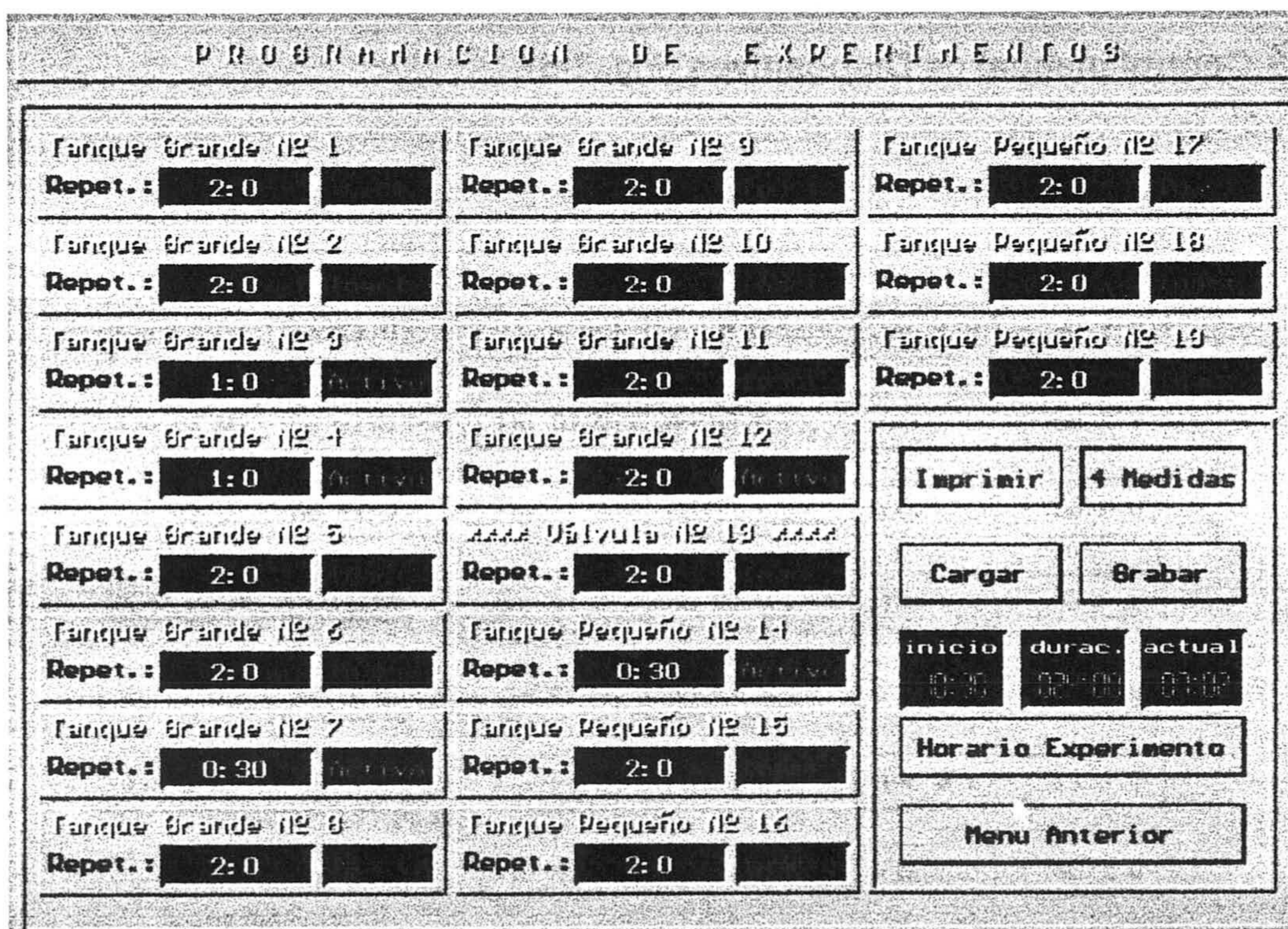


Figura 3 - 6

y su estado de programación. Se pueden realizar una o cuatro medidas consecutivas de la misma muestra, ésta última, es la opción que hemos escogido para apreciar la



estabilidad de los sistemas de medida. Los tres relojes que aparecen en la pantalla en el cuadrante inferior derecho reflejan la hora en que se ha iniciado el experimento, el tiempo que ha transcurrido desde el inicio y la hora actual.

La opción **imprimir**, activa la impresora de forma que los datos experimentales se imprimen según van llegando desde los sensores. La opción **cargar** permite recuperar cualquier programa de experimentos utilizado con anterioridad y pulsando **grabar** se guarda en el disco duro el fichero con extensión **.exp** que contiene las instrucciones necesarias para la realización del experimento, tal como se indica en la pantalla de la figura 3-7 :

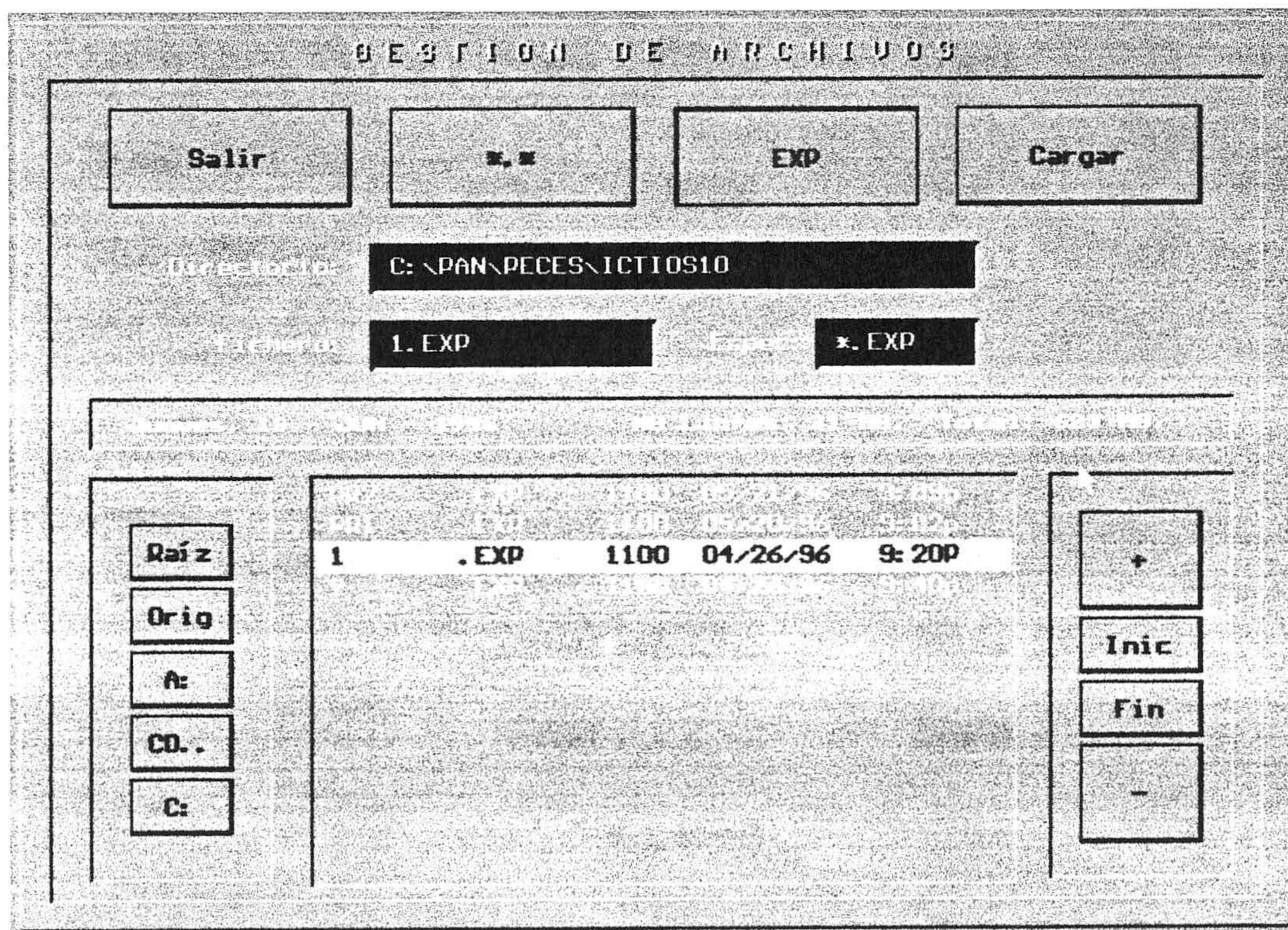


Figura 3 -7

La opción **cargar** nos permite seleccionar ficheros correspondientes a experimentos anteriores (Fig. 3-7), que se pueden utilizar como base para otros nuevos.



Los ficheros guardados aparecen ordenados cronológicamente y se pueden buscar utilizando los botones **Inic** y **Fin** para visualizarlos en la pantalla del ordenador.

Una cuba cualquiera se activa presionando el botón **Inac**, entonces aparece la ventana de la Fig. 3-8, que nos permite programar cada cuánto tiempo se deben repetir las medidas de dicha cuba. Con la instrucción **Tiempo de apertura de válvula**, se programa un tiempo suficiente de espera (en el que los sensores no envían sus datos) para garantizar que la muestra que se está midiendo es la que acaba de llegar de la cuba; este periodo es de 120 segundos y se ha medido utilizando sulfato de

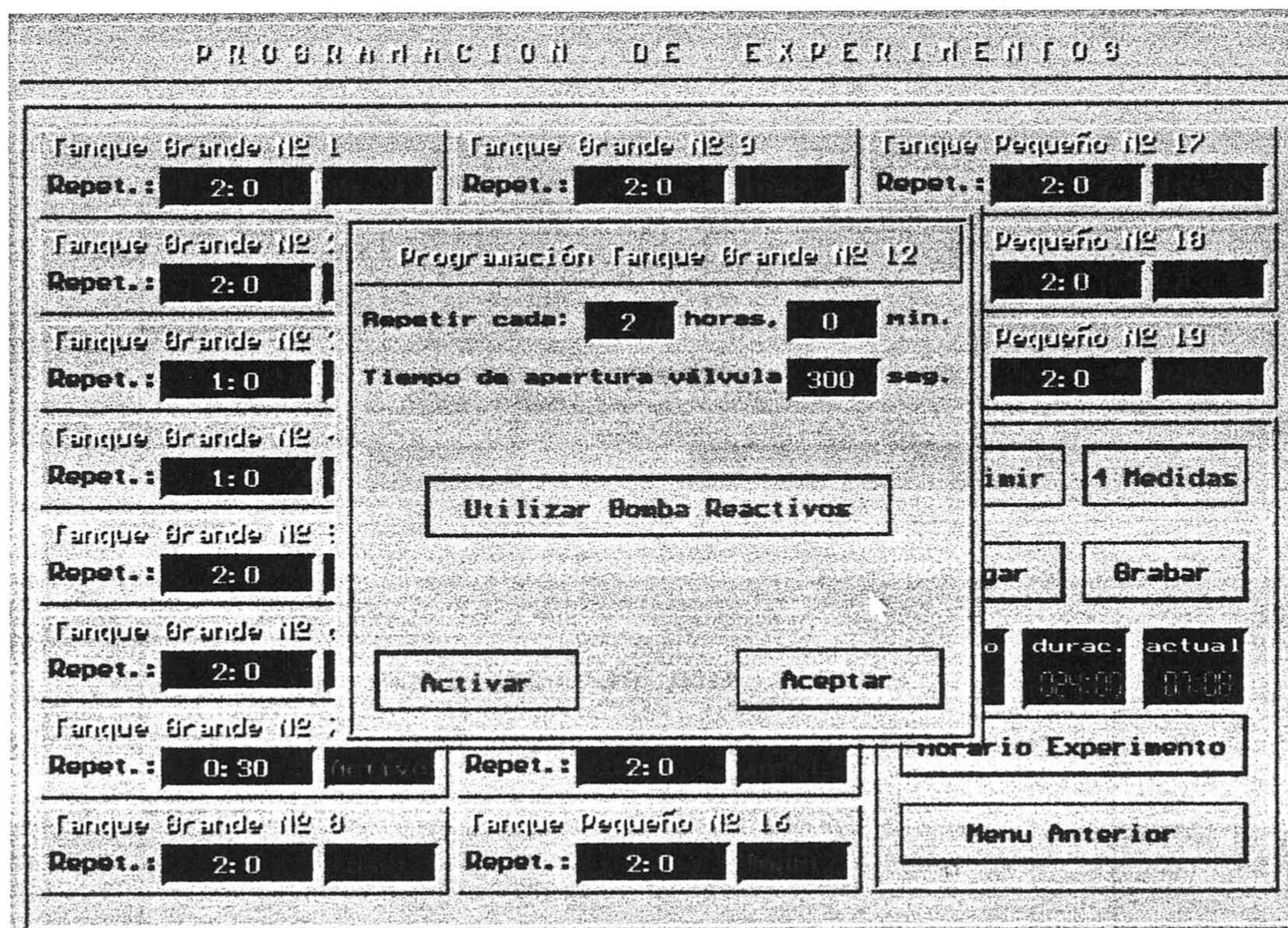


Figura 3 -8

cobre que tiñe el agua de azul (descrito en la sección 3.1.3).

Para medir amoníaco y dióxido de carbono se tiene que activar la **Bomba de Reactivos**, que se encarga de llevar los tampones ISA hasta los sensores correspondientes (descritos en las secciones 3.1.3.2 y 3.1.3.3).



Cuando se ha terminado de programar una cuba, se visualiza en pantalla que está **Activa** y cada cuánto tiempo se va a repetir la medida (hora y/o minutos).

Al calcular el tiempo de medida de una cuba cualquiera se deben de tener en cuenta cuatro factores: el número de cubas que intervienen en el experimento, el

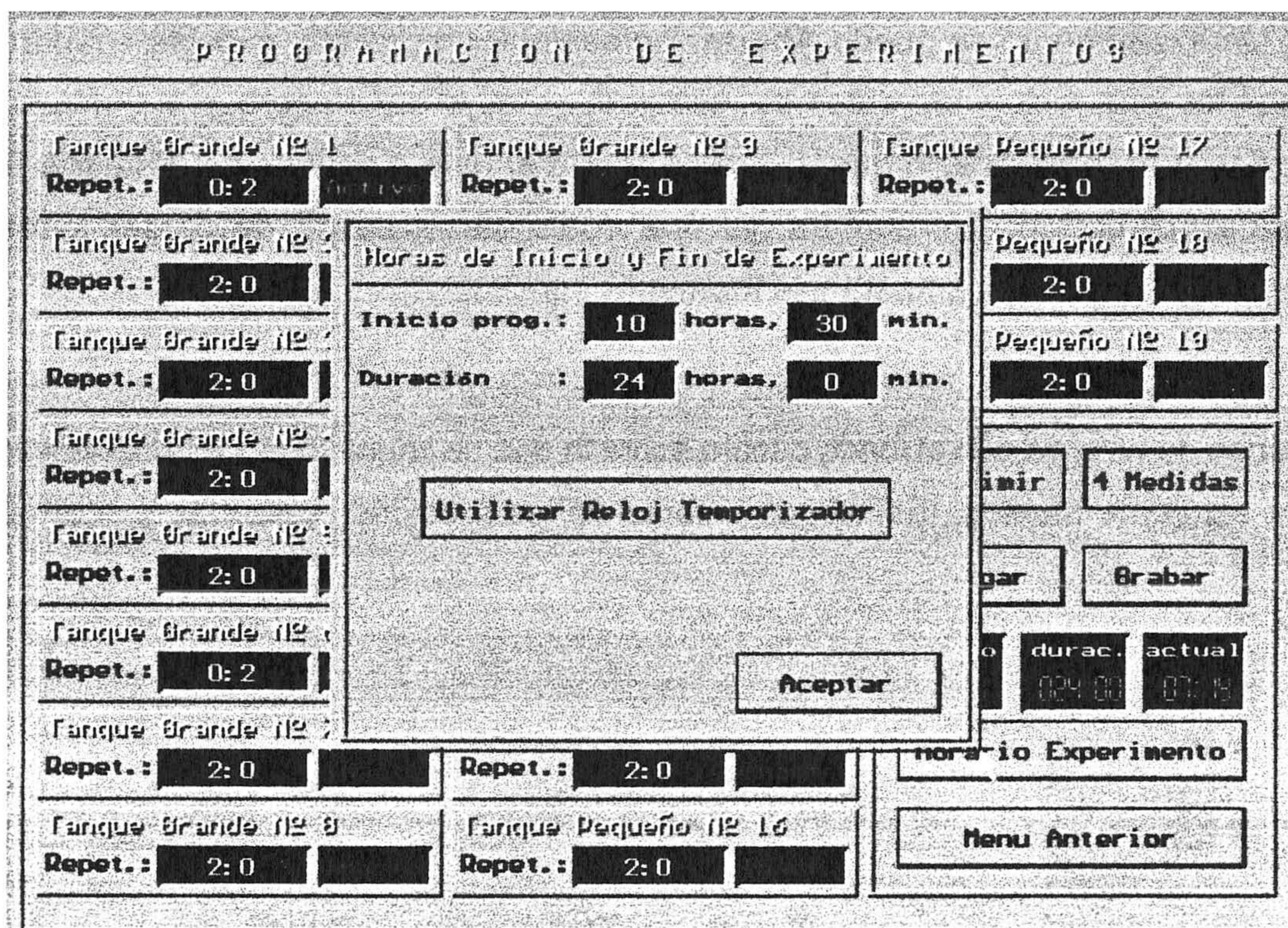


Figura 3 -9

tiempo de espera para empezar a medir, si se realizan una o cuatro medidas de cada muestra y el tiempo que tarda cada sensor en medir.

El tiempo *mínimo* que necesita cada sensor para realizar una medida, viene determinado por el propio aparato, siendo de 25 segundos para el sensor de oxígeno, de 10 segundos para el sensor de amoníaco y 10 segundos para el sensor de dióxido de carbono.



Para terminar la programación de un experimento se fija la hora del inicio y cuánto tiempo debe durar (ver Fig. 3-9). El inicio es programable con 24 horas de antelación y puede durar un máximo de 45 días.

- **Control de Experimentos**, es la opción que nos permite iniciar y terminar un experimento.

Un experimento se puede **Abortar** en cualquier momento, excepto cuando el ordenador esté recibiendo datos de medidas; en cuyo caso aparecerá el mensaje **operación inabordable**, lo que quiere decir que en ese momento no debemos dar ninguna instrucción al programa, ya que corremos el riesgo de perder toda la información almacenada hasta ese momento.

En esta pantalla vemos cómo las cubas programadas en un experimento, disponen de un área con el fondo oscuro sobre la que se impresionan la hora del inicio de la siguiente medida, los últimos valores de las medidas realizadas y si en ese

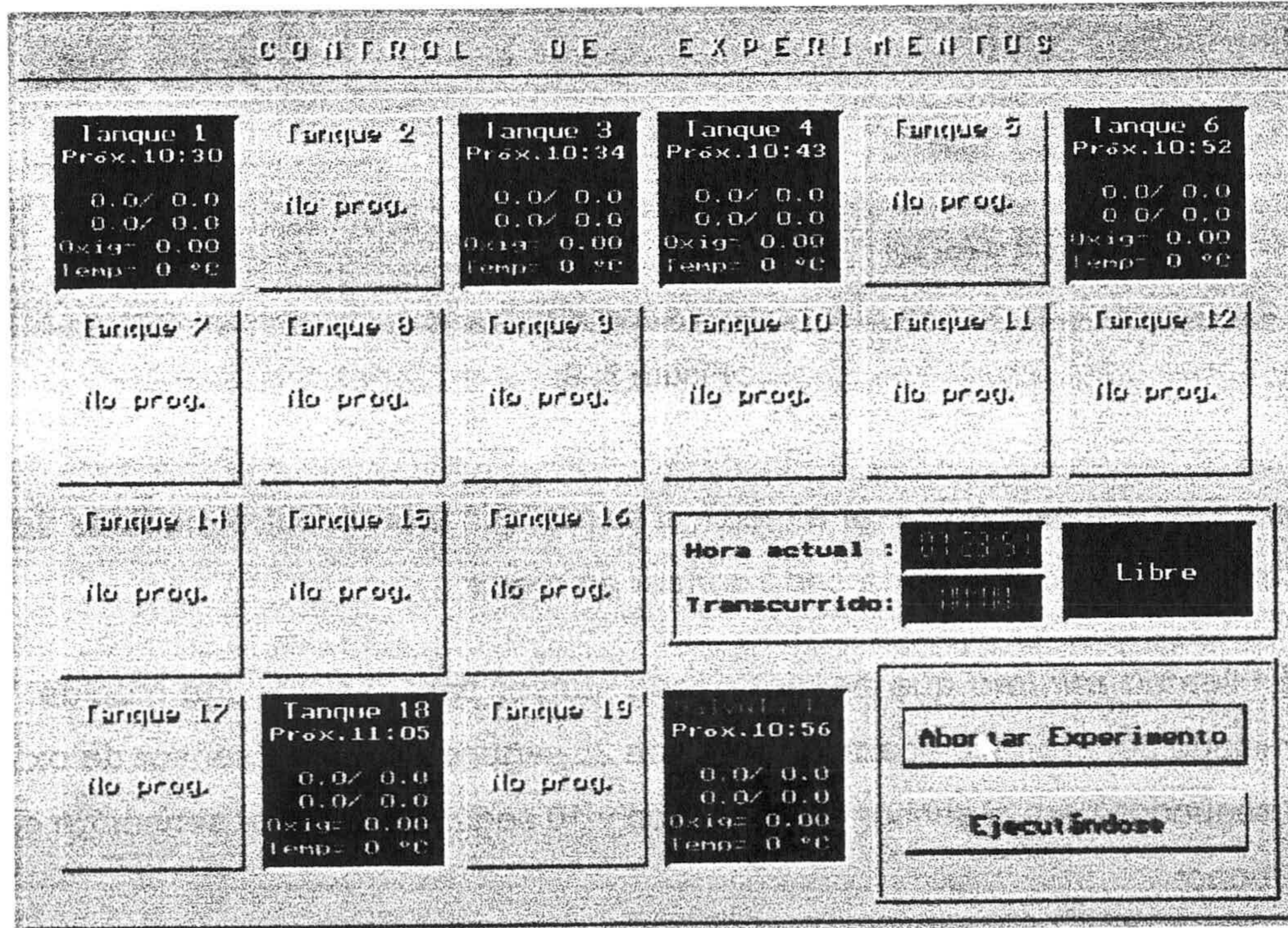


Figura 3 - 10

momento se está midiendo una muestra.



A la derecha de la pantalla de la figura 3 -10, aparece un reloj que refleja la hora actual y el tiempo que ha transcurrido desde el inicio del experimento.

Una vez que el programa está en marcha puede quedar protegido mediante una palabra clave que impide el acceso desde el teclado.

### Programación de tiempos en un ciclo de medidas

Hemos realizado dos versiones del programa, con el fin de dar más versatilidad a los experimentos. Con la 1ª versión se puede medir oxígeno, amoníaco y dióxido de carbono conjuntamente; los tiempos de medida que deben asignarse a cada sensor son:

- 25 s para O<sub>2</sub>
- 25 s para NH<sub>3</sub> y CO<sub>2</sub>

Con la 2ª versión del programa, se puede medir oxígeno y amoníaco u oxígeno y dióxido de carbono; los tiempos que deben asignarse son:

- 25 s para O<sub>2</sub> y 10 s para NH<sub>3</sub>
- 25 s para O<sub>2</sub> y 10 s para CO<sub>2</sub>

A continuación vamos a exponer como se programa un hipotético ciclo de medidas para las cubas 1, 2, 3 y 8 con la 1ª versión del programa.

Primero se define el tiempo de apertura de válvula, que en este caso concreto es de 160 s y también decidimos que se realicen 4 medidas de cada parámetro. Como ya se ha explicado el tiempo de medida de cada sensor lo determina el propio aparato (25 s para oxígeno y 25 s para amoníaco y dióxido de carbono); de este modo nos queda:

160 s : periodo inicial de demora para garantizar la renovación del agua en la cubeta de los sensores

$25 \times 4 = 100$  s para medir oxígeno

$25 \times 4 = 100$  s para medir amoníaco y dióxido de carbono

Tiempo total =  $(25 \times 4) + (25 \times 4) + 160 = 360$  s = 6 minutos, pero como participan 4 cubas debemos programar **repetir cada 24 minutos**



**Esquema temporal del ciclo de medidas**

*Tiempo total de medida de la cuba 1 = 360 s = 6 min (en este caso)*

<i>Tiempo de apertura de válvula: cuba 1</i>		<i>1ª medida</i>		<i>2ª medida</i>		<i>3ª medida</i>		<i>4ª medida</i>	
160 s (en este caso)		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>	
		CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
C1	tiempo ≥ 120 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s

*Tiempo total de medida de la cuba 2 = 360 s = 6 min (en este caso)*

<i>Tiempo de apertura de válvula: cuba 2</i>		<i>1ª medida</i>		<i>2ª medida</i>		<i>3ª medida</i>		<i>4ª medida</i>	
160 s (en este caso)		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>	
		CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
C2	tiempo ≥ 120 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s

*Tiempo total de medida de la cuba 3 = 360 s = 6 min (en este caso)*

<i>Tiempo de apertura de válvula: cuba 3</i>		<i>1ª medida</i>		<i>2ª medida</i>		<i>3ª medida</i>		<i>4ª medida</i>	
160 s (en este caso)		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>	
		CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
C3	tiempo ≥ 120 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s

*Tiempo total de medida de la cuba 8 = 360 s = 6 min (en este caso)*

<i>Tiempo de apertura de válvula: cuba 8</i>		<i>1ª medida</i>		<i>2ª medida</i>		<i>3ª medida</i>		<i>4ª medida</i>	
160 s (en este caso)		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>		NH <sub>3</sub>	
		CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
C8	tiempo ≥ 120 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s	25 s

El tiempo total del ciclo de medida en este caso es de 6 x 4 = 24 minutos.



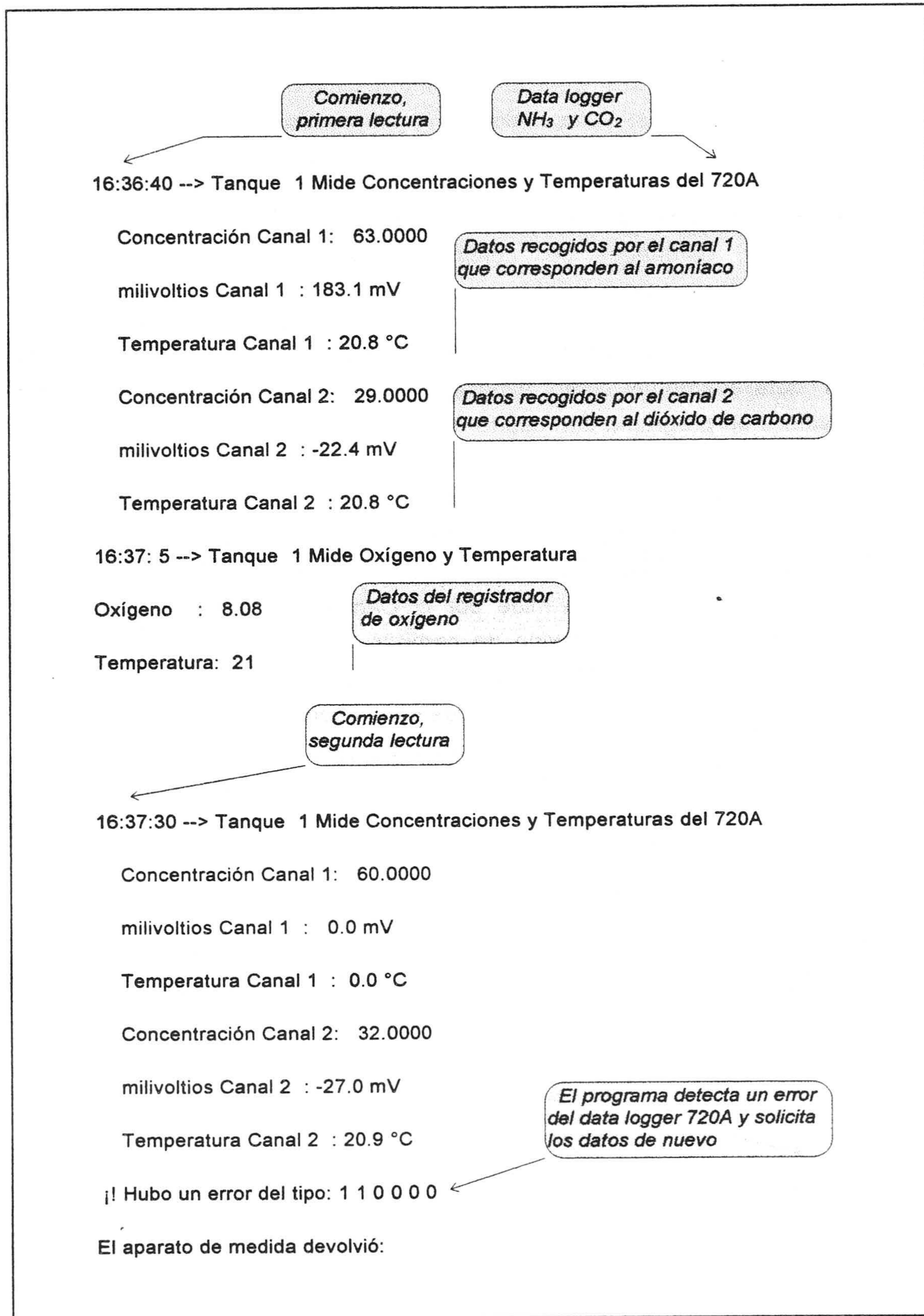
El programa ICTIOS genera dos tipos de fichero de salida:

- con extensión **.tra**. Contienen la información de cada medida con sus fases y tiempos. Su cometido es registrar todo lo acaecido durante un programa, para su posterior estudio si fuera necesario.
- con extensión **.med**. Contienen todos los datos obtenidos de los data-logger, ordenados por columnas con un formato importable a programas convencionales para su posterior análisis.

A continuación presentamos un fragmento del fichero de extensión **.tra** para ver detalladamente como almacena la información. Dicho fragmento corresponde a un programa con cuatro cubas. La secuencia de las ordenes es abrir electroválvula y activar las bombas antes de empezar a medir; en este caso se puede ver como se ha programado un **tiempo de apertura de válvula** de 160 segundos antes de empezar a medir por el Canal 1 la señal eléctrica (mV) originada por el sensor de amoníaco y la correspondiente concentración calculada ( $\mu\text{g/l}$ ), seguidamente mide por el Canal 2 la señal eléctrica (mV) originada por el sensor de dióxido de carbono y la concentración calculada (mg/l) y por último el oxígeno disuelto (mg/l). En los apéndices C y D se pueden ver las curvas que relacionan los mV leídos con la concentración. Puede ocurrir que se produzca un fallo de comunicación entre sensor y ordenador, en estos casos se procede a una nueva petición de los datos.

```
*****  
  
TANQUE N° 1  
  
*****  
  
Comienzo, apertura  
de válvula  
↙  
16:34: 0 --> Tanque 1 Abre Válvula  
  
16:34: 0 --> Tanque 1 (Bomba 1 (succión) sigue funcionando)  
  
16:34: 0 --> Tanque 1 (Bomba 2 (reactivo) sigue funcionando)
```







Por el canal 1:

pr

CH-1

CONC =60.

185.5mV 20.9C

Por el canal 2:

pr

CH-2

CONC =32.

-27.0mV 20.9C

22:55 03-18-90

16:37:55 --> Tanque 1 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.13

*Comienzo,  
tercera lectura*

Temperatura: 21

16:38:20 --> Tanque 1 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 63.0000

milivoltios Canal 1 : 183.2 mV

Temperatura Canal 1 : 20.9 °C

Concentración Canal 2: 28.0000

milivoltios Canal 2 : -25.9 mV

Temperatura Canal 2 : 21.0 °C

16:38:45 --> Tanque 1 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.05

Temperatura: 21



Comienzo,  
cuarta lectura

16:39:10 --> Tanque 1 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 58.0000

milivoltios Canal 1 : 184.7 mV

Temperatura Canal 1 : 21.0 °C

Concentración Canal 2: 31.0000

milivoltios Canal 2 : -22.3 mV

Temperatura Canal 2 : 21.1 °C

16:39:35 --> Tanque 1 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.09

Temperatura: 21

Final de un ciclo de  
medidas en el tanque 1

16:40: 0 --> Tanque 1 No se realiza la parada de la Bomba 1 (succión) para evitar microparada.

16:40: 0 --> Tanque 1 No se realiza la parada de la Bomba 2 (reactivo) para evitar microparada.

16:40: 0 --> Tanque 1 Cierra Válvula

Próxima Operación del Tanque 1º a las 16:58 en el minuto de simulación 24

Minutos transcurridos: 6

\*\*\*\*\*

TANQUE N° 2

\*\*\*\*\*

16:40: 0 --> Tanque 2 Abre Válvula

16:40: 0 --> Tanque 2 (Bomba 1 (succión) sigue funcionando)

16:40: 0 --> Tanque 2 (Bomba 2 (reactivo) sigue funcionando)



16:42:40 --> Tanque 2 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 57.0000

milivoltios Canal 1 : 187.0 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C

Concentración Canal 2: 33.0000

milivoltios Canal 2 : -22.3 mV

Temperatura Canal 2 : 20.7 °C

16:43: 5 --> Tanque 2 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.14

Temperatura: 21

16:43:30 --> Tanque 2 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 57.0000

milivoltios Canal 1 : 13.9 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C

Concentración Canal 2: 30.0000

milivoltios Canal 2 : -25.5 mV

Temperatura Canal 2 : 20.7 °C

16:43:55 --> Tanque 2 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.27

Temperatura: 21

16:44:20 --> Tanque 2 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 54.0000

milivoltios Canal 1 : 187.8 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C



Concentración Canal 2: 31.0000

milivoltios Canal 2 : -24.7 mV

Temperatura Canal 2 : 20.8 °C

16:44:45 --> Tanque 2 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.95

Temperatura: 21

16:45:10 --> Tanque 2 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 57.0000

milivoltios Canal 1 : 186.9 mV

Temperatura Canal 1 : 20.8 °C

Concentración Canal 2: 30.0000

milivoltios Canal 2 : -18.2 mV

Temperatura Canal 2 : 20.8 °C

16:45:35 --> Tanque 2 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.69

Temperatura: 21

16:46: 0 --> Tanque 2 No se realiza la parada de la Bomba 1 (succión) para evitar microparada.

16:46: 0 --> Tanque 2 No se realiza la parada de la Bomba 2 (reactivo) para evitar microparada.

16:46: 0 --> Tanque 2 Cierra Válvula

Próxima Operación del Tanque 2º a las 17: 4 en el minuto de simulación 30

Minutos transcurridos: 12



\*\*\*\*\*

TANQUE N° 3

\*\*\*\*\*

16:46: 0 --> Tanque 3 Abre Válvula

16:46: 0 --> Tanque 3 (Bomba 1 (succión) sigue funcionando)

16:46: 0 --> Tanque 3 (Bomba 2 (reactivo) sigue funcionando)

16:48:40 --> Tanque 3 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 54.0000

milivoltios Canal 1 : 184.8 mV

Temperatura Canal 1 : 20.6 °C

Concentración Canal 2: 38.0000

milivoltios Canal 2 : -24.4 mV

Temperatura Canal 2 : 20.6 °C

16:49: 5 --> Tanque 3 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.16

Temperatura: 21

16:49:30 --> Tanque 3 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 51.0000

milivoltios Canal 1 : 185.5 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C

Concentración Canal 2: 28.0000

milivoltios Canal 2 : -14.0 mV

Temperatura Canal 2 : 20.7 °C



16:49:55 --> Tanque 3 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.08

Temperatura: 21

16:50:20 --> Tanque 3 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 52.0000

milivoltios Canal 1 : 188.5 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C

Concentración Canal 2: 33.0000

milivoltios Canal 2 : -19.9 mV

Temperatura Canal 2 : 20.8 °C

16:50:45 --> Tanque 3 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.08

Temperatura: 21

16:51:10 --> Tanque 3 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 49.0000

milivoltios Canal 1 : 187.4 mV

Temperatura Canal 1 : 20.9 °C

Concentración Canal 2: 27.0000

milivoltios Canal 2 : -23.2 mV

Temperatura Canal 2 : 20.9 °C

16:51:35 --> Tanque 3 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 8.08

Temperatura: 21



16:52: 0 --> Tanque 3 No se realiza la parada de la Bomba 1 (succión) para evitar microparada.

16:52: 0 --> Tanque 3 No se realiza la parada de la Bomba 2 (reactivo) para evitar microparada.

16:52: 0 --> Tanque 3 Cierra Válvula

Próxima Operación del Tanque 3º a las 17:10 en el minuto de simulación 36

Minutos transcurridos: 18

\*\*\*\*\*

#### TANQUE N° 8

\*\*\*\*\*

16:52: 0 --> Tanque 8 Abre Válvula

16:52: 0 --> Tanque 8 (Bomba 1 (succión) sigue funcionando)

16:52: 0 --> Tanque 8 (Bomba 2 (reactivo) sigue funcionando)

16:54:40 --> Tanque 8 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 49.0000

milivoltios Canal 1 : 190.0 mV

Temperatura Canal 1 : 20.7 °C

Concentración Canal 2: 30.0000

milivoltios Canal 2 : -25.1 mV

Temperatura Canal 2 : 20.7 °C

16:55: 5 --> Tanque 8 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.34

Temperatura: 21



16:55:30 --> Tanque 8 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 48.0000

milivoltios Canal 1 : 189.4 mV

Temperatura Canal 1 : 20.8 °C

Concentración Canal 2: 31.0000

milivoltios Canal 2 : -21.2 mV

Temperatura Canal 2 : 20.8 °C

16:55:55 --> Tanque 8 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.36

Temperatura: 21

16:56:20 --> Tanque 8 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 52.0000

milivoltios Canal 1 : 186.8 mV

Temperatura Canal 1 : 20.9 °C

Concentración Canal 2: 28.0000

milivoltios Canal 2 : -25.0 mV

Temperatura Canal 2 : 20.9 °C

16:56:45 --> Tanque 8 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.30

Temperatura: 21

16:57:10 --> Tanque 8 Mide Concentraciones y Temperaturas del 720A

Concentración Canal 1: 51.0000

milivoltios Canal 1 : 188.7 mV



Temperatura Canal 1 : 21.0 °C

Concentración Canal 2: 34.0000

milivoltios Canal 2 : -21.0 mV

Temperatura Canal 2 : 21.0 °C

16:57:35 --> Tanque 8 Mide Oxígeno y Temperatura

Oxígeno : 7.29

Temperatura: 21

16:58: 0 --> Tanque 8 No se realiza la parada de la Bomba 1 (succión) para evitar microparada.

16:58: 0 --> Tanque 8 No se realiza la parada de la Bomba 2 (reactivo) para evitar microparada.

16:58: 0 --> Tanque 8 Cierra Válvula

Próxima Operación del Tanque 8º a las 17:16 en el minuto de simulación 42

Minutos transcurridos: 24

A continuación se muestra la parte del archivo con extensión **.med** que se corresponde con el fragmento del fichero con extensión **.tra** arriba expuesto. Este fichero recoge las medidas de las cuatro cubas que completan un ciclo que dura 6 min.x 4 cubas = 24 minutos/ciclo. La información sale en líneas horizontales con los datos *delimitados por punto y coma*. El orden en que aparece la información es, de izquierda a derecha: número de tanque o cuba, hora, concentración de amoníaco, mV, temperatura, concentración de dióxido de carbono, mV, temperatura, concentración de oxígeno y temperatura, en total



diez datos por línea. Como se ha explicado anteriormente se realizan cuatro medidas por cuba, lo que supone un total de 4 medidas x 4 cubas =16 medidas en este caso; en total 160 datos por ciclo. En un programa de 24 horas con ciclos de 24 minutos, se producen un total de 60 ciclos completos de medida, lo que equivale a la respetable cifra de 60 x 160 = 9600 datos diarios (para este caso concreto).

```
.....  
.....  
1; 16:36:40; 63.0000;183.1;20.8; 29.0000;-22.4;20.8; 8.08; 21  
1; 16:37:30; 60.0000; 0.0; 0.0; 32.0000; -27.0;20.9; 8.13;21  
1; 16:38:20; 63.0000;183.2;20.9; 28.0000;-25.9;21.0; 8.05; 21  
1; 16:39:10; 58.0000;184.7;21.0; 31.0000;-22.3;21.1; 8.09; 21  
2; 16:42:40; 57.0000;187.0;20.7; 33.0000;-22.3;20.7; 7.14; 21  
2; 16:43:30; 57.0000;13.9;20.7; 30.0000;-25.5;20.7; 8.27; 21  
2; 16:44:20; 54.0000;187.8;20.7; 31.0000;-24.7;20.8; 7.95; 21  
2; 16:45:10; 57.0000;186.9;20.8; 30.0000;-18.2;20.8; 7.69; 21  
3; 16:48:40; 54.0000;184.8;20.6; 38.0000;-24.4;20.6; 8.16; 21  
3; 16:49:30; 51.0000;185.5;20.7; 28.0000;-14.0;20.7; 8.08; 21  
3; 16:50:20; 52.0000;188.5;20.7; 33.0000;-19.9;20.8; 8.08; 21  
3; 16:51:10; 49.0000;187.4;20.9; 27.0000;-23.2;20.9; 8.08; 21  
8; 16:54:40; 49.0000;190.0;20.7; 30.0000;-25.1;20.7; 7.34; 21  
8; 16:55:30; 48.0000;189.4;20.8; 31.0000;-21.2;20.8; 7.36; 21  
8; 16:56:20; 52.0000;186.8;20.9; 28.0000;-25.0;20.9; 7.30; 21  
8; 16:57:10; 51.0000;188.7;21.0; 34.0000;-21.0;21.0; 7.29; 21  
.....  
.....
```



## 3.1.5 TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

En una hoja de cálculo, que en nuestro caso es Microsoft Excel 5.0, se abre el fichero de extensión **.med**. Esta hoja tiene un **asistente** para importación de ficheros de texto que interroga al usuario acerca del tipo de delimitador de datos; es un fichero DOS *delimitado por puntos y comas*.

Concluida esta operación el fragmento anterior **.med** tiene el siguiente aspecto:

1	16:36:40	63	183.1	20.8	29	-22.4	20.8	8.08	21
1	16:37:30	60	0	0	32	-27	20.9	8.13	21
1	16:38:20	63	183.2	20.9	28	-25.9	21	8.05	21
1	16:39:10	58	184.7	21	31	-22.3	21.1	8.09	21
2	16:42:40	57	187	20.7	33	-22.3	20.7	7.14	21
2	16:43:30	57	13.9	20.7	30	-25.5	20.7	8.27	21
2	16:44:20	54	187.8	20.7	31	-24.7	20.8	7.95	21
2	16:45:10	57	186.9	20.8	30	-18.2	20.8	7.69	21
3	16:48:40	54	184.8	20.6	38	-24.4	20.6	8.16	21
3	16:49:30	51	185.5	20.7	28	-14	20.7	8.08	21
3	16:50:20	52	188.5	20.7	33	-19.9	20.8	8.08	21
3	16:51:10	49	187.4	20.9	27	-23.2	20.9	8.08	21
8	16:54:40	49	190.0	20.7	30	-25.1	20.7	7.34	21
8	16:55:30	48	189.4	20.8	31	-21.2	20.8	7.36	21
8	16:56:20	52	186.8	20.9	28	-25.0	20.9	7.30	21
8	16:57:10	51	188.7	21.0	34	-21.0	21.0	7.29	21



El siguiente paso es calcular las medias de los cuatro valores de cada cuba y adoptar este valor como el representativo. Como ejemplo, el valor medio de oxígeno disuelto en la cuba 1 vendría dado por:  $(8.08 + 8.13 + 8.05 + 8.09)/4 = 8.09$  ppm, lo mismo habría que hacer con el amoníaco y el dióxido de carbono.

Naturalmente esta operación es fácil de realizar en una hoja de cálculo cuando se trata de unos pocos datos, pero hay que tener en cuenta que un fichero típico de 24 horas consta de muchos datos, dependiendo del número de cubas programadas (9600 datos en el caso de *sólo cuatro cubas*), razón por la cual debemos emplear procedimientos más eficientes y rápidos. Con este propósito hemos realizado un programa de hoja de cálculo (Macro) que nos permite insertar columnas para sacar las medias automáticamente.

```
' peces3 Macro

' Para poner cabeceras, insertar columnas para las medias y sacar medias.

Sub peces3()

    Range("A1").Select

    Selection.EntireRow.Insert

    Range("A1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "Cuba"

    Range("B1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "Hora"

    Range("C1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "Ca"

    Range("D1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "mVa"

    Range("E1").Select
```



```
ActiveCell.FormulaR1C1 = "ta"

Range("F1").Select

ActiveCell.FormulaR1C1 = "Cd"

Range("G1").Select

ActiveCell.FormulaR1C1 = "mVd"

Range("H1").Select

ActiveCell.FormulaR1C1 = "td"

Range("I1").Select

ActiveCell.FormulaR1C1 = "Co"

Range("J1").Select

ActiveCell.FormulaR1C1 = "to"

Columns("D:D").Select

Selection.Insert Shift:=xlToRight

ActiveCell.FormulaR1C1 = "mCa"

Range("A1").Select

ActiveCell.Offset(4, 2).Range("A1").Select

Do While Not ActiveCell = ""

    ActiveCell.Offset(0, 1).Range("A1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "=AVERAGE(R[-3]C[-1]:RC[-1])"

    Selection.NumberFormat = "0.00"

    ActiveCell.Offset(4, -1).Range("A1").Select

Loop

Columns("H:H").Select

Selection.Insert Shift:=xlToRight

ActiveCell.FormulaR1C1 = "mCd"
```



```
Range("A1").Select

ActiveCell.Offset(4, 6).Range("A1").Select

Do While Not ActiveCell = ""

    ActiveCell.Offset(0, 1).Range("A1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "=AVERAGE(R[-3]C[-1]:RC[-1])"

    Selection.NumberFormat = "0.00"

    ActiveCell.Offset(4, -1).Range("A1").Select

Loop

Columns("L:L").Select

Selection.Insert Shift:=xlToRight

ActiveCell.FormulaR1C1 = "mCo"

Range("A1").Select

ActiveCell.Offset(4, 10).Range("A1").Select

Do While Not ActiveCell = ""

    ActiveCell.Offset(0, 1).Range("A1").Select

    ActiveCell.FormulaR1C1 = "=AVERAGE(R[-3]C[-1]:RC[-1])"

    Selection.NumberFormat = "0.00"

    ActiveCell.Offset(4, -1).Range("A1").Select

Loop

Range("A1").Select

Selection.CurrentRegion.Select

Selection.AutoFormat Format:=xlSimple, Number:=True, Font:=True, _

    Alignment:=True, Border:=True, Pattern:=True, Width:=True

Range("A1").Select

End Sub
```



Este programa está incluido en un fichero de hoja (macro), que aplicado al fichero **.med** una vez cargado en la hoja de cálculo lo transforma en uno nuevo que tiene cabeceras para las columnas, inserta tres columnas donde calcula y escribe los valores medios de las cubas en cada medida. El fragmento anterior tendría el siguiente aspecto:

Cuba	Hora	Ca	mCa	mVa	ta	Cd	mCd	mVd	td	Co	mCo	to
1	16:36:40	63		183.1	20.8	29		-22.4	20.8	8.08		21
1	16:37:30	60		0	0	32		-27	20.9	8.13		21
1	16:38:20	63		183.2	20.9	28		-25.9	21	8.05		21
1	16:39:10	58	61.00	184.7	21	31	30.00	-22.3	21.1	8.09	8.09	21
2	16:42:40	57		187	20.7	33		-22.3	20.7	7.14		21
2	16:43:30	57		13.9	20.7	30		-25.5	20.7	8.27		21
2	16:44:20	54		187.8	20.7	31		-24.7	20.8	7.95		21
2	16:45:10	57	56.25	186.9	20.8	30	31.00	-18.2	20.8	7.69	7.76	21
3	16:48:40	54		184.8	20.6	38		-24.4	20.6	8.16		21
3	16:49:30	51		185.5	20.7	28		-14	20.7	8.08		21
3	16:50:20	52		188.5	20.7	33		-19.9	20.8	8.08		21
3	16:51:10	49	51.50	187.4	20.9	27	31.50	-23.2	20.9	8.08	8.10	21
8	16:54:40	49		190.0	20.7	30		-25.1	20.7	7.34		21
8	16:55:30	48		189.4	20.8	31		-21.2	20.8	7.36		21
8	16:56:20	52		186.8	20.9	28		-25.0	20.9	7.30		21
8	16:57:10	51	50.00	188.7	21.0	34	30.75	-21.0	21.0	7.29	7.32	21

Ca = concentración de amoníaco  
mCa = valor medio de cuatro medidas de amoníaco  
mVa = señal del electrodo de amoníaco (mV)  
ta = temperatura ( que envía el data logger 720 A)  
Cd = concentración de dióxido de carbono  
mCd = valor medio de cuatro medidas de dióxido de carbono  
td = temperatura (que envía el data logger 720 A)  
mVd = señal del electrodo de dióxido de carbono (mV)  
Co = concentración de oxígeno  
mCo = valor medio de cuatro medidas de oxígeno  
to = temperatura (que envía el data logge Royce)

Después de calcular los valores medios de las cuatro medidas de cada cuba, se activa *datos - filtros - filtro automático* y, en cualquiera de la columnas donde están las medias, se seleccionan las celdas no vacías con el siguiente resultado:



Cuba	Hora	Ca	mCa	mVa	ta	Cd	mCd	mVd	td	Co	mCo	to
1	16:39:10	58	61.00	184.7	21	31	30.00	-22.3	21.1	8.09	8.09	21
2	16:45:10	57	56.25	186.9	20.8	30	31.00	-18.2	20.8	7.69	7.76	21
3	16:51:10	49	51.50	187.4	20.9	27	31.50	-23.2	20.9	8.08	8.10	21
8	16:57:10	51	50.00	188.7	21.0	34	30.75	-21.0	21.0	7.29	7.32	21

La selección de los datos de una misma cuba, se realiza también con el filtrado automático. Posteriormente se copian todos los datos de la cuba blanco y la cuba problema en sendas columnas de una hoja de trabajo para procesarlos.

El resultado final es el que podemos ver en este modelo elegido al azar y cuyos cálculos se exponen a continuación:

- Cuba blanco: Son los datos trasladados desde el archivo **.med**. Cada uno de estos datos es la media de cuatro medidas consecutivas de oxígeno ( $\text{mg l}^{-1}$ ).
- Cuba 3: Son los datos trasladados desde el archivo **.med**. Cada uno de estos datos es la media de cuatro medidas consecutivas de oxígeno ( $\text{mg l}^{-1}$ ).
- Columna ( $\text{mg h}^{-1}$ ) = [ C. Blanco ( $\text{mg O}_2 \text{l}^{-1}$ ) - Cuba 3 ( $\text{mg O}_2 \text{l}^{-1}$ ) ] Flujo ( $\text{l h}^{-1}$ ).
- Columna ( $\text{mg h}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ) = 
$$\frac{(C.\text{blanco}(\text{mgO}_2\text{l}^{-1}) - \text{Cuba3}(\text{mgO}_2\text{l}^{-1})) \text{ Flujo}(\text{lh}^{-1})}{\text{peso medio}(\text{kg}) \text{ n}^\circ \text{ peces}}$$
- Columna ( $\text{mg h}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ ) = 
$$\frac{(C.\text{blanco}(\text{mgO}_2\text{l}^{-1}) - \text{Cuba3}(\text{mgO}_2\text{l}^{-1})) \text{ Flujo}(\text{lh}^{-1})}{MW (\text{kg}^{0.8})}$$

donde: MW (peso metabólico,  $\text{kg}^{0.8}$ ) = (peso medio de los peces, en  $\text{kg}$ )<sup>0.8</sup> . número de peces

Finalmente los datos correspondientes a cada cuba se agrupan en una hoja de cálculo con las de las otras réplicas correspondientes a ese tratamiento, resultando las hojas finales que se muestran en el apartado de *Verificación del sistema* (sección 3.2).



Fecha:	19-jun-97	Temperatura (°C)	21
Especie:	Carassius auratus	Flujo (l/h)	150
Condiciones:	adaptados al ciclo día-noche	Nº de peces	10
Alimentación:	0.33 % del peso	Peso medio (g)	87.8
Dieta:	21% grasa, 45% proteína, 6.5% humedad	Exponente del peso	0.8
Hora de comida:	10h	MW (kg <sup>0.8</sup> )	1.428
Saturación O <sub>2</sub> (%):	93 Blanco		
Saturación O <sub>2</sub> (%):	82 Cuba 3		

Hora	Cuba blanco	Cuba 3	mg h <sup>-1</sup>	Consumo de Oxígeno	
	O <sub>2</sub> (ppm)	O <sub>2</sub> (ppm)		mg h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>	mg h <sup>-1</sup> kg <sup>0.8</sup>
<b>V. medios</b>	<b>7.71</b>	<b>6.74</b>	<b>144.88</b>	<b>165.01</b>	<b>101.44</b>
0:00	7.65	6.82	123.75	140.95	86.65
0:30	7.66	6.83	124.13	141.37	86.91
1:00	7.65	6.80	126.75	144.36	88.75
1:30	7.64	6.83	120.75	137.53	84.55
2:00	7.66	6.82	126.00	143.51	88.22
2:30	7.65	6.84	121.13	137.96	84.81
3:00	7.68	6.83	127.88	145.64	89.53
3:30	7.67	6.83	125.63	143.08	87.96
4:00	7.68	6.82	129.00	146.92	90.32
4:30	7.66	6.84	123.00	140.09	86.12
5:00	7.64	6.84	120.00	136.67	84.02
5:30	7.64	6.83	121.50	138.38	85.07
6:00	7.65	6.84	121.88	138.81	85.33
6:30	7.70	6.79	135.75	154.61	95.05
7:00	7.69	6.80	133.50	152.05	93.47
7:30	7.71	6.71	148.88	169.56	104.24
8:00	7.68	6.72	144.00	164.01	100.82
8:30	7.69	6.70	147.38	167.85	103.19
9:00	7.68	6.72	143.63	163.58	100.56
9:30	7.61	6.68	139.13	158.46	97.41
10:00	7.74	6.69	157.88	179.81	110.54
10:30	7.71	6.66	156.75	178.53	109.75
11:00	7.76	6.57	177.38	202.02	124.19
11:30	7.72	6.52	179.63	204.58	125.77
12:00	7.73	6.43	194.63	221.67	136.27
12:30	7.72	6.47	187.88	213.98	131.54
13:00	7.71	6.47	186.00	211.85	130.23
13:30	7.72	6.50	182.63	208.00	127.87
14:00	7.73	6.55	177.38	202.02	124.19
14:30	7.72	6.58	170.63	194.33	119.47
15:00	7.76	6.60	174.00	198.18	121.83
15:30	7.72	6.63	162.75	185.36	113.95
16:00	7.79	6.68	165.75	188.78	116.05
16:30	7.76	6.72	155.63	177.25	108.96
17:00	7.77	6.75	153.75	175.11	107.65
17:30	7.78	6.71	160.88	183.23	112.64
18:00	7.82	6.76	158.25	180.24	110.80
18:30	7.80	6.78	153.00	174.26	107.13
19:00	7.74	6.77	144.75	164.86	101.35
19:30	7.75	6.82	139.50	158.88	97.67
20:00	7.73	6.84	133.88	152.48	93.74
20:30	7.74	6.87	130.88	149.06	91.63
21:00	7.75	6.88	129.75	147.78	90.85
21:30	7.74	6.89	127.88	145.64	89.53
22:00	7.72	6.87	127.13	144.79	89.01
22:30	7.78	6.89	132.75	151.20	92.95
23:00	7.71	6.89	123.38	140.52	86.38
23:30	7.74	6.87	129.75	147.78	90.85
24:00	7.71	6.90	121.13	137.96	84.81



### VALORACIÓN

*La instalación aquí presentada de cámaras de respirometría para realizar estudios de metabolismo energético en peces por calorimetría indirecta, ofrece una serie de ventajas si la comparamos con otras instalaciones recientes y descritas en el capítulo de Revisión Bibliográfica. Dichas ventajas se podrían resumir en los siguientes puntos:*

- El sistema está diseñado para medir al mismo tiempo todos los componentes del balance energético. Asimismo, incorpora la posibilidad de determinar el cociente respiratorio (RQ) y poder saber qué substrato energético está siendo utilizado por el animal.*
- El número y tamaño de las cubas permite trabajar con un gran número de lotes de animales y de pesos diferentes. Esto hace posible que en un mismo ensayo se puedan estudiar numerosas variables y al mismo tiempo poder obtener varios resultados para una misma variable. Podemos programar ensayos "ambiciosos" desde el punto de vista científico y con gran fiabilidad estadística.*
- El sistema permite trabajar opcionalmente con peces de agua dulce y salada.*
- El control de la instalación se ejerce desde el exterior ya que se encuentra en una habitación independiente lo que permite la obtención de los distintos parámetros objeto de estudio sin tener que perturbar a los animales.*
- Opcionalmente, la instalación de circuito cerrado de agua se puede convertir en circuito abierto con sólo instalar un declorador.*
- En los periodos que no se esté trabajando con animales y se desee mantener el filtro biológico activo, se puede independizar la circulación del agua, evitando que pase innecesariamente por el sistema de cubas. Esto permite además la limpieza del sistema (cubas, tuberías, llaves, etc.), necesaria en los intervalos entre los distintos ensayos.*
- Se puede obviar el paso de agua por el filtro de carbono y por el tubo de rayos U.V., para el tratamiento sanitario de los animales sin tener que*



*inactivar los principios activos.*

- *El control automático e informatizado de todo el sistema, permite programar y realizar ensayos durante 45 días sin interrupción, quedando las tareas del investigador reducidas al control normal del sistema, calibración de los sensores cada cierto tiempo y recogida de datos desde el ordenador y/o la impresora.*

*Junto a las ventajas descritas, el sistema adolece de ciertos complementos que son relativamente fáciles de incluir en el mismo desde un punto de vista técnico, siendo los aspectos económicos los que nos han impedido hacerlo por ahora, pero está previsto en un futuro el resolver este impedimento.*

- *Es necesario un sistema de termorregulación del agua más eficaz, que permita trabajar con amplios márgenes de temperatura.*
- *Un sistema de iluminación de los acuarios que simule las longitudes de onda y las intensidades existentes en la naturaleza y su control mediante el programa informático permitirá realizar estudios completos acerca de la influencia de distintas variables del fotoperiodo.*
- *Por último, la instalación de dispensadores automáticos de alimento, controlados por ordenador, es otra posibilidad más a incluir en un futuro más o menos inmediato.*



### 3.2 VERIFICACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DE LAS INSTALACIONES DE CALORIMETRÍA INDIRECTA

El segundo objetivo de la presente tesis doctoral comprende la **verificación de que la instalación diseñada y construida es adecuada para realizar los estudios de metabolismo energético** anteriormente comentados. Numerosas pruebas de tipo físico, químico, informático y biológico, han sido necesarias para ello. La finalización de este trabajo comprende un ensayo biológico con la especie *Carassius auratus*.

La realización del segundo objetivo supuso un alivio para nosotros, pues no dependíamos de personal ajeno para poderlo llevar a cabo, aunque nuestra dicha no duró mucho tiempo cuando comprobamos trabajando con la instalación, que para una efectiva dinámica del sistema era necesaria la adquisición de ciertos complementos (sensores de amoníaco y dióxido de carbono, sistema de termorregulación complementario, etc), ya que estaba previsto en un principio, por ejemplo, determinar el  $\text{NH}_3$  y el  $\text{CO}_2$  por métodos químicos. La ayuda económica de nuestro Grupo de Investigación y del Vicerrectorado de Investigación de esta Universidad, supusieron un "respiro" en estas circunstancias.

#### 3.2.1 DETERMINACIONES PREVIAS

Una vez construida la cámara metabólica y antes de empezar a probarla con animales, hemos tenido que realizar una serie de determinaciones que obviamente no pueden quedar todas recogidas en un trabajo científico, pero que sí han supuesto mucho trabajo. A continuación exponemos algunas de ellas agrupándolas de la siguiente forma:

##### De tipo físico

Comprobación de que los flujos de las cubas se mantenían con el caudal de agua prefijado.

Verificación de la calidad del agua ajustando el sistema de oxigenación para que la saturación del oxígeno en el agua fuera la adecuada.



Comprobación de las conexiones de todas las derivaciones que comunican las cubas con las electroválvulas, por donde transcurre el agua que va a ser analizada, para evitar que se produjeran burbujas de aire en el sistema que alteraran los resultados, fundamentalmente en la determinación del oxígeno.

Determinación del tiempo necesario para que las muestras de agua de cada cuba llegaran hasta las cubetas de medida de los sensores, utilizando sulfato de cobre que tiñe de azul el agua. Ajuste del caudal de agua que se necesitaba hacer llegar hasta las cubetas de medida de los sensores, así como, de las cantidades de tampones ISA, en el caso de los sensores de amoníaco y dióxido de carbono.

Comprobación de que heces y restos de comida se podían recoger adecuadamente en los botes diseñados para este propósito. Ambos procesos se realizan de forma separada utilizando en cada caso, un juego diferente de dichos botes.

#### Químico - biológico

Dimensionamiento y ajuste del filtro mecánico ABS y de carbón activo. Inicialmente el proveedor instaló un sistema de filtración química, que resultó totalmente ineficaz, por lo que se hizo necesario cambiarlo por un sistema biológico. Tuvimos que diseñar su forma y tamaño, así como establecer el número de esferas para la fijación de las bacterias nitrificantes. Comprobamos que las bacterias realizaban su función adecuadamente, realizando sucesivos supuestos de excreción amoniaca mediante vertidos crecientes de cloruro amónico al agua del circuito.

Análisis químicos del agua del circuito mediante la técnica de Azul de Indofenol para el amoníaco y valoración con Titrino SM 702 para el estudio de carbonatos y bicarbonatos; por este método de titración, hemos medido el dióxido de carbono, pero los resultados no se exponen en este trabajo ya que consideramos que esta técnica no es la adecuada para registros continuos.

Calibración y puesta a punto de los sensores y elaboración de tabla de oxígeno disuelto en agua para diferentes presiones y temperaturas. A este respecto, hemos de decir que ha sido el electrodo de oxígeno el que menos problemas nos ha dado, seguido por el amoníaco y éste por el de dióxido de



carbono. Este último tenemos que reconocer que aún nos sigue ofreciendo ciertas dificultades, debido fundamentalmente a la carbonatación del agua de Granada; aunque este problema debe ser bastante común ya que son pocos los trabajos donde se determine el CO<sub>2</sub> excretado por los peces y siempre haciendo múltiples salvedades. Hemos realizado registros continuos con este sensor, que no se exponen en este trabajo por considerarlos poco satisfactorios.

#### De tipo informático

Se tuvieron que realizar bastantes modificaciones del programa informático hasta llegar a las versiones definitivas, aunque éstas son aún mejorables y ampliables como se ha comentado anteriormente.

Se realizaron verificaciones sucesivas del *software*, comprobando que el programa funcionaba adecuadamente tanto en control manual como automático.

Una vez comprobado el funcionamiento del sistema desde el punto de vista técnico y después de haber realizado las correcciones oportunas, el siguiente paso fue la recepción de animales y la demostración de que el sistema podía realizar aquello para lo que estaba diseñado. Adaptamos distintos lotes de truchas y carpines a las cubas, controlamos su ingesta y verificamos que el dispositivo de recogida de heces y filtro biológico funcionaban adecuadamente. Finalmente decidimos realizar el ensayo que comprende el siguiente apartado de esta tesis.

#### 3.2.2 DETERMINACIÓN DE LA TASA METABÓLICA A DIFERENTES TEMPERATURAS Y RACIÓN DE MANTENIMIENTO EN EL CARPÍN DORADO (*Carassius auratus*)

El propósito de nuestros experimentos ha sido la verificación de la cámara metabólica, por lo que era necesario diseñarlos de manera que obtuviéramos resultados estables y repetitivos, para poderlos comparar con los obtenidos por otros autores en situaciones similares.



### 3.2.2.1 INTRODUCCIÓN

Con anterioridad, hemos comentado que la cámara metabólica permite junto con las técnicas analíticas pertinentes determinar todos los componentes de un balance energético en peces, es decir, el reparto de la energía bruta del alimento ingerido (C), a saber: la energía disipada en forma de calor (R), pérdidas energéticas de origen nitrogenada, pérdidas energéticas fecales (F) y producción (P); pero lo que en realidad diferencia a las instalaciones de este tipo con aquellas donde se pueden realizar estudios de nutrición en peces, es la posibilidad de conocer el componente R fundamentalmente y en menor medida U. Es por ello, que para verificar el funcionamiento de la unidad de metabolismo energético, hemos optado por determinar la tasa metabólica y la influencia que sobre ella ejerce la temperatura y las variaciones en la ingesta de alimento en el carpín dorado, sometido a una ración de mantenimiento. Para ello se han realizado registros continuos del consumo de oxígeno y en su caso la excreción nitrogenada, en ciclos de 24 horas. Estos registros se han agrupado en cuatro bloques diferentes para poder analizar detalladamente la tasa metabólica y los parámetros que se han medido.

- Registros de tres días consecutivos, a una temperatura de 21 °C y en régimen de alimentación diaria, para comprobar que el consumo de oxígeno varía según un patrón que se repite.
- Registros continuos del consumo de oxígeno en ciclos de 24 horas con diferentes ingestas y a las temperaturas de 20, 21 y 25 °C.
- Registros continuos del consumo de oxígeno, de tres días consecutivos; el primer día con el régimen normal de alimentación, seguido de dos días de ayuno y a las temperaturas de 20, 21 y 25 °C.
- Registro continuo de la excreción nitrogenada, a una temperatura de 21 °C y en régimen de alimentación.



## 3.2.2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

## • ANIMALES

Para los experimentos hemos utilizado 30 peces de la especie *Carassius auratus*, de pesos similares, distribuidos en tres lotes de 10 peces, cuyo peso medio es  $\approx 88.4$  g/pez.

El peso de los animales se ha controlado al inicio y final de cada periodo experimental, comprobándose que no se han producido cambios significativos en el mismo. Los pesos iniciales y finales de cada lote fueron:

Tabla 3 - 1

	20 °C		21 °C		25 °C	
	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final	Peso inicial	Peso final
Lote 1 (kg)	0.886	0.883	0.882	0.887	0.893	0.894
Lote 2 (kg)	0.887	0.884	0.883	0.889	0.889	0.890
Lote 3 (kg)	0.878	0.882	0.887	0.892	0.909	0.908
Peso medio (kg)	0.884	0.883	0.884	0.889	0.897	0.897
± SD	± 0.005	± 0.001	± 0.003	± 0.003	± 0.011	± 0.009
Peso metabólico medio (kg <sup>0.8</sup> )	1.436	1.435	1.436	1.443	1.453	1.453
± SD	± 0.006	± 0.001	± 0.003	± 0.003	± 0.013	± 0.010

$$\text{peso metabólico, (kg}^{0.8}\text{)} = \sum_{i=1}^n W_i^{0.8} \text{ (W: peso en kg)}$$

se calcula  $\approx$  (número de peces) · (peso medio en kg<sup>0.8</sup>)

## • TEMPERATURA

Los experimentos se han realizado a tres temperaturas (20, 21 y 25 °C), que se han escogido porque casi todas las referencias bibliográficas sobre ciprínidos, citan temperaturas entre 20 y 25 °C fundamentalmente.

Los cambios de la temperatura del agua se han conseguido actuando sobre la termorregulación del aire de las habitaciones 1 y 2 del sistema, a razón de 1 °C cada día para aclimatar a los peces de forma gradual, evitándoles en lo posible el estrés y dándoles tiempo suficiente para que su metabolismo se estabilice en las condiciones deseadas.



- *DURACIÓN DEL PERIODO EXPERIMENTAL*

Los experimentos que finalmente se exponen en esta tesis doctoral tienen una duración de tres meses. El primer mes se empleó en adaptar los peces a las dimensiones de las cubas (50 l), a la temperatura de 20 °C y a la dieta seleccionada. Los dos meses siguientes corresponden al periodo experimental propiamente dicho, que se han repartido de la siguiente forma: una semana a 20 °C, tres a 21 °C, una a 25 °C y el resto se ha dedicado a medir la tasa del metabolismo en ayunas (Rs) al final de cada periodo experimental y a la aclimatación de los animales a los cambios de temperatura.

- *FOTOPERIODO Y FLUJOS*

El fotoperiodo ha sido de 12 horas luz:12 horas oscuridad y se ha controlado con un reloj programable que enciende y apaga la luz automáticamente. Los flujos en las cubas han estado entre 150-200 l/h, dependiendo del ensayo.

- *DIETA Y RÉGIMEN ALIMENTICIO*

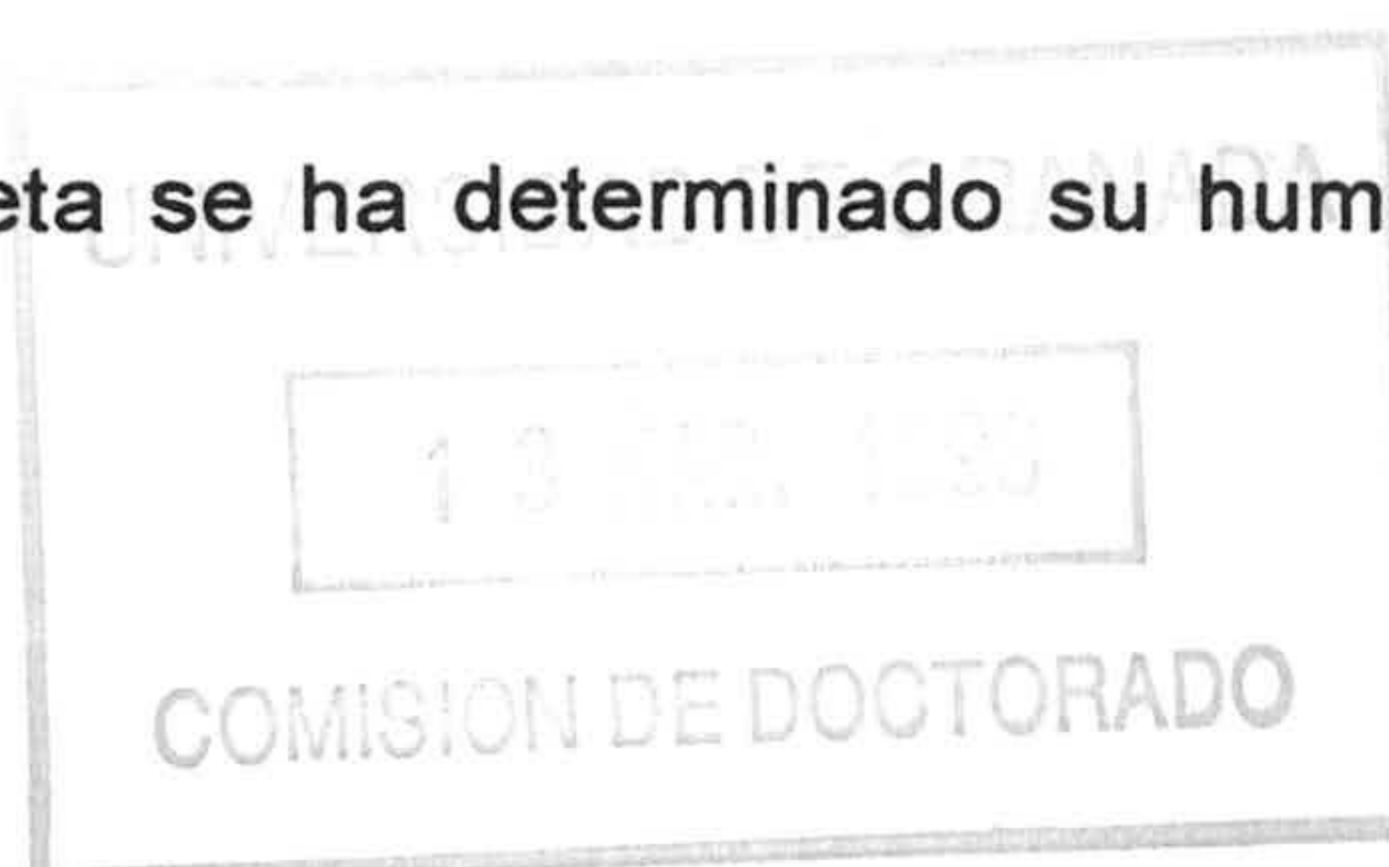
Se ha seleccionado una dieta comercial y se ha analizado su composición en nuestro laboratorio, con los siguientes métodos:

Según el método Kjeldhal, se procedió a la digestión de la proteína con ácido sulfúrico en un digestor NITROJKEL DRA, usando como catalizador de la reacción una mezcla de sulfato potásico, sulfato cúprico y selenio. Tras la digestión se realizó la destilación con hidróxido sódico y el destilado se valoró con ácido clorhídrico en un Tritino SM 702 marca Metrom.

La grasa se ha analizado mediante extracción continua con éter etílico, por el método Soxhlet (BÜCHI 810).

El contenido en cenizas se ha determinado por incineración de muestras en horno mufla a  $500 \pm 5$  °C hasta peso constante.

Para conocer la materia seca de la dieta se ha determinado su humedad por





deseccación en estufa a  $105 \pm 1$  °C hasta peso constante.

El extracto libre de nitrógeno se ha obtenido por diferencia entre 100 y los demás componentes analizados.

El contenido energético de la dieta se ha obtenido, multiplicando las proporciones de proteínas, grasas y carbohidratos por los factores de conversión de 23.64, 39.5 y 17.2 (J mg<sup>-1</sup> substrato) respectivamente.

<b>Análisis de la dieta:</b>	
Materia seca MS (%)	93.6
Proteína :	45.0
Grasa :	21.0
Extracto libre	
de N :	26.9
Ceniza :	7.1
Contenido energético (kJ/g MS): 23.6	

Se ha alimentado a los animales con una ración de mantenimiento, una vez al día entre 10 y 11.30 h a.m. que aceptaron en mayor o menor medida.

La ingesta real de cada lote se ha controlado diariamente, pesándola antes de comer y retirando los restos para por diferencia, calcular lo que realmente han comido los animales.

#### Estimación de la ración de mantenimiento para la dieta seleccionada

Se consideran raciones de mantenimiento para una temperatura de 23 °C, desde un 0.2% a un 0.7% (peso pez/día), dependiendo de la especie y del contenido energético de la dieta (Meyer-Burgdorff, et al. 1989).

Como la dieta seleccionada es bastante energética (21 % de grasa), hemos optado por escoger como nivel máximo de mantenimiento el 0.5 % (peso pez/día), para que no se produjeran alteraciones en el peso de los animales y poder obtener resultados estables y repetitivos en la cámara metabólica.



En nuestro caso esta ingesta máxima equivale, para un peso metabólico medio de  $1.436 \text{ kg}^{0.8}$  y un peso medio de los tres lotes de  $0.884 \text{ kg}$ , a:

- $0.50 \%$  de su peso corporal/día
- $4.2 \text{ g d}^{-1}$
- $5 \text{ g d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$
- $3.1 \text{ g d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}$

La energía bruta de esta ingesta (C) es :  $68.5 \frac{\text{kJ}}{\text{d kg}^{0.8}}$

- *PARÁMETROS MEDIDOS Y COEFICIENTES UTILIZADOS*

**El consumo de oxígeno se calcula de la siguiente manera:**

$$\text{Consumo de O}_2 = (\text{O}_2 \text{ cuba blanco} - \text{O}_2 \text{ cuba problema}) \times \text{flujo}$$

donde:

$\text{O}_2$  de la cuba blanco y  $\text{O}_2$  de la cuba problema en ppm o  $\text{mg litro}^{-1}$ , el flujo en  $\text{litros h}^{-1}$  y el consumo de oxígeno viene dado en  $(\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1})$ .

La tasa de consumo de  $\text{O}_2$  generalmente se expresa por unidad de peso, dividiendo la anterior por el peso del lote, siendo sus unidades  $(\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1})$ , o por unidad de peso metabólico  $(\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-0.8})$ .

**R** es el valor medio de consumo de oxígeno en registros de 24 horas. Se calcula en  $(\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1})$  y  $(\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-0.8})$ .

Para expresar **R** en términos energéticos diarios, se utiliza el valor oxicalórico (**Qox**) de mantenimiento. Las unidades de **R** utilizadas en tal caso son  $(\text{kJ h}^{-1} \text{ kg}^{-1})$  y  $(\text{kJ h}^{-1} \text{ kg}^{-0.8})$ .

Para calcular el **Qox** compuesto se utilizan los calores de combustión de proteínas, grasas y carbohidratos y los coeficientes de la ecuación (2) del modelo de Brafield, descrito en la sección 2.3.2.2.2:



Tabla 3-2 Calores de combustión de proteína, grasa y carbohidrato

	Calores de combustión (J mg <sup>-1</sup> )	Coefficientes (mg O <sub>2</sub> mg <sup>-1</sup> )
Proteínas	19.67	1.4723
Grasas	39.50	2.879
Carbohidratos	17.20	1.1653

de la siguiente forma:

$$Q_{ox} = \frac{R}{O_2} = \frac{17.20C + 39.5G + 19.67P}{1.1653C + 2.8790G + 1.4723P}$$

donde C:G:P son las proporciones de carbohidratos, grasas y proteínas que se oxidan. Asumiendo que estos substratos se oxidan en la misma proporción en que se encuentra en la dieta (1.29:1:2.14), se obtiene un Qox para mantenimiento cuyo valor es 13.78 J mg<sup>-1</sup>

Se ha escogido un Qox compuesto para ayuno de 13.65 J mg<sup>-1</sup>, que es el apropiado para una proporción grasa:proteína de 2:1, valores típicos al principio de un ayuno y que corresponden a un cociente amoniacal (AQ) de 0.025 (mg NH<sub>3</sub> /mg O<sub>2</sub>); este valor se ha calculado a partir de la excreción amoniacal de 1.67 (mg NH<sub>3</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>) a 20 °C en *Carassius auratus* (Van den Thillart, 1986). Brett y Groves (1979), recomiendan para un ayuno prolongado 13.56 J mg<sup>-1</sup>, apropiado para una relación grasa:proteína de 2:3.

**Restáandar (Rs)** es el valor medio estable a la temperatura dada después de 48 horas de ayuno. Se calcula en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) y (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>).

Para expresar Rs en términos energéticos diarios, se utiliza el valor oxicalórico (Qox) de ayuno. Las unidades de Rs utilizadas en tal caso son (kJ h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) y (kJ h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>).

**Rreposito (Rr)** es el valor medio nocturno de consumo de oxígeno. Se calcula en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>) y (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>).

Para expresar Rr en términos energéticos diarios, se utiliza el valor oxicalórico (Qox) de mantenimiento. Las unidades de Rr utilizadas en tal caso



son ( $\text{kJ h}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ) y ( $\text{kJ h}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ ).

$R_{\text{pico}}$  es el valor máximo de consumo de  $\text{O}_2$  durante el periodo de SDA. Se calcula en ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ) y ( $\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ ).

**Hora del pico** es el momento en que aparece  $R_{\text{pico}}$

**C** es el contenido energético de la ración. Se calcula:

$$C = \text{ingesta} \times 0.936 \times 23.6$$

donde : ingesta en  $\frac{g}{d \text{ kg}^{0.8}}$  o  $\frac{g}{d \text{ kg}}$

0.936: es el tanto por uno de la materia seca

23.6: es el contenido energético de la dieta ( $\text{kJ g}^{-1} \text{MS}$ )

**SDA** es el consumo de  $\text{O}_2$  debido a la alimentación por encima de  $R_s$ , que expresado por día, se conoce como magnitud del SDA, que gráficamente es el área comprendida entre  $R$  y  $R_s$  en 24 horas (entre la comida de un día y la del día siguiente), excluido el aumento de la actividad que se produce desde al amanecer hasta la hora de la comida y que algunos autores separan como la tasa de prealimentación (Guinea y Fernández, 1997). Se calcula por el teorema de la media integral: el área limitada por una curva en un intervalo es igual a la de un rectángulo de base igual al intervalo y de altura la media de los valores de la curva. Para expresarlo en términos energéticos, se utiliza el valor oxalórico ( $Q_{\text{ox}}$ ) de mantenimiento. Las unidades de SDA utilizadas en tal caso son ( $\text{kJ d}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ) y ( $\text{kJ d}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ ). Para calcular la **duración del efecto del SDA** se toma como referencia la línea base de la tasa metabólica de ayuno ( $R_s$ ), medida a continuación del última día de alimentación, que es el tiempo suficiente para que se detengan los procesos digestivos y absorptivos.

La **producción de amoníaco** se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Producción de NH}_3 = (\text{NH}_3 \text{ cuba problema} - \text{NH}_3 \text{ cuba blanco}) \times \text{flujo}$$

donde:

$\text{NH}_3$  de la cuba problema y  $\text{NH}_3$  de la cuba blanco en ppm o  $\text{mg litro}^{-1}$ , el flujo en  $\text{litros h}^{-1}$  y la producción de amoníaco viene dada en ( $\text{mg NH}_3 \text{ h}^{-1}$ ).



La tasa de producción de  $\text{NH}_3$ , generalmente se expresa por unidad de peso, dividiendo la anterior por el peso del lote, siendo sus unidades ( $\text{mg NH}_3 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ ), o por unidad de peso metabólico ( $\text{mg NH}_3 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}$ ).

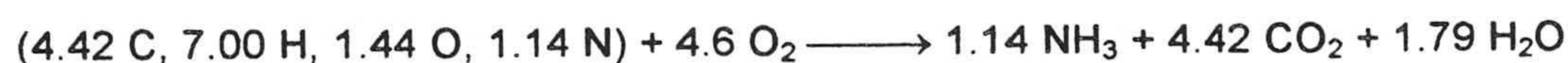
**U** es el contenido energético de la excreción amoniacal y se puede calcular a partir de las medidas directas de amoníaco realizadas con sensor o indirectamente a partir del consumo de oxígeno, por el método de Solomon y Brafield (1972). Se expresa en unidades de ( $\text{kJ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ ) y ( $\text{kJ h}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}$ ) y se calcula:

Método para determinar el contenido energético de **U** a partir del consumo de oxígeno

$$U = R \times 0.42 \times 2.7$$

donde:  $R$  en  $\left( \frac{\text{mg } O_2}{\text{h } \text{kg}^{0.8}} \right)$

En la ecuación (expuesta anteriormente) de la oxidación de 100g de proteína, se producen 1.14 moles de  $\text{NH}_3$ , a los que corresponden 397 kJ por cada 147.2 g (4.6 moles de  $\text{O}_2$ ) de oxígeno consumidos, de manera que se pierden 2.70 J por cada mg  $\text{O}_2$  consumido en la oxidación de proteínas.



$$2.7 = \frac{397}{147.2} \left( \frac{\text{J}}{\text{mg } O_2(\text{proteina})} \right) \text{ que se pierden en la oxidación de 100 g de proteína a amoníaco.}$$

El oxígeno consumido (**R**) se utiliza en la oxidación del substrato proteico de la siguiente forma:

$$0.42 = \frac{1.4723 \text{ P}}{1.1653\text{C} + 2.8790\text{G} + 1.4723\text{P}} \left( \frac{\text{mg } O_2(\text{proteina})}{\text{mg } O_2} \right) \text{ que es la proporción}$$

de oxígeno utilizado en la oxidación de proteínas a amoníaco, asumiendo que proteínas, grasas y carbohidratos se oxidan en la misma proporción en que se encuentran en la dieta (2.14:1:1.29).



Método para determinar el contenido energético de U a partir del amoníaco medido con sensor

Se multiplica la producción de amoníaco por 20.5 ( $J\ mg^{-1}\ NH_3$ ) que se obtiene:

$$20.5 = \frac{397}{19.38} \left( \frac{J}{mgNH_3} \right)$$

aunque hay autores que prefieren realizar este cálculo en ( $kJ\ g^{-1}\ N$ ) (Jobling, 1994; ver sección 2.3.5.2).

**AQ** es la relación entre el amoníaco excretado y el oxígeno consumido. Se calcula:

$$AQ = \frac{NH_3\ (mgNH_3)}{O_2\ (mgO_2)}$$

**U (%)** es el porcentaje de la energía ingerida que se pierde en la excreción amoniacal. Se calcula:

$$U(\%) = \frac{U \times 100}{C}$$

**R (%)** es el porcentaje de la energía ingerida que se utiliza en la tasa metabólica R. Se calcula:

$$R(\%) = \frac{R \times 100}{C}$$

**Rr (%)** es el porcentaje de la energía ingerida que se utiliza en la tasa metabólica de reposo (Rr). Se calcula:

$$R_r(\%) = \frac{R_r \times 100}{C}$$

**SDA (%)** o **SDAC** es el porcentaje de la energía ingerida que se utiliza en SDA, que se denomina coeficiente del SDA (SDAC). Se calcula:

$$SDA(\%) = \frac{SDA \times 100}{C}$$



- *ANÁLISIS ESTADÍSTICO*

Para la estimación de posibles diferencias del peso de los lotes de peces, al principio y al final de cada fase experimental se utilizó el Análisis de la Varianza (ANOVA) de una vía.

Para estudiar la influencia de la temperatura en las tasas metabólicas en ayunas y con ingesta a nivel de mantenimiento se realizaron análisis de correlación simple lineal y no lineal. El grado de ajuste de los datos se evaluó con el coeficiente de determinación  $r^2$ , que expresa el tanto por ciento de la variación de una variable debida a la variación de la otra. Para la significación de los coeficientes se aplicó la t - Student, y para la significación de toda la regresión el ANOVA. En caso de existir diferencias significativas se aplicó el test Tukey o el test Newman Keuls.

En todos los casos, salvo que se especifique otro valor, la medida de variabilidad utilizada es la desviación estándar y el nivel de confianza el 95 % ( $P < 0.05$ ).

Todos los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar de los tres lotes, consignando aparte el número de determinaciones de cada medida.

Todos los cálculos se realizaron en hoja Excel 5.0 (Microsoft Excel) o con el programa estadístico STATGRAPHICS (Statistical Graphics Corporation).



### 3.2.2.3 RESULTADOS

#### 3.2.2.3.1 REGISTROS CONTÍNUOS DURANTE UN PERÍODO DE 72 HORAS, DE LA TASA METABÓLICA DEL CARPÍN (*CARASSIUS AURATUS*) EN RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN DIARIA A NIVEL DE MANTENIMIENTO

La calorimetría indirecta, basada en la determinación del consumo de oxígeno ofrecen una información muy completa de los cambios que se producen en el metabolismo energético de los peces cuando se realizan registros continuos.

El propósito de estos registros ha sido comprobar la existencia de un patrón de comportamiento en el consumo de oxígeno, que se repite diariamente.

Los resultados que se presentan a continuación se han organizado de la siguiente forma: el encabezado de cada hoja refleja las condiciones generales del experimento; en columnas se han dispuesto los consumos de oxígeno de cada uno de los tres lotes, medidos cada media hora, expresados en las dos unidades habituales para facilitar su lectura, con los valores medios y desviaciones estándar correspondientes.

En el pie de cada tabla figuran los valores medios diarios de la tasa metabólica medida (R) en cada lote y la media y desviación estándar de los tres lotes. A partir de cada registro continuo del consumo de oxígeno, se ha calculado un balance energético, cuyos parámetros e índices utilizados se han comentado anteriormente y se resumen en la propia hoja.

Teniendo en cuenta que cada determinación se ha repetido cuatro veces y que se han realizado 48 medidas diarias de cada uno de los lotes y de la cuba blanco, el total de datos utilizados para elaborar cada hoja es de 768, solamente para medidas de oxígeno.



Tabla 3.2. Registro continuo durante 72 horas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento (1er. día)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	11.30 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.31	0.31	0.34	0.32	
Hora del pico:	2 p.m.	Peso (kg):	1.9	1.9	2.1	2.0	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	00.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	128.9	135.0	134.5	132.8	3.4	79.3	83.1	82.7	81.7	2.1
0:30	117.4	124.3	126.0	122.6	4.5	72.3	76.6	77.5	75.4	2.8
1:00	110.9	116.7	121.7	116.4	5.4	68.3	71.9	74.8	71.7	3.3
1:30	116.5	127.3	123.8	122.5	5.6	71.7	78.4	76.1	75.4	3.4
2:00	117.6	130.9	123.8	124.1	6.6	72.4	80.6	76.1	76.4	4.1
2:30	120.5	128.9	127.7	125.7	4.5	74.2	79.4	78.5	77.4	2.8
3:00	120.3	124.8	129.0	124.7	4.3	74.1	76.9	79.3	76.8	2.6
3:30	120.7	128.4	128.1	125.7	4.3	74.3	79.1	78.8	77.4	2.6
4:00	116.8	121.3	126.4	121.5	4.8	71.9	74.7	77.7	74.8	2.9
4:30	125.1	131.9	131.5	129.5	3.8	77.0	81.3	80.9	79.7	2.3
5:00	124.8	138.0	129.0	130.6	6.8	76.8	85.0	79.3	80.4	4.2
5:30	117.8	135.0	122.6	125.1	8.9	72.5	83.1	75.4	77.0	5.5
6:00	124.0	145.1	125.5	131.5	11.8	76.3	89.4	77.2	81.0	7.3
6:30	131.4	146.1	133.2	136.9	8.0	80.9	90.0	81.9	84.3	5.0
7:00	127.0	136.5	134.5	132.7	5.0	78.2	84.1	82.7	81.7	3.1
7:30	127.6	143.1	130.2	133.7	8.3	78.6	88.1	80.1	82.3	5.1
8:00	127.1	145.1	133.2	135.2	9.1	78.3	89.4	81.9	83.2	5.7
8:30	136.1	147.1	137.9	140.4	5.9	83.8	90.6	84.8	86.4	3.7
9:00	158.5	159.8	158.0	158.8	0.9	97.6	98.4	97.1	97.7	0.7
9:30	140.4	158.8	138.4	145.9	11.3	86.4	97.8	85.1	89.8	7.0
10:00	152.1	164.4	144.8	153.8	9.9	93.7	101.3	89.0	94.6	6.2
10:30	166.7	167.9	163.1	165.9	2.5	102.7	103.4	100.3	102.1	1.6
11:00	162.1	162.4	168.7	164.4	3.7	99.8	100.0	103.7	101.2	2.2
11:30	187.9	161.3	182.3	177.2	14.0	115.7	99.4	112.1	109.1	8.6
12:00	179.3	166.4	187.0	177.6	10.4	110.4	102.5	115.0	109.3	6.3
12:30	203.5	199.9	191.3	198.2	6.3	125.3	123.1	117.6	122.0	4.0
13:00	203.4	208.0	207.1	206.2	2.4	125.3	128.1	127.3	126.9	1.5
13:30	267.7	207.5	252.0	242.4	31.2	164.8	127.8	154.9	149.2	19.2
14:00	277.7	219.7	261.3	252.9	29.9	171.0	135.3	160.7	155.7	18.3
14:30	255.8	219.2	234.9	236.6	18.4	157.5	135.0	144.4	145.6	11.3
15:00	244.6	207.0	231.5	227.7	19.1	150.6	127.5	142.3	140.1	11.7
15:30	224.4	203.4	212.2	213.4	10.5	138.2	125.3	130.5	131.3	6.5
16:00	225.1	205.5	209.2	213.3	10.4	138.6	126.6	128.7	131.3	6.4
16:30	212.8	206.5	198.1	205.8	7.4	131.0	127.2	121.8	126.7	4.6
17:00	204.4	205.0	189.2	199.5	9.0	125.8	126.3	116.3	122.8	5.6
17:30	198.0	198.9	186.6	194.5	6.8	121.9	122.5	114.7	119.7	4.3
18:00	187.8	183.7	182.3	184.6	2.8	115.6	113.1	112.1	113.6	1.8
18:30	175.7	163.9	171.7	170.4	6.0	108.2	100.9	105.6	104.9	3.7
19:00	172.4	162.4	173.0	169.2	6.0	106.1	100.0	106.3	104.2	3.6
19:30	163.2	156.3	163.6	161.0	4.1	100.5	96.3	100.6	99.1	2.5
20:00	156.9	150.2	157.6	154.9	4.1	96.6	92.5	96.9	95.3	2.4
20:30	156.1	153.7	155.4	155.1	1.2	96.1	94.7	95.6	95.5	0.7
21:00	154.9	153.7	157.6	155.4	2.0	95.4	94.7	96.9	95.6	1.1
21:30	144.4	147.1	151.2	147.6	3.4	88.9	90.6	92.9	90.8	2.0
22:00	145.6	153.2	147.8	148.9	3.9	89.7	94.4	90.8	91.6	2.5
22:30	142.6	139.5	147.8	143.3	4.2	87.8	85.9	90.8	88.2	2.5
23:00	138.9	132.9	146.0	139.3	6.6	85.5	81.9	89.8	85.7	4.0
23:30	151.3	144.1	155.4	150.3	5.7	93.1	88.8	95.6	92.5	3.5
24:00	147.6	140.0	152.9	146.8	6.5	90.9	86.3	94.0	90.4	3.9
Medias										
R	161.5	159.3	161.2	160.7	1.2	99.4	98.1	99.1	98.9	0.7



Tabla 3.2. (cont.) Registro continuo durante 72 h a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento (2° día)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	11.30 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.39	0.41	0.37	0.39	
Hora del pico:	2.30 p.m.	Peso (kg):	2.4	2.5	2.3	2.4	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	140.8	151.2	132.4	141.5	9.4	86.7	93.1	81.4	87.1	5.9
0:30	144.7	154.7	156.7	152.1	6.4	89.1	95.3	96.4	93.6	3.9
1:00	141.0	154.7	138.4	144.7	8.8	86.8	95.3	85.1	89.1	5.5
1:30	145.7	155.3	161.8	154.3	8.1	89.7	95.6	99.5	94.9	4.9
2:00	144.2	149.7	146.0	146.6	2.8	88.8	92.2	89.8	90.3	1.8
2:30	150.9	151.7	152.9	151.8	1.0	92.9	93.4	94.0	93.4	0.5
3:00	139.2	158.3	151.6	149.7	9.7	85.7	97.5	93.2	92.1	6.0
3:30	137.1	151.2	137.5	141.9	8.0	84.4	93.1	84.5	87.4	5.0
4:00	137.3	147.6	140.9	142.0	5.2	84.6	90.9	86.6	87.4	3.3
4:30	145.2	156.8	144.3	148.8	6.9	89.4	96.6	88.7	91.6	4.3
5:00	150.4	145.1	155.0	150.2	5.0	92.6	89.4	95.3	92.4	3.0
5:30	135.8	156.8	134.1	142.2	12.6	83.6	96.6	82.4	87.5	7.8
6:00	142.6	153.7	151.2	149.2	5.8	87.8	94.7	92.9	91.8	3.6
6:30	136.7	153.2	152.9	147.6	9.4	84.2	94.4	94.0	90.9	5.8
7:00	174.9	162.9	184.9	174.2	11.0	107.7	100.3	113.7	107.2	6.7
7:30	177.5	161.3	179.4	172.7	9.9	109.3	99.4	110.3	106.3	6.0
8:00	177.6	167.9	171.7	172.4	4.9	109.4	103.4	105.6	106.1	3.0
8:30	154.8	165.9	152.0	157.6	7.3	95.3	102.2	93.5	97.0	4.6
9:00	161.8	184.2	157.6	167.9	14.3	99.6	113.4	96.9	103.3	8.9
9:30	169.2	172.5	172.5	171.4	1.9	104.2	106.3	106.1	105.5	1.1
10:00	160.4	171.5	153.3	161.7	9.2	98.8	105.6	94.3	99.6	5.7
10:30	170.2	167.9	166.1	168.1	2.1	104.8	103.4	102.1	103.5	1.3
11:00	154.5	167.4	167.0	163.0	7.3	95.1	103.1	102.7	100.3	4.5
11:30	146.1	160.8	167.0	158.0	10.7	89.9	99.1	102.7	97.2	6.6
12:00	160.0	172.5	167.4	166.6	6.3	98.5	106.3	102.9	102.6	3.9
12:30	183.9	180.6	183.6	182.7	1.8	113.2	111.3	112.9	112.5	1.1
13:00	217.4	184.2	221.6	207.7	20.5	133.9	113.4	136.3	127.9	12.5
13:30	255.7	232.4	238.3	242.1	12.1	157.4	143.1	146.5	149.0	7.5
14:00	291.8	230.3	275.0	265.7	31.8	179.7	141.9	169.1	163.6	19.5
14:30	288.8	242.0	271.2	267.3	23.6	177.8	149.1	166.7	164.5	14.5
15:00	287.8	240.5	272.5	266.9	24.1	177.2	148.1	167.5	164.3	14.8
15:30	280.3	228.8	264.3	257.8	26.4	172.6	140.9	162.5	158.7	16.2
16:00	244.5	222.2	228.9	231.9	11.4	150.5	136.9	140.7	142.7	7.0
16:30	229.1	226.8	219.5	225.1	5.0	141.1	139.7	135.0	138.6	3.2
17:00	222.9	218.2	208.0	216.3	7.6	137.2	134.4	127.9	133.2	4.8
17:30	218.5	210.6	198.6	209.2	10.0	134.5	129.7	122.1	128.8	6.3
18:00	208.4	209.5	198.1	205.4	6.3	128.3	129.1	121.8	126.4	4.0
18:30	201.7	202.4	182.8	195.6	11.1	124.2	124.7	112.4	120.4	7.0
19:00	181.1	216.6	185.3	194.4	19.4	111.5	133.4	114.0	119.6	12.0
19:30	191.8	193.3	177.2	187.4	8.9	118.1	119.1	109.0	115.4	5.6
20:00	185.4	205.5	177.2	189.4	14.5	114.2	126.6	109.0	116.6	9.0
20:30	176.1	185.7	164.8	175.5	10.4	108.4	114.4	101.3	108.1	6.5
21:00	176.1	178.1	167.0	173.7	5.9	108.4	109.7	102.7	106.9	3.7
21:30	157.8	168.9	154.2	160.3	7.7	97.2	104.1	94.8	98.7	4.8
22:00	154.3	164.9	149.0	156.1	8.1	95.0	101.6	91.6	96.1	5.1
22:30	151.2	164.4	148.6	154.7	8.5	93.1	101.3	91.4	95.2	5.3
23:00	153.3	162.9	152.0	156.0	5.9	94.4	100.3	93.5	96.1	3.7
23:30	131.5	141.6	134.9	136.0	5.1	80.9	87.2	83.0	83.7	3.2
24:00	143.3	155.3	147.3	148.6	6.1	88.2	95.6	90.6	91.5	3.8
Medias										
R	178.2	178.8	175.8	177.6	1.6	109.7	110.1	108.1	109.3	1.1



Tabla 3.2.(cont.) Registro continuo durante 72 horas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento (3er. día)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	11 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.47	0.42	0.41	0.43	
Hora del pico:	1.30 p.m.	Peso (kg):	2.9	2.6	2.5	2.7	0.2
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	Lote 1					Lote 2					Lote 3					Media					± SD								
	(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )					(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )					(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )					(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )					(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )					(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )			
0:00	183.5	151.2	147.3	160.7	19.8	113.0	93.1	90.6	98.9	12.2	113.0	93.1	90.6	98.9	12.2	113.0	93.1	90.6	98.9	12.2	113.0	93.1	90.6	98.9	12.2				
0:30	178.4	149.0	132.8	153.4	23.1	109.8	91.8	81.7	94.4	14.3	109.8	91.8	81.7	94.4	14.3	109.8	91.8	81.7	94.4	14.3	109.8	91.8	81.7	94.4	14.3				
1:00	169.3	145.1	134.9	149.8	17.7	104.3	89.4	83.0	92.2	10.9	104.3	89.4	83.0	92.2	10.9	104.3	89.4	83.0	92.2	10.9	104.3	89.4	83.0	92.2	10.9				
1:30	180.6	150.7	132.8	154.7	24.2	111.2	92.8	81.7	95.2	14.9	111.2	92.8	81.7	95.2	14.9	111.2	92.8	81.7	95.2	14.9	111.2	92.8	81.7	95.2	14.9				
2:00	167.7	148.1	132.4	149.4	17.7	103.2	91.3	81.4	92.0	10.9	103.2	91.3	81.4	92.0	10.9	103.2	91.3	81.4	92.0	10.9	103.2	91.3	81.4	92.0	10.9				
2:30	175.6	148.7	137.9	154.0	19.4	108.1	91.6	84.8	94.8	12.0	108.1	91.6	84.8	94.8	12.0	108.1	91.6	84.8	94.8	12.0	108.1	91.6	84.8	94.8	12.0				
3:00	159.2	148.5	122.1	143.3	19.1	98.0	91.4	75.1	88.2	11.8	98.0	91.4	75.1	88.2	11.8	98.0	91.4	75.1	88.2	11.8	98.0	91.4	75.1	88.2	11.8				
3:30	172.7	150.7	127.7	150.4	22.5	106.4	92.8	78.5	92.6	13.9	106.4	92.8	78.5	92.6	13.9	106.4	92.8	78.5	92.6	13.9	106.4	92.8	78.5	92.6	13.9				
4:00	152.4	140.8	126.8	140.0	12.8	93.8	86.8	78.0	86.2	7.9	93.8	86.8	78.0	86.2	7.9	93.8	86.8	78.0	86.2	7.9	93.8	86.8	78.0	86.2	7.9				
4:30	173.9	145.4	130.7	150.0	22.0	107.0	89.6	80.3	92.3	13.6	107.0	89.6	80.3	92.3	13.6	107.0	89.6	80.3	92.3	13.6	107.0	89.6	80.3	92.3	13.6				
5:00	162.6	143.4	119.6	141.8	21.5	100.1	88.3	73.5	87.3	13.3	100.1	88.3	73.5	87.3	13.3	100.1	88.3	73.5	87.3	13.3	100.1	88.3	73.5	87.3	13.3				
5:30	168.2	152.0	128.5	149.6	19.9	103.6	93.6	79.0	92.1	12.3	103.6	93.6	79.0	92.1	12.3	103.6	93.6	79.0	92.1	12.3	103.6	93.6	79.0	92.1	12.3				
6:00	189.7	155.6	165.7	170.3	17.5	116.8	95.8	101.9	104.8	10.8	116.8	95.8	101.9	104.8	10.8	116.8	95.8	101.9	104.8	10.8	116.8	95.8	101.9	104.8	10.8				
6:30	189.7	155.0	168.7	171.1	17.4	116.8	95.5	103.7	105.3	10.7	116.8	95.5	103.7	105.3	10.7	116.8	95.5	103.7	105.3	10.7	116.8	95.5	103.7	105.3	10.7				
7:00	180.6	152.5	156.3	163.1	15.3	111.2	93.9	96.1	100.4	9.4	111.2	93.9	96.1	100.4	9.4	111.2	93.9	96.1	100.4	9.4	111.2	93.9	96.1	100.4	9.4				
7:30	181.8	150.5	149.9	160.7	18.2	111.9	92.7	92.2	98.9	11.3	111.9	92.7	92.2	98.9	11.3	111.9	92.7	92.2	98.9	11.3	111.9	92.7	92.2	98.9	11.3				
8:00	186.8	154.0	142.2	161.0	23.1	115.0	94.9	87.4	99.1	14.3	115.0	94.9	87.4	99.1	14.3	115.0	94.9	87.4	99.1	14.3	115.0	94.9	87.4	99.1	14.3				
8:30	192.5	164.2	153.3	170.0	20.2	118.5	101.1	94.3	104.6	12.5	118.5	101.1	94.3	104.6	12.5	118.5	101.1	94.3	104.6	12.5	118.5	101.1	94.3	104.6	12.5				
9:00	193.1	178.6	150.3	174.0	21.7	118.9	110.0	92.4	107.1	13.5	118.9	110.0	92.4	107.1	13.5	118.9	110.0	92.4	107.1	13.5	118.9	110.0	92.4	107.1	13.5				
9:30	190.2	165.9	147.3	167.8	21.5	117.1	102.2	90.6	103.3	13.3	117.1	102.2	90.6	103.3	13.3	117.1	102.2	90.6	103.3	13.3	117.1	102.2	90.6	103.3	13.3				
10:00	182.3	180.6	143.5	168.8	21.9	112.3	111.3	88.2	103.9	13.6	112.3	111.3	88.2	103.9	13.6	112.3	111.3	88.2	103.9	13.6	112.3	111.3	88.2	103.9	13.6				
10:30	178.9	175.5	159.3	171.3	10.5	110.2	108.1	97.9	105.4	6.6	110.2	108.1	97.9	105.4	6.6	110.2	108.1	97.9	105.4	6.6	110.2	108.1	97.9	105.4	6.6				
11:00	182.3	167.4	163.1	171.0	10.1	112.3	103.1	100.3	105.2	6.3	112.3	103.1	100.3	105.2	6.3	112.3	103.1	100.3	105.2	6.3	112.3	103.1	100.3	105.2	6.3				
11:30	184.0	176.6	190.9	183.8	7.2	113.3	108.8	117.4	113.1	4.3	113.3	108.8	117.4	113.1	4.3	113.3	108.8	117.4	113.1	4.3	113.3	108.8	117.4	113.1	4.3				
12:00	252.3	173.5	192.2	206.0	41.2	155.4	106.9	118.2	126.8	25.4	155.4	106.9	118.2	126.8	25.4	155.4	106.9	118.2	126.8	25.4	155.4	106.9	118.2	126.8	25.4				
12:30	262.5	236.9	242.1	247.2	13.5	161.6	145.9	148.9	152.1	8.3	161.6	145.9	148.9	152.1	8.3	161.6	145.9	148.9	152.1	8.3	161.6	145.9	148.9	152.1	8.3				
13:00	274.9	242.0	271.6	262.8	18.1	169.3	149.1	167.0	161.8	11.1	169.3	149.1	167.0	161.8	11.1	169.3	149.1	167.0	161.8	11.1	169.3	149.1	167.0	161.8	11.1				
13:30	303.1	248.6	275.0	275.6	27.3	186.6	153.1	169.1	169.6	16.8	186.6	153.1	169.1	169.6	16.8	186.6	153.1	169.1	169.6	16.8	186.6	153.1	169.1	169.6	16.8				
14:00	287.3	249.1	278.4	271.6	20.0	176.9	153.4	171.2	167.2	12.2	176.9	153.4	171.2	167.2	12.2	176.9	153.4	171.2	167.2	12.2	176.9	153.4	171.2	167.2	12.2				
14:30	264.7	248.6	276.3	263.2	13.9	163.0	153.1	169.9	162.0	8.4	163.0	153.1	169.9	162.0	8.4	163.0	153.1	169.9	162.0	8.4	163.0	153.1	169.9	162.0	8.4				
15:00	260.2	230.3	266.5	252.3	19.3	160.2	141.9	163.8	155.3	11.8	160.2	141.9	163.8	155.3	11.8	160.2	141.9	163.8	155.3	11.8	160.2	141.9	163.8	155.3	11.8				
15:30	239.3	220.2	243.4	234.3	12.4	147.4	135.6	149.7	144.2	7.5	147.4	135.6	149.7	144.2	7.5	147.4	135.6	149.7	144.2	7.5	147.4	135.6	149.7	144.2	7.5				
16:00	241.0	221.2	228.9	230.4	10.0	148.4	136.3	140.7	141.8	6.1	148.4	136.3	140.7	141.8	6.1	148.4	136.3	140.7	141.8	6.1	148.4	136.3	140.7	141.8	6.1				
16:30	227.5	209.0	210.5	215.7	10.2	140.1	128.8	129.4	132.8	6.3	140.1	128.8	129.4	132.8	6.3	140.1	128.8	129.4	132.8	6.3	140.1	128.8	129.4	132.8	6.3				
17:00	219.0	212.6	204.1	211.9	7.5	134.9	130.9	125.5	130.4	4.7	134.9	130.9	125.5	130.4	4.7	134.9	130.9	125.5	130.4	4.7	134.9	130.9	125.5	130.4	4.7				
17:30	228.1	201.9	182.3	204.1	22.9	140.4	124.4	112.1	125.6	14.2	140.4	124.4	112.1	125.6	14.2	140.4	124.4	112.1	125.6	14.2	140.4	124.4	112.1	125.6	14.2				
18:00	205.5	208.5	187.9	200.6	11.1	126.5	128.4	115.5	123.5	7.0	126.5	128.4	115.5	123.5	7.0	126.5	128.4	115.5	123.5	7.0	126.5	128.4	115.5	123.5	7.0				
18:30	200.4	209.0	173.4	194.3	18.6	123.4	128.8	106.6	119.6	11.6	123.4	128.8	106.6	119.6	11.6	123.4	128.8	106.6	119.6	11.6	123.4	128.8	106.6	119.6	11.6				
19:00	187.4	206.5	167.8	187.2	19.3	115.4	127.2	103.2	115.3	12.0	115.4	127.2	103.2	115.3	12.0	115.4	127.2	103.2	115.3	12.0	115.4	127.2	103.2	115.3	12.0				
19:30	198.1	183.7	156.3	179.4	21.2	122.0	113.1	96.1	110.4	13.2	122.0	113.1	96.1	110.4	13.2	122.0	113.1	96.1	110.4	13.2	122.0	113.1	96.1	110.4	13.2				
20:00	175.6	189.8	158.9	174.7	15.5	108.1	116.9	97.7	107.5	9.6	108.1	116.9	97.7	107.5	9.6	108.1	116.9	97.7	107.5	9.6	108.1	116.9	97.7	107.5	9.6				
20:30	190.2	176.1	167.8	178.0	11.3	117.1	108.4	103.2	109.6	7.0	117.1	108.4	103.2	109.6	7.0	117.1	108.4	103.2	109.6	7.0	117.1	108.4	103.2	109.6	7.0				
21:00	182.3	169.5	149.5	167.1	16.6	112.3	104.4	91.9	102.8	10.3	112.3	104.4	91.9	102.8	10.3	112.3	104.4	91.9	102.8	10.3	112.3	104.4	91.9	102.8	10.3				
21:30	180.6	174.5	152.5	169.2	14.8	111.2	107.5	93.7	104.2	9.2	111.2	107.5	93.7	104.2	9.2	111.2	107.5	93.7	104.2	9.2	111.2	107.5	93.7	104.2	9.2				
22:00	177.8	165.4	137.1	160.1	20.9	109.5	101.9	84.3	98.5	12.9	109.5	101.9	84.3	98.5	12.9	109.5	101.9	84.3	98.5	12.9	109.5	101.9	84.3	98.5	12.9				
22:30	174.4	168.4																											



**Tabla 3.3. Resumen energético del registro continuo de 72 horas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento**

Ingesta (%) peso corporal	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Componentes del balance energético medidos			
			(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )	(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	(%)
0.32	2.0	<i>C</i>	70.6 ± 4.1	43.4 ± 2.6	100
		<i>R</i>	53.1 ± 0.4	32.7 ± 0.2	75.3
		<i>Rr</i>	48.7 ± 1.2	30.0 ± 0.7	69.0
		<i>SDA</i>	18.5 ± 3.4	11.4 ± 2.1	26.3
		<i>U*</i>	4.4 ± 0.03	2.7 ± 0.02	6.2
		<i>Rs</i>	36.3 ± 2.2	22.4 ± 1.4	51.5
0.39	2.4	<i>C</i>	86.1 ± 3.6	53.0 ± 2.2	100
		<i>R</i>	58.7 ± 0.5	36.2 ± 0.4	68.2
		<i>Rr</i>	51.3 ± 2.1	31.6 ± 1.3	59.5
		<i>SDA</i>	22.2 ± 2.6	13.6 ± 1.6	25.7
		<i>U*</i>	4.8 ± 0.04	3.0 ± 0.03	5.6
		<i>Rs</i>	36.3 ± 2.2	22.4 ± 1.4	42.2
0.43	2.7	<i>C</i>	95.7 ± 7.5	58.9 ± 4.6	100
		<i>R</i>	60.5 ± 4.9	37.2 ± 3.0	63.2
		<i>Rr</i>	53.9 ± 7.2	33.2 ± 4.4	56.3
		<i>SDA</i>	24.6 ± 7.0	15.2 ± 4.3	25.7
		<i>U*</i>	5.0 ± 0.4	3.1 ± 0.2	5.2
		<i>Rs</i>	36.3 ± 2.2	22.4 ± 1.4	38.0

Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

<i>R</i>	Valor medio de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
<i>Rreposito (Rr)</i>	Valores medios nocturnos de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
<i>Restandar (Rs)</i>	Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
<i>SDA</i>	Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
<i>U</i>	Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH <sub>3</sub> )
<i>C</i>	Contenido energético de la ingesta



Registros continuos durante 72 horas a 21 °C e ingesta de mantenimiento

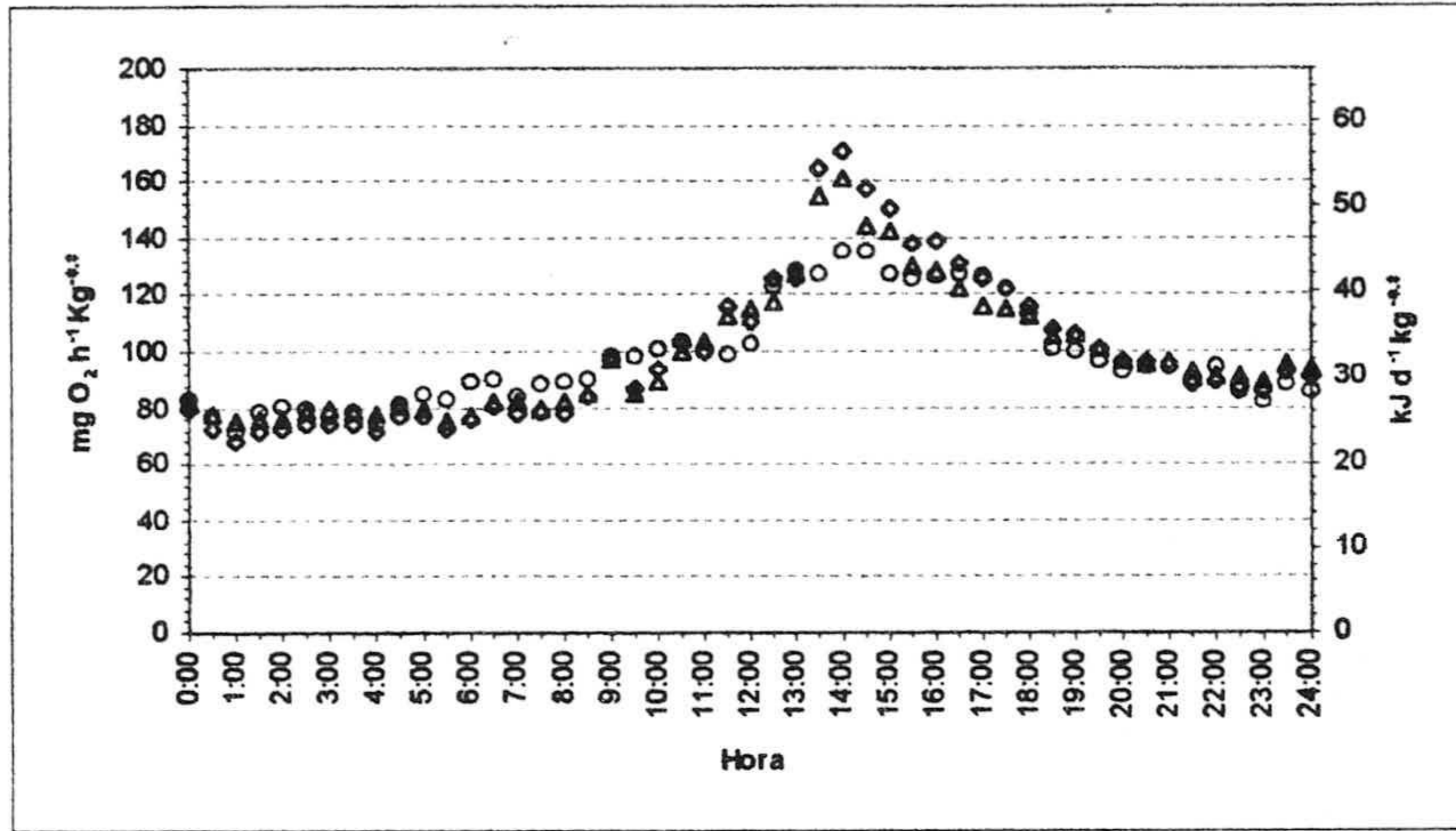


Figura 3.11 (1er. día)

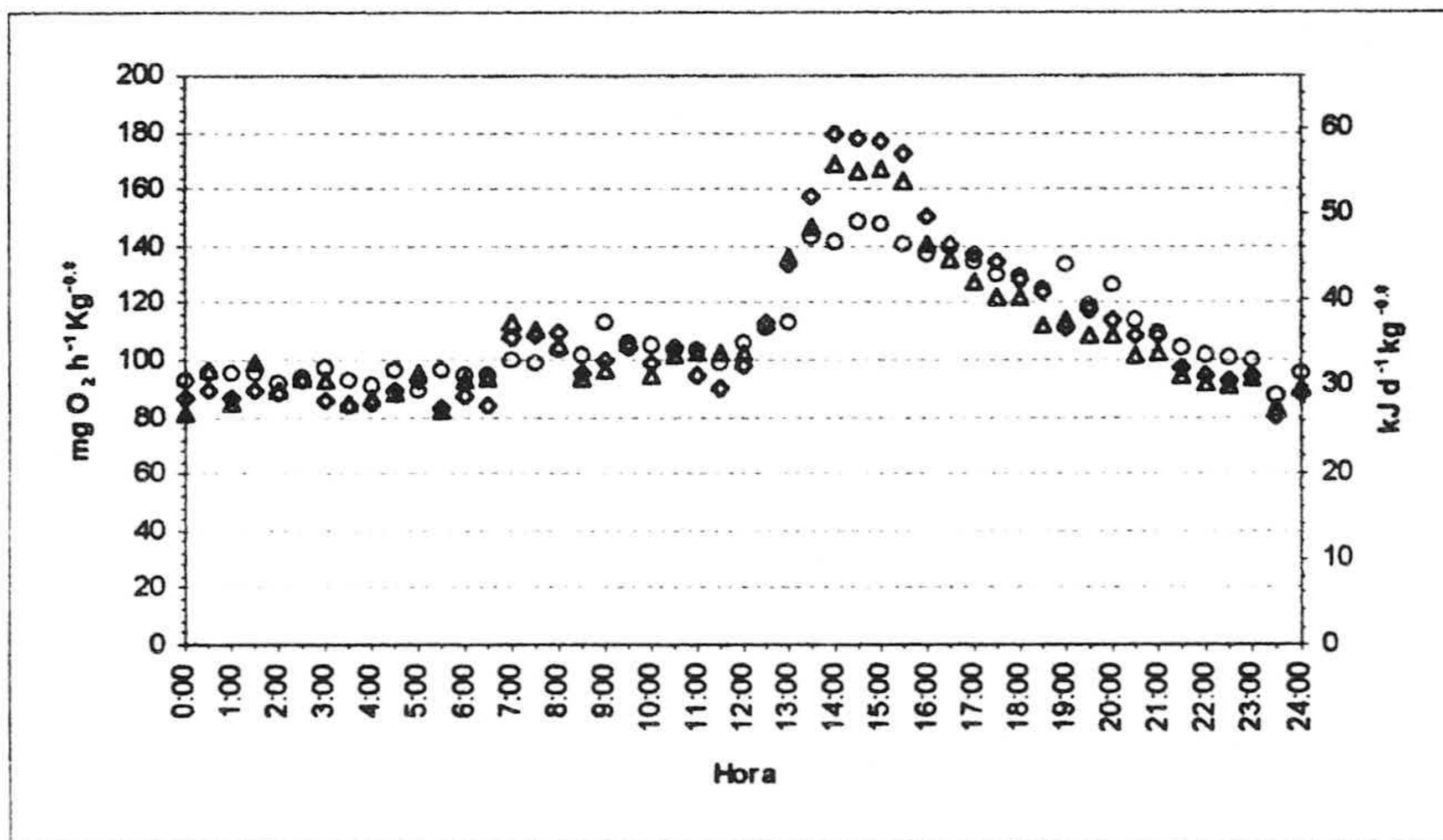


Figura 3.12 (2º. día)

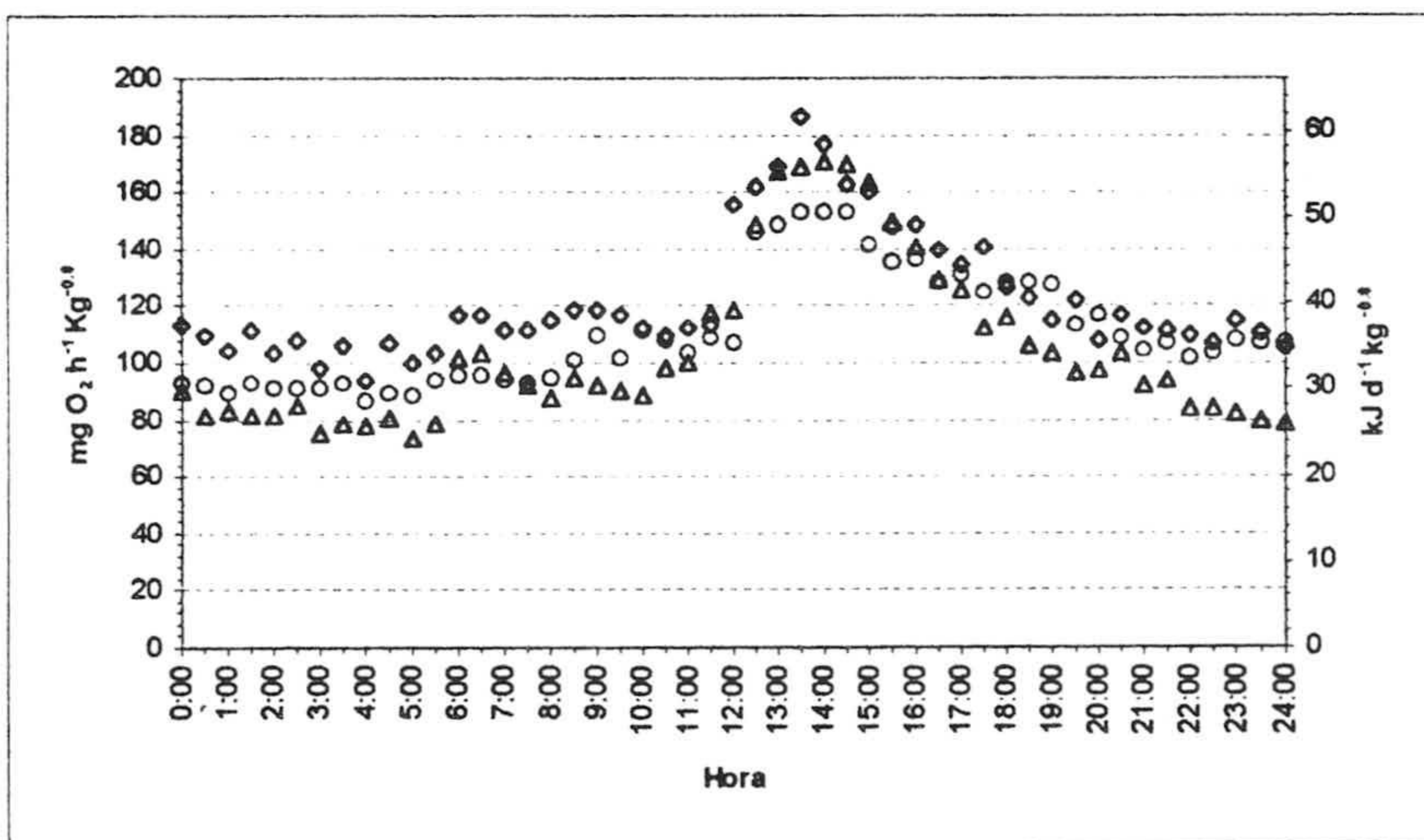


Figura 3.13 (3er. día)



Este registro continuo de **72 horas** es una muestra seleccionada de un registro mucho más amplio de **tres semanas** en las que, a una temperatura de 21 °C, se ofreció a los animales una ración del 0.5 % (peso corporal d<sup>-1</sup>) que equivale a 3.1 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>), aproximadamente a la misma hora del día (entre 10h y 11.30 a.m.). Naturalmente, esta ración no fué aceptada por igual, en todo el periodo experimental, los restos de comida fueron retirados y pesados, para calcular con precisión la ingesta verdadera.

Se han escogido estos tres registros porque los valores de ingesta y R son representativos de los obtenidos durante todo el periodo experimental a 21 °C.

De cada registro continuo del consumo de oxígeno, se ha obtenido un balance energético en el que se incluye la tasa metabólica estándar (Rs) (tabla 3.15 de la sección 3.2.2.3.3).



### 3.2.2.3.2 REGISTROS CONTINUOS DE LA TASA METABÓLICA EN CICLOS DE 24 HORAS, CON DIFERENTES INGESTAS (A NIVEL DE MANTENIMIENTO) Y A LAS TEMPERATURAS DE 20, 21 Y 25 °C

Todos estos registros se han realizado de forma continua, parando el programa cada día, solamente, el tiempo imprescindible para recoger los datos del ordenador. A diferencia de otros autores que presentan estos resultados desde las primeras horas del día hasta la misma hora del día siguiente, nosotros hemos preferido representar el ciclo de 24 horas comenzando a media noche, cuando el metabolismo de los peces es muy estable, casi estacionario, y termine a la misma hora del día siguiente; de esta forma se observan claramente todas las fases típicas por las que pasan los animales en relación con su metabolismo: reposo durante las horas nocturnas, aumento de la actividad espontánea al amanecer y aumento de la tasa metabólica debido a la alimentación, que decae finalmente a los niveles previos nuevamente en horas nocturnas (cuando el régimen alimenticio no varíe significativamente).

Los experimentos se han iniciado después de aclimatar a los peces a la temperatura de 20 °C y a la dieta seleccionada.

Los cambios de temperatura se han realizado a razón de 1 °C por día, que es el protocolo que recomiendan la mayoría de los autores que hemos consultado en bibliografía.

Se ha alimentado a los animales una vez al día con una ración del 0.5 % (peso  $d^{-1}$ ) y después de comer, se han retirado los restos, para valorar la ingesta con precisión.

El peso de los animales se ha controlado, al inicio y final de cada periodo experimental, comprobándose que en ningún caso se han producido cambios significativos.

La temperatura diaria se ha medido cada vez que se hacía una medida de oxígeno, tanto en la cuba blanco como en las cubas problema, no observándose variaciones significativas. Dado que la lectura de temperatura era siempre constante ( $\pm 0.5$  °C), se ha decidido reflejarla únicamente en la cabecera de cada hoja.



De cada registro continuo del consumo de oxígeno, se ha obtenido un balance energético, cuyos parámetros e índices utilizados se han comentado en la sección 3.2.2.2 y se resumen en la propia hoja

Cada resumen energético consta de tres columnas, que expresan los valores de C, R, Rr, SDA, U y Rs en términos energéticos diarios por unidad de peso, por unidad de peso metabólico y en %. Cada valor se ha obtenido a partir del valor medio de los tres lotes y utilizando los valores oxicalóricos adecuados. El contenido energético de la excreción amoniacal (U), se ha obtenido a través de la medida de oxígeno (método de Solomon y Brafield, 1972).

El gráfico que se adjunta a cada tabla refleja los valores de consumo de oxígeno, medidos cada media hora en los tres lotes de peces. Las unidades utilizadas expresan el consumo de oxígeno por hora y peso metabólico y la energía equivalente por día y peso metabólico, para facilitar su lectura. La ventaja que tiene la utilización del peso metabólico es que podríamos comparar directamente nuestros resultados con los obtenidos en otros experimentos con el mismo nivel de ingesta (C) y temperatura, pero con animales de pesos muy diferentes, incluso de forma aproximada con animales de otras especies cuyas tasas metabólicas cumplan la relación alométrica con exponente del peso próximo a 0.8, valor que parece ser típico en muchas especies de peces. En todo caso la corrección que habría que realizar para hacer comparativos nuestros resultados sería siempre mucho menor que la que sería necesaria si los mismos datos estuvieran expresados por unidad de peso, cosa que en la práctica implica la utilización, implícita, de un exponente del peso siempre igual a 1, valor muy alejado del exponente del peso que aceptan la mayoría de los autores para cualquier especie de peces.



Tabla 3.4. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 20 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	20	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.26	0.28	0.29	0.28	
Hora del pico:	12 a.m.	Peso (kg):	1.60	1.70	1.80	1.7	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.886	0.887	0.878	0.884	0.005
			1.439	1.440	1.428	1.436	0.023

Hora	Lote 1				Lote 2				Lote 3						
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
	(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )														
0:00	114.0	139.6	124.7	126.1	12.9	70.2	86.0	76.7	77.6	7.9	70.2	86.0	76.7	77.6	7.9
0:30	116.3	140.3	126.4	127.6	12.0	71.6	86.4	77.7	78.6	7.4	71.6	86.4	77.7	78.6	7.4
1:00	115.7	141.2	126.0	127.6	12.8	71.2	87.0	77.5	78.6	7.9	71.2	87.0	77.5	78.6	7.9
1:30	124.2	140.6	128.5	131.1	8.5	76.5	86.6	79.0	80.7	5.3	76.5	86.6	79.0	80.7	5.3
2:00	132.7	140.3	128.5	133.8	5.9	81.7	86.4	79.0	82.4	3.7	81.7	86.4	79.0	82.4	3.7
2:30	128.7	141.2	126.4	132.1	8.0	79.2	87.0	77.7	81.3	5.0	79.2	87.0	77.7	81.3	5.0
3:00	129.8	142.5	126.4	132.9	8.5	79.9	87.8	77.7	81.8	5.3	79.9	87.8	77.7	81.8	5.3
3:30	138.3	142.1	132.4	137.6	4.9	85.2	87.5	81.4	84.7	3.1	85.2	87.5	81.4	84.7	3.1
4:00	134.3	145.1	126.4	135.3	9.4	82.7	89.4	77.7	83.3	5.9	82.7	89.4	77.7	83.3	5.9
4:30	121.4	132.9	123.8	126.0	6.1	74.7	81.9	76.1	77.6	3.8	74.7	81.9	76.1	77.6	3.8
5:00	118.0	136.0	120.0	124.6	9.9	72.6	83.8	73.8	76.7	6.1	72.6	83.8	73.8	76.7	6.1
5:30	124.8	140.5	126.0	130.4	8.8	76.8	86.6	77.5	80.3	5.5	76.8	86.6	77.5	80.3	5.5
6:00	129.3	160.3	133.7	141.1	16.8	79.6	98.8	82.2	86.8	10.4	79.6	98.8	82.2	86.8	10.4
6:30	131.5	155.3	135.4	140.7	12.7	81.0	95.6	83.2	86.6	7.9	81.0	95.6	83.2	86.6	7.9
7:00	127.0	160.3	129.4	138.9	18.6	78.2	98.8	79.6	85.5	11.5	78.2	98.8	79.6	85.5	11.5
7:30	127.0	162.4	129.4	139.6	19.8	78.2	100.0	79.6	85.9	12.2	78.2	100.0	79.6	85.9	12.2
8:00	120.8	162.9	130.2	138.0	22.1	74.4	100.3	80.1	84.9	13.6	74.4	100.3	80.1	84.9	13.6
8:30	129.8	147.6	139.2	138.9	8.9	79.9	90.9	85.6	85.5	5.5	79.9	90.9	85.6	85.5	5.5
9:00	115.7	136.0	142.2	131.3	13.8	71.2	83.8	87.4	80.8	8.5	71.2	83.8	87.4	80.8	8.5
9:30	129.8	135.5	142.6	136.0	6.4	79.9	83.4	87.7	83.7	3.9	79.9	83.4	87.7	83.7	3.9
10:00	129.8	137.5	146.5	137.9	8.3	79.9	84.7	90.1	84.9	5.1	79.9	84.7	90.1	84.9	5.1
10:30	156.4	165.4	173.4	165.0	8.5	96.3	101.9	106.6	101.6	5.2	96.3	101.9	106.6	101.6	5.2
11:00	159.2	186.2	219.9	188.4	30.4	98.0	114.7	135.2	116.0	18.6	98.0	114.7	135.2	116.0	18.6
11:30	178.4	213.6	230.6	207.5	26.6	109.8	131.6	141.8	127.7	16.3	109.8	131.6	141.8	127.7	16.3
12:00	187.4	219.2	227.2	211.3	21.0	115.4	135.0	139.7	130.0	12.9	115.4	135.0	139.7	130.0	12.9
12:30	177.2	239.5	201.6	206.1	31.4	109.1	147.5	123.9	126.9	19.4	109.1	147.5	123.9	126.9	19.4
13:00	169.9	234.9	193.4	199.4	32.9	104.6	144.7	118.9	122.8	20.3	104.6	144.7	118.9	122.8	20.3
13:30	157.5	236.9	183.2	192.5	40.5	97.0	145.9	112.6	118.5	25.0	97.0	145.9	112.6	118.5	25.0
14:00	138.9	224.8	171.7	178.4	43.3	85.5	138.4	105.6	109.8	26.7	85.5	138.4	105.6	109.8	26.7
14:30	143.4	217.1	175.1	178.5	37.0	88.3	133.8	107.7	109.9	22.8	88.3	133.8	107.7	109.9	22.8
15:00	144.5	215.1	174.2	178.0	35.5	89.0	132.5	107.1	109.5	21.9	89.0	132.5	107.1	109.5	21.9
15:30	140.6	202.4	164.8	169.3	31.2	86.5	124.7	101.3	104.2	19.2	86.5	124.7	101.3	104.2	19.2
16:00	133.2	190.3	161.8	161.8	28.5	82.0	117.2	99.5	99.6	17.6	82.0	117.2	99.5	99.6	17.6
16:30	130.4	190.8	147.3	156.2	31.1	80.3	117.5	90.6	96.1	19.2	80.3	117.5	90.6	96.1	19.2
17:00	132.1	186.2	150.7	156.3	27.5	81.3	114.7	92.7	96.2	17.0	81.3	114.7	92.7	96.2	17.0
17:30	134.9	180.1	155.4	156.8	22.6	83.1	110.9	95.6	96.5	14.0	83.1	110.9	95.6	96.5	14.0
18:00	147.9	176.6	154.2	159.5	15.1	91.1	108.8	94.8	98.2	9.3	91.1	108.8	94.8	98.2	9.3
18:30	155.8	184.7	161.0	167.2	15.4	95.9	113.8	99.0	102.9	9.5	95.9	113.8	99.0	102.9	9.5
19:00	150.7	177.6	149.5	159.3	15.9	92.8	109.4	91.9	98.0	9.8	92.8	109.4	91.9	98.0	9.8
19:30	153.0	167.9	148.6	156.5	10.1	94.2	103.4	91.4	96.3	6.3	94.2	103.4	91.4	96.3	6.3
20:00	145.1	174.5	148.6	156.1	16.1	89.3	107.5	91.4	96.1	10.0	89.3	107.5	91.4	96.1	10.0
20:30	153.5	161.8	143.1	152.8	9.4	94.5	99.7	88.0	94.1	5.9	94.5	99.7	88.0	94.1	5.9
21:00	140.0	163.9	138.4	147.4	14.3	86.2	100.9	85.1	90.7	8.9	86.2	100.9	85.1	90.7	8.9
21:30	138.9	153.2	134.9	142.3	9.6	85.5	94.4	83.0	87.6	6.0	85.5	94.4	83.0	87.6	6.0
22:00	150.2	148.1	144.3	147.5	3.0	92.4	91.3	88.7	90.8	1.9	92.4	91.3	88.7	90.8	1.9
22:30	142.8	141.6	138.8	141.1	2.1	87.9	87.2	85.3	86.8	1.3	87.9	87.2	85.3	86.8	1.3
23:00	117.4	141.6	131.5	130.2	12.1	72.3	87.2	80.9	80.1	7.5	72.3	87.2	80.9	80.1	7.5
23:30	108.4	141.6	137.1	129.0	18.0	66.7	87.2	84.3	79.4	11.1	66.7	87.2	84.3	79.4	11.1
24:00	117.4	140.7	131.5	129.9	11.7	72.3	86.6	80.9	79.9	7.2	72.3	86.6	80.9	79.9	7.2
Medias															
R	137.6	167.7	149.7	151.7	15.1	84.7	103.3	92.1	93.4	9.3	84.7	103.3	92.1	93.4	9.3



Tabla 3.4. Resumen energético, a 20 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	61.0	± 3.6	37.6	± 2.2	100
<b>R</b>	50.2	± 5.0	30.9	± 3.1	82.2
<b>Rr</b>	45.7	± 2.8	28.1	± 1.7	74.9
<b>SDA</b>	15.7	± 2.9	9.7	± 1.8	25.7
<b>U*</b>	4.1	± 0.4	2.5	± 0.3	6.8
<b>Rs</b>	34.9	± 3.1	21.5	± 1.9	57.2

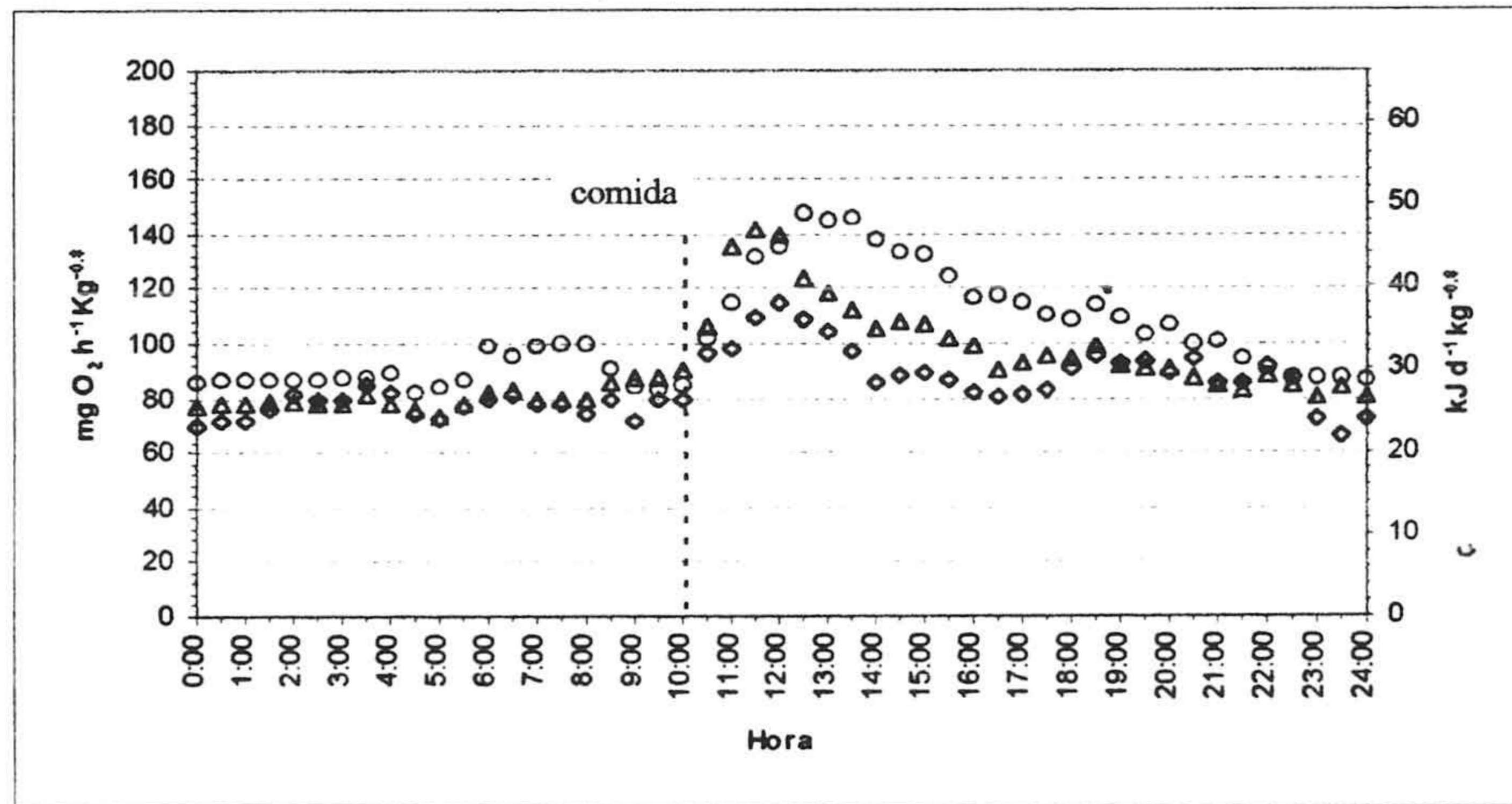
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.14 Tasas metabólicas a 20 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R** Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr)** Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs)** Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA** Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U** Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C** Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.5. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 20 °C e ingesta de 1.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	20	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.25	0.25	0.29	0.27	
Hora del pico:	12 a.m.	Peso (kg):	1.53	1.57	1.81	1.6	0.2
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.886	0.887	0.878	0.884	0.005
			1.439	1.440	1.428	1.436	0.023

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	133.8	125.8	150.3	136.6	12.5	82.4	77.5	92.4	84.1	7.6
0:30	131.5	121.8	148.6	134.0	13.6	81.0	75.0	91.4	82.5	8.3
1:00	121.4	118.7	148.6	129.6	16.5	74.7	73.1	91.4	79.7	10.1
1:30	124.2	123.3	145.2	130.9	12.4	76.5	75.9	89.3	80.6	7.6
2:00	140.0	115.2	136.2	130.5	13.4	86.2	70.9	83.8	80.3	8.2
2:30	140.0	124.3	143.1	135.8	10.1	86.2	76.6	88.0	83.6	6.1
3:00	140.6	121.3	146.9	136.2	13.4	86.5	74.7	90.3	83.9	8.2
3:30	132.1	123.8	138.4	131.4	7.3	81.3	76.3	85.1	80.9	4.4
4:00	128.7	124.8	132.0	128.5	3.6	79.2	76.9	81.1	79.1	2.1
4:30	132.7	113.1	129.4	125.1	10.5	81.7	69.7	79.6	77.0	6.4
5:00	133.2	125.3	142.2	133.6	8.4	82.0	77.2	87.4	82.2	5.1
5:30	133.2	138.5	146.0	139.3	6.4	82.0	85.3	89.8	85.7	3.9
6:00	132.1	128.9	134.9	132.0	3.0	81.3	79.4	83.0	81.2	1.8
6:30	128.1	129.9	136.7	131.6	4.5	78.9	80.0	84.0	81.0	2.7
7:00	135.5	121.8	136.2	131.2	8.1	83.4	75.0	83.8	80.7	5.0
7:30	129.8	104.5	149.9	128.1	22.7	79.9	64.4	92.2	78.8	13.9
8:00	134.3	108.1	151.6	131.3	21.9	82.7	66.6	93.2	80.8	13.4
8:30	144.5	122.3	177.6	148.1	27.9	89.0	75.3	109.2	91.2	17.1
9:00	148.5	144.1	191.7	161.4	26.3	91.4	88.8	117.9	99.4	16.1
9:30	141.1	146.1	181.1	156.1	21.8	86.9	90.0	111.3	96.1	13.3
10:00	154.7	149.2	180.2	161.3	16.6	95.2	91.9	110.8	99.3	10.1
10:30	172.2	174.5	173.8	173.5	1.2	106.0	107.5	106.9	106.8	0.8
11:00	185.2	169.5	171.7	175.4	8.5	114.0	104.4	105.6	108.0	5.2
11:30	187.4	171.0	184.9	181.1	8.9	115.4	105.3	113.7	111.5	5.4
12:00	190.2	178.6	204.6	191.1	13.0	117.1	110.0	125.8	117.6	7.9
12:30	182.3	182.6	199.9	188.3	10.0	112.3	112.5	122.9	115.9	6.1
13:00	175.0	180.6	194.7	183.4	10.2	107.7	111.3	119.7	112.9	6.2
13:30	177.8	175.5	191.3	181.6	8.5	109.5	108.1	117.6	111.7	5.1
14:00	159.2	176.6	174.7	170.1	9.5	98.0	108.8	107.4	104.7	5.8
14:30	155.8	156.8	183.2	165.3	15.5	95.9	96.6	112.6	101.7	9.5
15:00	156.9	163.4	185.3	168.5	14.9	96.6	100.6	114.0	103.7	9.1
15:30	160.9	164.4	181.1	168.8	10.8	99.1	101.3	111.3	103.9	6.5
16:00	158.6	166.4	173.8	166.3	7.6	97.7	102.5	106.9	102.3	4.6
16:30	156.9	161.8	161.0	159.9	2.6	96.6	99.7	99.0	98.4	1.6
17:00	142.8	153.2	169.1	155.0	13.2	87.9	94.4	104.0	95.4	8.1
17:30	142.2	150.7	170.0	154.3	14.2	87.6	92.8	104.5	95.0	8.7
18:00	141.7	140.5	150.3	144.2	5.3	87.2	86.6	92.4	88.7	3.2
18:30	135.5	140.0	162.3	145.9	14.3	83.4	86.3	99.8	89.8	8.7
19:00	146.8	136.0	167.8	150.2	16.2	90.4	83.8	103.2	92.4	9.9
19:30	132.1	150.7	162.7	148.5	15.4	81.3	92.8	100.0	91.4	9.4
20:00	138.3	141.6	161.0	146.9	12.3	85.2	87.2	99.0	90.4	7.5
20:30	142.2	148.1	166.5	152.3	12.7	87.6	91.3	102.4	93.7	7.7
21:00	143.9	144.1	155.9	148.0	6.8	88.6	88.8	95.8	91.1	4.1
21:30	129.3	142.1	160.6	144.0	15.7	79.6	87.5	98.7	88.6	9.6
22:00	136.6	135.5	162.3	144.8	15.2	84.1	83.4	99.8	89.1	9.2
22:30	133.2	133.9	161.0	142.7	15.8	82.0	82.5	99.0	87.8	9.7
23:00	132.7	138.5	150.3	140.5	9.0	81.7	85.3	92.4	86.5	5.5
23:30	131.0	119.2	149.0	133.1	15.0	80.6	73.4	91.6	81.9	9.2
24:00	133.2	131.9	154.2	139.8	12.5	82.0	81.3	94.8	86.0	7.6
Medias										
R	145.3	142.0	161.8	149.7	10.6	89.5	87.5	99.5	92.1	6.4



Tabla 3.5. Resumen energético, a 20 °C e ingesta de 1.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
C	58.7	± 5.4	36.2	± 3.3	100
R	49.5	± 3.5	30.5	± 2.1	84.3
Rr	46.9	± 4.1	28.9	± 2.5	79.8
SDA	15.2	± 3.2	9.4	± 2.0	25.9
U*	4.1	± 0.3	2.5	± 0.2	6.9
Rs	34.9	± 3.1	21.5	± 1.9	59.4

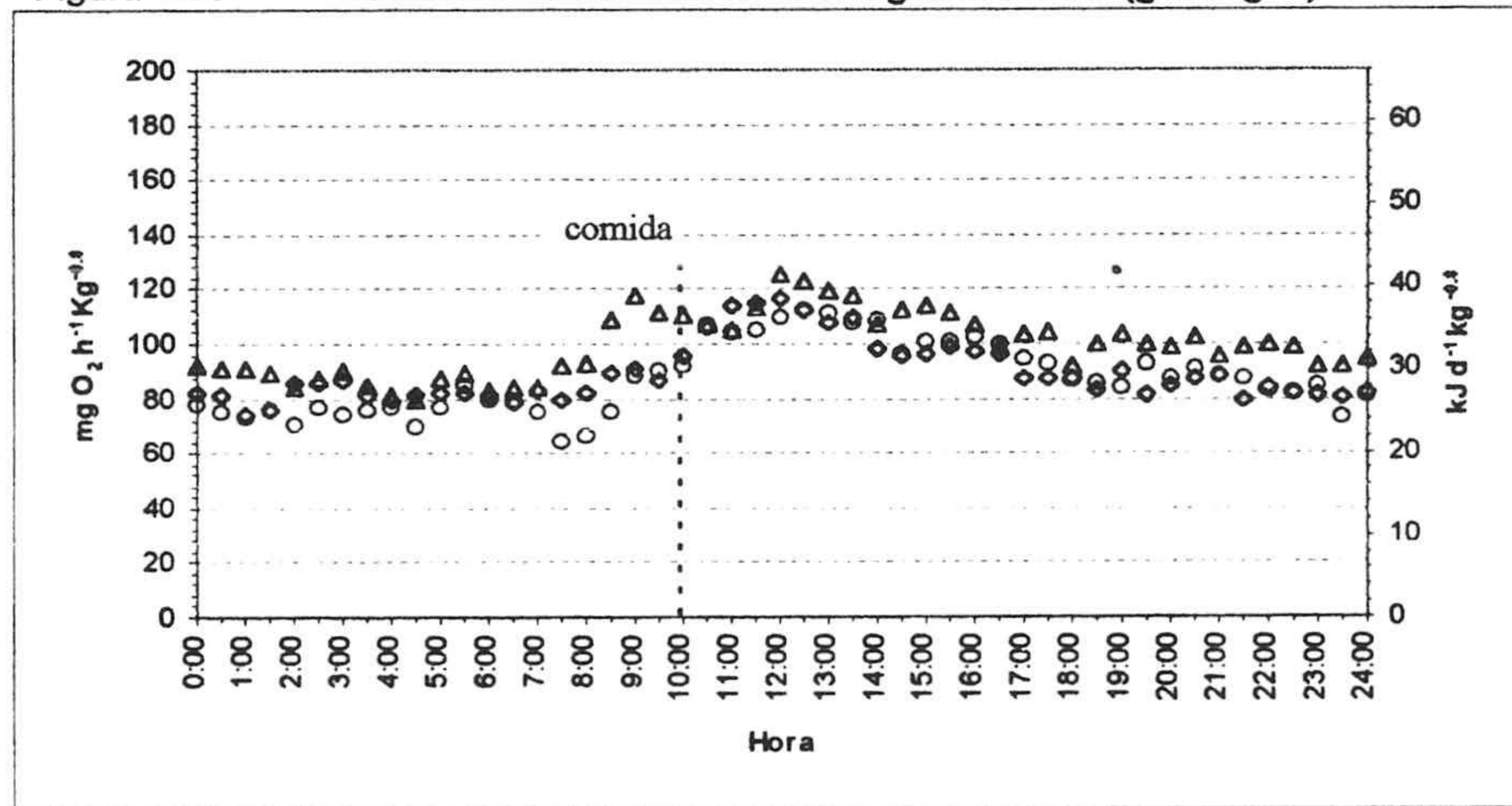
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solom y Brafield (1972)

Figura 3.15 Tasas metabólicas a 20 °C e ingesta de 1.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.6. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 2.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.45	0.47	0.45	0.46	
Hora del pico:	12.30 a.m.	Peso (kg):	2.75	2.90	2.80	2.8	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	Lote 1				Lote 2				Lote 3						
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
	(mgO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )														
0:00	145.6	133.4	155.4	144.8	11.0	89.7	82.2	95.6	89.1	6.7	89.7	82.5	99.2	89.7	8.6
0:30	141.7	133.9	161.4	145.7	14.2	87.2	82.5	99.2	89.7	8.6	93.1	83.4	98.5	91.7	7.6
1:00	151.3	135.5	160.1	149.0	12.5	93.1	83.4	98.5	91.7	7.6	96.3	85.3	92.7	91.4	5.6
1:30	156.4	138.5	150.7	148.5	9.1	96.3	85.3	92.7	91.4	5.6	93.5	85.3	90.8	89.9	4.2
2:00	151.8	138.5	147.8	146.0	6.8	93.5	85.3	90.8	89.9	4.2	85.5	84.7	94.3	88.2	5.3
2:30	138.9	137.5	153.3	143.2	8.8	85.5	84.7	94.3	88.2	5.3	93.8	88.4	92.7	91.7	2.8
3:00	152.4	143.6	150.7	148.9	4.7	93.8	88.4	92.7	91.7	2.8	95.6	91.9	93.5	93.6	1.9
3:30	155.2	149.2	152.0	152.1	3.0	95.6	91.9	93.5	93.6	1.9	90.7	83.1	96.4	90.1	6.6
4:00	147.3	135.0	156.7	146.3	10.9	90.7	83.1	96.4	90.1	6.6	95.6	86.9	94.8	92.4	4.8
4:30	155.2	141.0	154.2	150.1	7.9	95.6	86.9	94.8	92.4	4.8	100.1	85.0	98.7	94.6	8.3
5:00	162.6	138.0	160.6	153.7	13.6	100.1	85.0	98.7	94.6	8.3	97.0	83.8	91.1	90.6	6.6
5:30	157.5	136.0	148.2	147.2	10.8	97.0	83.8	91.1	90.6	6.6	97.0	92.8	93.5	94.4	2.2
6:00	157.5	150.7	152.0	153.4	3.6	97.0	92.8	93.5	94.4	2.2	92.1	90.0	95.8	92.6	3.0
6:30	149.6	146.1	155.9	150.5	4.9	92.1	90.0	95.8	92.6	3.0	102.2	95.3	94.8	97.4	4.1
7:00	166.0	154.7	154.2	158.3	6.6	102.2	95.3	94.8	97.4	4.1	102.9	106.3	100.3	103.1	3.0
7:30	167.1	172.5	163.1	167.6	4.7	102.9	106.3	100.3	103.1	3.0	103.2	92.2	97.9	97.8	5.5
8:00	167.7	149.7	159.3	158.9	9.0	103.2	92.2	97.9	97.8	5.5	106.4	99.7	101.1	102.4	3.5
8:30	172.7	161.8	164.4	166.3	5.7	106.4	99.7	101.1	102.4	3.5	107.7	106.3	101.9	105.3	3.1
9:00	175.0	172.5	165.7	171.1	4.8	107.7	106.3	101.9	105.3	3.1	116.8	109.1	91.1	105.7	13.2
9:30	189.7	177.1	148.2	171.6	21.3	116.8	109.1	91.1	105.7	13.2	130.0	144.7	101.9	125.5	21.8
10:00	211.1	234.9	165.7	203.9	35.2	130.0	144.7	101.9	125.5	21.8	134.9	148.4	118.4	133.9	15.0
10:30	219.0	241.0	192.6	217.5	24.2	134.9	148.4	118.4	133.9	15.0	139.0	170.3	135.5	148.3	19.2
11:00	225.8	276.5	220.4	240.9	31.0	139.0	170.3	135.5	148.3	19.2	139.7	182.8	164.6	162.4	21.6
11:30	226.9	296.8	267.8	263.8	35.1	139.7	182.8	164.6	162.4	21.6	159.2	189.4	184.1	177.5	16.1
12:00	258.5	307.5	299.4	288.4	26.2	159.2	189.4	184.1	177.5	16.1	171.0	183.4	182.5	179.0	6.9
12:30	277.7	297.8	296.8	290.8	11.3	171.0	183.4	182.5	179.0	6.9	159.9	178.1	179.6	172.5	11.0
13:00	259.7	289.2	292.1	280.3	17.9	159.9	178.1	179.6	172.5	11.0	159.5	177.8	176.4	171.3	10.2
13:30	259.1	288.7	287.0	278.3	16.6	159.5	177.8	176.4	171.3	10.2	162.0	168.8	171.7	167.5	5.0
14:00	263.0	274.0	279.3	272.1	8.3	162.0	168.8	171.7	167.5	5.0	151.5	166.3	154.1	157.3	7.9
14:30	246.1	269.9	250.7	255.6	12.6	151.5	166.3	154.1	157.3	7.9	148.4	153.8	149.7	150.6	2.8
15:00	241.0	249.6	243.4	244.7	4.4	148.4	153.8	149.7	150.6	2.8	152.2	155.3	143.4	150.3	6.2
15:30	247.2	252.2	233.2	244.2	9.9	152.2	155.3	143.4	150.3	6.2	141.8	157.8	141.8	147.1	9.3
16:00	230.3	256.2	230.6	239.0	14.9	141.8	157.8	141.8	147.1	9.3	131.0	143.8	137.3	137.4	6.4
16:30	212.8	233.4	223.3	223.2	10.3	131.0	143.8	137.3	137.4	6.4	123.4	141.3	137.1	133.9	9.3
17:00	200.4	229.3	222.9	217.5	15.2	123.4	141.3	137.1	133.9	9.3	117.8	137.5	133.9	129.7	10.5
17:30	191.4	223.2	217.8	210.8	17.1	117.8	137.5	133.9	129.7	10.5	119.2	132.5	133.4	128.4	7.9
18:00	193.6	215.1	216.9	208.6	13.0	119.2	132.5	133.4	128.4	7.9	115.7	126.9	124.2	122.3	5.8
18:30	188.0	206.0	202.0	198.6	9.5	115.7	126.9	124.2	122.3	5.8	114.0	120.9	122.6	119.2	4.6
19:00	185.2	196.3	199.4	193.6	7.5	114.0	120.9	122.6	119.2	4.6	110.9	112.8	119.7	114.5	4.7
19:30	180.1	183.2	194.7	186.0	7.7	110.9	112.8	119.7	114.5	4.7	104.3	112.5	111.9	109.5	4.6
20:00	169.3	182.6	181.9	178.0	7.5	104.3	112.5	111.9	109.5	4.6	100.4	104.4	106.1	103.6	2.9
20:30	163.1	169.5	172.5	168.4	4.8	100.4	104.4	106.1	103.6	2.9	97.3	99.4	101.6	99.4	2.1
21:00	158.1	161.3	165.3	161.6	3.6	97.3	99.4	101.6	99.4	2.1	96.6	95.9	101.9	98.1	3.2
21:30	156.9	155.8	165.7	159.5	5.4	96.6	95.9	101.9	98.1	3.2	91.1	85.6	105.0	93.9	10.0
22:00	147.9	139.0	170.8	152.6	16.4	91.1	85.6	105.0	93.9	10.0	89.3	85.9	104.2	93.2	9.7
22:30	145.1	139.5	169.5	151.4	16.0	89.3	85.9	104.2	93.2	9.7	94.5	87.8	102.1	94.8	7.2
23:00	153.5	142.6	166.1	154.1	11.8	94.5	87.8	102.1	94.8	7.2	94.2	78.8	97.4	90.1	10.0
23:30	153.0	127.9	158.4	146.4	16.3	94.2	78.8	97.4	90.1	10.0	96.6	76.3	91.1	88.0	10.5
24:00	156.9	123.8	148.2	143.0	17.2	96.6	76.3	91.1	88.0	10.5					
Medias															
R	185.3	190.0	190.8	188.7	2.9	114.1	117.0	117.3	116.1	1.8					



Tabla 3.6. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 2.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	101.1	± 2.7	62.2	± 1.7	100
<b>R</b>	62.4	± 1.0	38.4	± 0.6	61.7
<b>Rr</b>	50.5	± 3.6	31.1	± 2.2	49.9
<b>SDA</b>	25.8	± 1.5	15.9	± 0.9	25.5
<b>U*</b>	5.1	± 0.1	3.2	± 0.05	5.1
<b>Rs</b>	36.3	± 2.2	22.4	± 1.4	36.0

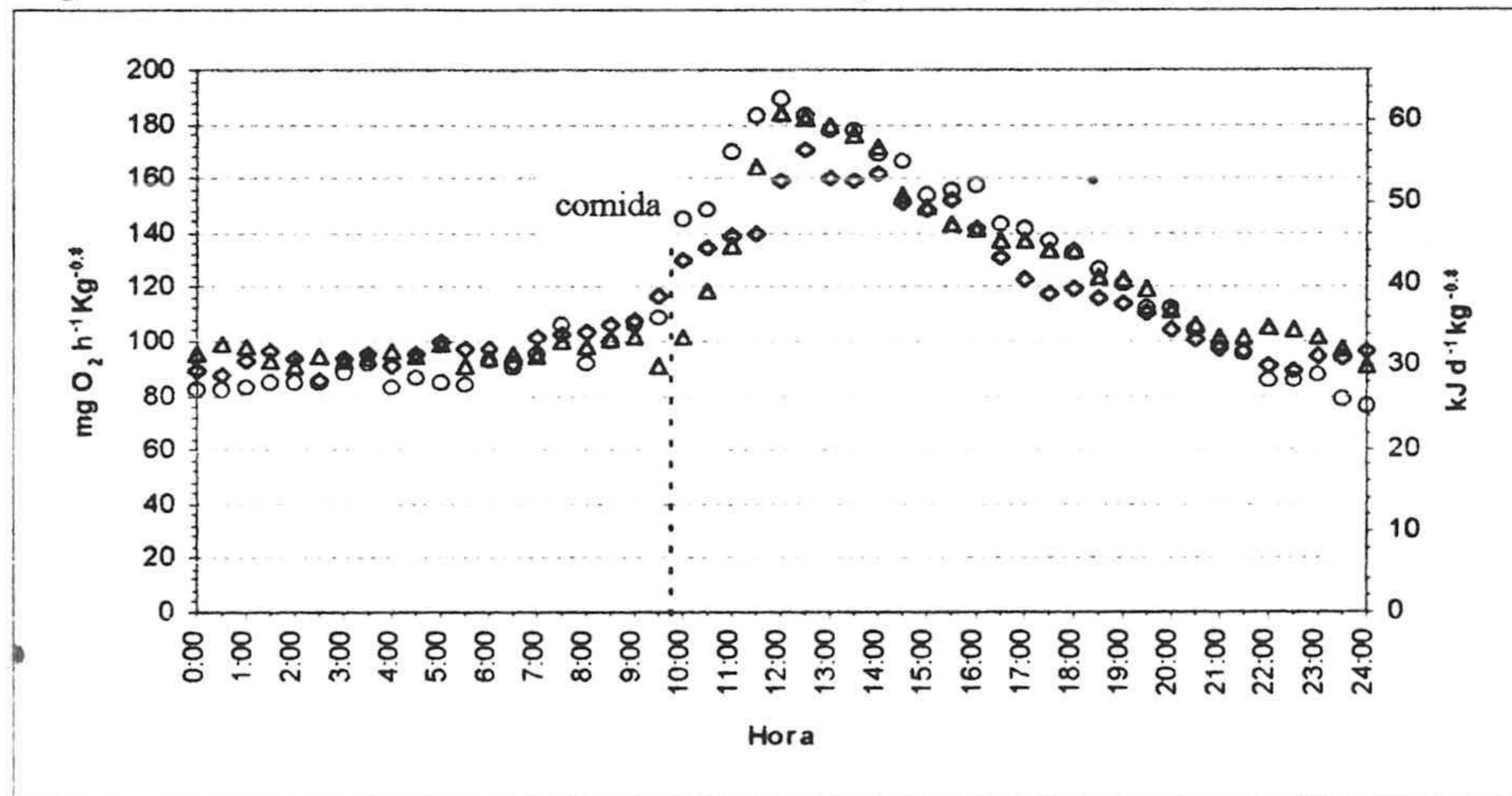
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.16 Tasas metabólicas a 21 °C e ingesta de 2.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.7. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 1.9 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.29	0.32	0.33	0.32	
Hora del pico:	12.00 a.m.	Peso (kg):	1.80	2.00	2.03	1.9	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	136.3	138.0	140.9	138.4	2.3	83.9	85.0	86.6	85.2	1.4
0:30	134.6	135.0	141.4	137.0	3.8	82.9	83.1	86.9	84.3	2.3
1:00	131.2	125.8	144.3	133.8	9.5	80.8	77.5	88.7	82.4	5.8
1:30	130.4	128.4	137.5	132.1	4.8	80.3	79.1	84.5	81.3	2.9
2:00	123.2	122.8	143.5	129.8	11.8	75.9	75.6	88.2	79.9	7.2
2:30	127.9	121.3	137.9	129.0	8.4	78.7	74.7	84.8	79.4	5.1
3:00	134.2	128.9	145.6	136.2	8.6	82.6	79.4	89.5	83.8	5.2
3:30	127.9	119.2	143.1	130.0	12.1	78.7	73.4	88.0	80.0	7.3
4:00	130.4	118.7	146.9	132.0	14.2	80.3	73.1	90.3	81.2	8.6
4:30	126.6	136.5	140.1	134.4	7.0	77.9	84.1	86.1	82.7	4.3
5:00	121.5	124.3	136.7	127.5	8.1	74.8	76.6	84.0	78.5	4.9
5:30	142.2	122.8	138.4	134.5	10.3	87.6	75.6	85.1	82.8	6.3
6:00	141.8	118.2	138.8	132.9	12.8	87.3	72.8	85.3	81.8	7.9
6:30	134.6	123.3	154.6	137.5	15.8	82.9	75.9	95.0	84.6	9.7
7:00	132.5	120.2	152.0	134.9	16.0	81.6	74.1	93.5	83.0	9.8
7:30	138.0	124.8	169.5	144.1	23.0	85.0	76.9	104.2	88.7	14.1
8:00	138.0	130.9	164.0	144.3	17.4	85.0	80.6	100.8	88.8	10.6
8:30	137.2	137.5	167.8	147.5	17.6	84.5	84.7	103.2	90.8	10.7
9:00	139.3	139.0	163.6	147.3	14.1	85.8	85.6	100.6	90.7	8.6
9:30	119.8	158.3	158.4	145.5	22.3	73.8	97.5	97.4	89.6	13.7
10:00	128.3	170.5	179.8	159.5	27.4	79.0	105.0	110.5	98.2	16.9
10:30	153.0	202.4	178.5	178.0	24.7	94.2	124.7	109.8	109.5	15.3
11:00	163.7	213.1	202.0	192.9	25.9	100.8	131.3	124.2	118.7	15.9
11:30	219.6	235.9	204.6	220.0	15.7	135.2	145.3	125.8	135.4	9.8
12:00	209.4	244.5	221.6	225.2	17.8	128.9	150.6	136.3	138.6	11.0
12:30	216.2	234.9	213.9	221.7	11.5	133.1	144.7	131.5	136.5	7.2
13:00	216.2	242.5	211.8	223.5	16.6	133.1	149.4	130.2	137.6	10.3
13:30	218.5	233.9	208.0	220.1	13.0	134.5	144.1	127.9	135.5	8.1
14:00	201.5	219.7	202.0	207.7	10.4	124.1	135.3	124.2	127.9	6.5
14:30	195.3	217.7	194.3	202.4	13.2	120.3	134.1	119.5	124.6	8.2
15:00	197.0	219.7	198.1	204.9	12.8	121.3	135.3	121.8	126.1	7.9
15:30	196.4	226.3	185.3	202.7	21.2	120.9	139.4	114.0	124.8	13.1
16:00	201.5	217.1	188.8	202.5	14.2	124.1	133.8	116.1	124.6	8.9
16:30	197.6	201.9	177.2	192.2	13.2	121.6	124.4	109.0	118.3	8.2
17:00	201.5	204.0	175.1	193.5	16.0	124.1	125.6	107.7	119.1	10.0
17:30	175.0	198.9	183.2	185.7	12.1	107.7	122.5	112.6	114.3	7.5
18:00	176.1	200.4	180.2	185.6	13.0	108.4	123.4	110.8	114.2	8.1
18:30	181.2	197.9	174.2	184.4	12.1	111.6	121.9	107.1	113.5	7.6
19:00	177.8	196.9	164.8	179.8	16.1	109.5	121.3	101.3	110.7	10.0
19:30	167.1	197.9	158.9	174.6	20.6	102.9	121.9	97.7	107.5	12.7
20:00	166.5	176.1	152.5	165.0	11.9	102.5	108.4	93.7	101.6	7.4
20:30	134.3	176.1	149.0	153.1	21.2	82.7	108.4	91.6	94.3	13.1
21:00	137.2	173.5	147.8	152.8	18.7	84.5	106.9	90.8	94.1	11.6
21:30	130.4	162.9	145.6	146.3	16.2	80.3	100.3	89.5	90.0	10.0
22:00	134.9	160.3	144.8	146.7	12.8	83.1	98.8	89.0	90.3	7.9
22:30	124.2	153.2	151.2	142.9	16.2	76.5	94.4	92.9	87.9	10.0
23:00	122.5	152.2	140.5	138.4	15.0	75.4	93.8	86.4	85.2	9.2
23:30	142.8	159.8	147.8	150.1	8.7	87.9	98.4	90.8	92.4	5.4
24:00	115.2	142.6	137.9	131.9	14.7	70.9	87.8	84.8	81.2	9.0
Medias										
R	156.1	169.5	165.0	163.5	6.8	96.1	104.4	101.4	100.7	4.2



Tabla 3.7. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 1.9 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	69.7	± 4.5	42.9	± 2.8	100
<b>R</b>	54.1	± 2.3	33.3	± 1.4	77.5
<b>Rr</b>	47.7	± 4.7	29.3	± 2.9	68.4
<b>SDA</b>	18.6	± 2.9	11.4	± 1.8	26.7
<b>U*</b>	4.5	± 0.2	2.7	± 0.11	6.4
<b>Rs</b>	36.3	± 2.2	22.4	± 1.4	52.1

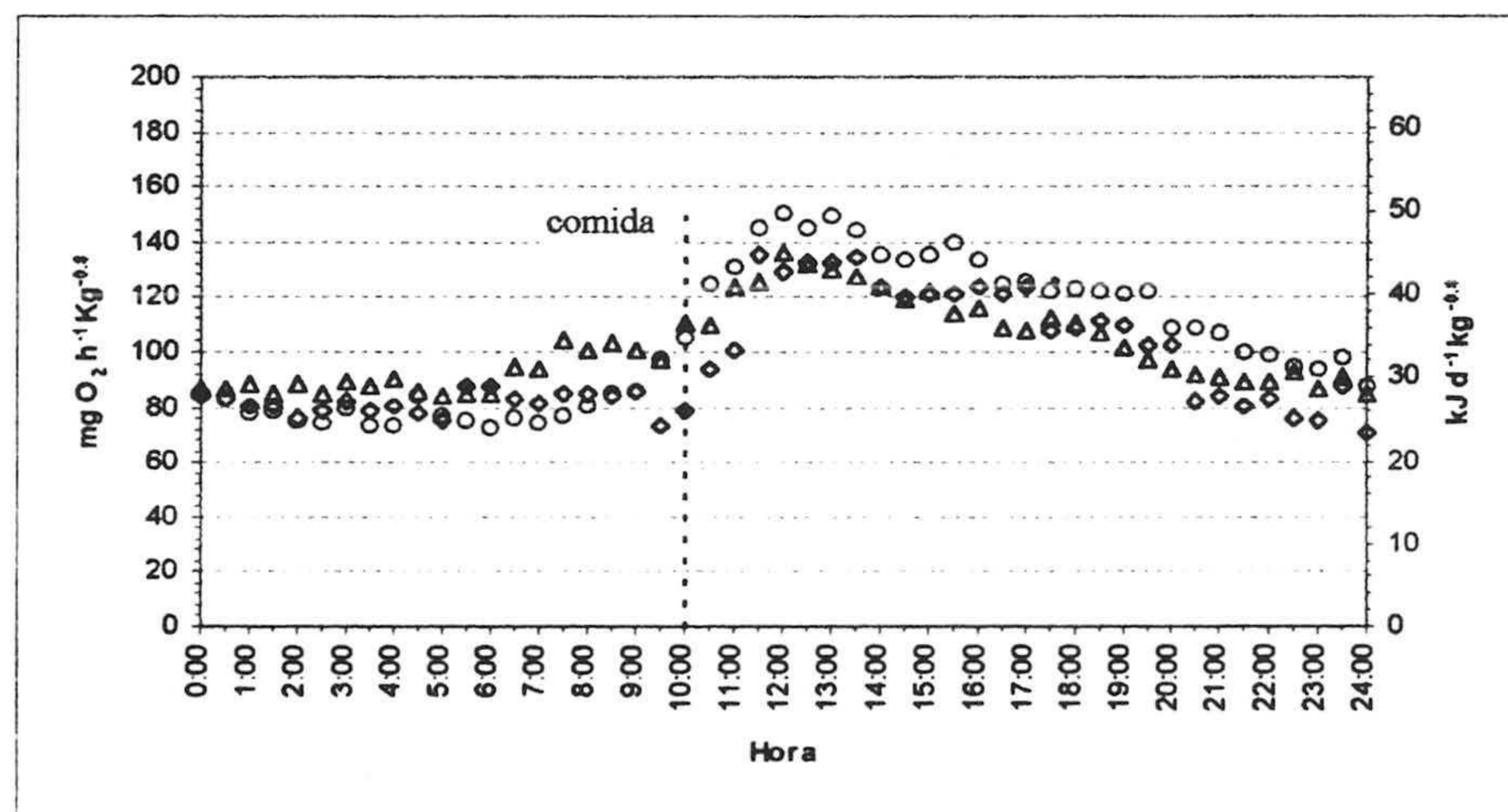
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solon y Brafield (1972)

Figura 3.17 Tasas metabólicas a 21 °C e ingesta de 1.9 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R** Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr)** Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs)** Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA** Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U** Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C** Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.8. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 1.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.28	0.32	0.28	0.29	
Hora del pico:	12.30 a.m.	Peso (kg):	1.70	2.00	1.70	1.8	0.2
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	127.6	139.6	134.1	133.8	6.0	78.5	86.0	82.4	82.3	3.7
0:30	127.9	140.3	140.9	136.4	7.3	78.8	86.4	86.6	83.9	4.5
1:00	126.6	141.2	136.2	134.7	7.4	77.9	87.0	83.8	82.9	4.6
1:30	128.1	140.6	143.5	137.4	8.2	78.9	86.6	88.2	84.6	5.0
2:00	130.1	140.3	136.7	135.7	5.2	80.1	86.4	84.0	83.5	3.2
2:30	128.1	141.2	131.5	133.6	6.8	78.9	87.0	80.9	82.3	4.2
3:00	132.7	142.5	129.0	134.7	7.0	81.7	87.8	79.3	82.9	4.4
3:30	122.5	142.1	128.1	130.9	10.1	75.4	87.5	78.8	80.6	6.2
4:00	130.4	145.1	129.8	135.1	8.7	80.3	89.4	79.8	83.2	5.4
4:30	129.3	132.9	131.5	131.2	1.8	79.6	81.9	80.9	80.8	1.1
5:00	131.5	136.0	143.9	137.1	6.3	81.0	83.8	88.5	84.4	3.8
5:30	128.7	140.5	142.2	137.1	7.4	79.2	86.6	87.4	84.4	4.5
6:00	128.1	160.3	141.4	143.3	16.2	78.9	98.8	86.9	88.2	10.0
6:30	122.5	155.3	130.2	136.0	17.1	75.4	95.6	80.1	83.7	10.6
7:00	132.1	160.3	129.4	140.6	17.1	81.3	98.8	79.6	86.5	10.6
7:30	143.9	162.4	138.8	148.4	12.4	88.6	100.0	85.3	91.3	7.7
8:00	138.3	162.9	136.2	145.8	14.8	85.2	100.3	83.8	89.7	9.2
8:30	140.0	147.6	145.6	144.4	4.0	86.2	90.9	89.5	88.9	2.4
9:00	134.9	136.0	149.5	140.1	8.1	83.1	83.8	91.9	86.2	4.9
9:30	146.8	135.5	141.4	141.2	5.7	90.4	83.4	86.9	86.9	3.5
10:00	129.3	137.5	148.6	138.5	9.7	79.6	84.7	91.4	85.2	5.9
10:30	141.7	165.4	156.7	154.6	12.0	87.2	101.9	96.4	95.2	7.4
11:00	177.8	186.2	189.6	184.5	6.1	109.5	114.7	116.6	113.6	3.7
11:30	203.8	213.6	198.1	205.2	7.8	125.5	131.6	121.8	126.3	4.9
12:00	211.7	219.2	215.2	215.4	3.8	130.3	135.0	132.3	132.6	2.3
12:30	220.7	239.5	211.0	223.7	14.5	135.9	147.5	129.7	137.7	9.0
13:00	202.1	234.9	196.0	211.0	20.9	124.4	144.7	120.5	129.9	13.0
13:30	201.0	236.9	194.3	210.7	22.9	123.7	145.9	119.5	129.7	14.2
14:00	190.8	224.8	188.3	201.3	20.4	117.5	138.4	115.8	123.9	12.6
14:30	195.3	217.1	178.9	197.1	19.2	120.3	133.8	110.0	121.3	11.9
15:00	179.5	215.1	174.7	189.8	22.1	110.5	132.5	107.4	116.8	13.7
15:30	174.4	202.4	178.1	185.0	15.2	107.4	124.7	109.5	113.9	9.4
16:00	169.3	190.3	170.4	176.7	11.8	104.3	117.2	104.8	108.7	7.3
16:30	162.0	190.8	151.2	168.0	20.5	99.7	117.5	92.9	103.4	12.7
17:00	166.0	186.2	154.2	168.8	16.2	102.2	114.7	94.8	103.9	10.1
17:30	164.3	180.1	156.3	166.9	12.1	101.1	110.9	96.1	102.7	7.5
18:00	161.4	176.6	159.7	165.9	9.3	99.4	108.8	98.2	102.1	5.8
18:30	150.2	184.7	149.5	161.4	20.1	92.4	113.8	91.9	99.4	12.5
19:00	146.2	177.6	146.5	156.8	18.0	90.0	109.4	90.1	96.5	11.2
19:30	143.9	167.9	143.1	151.6	14.1	88.6	103.4	88.0	93.3	8.8
20:00	146.4	174.5	138.8	153.2	18.8	90.2	107.5	85.3	94.3	11.7
20:30	143.2	161.8	132.8	146.0	14.7	88.2	99.7	81.7	89.8	9.1
21:00	148.0	163.9	132.4	148.1	15.7	91.1	100.9	81.4	91.2	9.8
21:30	136.1	153.2	126.4	138.6	13.6	83.8	94.4	77.7	85.3	8.4
22:00	137.2	148.1	129.4	138.2	9.4	84.5	91.3	79.6	85.1	5.9
22:30	139.4	141.6	126.4	135.8	8.2	85.8	87.2	77.7	83.6	5.1
23:00	141.7	141.6	129.4	137.5	7.1	87.2	87.2	79.6	84.7	4.4
23:30	140.0	141.6	129.8	137.1	6.4	86.2	87.2	79.8	84.4	4.0
24:00	133.2	140.7	128.1	134.0	6.3	82.0	86.6	78.8	82.5	4.0
Medias										
R	150.7	167.7	150.5	156.3	9.9	92.8	103.3	92.5	96.2	6.1



Tabla 3.8. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 1.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	64.6	± 6.2	39.8	± 3.8	100
<b>R</b>	51.7	± 3.3	31.8	± 2.0	80.0
<b>Rr</b>	45.8	± 3.0	28.2	± 1.9	70.9
<b>SDA</b>	15.2	± 3.6	9.4	± 2.2	23.5
<b>U*</b>	4.3	± 0.3	2.6	± 0.17	6.6
<b>Rs</b>	36.3	± 2.2	22.4	± 1.4	56.3

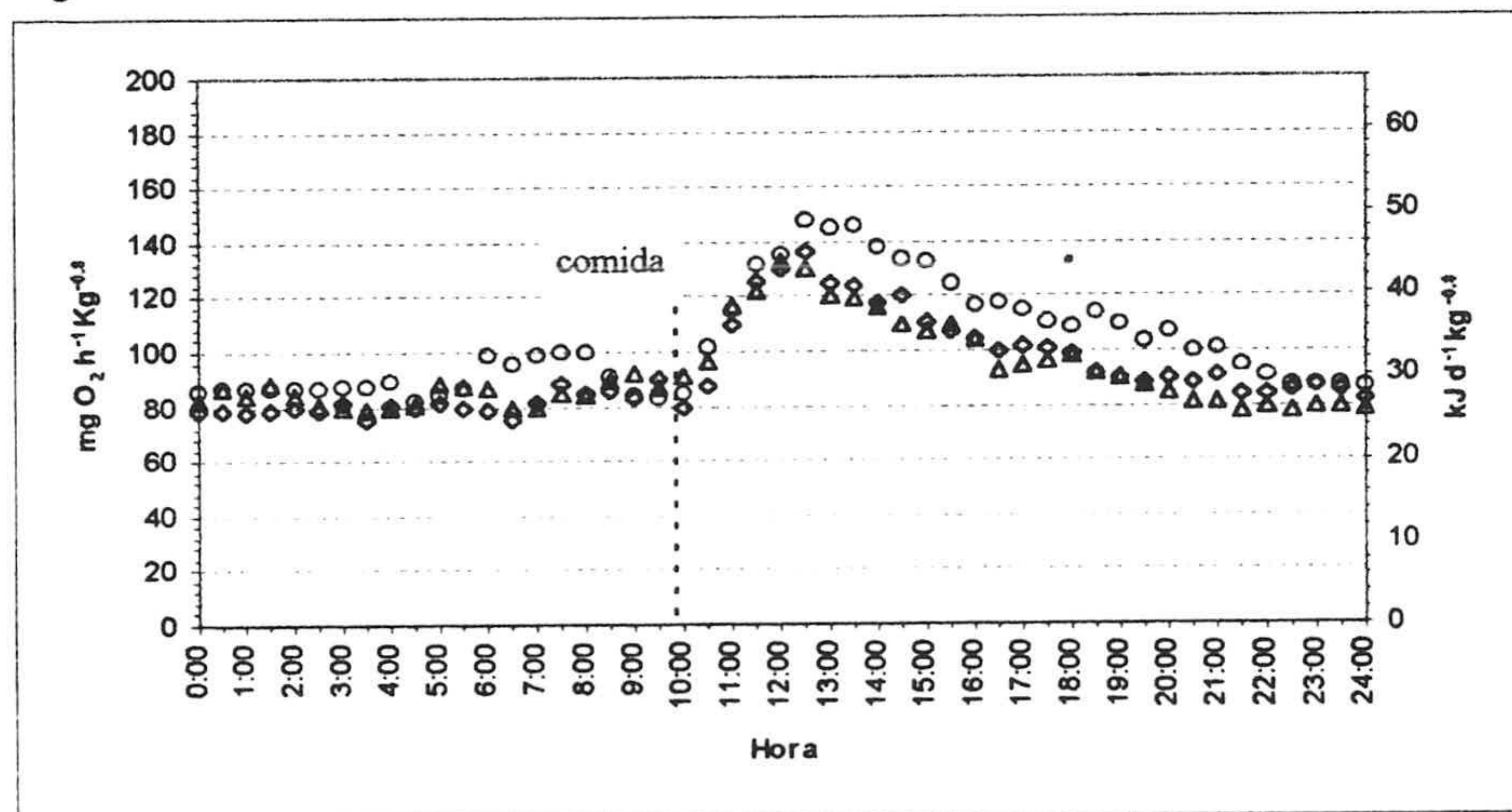
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.18 Tasas metabólicas a 21 °C e ingesta de 1.8 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.9. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.28	0.26	0.31	0.28	
Hora del pico:	13.00 p.m.	Peso (kg):	1.70	1.62	1.90	1.7	0.1
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	149.0	125.3	135.8	136.7	11.9	91.8	77.2	83.5	84.1	7.3
0:30	146.8	124.8	142.2	137.9	11.6	90.4	76.9	87.4	84.9	7.1
1:00	139.4	119.2	146.0	134.9	14.0	85.8	73.4	89.8	83.0	8.5
1:30	129.3	107.1	140.1	125.5	16.8	79.6	65.9	86.1	77.2	10.3
2:00	140.0	112.6	135.4	129.3	14.6	86.2	69.4	83.2	79.6	9.0
2:30	131.5	111.6	134.9	126.0	12.6	81.0	68.8	83.0	77.6	7.7
3:00	140.0	113.6	145.6	133.1	17.1	86.2	70.0	89.5	81.9	10.4
3:30	133.8	112.1	146.5	130.8	17.4	82.4	69.1	90.1	80.5	10.6
4:00	130.4	107.1	150.3	129.3	21.7	80.3	65.9	92.4	79.5	13.3
4:30	146.2	119.7	149.5	138.5	16.3	90.0	73.8	91.9	85.2	10.0
5:00	137.2	115.2	142.2	131.5	14.4	84.5	70.9	87.4	80.9	8.8
5:30	131.0	120.8	150.3	134.0	15.0	80.6	74.4	92.4	82.5	9.2
6:00	135.5	116.2	152.9	134.8	18.4	83.4	71.6	94.0	83.0	11.2
6:30	136.0	115.7	142.2	131.3	13.9	83.8	71.3	87.4	80.8	8.5
7:00	138.9	143.1	164.0	148.6	13.5	85.5	88.1	100.8	91.5	8.2
7:30	145.1	152.7	163.6	153.8	9.3	89.3	94.1	100.6	94.7	5.6
8:00	140.0	146.6	166.5	151.1	13.8	86.2	90.3	102.4	93.0	8.4
8:30	136.0	153.7	161.0	150.3	12.8	83.8	94.7	99.0	92.5	7.9
9:00	128.7	155.8	163.1	149.2	18.1	79.2	95.9	100.3	91.8	11.1
9:30	133.2	154.7	155.9	147.9	12.8	82.0	95.3	95.8	91.1	7.8
10:00	149.0	218.2	164.4	177.2	36.3	91.8	134.4	101.1	109.1	22.4
10:30	162.0	220.7	175.9	186.2	30.7	99.7	135.9	108.2	114.6	18.9
11:00	168.2	215.6	180.2	188.0	24.7	103.6	132.8	110.8	115.7	15.2
11:30	172.7	223.2	185.3	193.8	26.3	106.4	137.5	114.0	119.3	16.2
12:00	176.7	230.3	195.6	200.9	27.2	108.8	141.9	120.3	123.6	16.8
12:30	189.7	232.4	202.8	208.3	21.9	116.8	143.1	124.7	128.2	13.5
13:00	201.5	194.3	243.0	212.9	26.3	124.1	119.7	149.4	131.1	16.0
13:30	193.6	174.0	232.3	200.0	29.7	119.2	107.2	142.8	123.1	18.1
14:00	181.2	172.0	210.5	187.9	20.1	111.6	105.9	129.4	115.7	12.3
14:30	178.9	170.0	211.0	186.6	21.5	110.2	104.7	129.7	114.9	13.1
15:00	184.0	158.8	201.1	181.3	21.3	113.3	97.8	123.7	111.6	13.0
15:30	180.6	168.9	202.4	184.0	17.0	111.2	104.1	124.5	113.2	10.3
16:00	170.5	143.1	181.9	165.2	20.0	105.0	88.1	111.9	101.6	12.2
16:30	168.2	139.5	176.8	161.5	19.5	103.6	85.9	108.7	99.4	11.9
17:00	178.4	152.7	183.2	171.4	16.4	109.8	94.1	112.6	105.5	10.0
17:30	161.4	152.2	172.5	162.1	10.2	99.4	93.8	106.1	99.7	6.2
18:00	162.0	142.6	178.1	160.9	17.8	99.7	87.8	109.5	99.0	10.9
18:30	146.2	130.4	158.9	145.2	14.3	90.0	80.3	97.7	89.3	8.7
19:00	156.9	137.5	163.6	152.7	13.5	96.6	84.7	100.6	94.0	8.3
19:30	147.3	141.0	163.1	150.5	11.4	90.7	86.9	100.3	92.6	6.9
20:00	155.8	142.6	153.7	150.7	7.1	95.9	87.8	94.5	92.8	4.3
20:30	153.5	127.9	152.0	144.5	14.4	94.5	78.8	93.5	88.9	8.8
21:00	151.3	134.4	148.6	144.8	9.0	93.1	82.8	91.4	89.1	5.5
21:30	143.9	126.3	146.0	138.8	10.8	88.6	77.8	89.8	85.4	6.6
22:00	144.5	125.8	143.9	138.1	10.6	89.0	77.5	88.5	85.0	6.5
22:30	152.4	131.4	155.0	146.3	12.9	93.8	80.9	95.3	90.0	7.9
23:00	147.9	119.2	140.9	136.0	14.9	91.1	73.4	86.6	83.7	9.2
23:30	143.4	124.3	146.0	137.9	11.9	88.3	76.6	89.8	84.9	7.2
24:00	144.5	125.8	145.2	138.5	11.0	89.0	77.5	89.3	85.3	6.7
Medias										
R	153.4	147.0	165.4	155.2	9.3	94.4	90.5	101.7	95.5	5.6



Tabla 3.9. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	62.4	± 5.2	38.4	± 3.2	100
<b>R</b>	51.3	± 3.1	31.6	± 1.9	82.2
<b>Rr</b>	46.3	± 3.8	28.5	± 2.3	74.2
<b>SDA</b>	15.1	± 4.0	9.3	± 2.4	24.1
<b>U*</b>	4.2	± 0.3	2.6	± 0.15	6.8
<b>Rs</b>	36.3	± 2.2	22.4	± 1.4	58.2

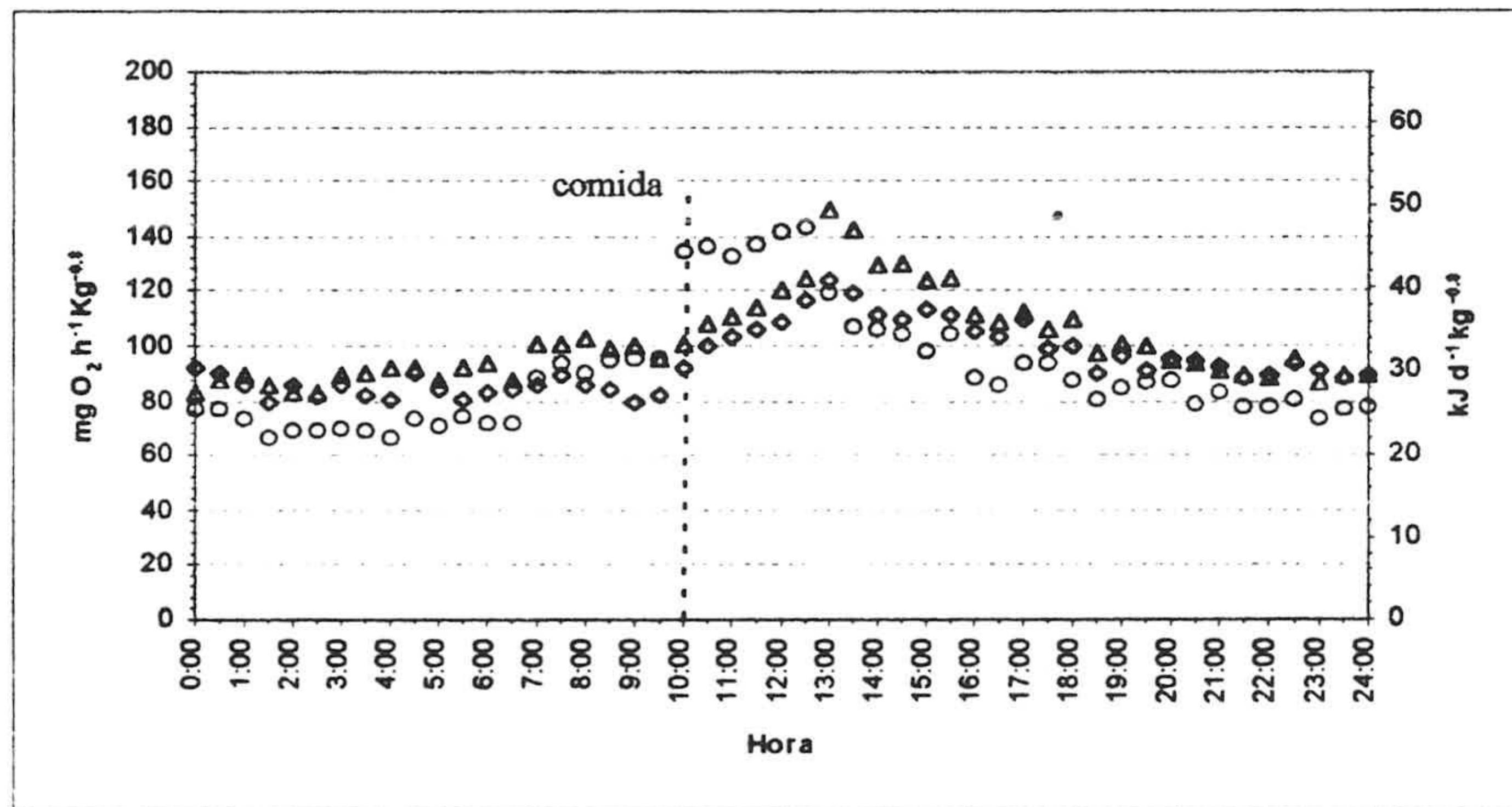
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.19 Tasas metabólicas a 21 °C e ingesta de 1.7 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.10. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 1.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.23	0.23	0.23	0.23	
Hora del pico:	12.00 a.m.	Peso (kg):	1.40	1.40	1.40	1.4	0.0
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	106.7	106.0	107.2	106.6	0.6	65.7	65.3	65.9	65.6	0.3
0:30	94.8	94.9	97.8	95.8	1.7	58.4	58.4	60.1	59.0	1.0
1:00	90.9	103.0	100.4	98.1	6.4	56.0	63.4	61.7	60.4	3.9
1:30	88.1	92.8	96.1	92.3	4.0	54.2	57.2	59.1	56.8	2.4
2:00	106.7	108.1	107.6	107.5	0.7	65.7	66.6	66.2	66.1	0.4
2:30	90.3	97.9	101.6	96.6	5.8	55.6	60.3	62.5	59.5	3.5
3:00	102.7	100.5	103.3	102.2	1.5	63.3	61.9	63.5	62.9	0.9
3:30	102.2	105.5	107.6	105.1	2.7	62.9	65.0	66.2	64.7	1.7
4:00	84.7	102.0	95.7	94.1	8.8	52.1	62.8	58.8	57.9	5.4
4:30	86.9	100.5	97.4	94.9	7.1	53.5	61.9	59.9	58.4	4.4
5:00	99.3	97.9	100.8	99.4	1.4	61.2	60.3	62.0	61.2	0.8
5:30	99.9	106.0	104.6	103.5	3.2	61.5	65.3	64.3	63.7	2.0
6:00	101.6	108.1	112.7	107.5	5.6	62.6	66.6	69.3	66.1	3.4
6:30	89.2	98.4	102.5	96.7	6.8	54.9	60.6	63.0	59.5	4.2
7:00	106.1	96.9	108.9	104.0	6.3	65.3	59.7	67.0	64.0	3.8
7:30	113.5	111.1	113.2	112.6	1.3	69.9	68.4	69.6	69.3	0.8
8:00	111.2	112.1	113.2	112.2	1.0	68.5	69.1	69.6	69.0	0.6
8:30	121.4	111.6	122.6	118.5	6.0	74.7	68.8	75.4	72.9	3.6
9:00	131.0	121.3	129.0	127.1	5.1	80.6	74.7	79.3	78.2	3.1
9:30	119.1	133.9	123.4	125.5	7.6	73.3	82.5	75.9	77.2	4.7
10:00	124.2	129.4	123.0	125.5	3.4	76.5	79.7	75.6	77.3	2.2
10:30	116.3	126.8	130.2	124.5	7.3	71.6	78.1	80.1	76.6	4.4
11:00	135.5	141.6	149.0	142.0	6.8	83.4	87.2	91.6	87.4	4.1
11:30	179.5	182.1	209.2	190.3	16.5	110.5	112.2	128.7	117.1	10.0
12:00	186.3	185.2	214.8	195.4	16.8	114.7	114.1	132.1	120.3	10.2
12:30	176.7	183.2	207.1	189.0	16.0	108.8	112.8	127.3	116.3	9.8
13:00	169.9	176.6	201.6	182.7	16.7	104.6	108.8	123.9	112.4	10.2
13:30	166.5	175.5	190.9	177.7	12.3	102.5	108.1	117.4	109.3	7.5
14:00	179.5	166.9	177.2	174.5	6.7	110.5	102.8	109.0	107.4	4.1
14:30	164.8	162.4	161.4	162.9	1.8	101.5	100.0	99.2	100.2	1.1
15:00	148.5	156.8	154.2	153.1	4.3	91.4	96.6	94.8	94.3	2.6
15:30	145.6	153.2	140.5	146.5	6.4	89.7	94.4	86.4	90.1	4.0
16:00	147.9	146.6	130.2	141.6	9.8	91.1	90.3	80.1	87.2	6.1
16:30	146.8	150.7	143.5	147.0	3.6	90.4	92.8	88.2	90.5	2.3
17:00	145.6	148.1	133.7	142.5	7.7	89.7	91.3	82.2	87.7	4.8
17:30	150.7	137.5	129.8	139.3	10.6	92.8	84.7	79.8	85.8	6.6
18:00	143.9	130.4	129.0	134.4	8.3	88.6	80.3	79.3	82.7	5.1
18:30	138.3	143.6	124.7	135.5	9.7	85.2	88.4	76.7	83.4	6.1
19:00	136.6	131.4	122.1	130.0	7.3	84.1	80.9	75.1	80.0	4.6
19:30	146.2	125.3	117.9	129.8	14.7	90.0	77.2	72.5	79.9	9.1
20:00	130.4	129.4	115.3	125.0	8.4	80.3	79.7	70.9	77.0	5.3
20:30	142.8	135.0	132.4	136.7	5.4	87.9	83.1	81.4	84.2	3.4
21:00	128.7	122.8	120.0	123.8	4.4	79.2	75.6	73.8	76.2	2.8
21:30	119.7	118.2	111.5	116.4	4.4	73.7	72.8	68.5	71.7	2.8
22:00	131.0	122.3	122.1	125.1	5.1	80.6	75.3	75.1	77.0	3.1
22:30	133.8	131.9	115.7	127.1	9.9	82.4	81.3	71.2	78.3	6.2
23:00	132.7	134.4	120.4	129.2	7.6	81.7	82.8	74.0	79.5	4.8
23:30	116.3	114.7	99.1	110.0	9.5	71.6	70.6	60.9	67.7	5.9
24:00	119.1	117.7	101.2	112.7	10.0	73.3	72.5	62.2	69.4	6.2
Medias										
R	127.5	128.3	128.0	128.0	0.4	78.5	79.0	78.7	78.8	0.3



Tabla 3.10. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 1.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>			kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>			%
<b>C</b>	50.2	±	0.0	30.9	±	0.0	100
<b>R</b>	42.3	±	0.1	26.0	±	0.1	84.2
<b>Rr</b>	39.9	±	2.3	24.6	±	1.4	79.4
<b>SDA</b>	7.8	±	3.0	4.8	±	1.9	15.6
<b>U*</b>	3.5	±	0.0	2.1	±	0.01	6.9
<b>Rs</b>	36.3	±	2.2	22.4	±	1.4	72.3

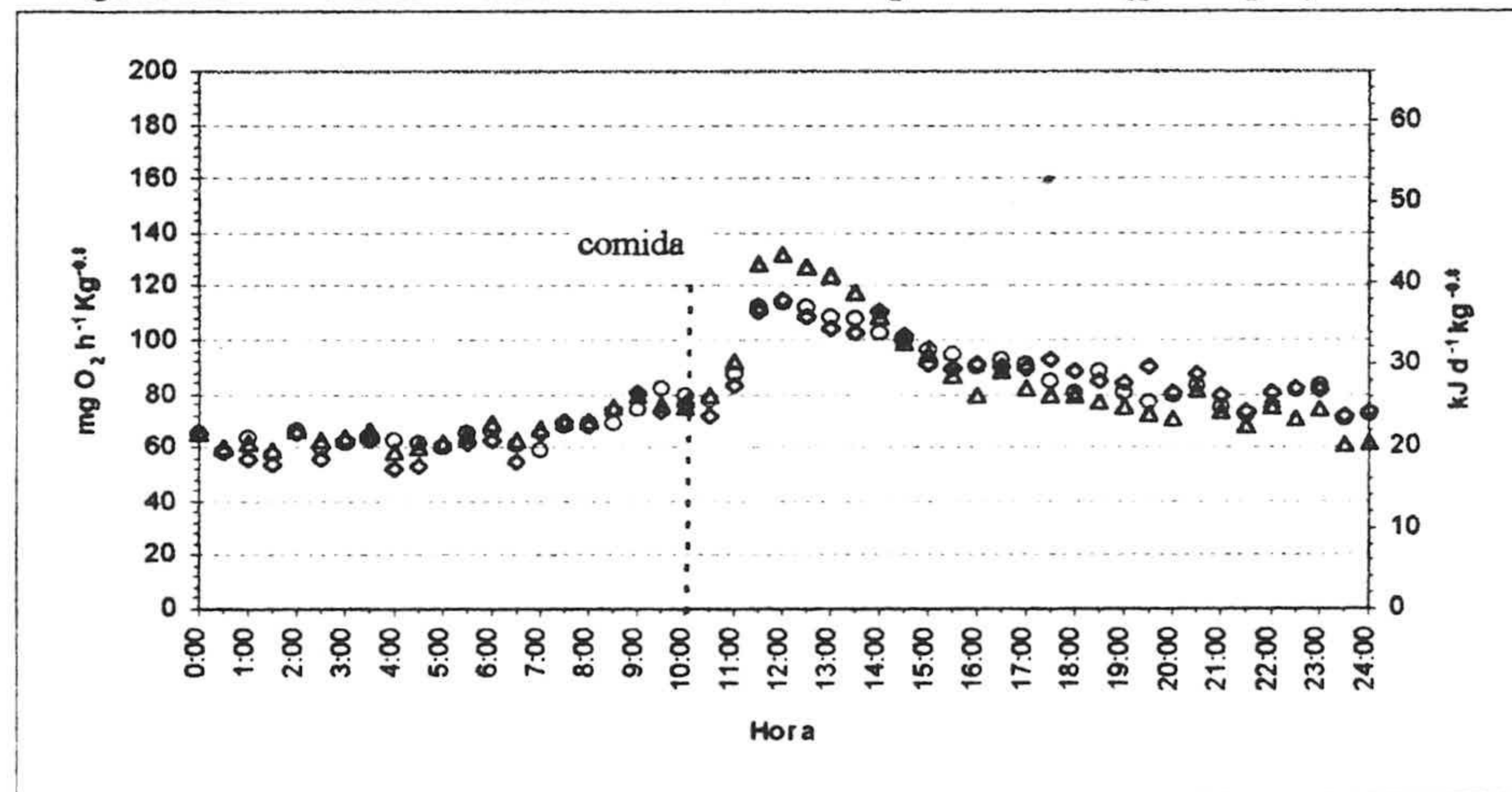
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.20 Tasas metabólicas a 21 °C e ingesta de 1.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.11. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 25 °C e ingesta de 3.1 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	25	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.44	0.62	0.44	0.50	
Hora del pico:	12.00 a.m.	Peso (kg):	2.7	3.8	2.7	3.1	0.6
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.894	0.89	0.908	0.897	0.009
			1.449	1.444	1.467	1.453	0.038

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	170.2	195.8	137.6	167.9	29.2	104.8	120.6	84.6	103.3	18.1
0:30	170.7	193.8	137.2	167.2	28.5	105.1	119.4	84.3	102.9	17.6
1:00	164.3	186.2	143.4	164.7	21.4	101.2	114.7	88.2	101.4	13.3
1:30	163.1	189.2	144.7	165.7	22.4	100.4	116.6	88.9	102.0	13.9
2:00	158.0	184.2	145.5	162.6	19.7	97.3	113.4	89.5	100.1	12.2
2:30	160.6	195.8	146.7	167.7	25.3	98.9	120.6	90.2	103.2	15.7
3:00	157.2	185.7	149.7	164.2	19.0	96.8	114.4	92.0	101.1	11.8
3:30	171.9	185.2	158.8	172.0	13.2	105.8	114.1	97.6	105.9	8.2
4:00	171.1	188.7	158.8	172.9	15.0	105.3	116.3	97.6	106.4	9.4
4:30	171.1	176.6	160.5	169.4	8.2	105.3	108.8	98.7	104.3	5.1
5:00	179.1	191.8	154.2	175.0	19.1	110.2	118.1	94.8	107.7	11.9
5:30	174.9	186.7	160.1	173.9	13.4	107.7	115.0	98.4	107.0	8.3
6:00	175.7	190.8	164.2	176.9	13.3	108.2	117.5	101.0	108.9	8.3
6:30	176.1	226.7	203.7	202.2	25.3	108.4	139.6	125.2	124.4	15.6
7:00	181.6	214.0	231.6	209.1	25.4	111.8	131.8	142.4	128.7	15.5
7:30	166.9	197.8	218.7	194.5	26.1	102.7	121.9	134.4	119.7	16.0
8:00	178.6	211.5	205.8	198.6	17.6	110.0	130.3	126.5	122.3	10.8
8:30	179.9	209.5	197.9	195.8	14.9	110.8	129.0	121.7	120.5	9.2
9:00	173.2	206.9	192.5	190.9	16.9	106.6	127.5	118.3	117.5	10.5
9:30	171.1	209.5	176.7	185.7	20.7	105.3	129.0	108.6	114.3	12.8
10:00	182.4	213.5	219.9	205.3	20.1	112.3	131.5	135.2	126.4	12.3
10:30	217.7	250.5	257.7	242.0	21.3	134.1	154.3	158.5	148.9	13.1
11:00	233.3	251.0	275.6	253.3	21.3	143.6	154.6	169.5	155.9	13.0
11:30	285.0	301.6	282.3	289.6	10.4	175.5	185.8	173.6	178.3	6.6
12:00	286.2	314.2	300.1	300.2	14.0	176.2	193.5	184.5	184.8	8.7
12:30	282.0	308.1	284.3	291.5	14.5	173.7	189.8	174.8	179.4	9.0
13:00	273.2	296.0	278.5	282.6	11.9	168.2	182.3	171.3	173.9	7.4
13:30	264.0	286.9	280.6	277.2	11.8	162.5	176.7	172.5	170.6	7.3
14:00	256.0	280.3	283.9	273.4	15.2	157.6	172.7	174.6	168.3	9.3
14:30	258.1	279.3	278.5	272.0	12.0	158.9	172.0	171.3	167.4	7.4
15:00	250.1	268.2	268.1	262.1	10.4	154.0	165.2	164.9	161.3	6.4
15:30	254.7	270.7	254.0	259.8	9.4	156.8	166.7	156.2	159.9	5.9
16:00	247.2	267.7	240.3	251.7	14.2	152.2	164.9	147.7	154.9	8.9
16:30	250.9	267.7	234.5	251.0	16.6	154.5	164.9	144.2	154.5	10.4
17:00	256.8	268.2	227.4	250.8	21.0	158.1	165.2	139.8	154.4	13.1
17:30	238.3	262.1	224.5	241.6	19.0	146.7	161.4	138.0	148.7	11.8
18:00	232.4	261.1	225.3	239.6	18.9	143.1	160.8	138.5	147.5	11.8
18:30	226.1	263.1	213.3	234.2	25.9	139.2	162.1	131.1	144.1	16.0
19:00	205.5	247.4	204.1	219.0	24.6	126.6	152.4	125.5	134.8	15.2
19:30	200.5	239.8	201.6	214.0	22.4	123.4	147.7	124.0	131.7	13.9
20:00	198.4	230.7	202.9	210.7	17.5	122.2	142.1	124.7	129.7	10.9
20:30	199.2	232.2	203.3	211.6	18.0	122.7	143.1	125.0	130.2	11.2
21:00	192.5	213.5	191.2	199.1	12.5	118.5	131.5	117.6	122.5	7.8
21:30	200.1	204.9	195.8	200.3	4.6	123.2	126.2	120.4	123.3	2.9
22:00	197.1	196.3	194.6	196.0	1.3	121.4	120.9	119.6	120.6	0.9
22:30	185.4	195.3	193.7	191.5	5.3	114.1	120.3	119.1	117.8	3.3
23:00	177.8	215.0	193.3	195.4	18.7	109.5	132.5	118.9	120.3	11.6
23:30	175.7	210.5	191.2	192.5	17.4	108.2	129.7	117.6	118.5	10.8
24:00	177.8	202.4	189.6	189.9	12.3	109.5	124.7	116.6	116.9	7.6
Medias										
R	204.5	229.1	207.7	213.8	13.4	125.9	141.1	127.7	131.6	8.3



Tabla 3.11. Resumen energético, a 25 °C e ingesta de 3.1 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
C	110.4	± 22.1	68.2	± 13.6	100
R	70.7	± 4.4	43.5	± 2.7	63.8
Rr	64.5	± 3.2	39.7	± 2.0	58.2
SDA	26.4	± 5.2	16.3	± 3.2	23.9
U*	5.8	± 0.4	3.6	± 0.2	5.3
Rs	46.2	± 1.7	28.4	± 1.0	41.7

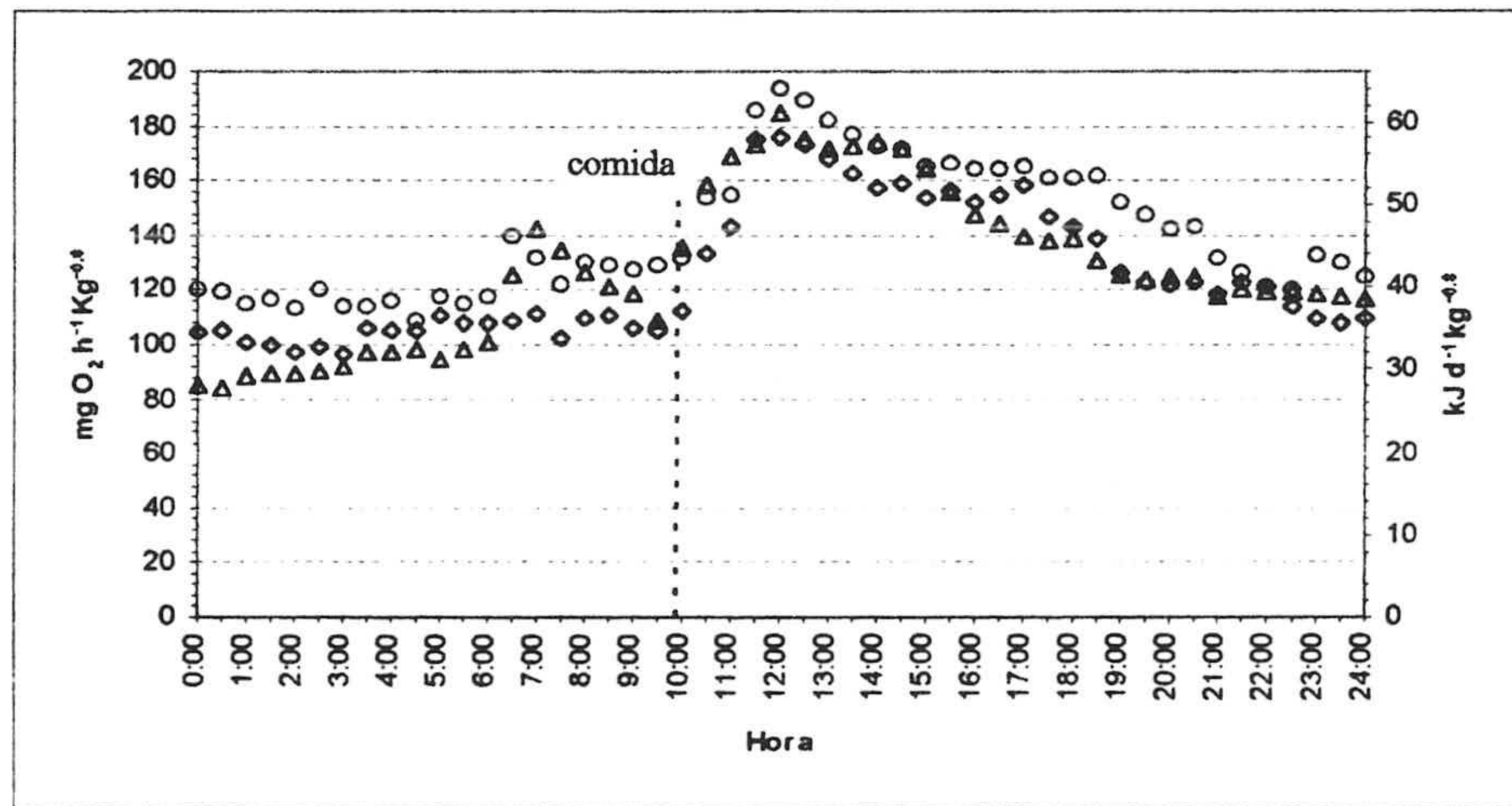
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.21 Tasas metabólicas a 25 °C e ingesta de 3.1 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.12. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 25 °C e ingesta de 2.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	25	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.45	0.41	0.39	0.42	
Hora del pico:	12.00 a.m.	Peso (kg):	2.8	2.5	2.4	2.6	0.2
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.894	0.89	0.908	0.897	0.009
			1.449	1.444	1.467	1.453	0.038

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	139.1	160.2	174.5	157.9	17.8	85.7	98.7	107.3	97.2	10.9
0:30	138.7	157.7	167.3	154.6	14.5	85.4	97.1	102.9	95.1	8.9
1:00	145.0	174.6	161.9	160.5	14.8	89.3	107.5	99.5	98.8	9.1
1:30	146.3	179.2	180.6	168.7	19.4	90.1	110.4	111.0	103.8	11.9
2:00	147.1	182.2	175.0	168.1	18.5	90.6	112.2	107.6	103.5	11.4
2:30	148.4	172.9	169.5	163.6	13.3	91.4	106.5	104.2	100.7	8.2
3:00	151.3	162.3	171.7	161.8	10.2	93.2	100.0	105.5	99.6	6.2
3:30	160.6	161.1	166.6	162.7	3.4	98.9	99.2	102.4	100.2	2.0
4:00	160.6	156.4	166.2	161.1	4.9	98.9	96.4	102.2	99.1	2.9
4:30	162.2	156.0	156.3	158.2	3.5	99.9	96.1	96.1	97.4	2.2
5:00	155.9	152.2	168.9	159.0	8.7	96.0	93.8	103.8	97.9	5.3
5:30	161.8	148.4	168.8	159.7	10.3	99.6	91.4	103.8	98.3	6.3
6:00	166.0	161.9	158.4	162.1	3.8	102.2	99.7	97.4	99.8	2.4
6:30	206.0	192.3	167.5	188.6	19.5	126.8	118.4	103.0	116.1	12.1
7:00	234.1	206.2	180.6	207.0	26.8	144.2	127.0	111.0	127.4	16.6
7:30	221.1	188.5	192.5	200.7	17.8	136.1	116.1	118.3	123.5	11.0
8:00	208.1	166.6	189.3	188.0	20.8	128.1	102.6	116.4	115.7	12.8
8:30	200.1	162.3	193.1	185.2	20.1	123.2	100.0	118.7	114.0	12.3
9:00	194.6	162.3	191.5	182.8	17.8	119.8	100.0	117.7	112.5	10.9
9:30	178.6	158.5	197.4	178.2	19.4	110.0	97.7	121.4	109.7	11.9
10:00	222.4	220.5	206.0	216.3	9.0	136.9	135.8	126.6	133.1	5.6
10:30	260.6	245.4	236.6	247.5	12.1	160.5	151.2	145.5	152.4	7.6
11:00	278.7	244.1	245.9	256.2	19.5	171.6	150.4	151.2	157.7	12.0
11:30	285.4	242.9	248.3	258.9	23.1	175.7	149.6	152.7	159.3	14.3
12:00	303.5	266.5	268.2	279.4	20.9	186.9	164.1	164.9	172.0	12.9
12:30	287.5	249.2	240.6	259.1	25.0	177.0	153.5	147.9	159.5	15.4
13:00	281.6	242.9	231.5	252.0	26.3	173.4	149.6	142.4	155.1	16.2
13:30	283.7	239.1	236.5	253.1	26.6	174.7	147.3	145.4	155.8	16.4
14:00	287.1	229.8	239.8	252.2	30.6	176.8	141.6	147.4	155.2	18.9
14:30	281.6	229.4	226.0	245.7	31.2	173.4	141.3	139.0	151.2	19.2
15:00	271.1	230.6	223.3	241.7	25.7	166.9	142.1	137.3	148.8	15.9
15:30	256.8	227.3	222.3	235.5	18.7	158.1	140.0	136.7	144.9	11.6
16:00	242.9	215.5	215.8	224.7	15.8	149.6	132.7	132.7	138.3	9.8
16:30	237.1	223.5	211.3	224.0	12.9	146.0	137.7	129.9	137.9	8.0
17:00	229.9	216.7	202.6	216.4	13.7	141.6	133.5	124.6	133.2	8.5
17:30	227.0	219.3	199.9	215.4	13.9	139.8	135.1	122.9	132.6	8.7
18:00	227.8	210.4	195.0	211.1	16.4	140.3	129.6	119.9	129.9	10.2
18:30	215.6	210.4	198.9	208.3	8.6	132.8	129.6	122.3	128.2	5.4
19:00	206.4	200.7	190.6	199.2	8.0	127.1	123.6	117.2	122.6	5.0
19:30	203.9	195.6	180.8	193.4	11.7	125.5	120.5	111.2	119.1	7.3
20:00	205.1	185.5	178.1	189.6	14.0	126.3	114.3	109.5	116.7	8.7
20:30	205.5	189.3	169.4	188.1	18.1	126.6	116.6	104.1	115.8	11.2
21:00	193.4	177.9	170.6	180.6	11.6	119.0	109.6	104.9	111.2	7.2
21:30	198.0	186.4	173.3	185.9	12.3	121.9	114.8	106.6	114.4	7.7
22:00	196.7	188.9	172.2	185.9	12.5	121.1	116.4	105.9	114.5	7.8
22:30	195.9	202.0	172.3	190.0	15.7	120.6	124.4	105.9	117.0	9.8
23:00	195.5	195.6	167.3	186.1	16.3	120.3	120.5	102.9	114.6	10.1
23:30	193.4	191.9	167.9	184.4	14.3	119.0	118.2	103.2	113.5	8.9
24:00	191.7	191.4	168.4	183.8	13.3	118.0	117.9	103.6	113.2	8.3
Medias										
R	210.0	196.5	193.0	199.9	9.0	129.3	121.1	118.7	123.0	5.6



Tabla 3.12. Resumen energético, a 25 °C e ingesta de 2.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
<b>C</b>	91.8	± 7.4	56.7	± 4.6	100
<b>R</b>	66.1	± 3.0	40.7	± 1.8	71.8
<b>Rr</b>	61.3	± 4.3	37.7	± 2.7	66.5
<b>SDA</b>	21.5	± 5.6	13.2	± 3.4	23.3
<b>U*</b>	5.4	± 0.2	3.3	± 0.2	5.9
<b>Rs</b>	46.2	± 1.7	28.4	± 1.0	50.1

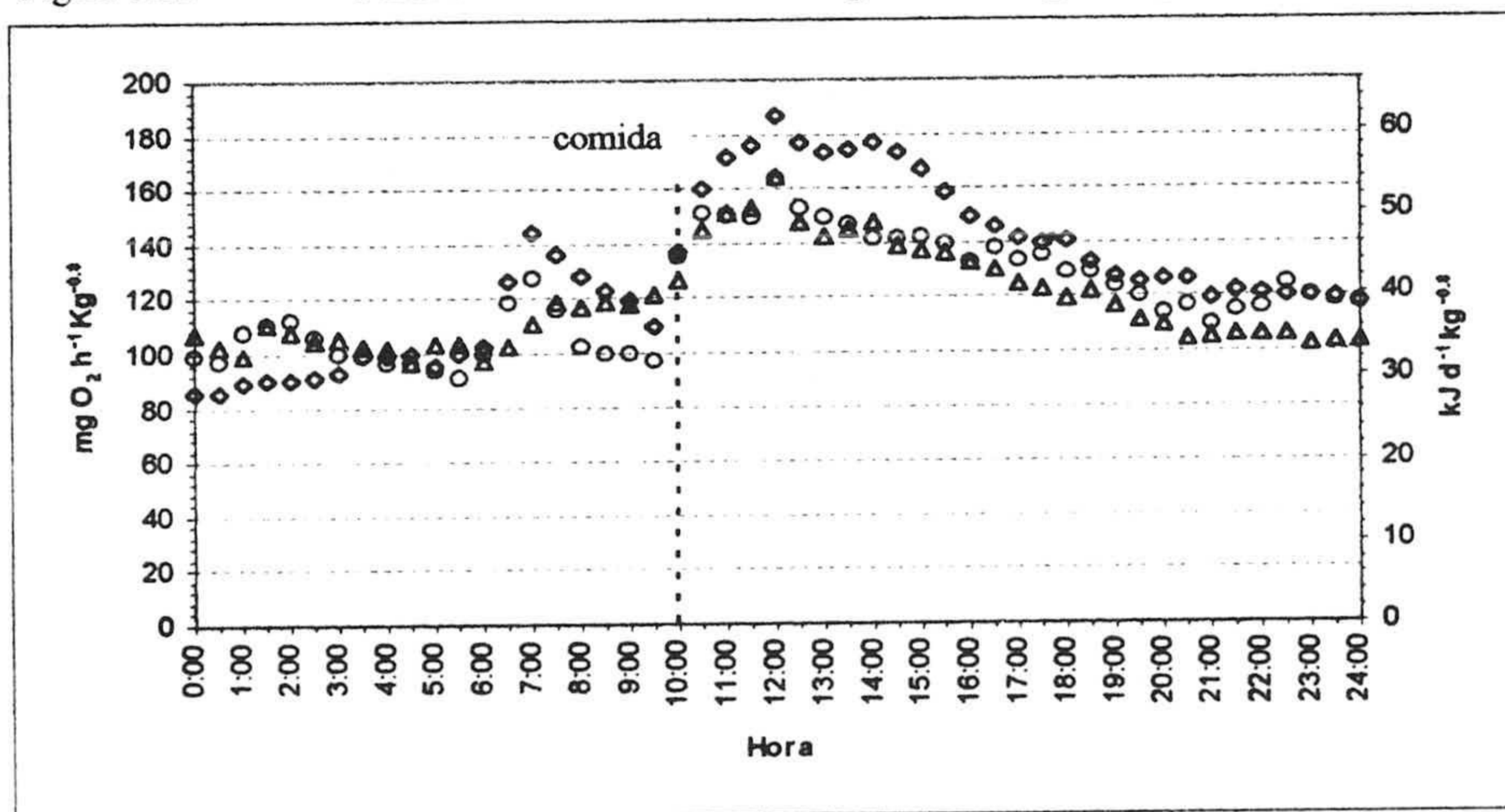
Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Figura 3.22 Tasas metabólicas a 25 °C e ingesta de 2.6 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R** Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- Rreposito (Rr)** Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
- Restandar (Rs)** Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
- SDA** Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
- U** Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- C** Contenido energético de la ingesta



### 3.2.2.3.3 REGISTROS CONTÍNUOS DE CONSUMO DE OXÍGENO DURANTE 72 HORAS: EL PRIMER CICLO EN RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN SEGUIDO DE 48 HORAS DE AYUNO, A TEMPERATURAS DE 20, 21 Y 25 °C

La tasa metabólica total de un pez tiene tres componentes: la tasa metabólica estándar (Rs), el gasto asociado con la actividad muscular y la acción dinámica específica (SDA). Estos registros se han realizado con el doble propósito de medir la tasa metabólica estándar (Rs) y saber el tiempo que tarda en desaparecer el efecto de la alimentación (SDA). El gasto asociado con la actividad muscular no lo hemos valorado separadamente por la dificultad que tiene discriminar entre efecto de la alimentación y el aumento de la actividad al azar.

Después de haber alimentado a los animales con una ración a nivel de mantenimiento durante un periodo de tiempo a cada temperatura, se les ha retirado la alimentación y cuando se ha comprobado que la tasa metabólica se mantenía casi estacionaria, hemos considerado que habían cesado los procesos digestivos y absorbivos, por lo que dicha tasa es la tasa metabólica estándar.

La duración del efecto del SDA se ha medido con el criterio de que la tasa metabólica descienda hasta alcanzar un nivel estable, en unas condiciones de mínimo estrés ambiental y fisiológico, después de que el ayuno haya detenido temporalmente los procesos absorbivos y digestivos. Esta tasa metabólica mínima, que hemos llamado estándar, se alcanza en el segundo día de ayuno y se mantiene estable; por este motivo consideramos que 24 horas no es tiempo suficiente para que cesen los efectos de la alimentación, ya que el consumo de oxígeno sigue disminuyendo en este periodo y no se estabiliza.

El tiempo transcurrido desde la última comida hasta que se alcanza un consumo de oxígeno mínimo y casi estacionario, es lo que hemos calculado como duración del efecto del SDA.

Todos los experimentos que se reflejan en este capítulo de Resultados, se han realizado primero a 20 °C, luego a 21 y 25 °C respectivamente.

El régimen de alimentación y la aclimatación a cada temperatura se ha realizado de la misma forma ya descrita anteriormente.



Cada resumen energético consta de tres columnas que expresan los valores de C, R, Rr, SDA y U en términos energéticos diarios por unidad de peso, por unidad de peso metabólico y en %, correspondiente a las primeras 24 horas, en régimen de alimentación. En el segundo día, puesto que los animales no han comido, solamente se refleja R, cuyos valores son sensiblemente más bajos que los obtenidos en el día anterior. En el tercer día se refleja R que se corresponde precisamente con la tasa metabólica estándar (Rs).

En los dos días de ayuno, se refleja también la tasa metabólica de reposo, para comprobar que solamente el segundo día de ayuno es cuando esta tasa (que está condicionada por la ingesta), alcanza valores menores que la tasa metabólica estándar.



Tabla 3.13. Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 20 °C e ingesta de 2.3 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	20	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	11.30 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.31	0.32	0.49	0.37	
Hora del pico:	14 p.m.	Peso (kg):	1.90	1.97	3.02	2.3	0.6
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.886	0.887	0.878	0.884	0.005
			1.439	1.440	1.428	1.436	0.023

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	131.2	134.4	186.2	150.6	30.8	80.8	82.8	114.5	92.7	18.9
0:30	130.4	137.0	193.0	153.5	34.4	80.3	84.4	118.7	94.4	21.1
1:00	123.2	140.5	192.2	152.0	35.9	75.9	86.6	118.2	93.5	22.0
1:30	127.9	138.5	163.1	143.2	18.1	78.7	85.3	100.3	88.1	11.1
2:00	134.2	134.4	170.8	146.5	21.1	82.6	82.8	105.0	90.2	12.9
2:30	127.9	139.0	180.6	149.2	27.8	78.7	85.6	111.1	91.8	17.0
3:00	130.4	146.6	170.8	149.3	20.3	80.3	90.3	105.0	91.9	12.4
3:30	126.6	142.1	158.9	142.5	16.1	77.9	87.5	97.7	87.7	9.9
4:00	121.5	139.5	157.6	139.5	18.0	74.8	85.9	96.9	85.9	11.0
4:30	142.2	139.5	163.1	148.3	12.9	87.6	85.9	100.3	91.3	7.9
5:00	141.8	147.6	166.1	151.9	12.7	87.3	90.9	102.1	93.5	7.7
5:30	134.6	147.6	194.7	159.0	31.6	82.9	90.9	119.7	97.9	19.4
6:00	132.5	137.0	196.4	155.3	35.7	81.6	84.4	120.8	95.6	21.9
6:30	138.0	141.6	187.9	155.8	27.8	85.0	87.2	115.5	95.9	17.0
7:00	138.0	152.7	178.1	156.3	20.3	85.0	94.1	109.5	96.2	12.4
7:30	137.2	153.8	198.6	163.2	31.8	84.5	94.8	122.1	100.4	19.5
8:00	139.3	149.7	177.2	155.4	19.6	85.8	92.2	109.0	95.6	12.0
8:30	119.8	139.5	198.6	152.6	41.0	73.8	85.9	122.1	93.9	25.1
9:00	128.3	189.8	177.2	165.1	32.5	79.0	116.9	109.0	101.6	20.0
9:30	153.0	172.0	195.6	173.5	21.3	94.2	105.9	120.3	106.8	13.1
10:00	163.7	167.4	173.8	168.3	5.1	100.8	103.1	106.9	103.6	3.1
10:30	197.0	162.9	159.3	173.1	20.8	121.3	100.3	97.9	106.5	12.9
11:00	209.4	181.1	157.2	182.6	26.2	128.9	111.6	96.6	112.4	16.2
11:30	216.2	162.9	168.3	182.4	29.4	133.1	100.3	103.5	112.3	18.1
12:00	220.1	198.9	173.4	197.5	23.4	135.5	122.5	106.6	121.6	14.5
12:30	221.8	221.7	202.8	215.5	10.9	136.6	136.6	124.7	132.6	6.8
13:00	224.1	228.3	214.8	222.4	6.9	138.0	140.6	132.1	136.9	4.4
13:30	229.7	235.4	225.5	230.2	5.0	141.5	145.0	138.6	141.7	3.2
14:00	197.0	219.7	276.3	231.0	40.8	121.3	135.3	169.9	142.2	25.0
14:30	196.4	210.6	272.0	226.3	40.2	120.9	129.7	167.3	139.3	24.6
15:00	201.5	221.2	250.2	224.3	24.5	124.1	136.3	153.9	138.1	15.0
15:30	197.6	198.4	252.8	216.3	31.7	121.6	122.2	155.4	133.1	19.4
16:00	201.5	185.7	231.9	206.4	23.5	124.1	114.4	142.6	127.0	14.3
16:30	175.0	199.4	230.2	201.5	27.7	107.7	122.8	141.5	124.0	16.9
17:00	176.1	207.5	238.7	207.4	31.3	108.4	127.8	146.8	127.7	19.2
17:30	181.2	198.9	232.7	204.3	26.2	111.6	122.5	143.1	125.7	16.0
18:00	177.8	193.3	235.7	202.3	30.0	109.5	119.1	144.9	124.5	18.3
18:30	167.1	179.6	232.7	193.1	34.9	102.9	110.6	143.1	118.9	21.3
19:00	166.5	187.2	216.9	190.2	25.3	102.5	115.3	133.4	117.1	15.5
19:30	134.3	185.7	231.9	184.0	48.8	82.7	114.4	142.6	113.2	29.9
20:00	137.2	167.4	205.4	170.0	34.2	84.5	103.1	126.3	104.6	21.0
20:30	130.4	156.3	205.4	164.0	38.1	80.3	96.3	126.3	100.9	23.4
21:00	130.0	175.9	199.6	168.5	35.4	80.1	108.3	122.7	103.7	21.7
21:30	124.2	177.1	216.9	172.7	46.5	76.5	109.1	133.4	106.3	28.6
22:00	122.5	159.3	215.7	165.8	46.9	75.4	98.1	132.6	102.0	28.8
22:30	142.8	164.4	196.7	168.0	27.1	87.9	101.3	120.9	103.4	16.6
23:00	115.2	152.2	175.7	147.7	30.5	70.9	93.8	108.0	90.9	18.7
23:30	129.5	141.8	163.1	144.8	17.0	79.7	87.3	100.3	89.1	10.4
24:00	121.5	139.5	157.6	139.5	18.0	74.8	85.9	96.9	85.9	11.0
Medias										
R	156.4	169.4	198.4	174.7	21.5	96.3	104.4	122.0	107.6	13.1



Tabla 3.13 (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 20 °C y ayuno de 24 horas

		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Temperatura (°C):	20					
Hora de comida (h):	11.30 a.m.					
Hora del pico:	14 p.m.					
	Ingesta (%):					
	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):					
	Peso (kg):	0.886	0.887	0.878	0.884	0.005
	Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	1.439	1.440	1.428	1.436	0.023

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	121.5	139.5	157.6	139.5	18.0	74.8	85.9	96.9	85.9	11.0
0:30	120.2	135.3	164.0	139.8	22.3	74.0	83.3	100.9	86.1	13.6
1:00	123.1	134.1	167.6	141.6	23.2	75.8	82.6	103.0	87.1	14.2
1:30	117.0	124.3	157.1	132.8	21.4	72.1	76.5	96.6	81.7	13.1
2:00	120.2	132.8	140.5	131.2	10.3	74.0	81.8	86.4	80.7	6.3
2:30	109.2	129.0	141.0	126.4	16.1	67.2	79.5	86.7	77.8	9.8
3:00	101.6	128.2	140.2	123.3	19.7	62.6	79.0	86.2	75.9	12.1
3:30	113.9	127.4	155.6	132.3	21.3	70.1	78.5	95.7	81.4	13.0
4:00	103.9	130.0	155.6	129.9	25.9	64.0	80.1	95.7	79.9	15.9
4:30	112.2	127.1	139.2	126.1	13.5	69.1	78.3	85.6	77.6	8.3
5:00	106.3	126.3	156.9	129.8	25.5	65.4	77.8	96.5	79.9	15.6
5:30	103.2	128.9	128.7	120.3	14.8	63.5	79.4	79.2	74.0	9.1
6:00	113.7	129.3	143.9	129.0	15.1	70.0	79.7	88.4	79.4	9.2
6:30	118.9	122.5	159.3	133.6	22.3	73.2	75.5	97.9	82.2	13.7
7:00	121.6	128.6	127.1	125.8	3.6	74.9	79.2	78.2	77.4	2.2
7:30	120.8	127.7	161.3	136.6	21.7	74.4	78.7	99.2	84.1	13.2
8:00	104.2	129.9	154.5	129.5	25.1	64.2	80.0	95.0	79.7	15.4
8:30	114.0	133.4	143.2	130.2	14.9	70.2	82.2	88.1	80.2	9.1
9:00	127.3	136.4	155.1	139.6	14.2	78.4	84.0	95.4	85.9	8.6
9:30	153.0	154.6	178.3	161.9	14.2	94.2	95.2	109.6	99.7	8.6
10:00	149.4	165.5	192.9	169.3	22.0	92.0	101.9	118.6	104.2	13.5
10:30	145.9	167.5	167.5	160.3	12.5	89.8	103.2	103.0	98.7	7.7
11:00	160.9	164.3	167.5	164.2	3.3	99.1	101.2	103.0	101.1	2.0
11:30	160.1	163.4	142.9	155.5	11.0	98.6	100.7	87.8	95.7	6.9
12:00	153.0	170.7	137.0	153.6	16.9	94.2	105.2	84.2	94.5	10.5
12:30	147.7	164.8	117.5	143.3	23.9	90.9	101.5	72.3	88.2	14.8
13:00	135.0	166.6	130.4	144.0	19.7	83.1	102.6	80.2	88.6	12.2
13:30	134.8	147.4	144.9	142.4	6.7	83.0	90.8	89.1	87.6	4.1
14:00	134.6	148.3	128.8	137.2	10.0	82.8	91.4	79.2	84.5	6.2
14:30	134.9	144.1	117.4	132.1	13.5	83.0	88.8	72.2	81.3	8.4
15:00	133.2	146.3	159.5	146.3	13.2	82.0	90.1	98.1	90.1	8.0
15:30	124.2	142.5	128.4	131.7	9.6	76.5	87.8	79.0	81.1	5.9
16:00	129.6	142.9	129.3	133.9	7.8	79.8	88.0	79.5	82.4	4.8
16:30	124.8	131.0	131.2	129.0	3.6	76.9	80.7	80.7	79.4	2.2
17:00	113.9	125.5	109.9	116.4	8.1	70.1	77.3	67.6	71.7	5.0
17:30	119.8	130.3	105.5	118.5	12.4	73.8	80.2	64.9	73.0	7.7
18:00	99.3	121.3	117.0	112.5	11.7	61.1	74.7	72.0	69.3	7.2
18:30	108.0	125.7	100.2	111.3	13.0	66.5	77.4	61.6	68.5	8.1
19:00	105.5	117.6	108.5	110.5	6.3	65.0	72.4	66.7	68.0	3.9
19:30	110.1	122.4	137.7	123.4	13.8	67.8	75.4	84.7	76.0	8.4
20:00	108.5	120.5	142.8	123.9	17.4	66.8	74.2	87.8	76.3	10.7
20:30	107.1	115.6	105.7	109.4	5.4	65.9	71.2	65.0	67.4	3.4
21:00	114.2	109.2	109.0	110.8	2.9	70.3	67.3	67.0	68.2	1.8
21:30	94.1	111.0	116.8	107.3	11.8	58.0	68.4	71.8	66.1	7.2
22:00	91.1	116.6	101.9	103.2	12.8	56.1	71.8	62.6	63.5	7.9
22:30	100.4	110.6	98.7	103.3	6.4	61.8	68.1	60.7	63.6	4.0
23:00	95.7	94.2	93.6	94.5	1.1	58.9	58.0	57.5	58.1	0.7
23:30	89.8	82.0	86.8	86.2	4.0	55.3	50.5	53.4	53.1	2.4
24:00	92.9	83.8	85.8	87.5	4.8	57.2	51.6	52.7	53.9	2.9
Medias										
R	119.3	132.2	135.5	129.0	8.6	73.4	81.4	83.3	79.4	5.3



Tabla 3.13 (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 24 horas, a 20 °C y ayuno de 48 horas

Temperatura (°C):	20	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	11.30 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):					
Hora del pico:	14 p.m.	Peso (kg):	0.886	0.887	0.878	0.884	0.005
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	1.439	1.440	1.428	1.436	0.023

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	76.7	83.8	85.8	82.1	4.8	57.2	51.6	52.7	50.5	2.9
0:30	66.0	96.9	95.7	86.2	17.5	40.7	59.7	58.8	53.1	10.7
1:00	80.2	91.8	90.5	87.5	6.4	49.4	56.6	55.7	53.9	3.9
1:30	79.0	97.9	86.3	87.7	9.5	48.7	60.3	53.0	54.0	5.9
2:00	83.0	97.9	95.7	92.2	8.1	51.1	60.3	58.8	56.7	5.0
2:30	72.8	92.8	92.7	86.1	11.5	44.8	57.2	57.0	53.0	7.1
3:00	66.0	92.8	92.7	83.9	15.4	40.7	57.2	57.0	51.6	9.5
3:30	66.0	92.8	92.7	83.9	15.4	40.7	57.2	57.0	51.6	9.5
4:00	70.0	85.2	96.1	83.8	13.1	43.1	52.5	59.1	51.6	8.0
4:30	79.0	97.4	93.9	90.1	9.8	48.7	60.0	57.8	55.5	6.0
5:00	73.9	96.4	93.9	88.1	12.3	45.5	59.4	57.8	54.2	7.6
5:30	71.7	95.4	97.4	88.1	14.3	44.1	58.8	59.9	54.3	8.8
6:00	83.0	94.4	98.6	92.0	8.1	51.1	58.1	60.7	56.6	5.0
6:30	68.9	94.4	92.7	85.3	14.3	42.4	58.1	57.0	52.5	8.8
7:00	92.6	103.5	99.5	98.5	5.5	57.0	63.8	61.2	60.6	3.4
7:30	92.6	103.5	99.5	98.5	5.5	57.0	63.8	61.2	60.6	3.4
8:00	76.8	107.6	102.5	95.6	16.5	47.3	66.3	63.0	58.8	10.2
8:30	97.7	104.0	116.6	106.1	9.6	60.1	64.1	71.7	65.3	5.9
9:00	91.4	106.5	110.6	102.9	10.1	56.3	65.6	68.0	63.3	6.2
9:30	87.5	117.7	111.9	105.7	16.0	53.9	72.5	68.8	65.1	9.9
10:00	88.6	120.8	141.4	116.9	26.6	54.6	74.4	86.9	72.0	16.3
10:30	122.5	141.6	150.7	138.3	14.4	75.4	87.2	92.7	85.1	8.8
11:00	138.3	152.7	141.8	144.3	7.5	85.2	94.1	87.2	88.8	4.7
11:30	138.3	152.7	141.8	144.3	7.5	85.2	94.1	87.2	88.8	4.7
12:00	150.2	147.6	149.9	149.2	1.4	92.4	90.9	92.2	91.9	0.8
12:30	127.6	141.0	144.8	137.8	9.0	78.5	86.9	89.0	84.8	5.5
13:00	115.7	140.5	147.3	134.5	16.6	71.2	86.6	90.6	82.8	10.2
13:30	116.3	129.4	129.0	124.9	7.4	71.6	79.7	79.3	76.9	4.6
14:00	116.8	135.0	130.7	127.5	9.5	71.9	83.1	80.3	78.5	5.8
14:30	118.0	137.5	127.3	127.6	9.8	72.6	84.7	78.2	78.5	6.0
15:00	108.9	136.5	127.3	124.2	14.0	67.1	84.1	78.2	76.5	8.6
15:30	108.9	136.5	127.3	124.2	14.0	67.1	84.1	78.2	76.5	8.6
16:00	115.2	129.4	128.5	124.4	8.0	70.9	79.7	79.0	76.5	4.9
16:30	111.2	119.7	117.4	116.1	4.4	68.5	73.8	72.2	71.5	2.7
17:00	113.5	117.2	123.0	117.9	4.8	69.9	72.2	75.6	72.6	2.9
17:30	107.8	121.8	118.3	116.0	7.3	56.4	75.0	72.7	71.4	4.5
18:00	88.1	104.5	110.2	100.9	11.5	54.2	64.4	67.7	62.1	7.0
18:30	97.7	113.6	115.3	108.9	9.7	60.1	70.0	70.9	67.0	6.0
19:00	96.0	106.5	108.0	103.5	6.6	59.1	65.6	66.4	63.7	4.0
19:30	96.0	106.5	108.0	103.5	6.6	59.1	65.6	66.4	63.7	4.0
20:00	83.0	102.0	98.2	94.4	10.1	51.1	62.8	60.4	58.1	6.2
20:30	99.9	109.1	108.5	105.8	5.1	61.5	67.2	66.7	65.1	3.1
21:00	107.8	109.1	102.9	106.6	3.3	66.4	67.2	63.3	65.6	2.1
21:30	88.6	103.0	105.5	99.0	9.1	54.6	63.4	64.9	61.0	5.6
22:00	86.4	98.4	111.9	98.9	12.8	53.2	60.6	68.8	60.9	7.8
22:30	96.5	102.5	106.8	101.9	5.1	59.4	63.1	65.6	62.7	3.1
23:00	92.6	105.0	107.2	101.6	7.9	57.0	64.7	65.9	62.5	4.8
23:30	91.4	108.6	105.1	101.7	9.0	56.3	66.9	64.6	62.6	5.6
24:00	91.4	82.2	105.1	92.9	11.5	56.3	50.6	64.6	57.2	7.0
Medias										
Rs	95.7	111.5	111.9	106.4	9.3	58.9	68.7	68.8	65.5	5.7



**Tabla 3.14 Resumen energético del registro continuo de 72 horas, a 20°C e ingesta a nivel de mantenimiento seguido de 24 y 48 h de ayuno**

Día	Ingesta		Componentes del balance energético medidos			
	(%)	(g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )		(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )	(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	(%)
1° día	0.37	2.3	C	82.4 ± 22.5	50.7 ± 13.9	100
			R	57.8 ± 7.1	35.6 ± 4.3	70.1
			Rr	49.5 ± 8.0	30.5 ± 4.9	60.1
			SDA	22.6 ± 5.2	13.9 ± 3.2	27.4
			U*	4.8 ± 0.6	2.9 ± 0.4	5.8
2° día	--	--	R	42.7 ± 2.8	26.3 ± 1.7	
			Rr	43.4 ± 6.2	26.7 ± 3.8	
3° día	--	--	Rs	34.9 ± 3.1	21.5 ± 1.9	
			Rr	28.9 ± 3.5	17.8 ± 2.1	

Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

R	Valor medio de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
R <sub>reposo</sub> (Rr)	Valores medios nocturnos de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
R <sub>estandar</sub> (Rs)	Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
SDA	Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
U	Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH <sub>3</sub> )
C	Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.15. Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 21 °C e ingesta de 2.0 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.33	0.32	0.33	0.33	
Hora del pico:	12 a.m.	Peso (kg):	2.00	2.00	2.05	2.0	0.0
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
			1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	137.3	139.1	140.9	139.1	1.8	84.5	85.7	86.6	85.6	1.1
0:30	135.6	136.1	141.4	137.7	3.2	83.5	83.8	86.9	84.7	1.9
1:00	132.2	126.9	144.3	134.5	9.0	81.4	78.1	88.7	82.8	5.4
1:30	131.3	129.4	137.5	132.8	4.2	80.9	79.7	84.5	81.7	2.5
2:00	124.1	123.8	143.5	130.5	11.3	76.4	76.2	88.2	80.3	6.9
2:30	128.8	122.3	137.9	129.7	7.9	79.3	75.3	84.8	79.8	4.8
3:00	135.2	129.9	145.6	136.9	8.0	83.2	80.0	89.5	84.3	4.8
3:30	128.8	120.2	143.1	130.7	11.5	79.3	74.0	88.0	80.4	7.0
4:00	131.3	119.7	146.9	132.6	13.7	80.9	73.7	90.3	81.6	8.3
4:30	127.5	137.6	140.1	135.1	6.7	78.5	84.8	86.1	83.1	4.1
5:00	122.4	125.3	136.7	128.1	7.5	75.4	77.2	84.0	78.9	4.6
5:30	143.3	123.8	138.4	135.1	10.1	88.2	76.2	85.1	83.2	6.2
6:00	142.9	119.2	138.8	133.6	12.7	88.0	73.4	85.3	82.2	7.8
6:30	135.6	124.3	154.6	138.2	15.3	83.5	76.6	95.0	85.0	9.3
7:00	133.5	121.2	152.0	135.6	15.5	82.2	74.7	93.5	83.4	9.5
7:30	139.0	125.8	169.5	144.8	22.4	85.6	77.5	104.2	89.1	13.7
8:00	139.0	132.0	164.0	145.0	16.8	85.6	81.3	100.8	89.2	10.3
8:30	138.2	138.6	167.8	148.2	17.0	85.1	85.4	103.2	91.2	10.4
9:00	140.3	140.2	163.6	148.0	13.5	86.4	86.3	100.6	91.1	8.2
9:30	154.1	159.6	163.6	159.1	4.8	94.9	98.3	100.6	97.9	2.9
10:00	154.1	171.9	179.8	168.6	13.2	94.9	105.9	110.5	103.8	8.0
10:30	154.1	204.1	178.5	178.9	25.0	94.9	125.7	109.8	110.1	15.4
11:00	164.9	214.8	202.0	193.9	25.9	101.5	132.3	124.2	119.4	16.0
11:30	221.2	237.9	204.6	221.2	16.7	136.2	146.5	125.8	136.2	10.4
12:00	210.9	246.5	221.6	226.4	18.3	129.9	151.9	136.3	139.3	11.3
12:30	217.8	236.8	213.9	222.8	12.3	134.1	145.9	131.5	137.2	7.7
13:00	217.8	244.5	211.8	224.7	17.4	134.1	150.6	130.2	138.3	10.8
13:30	220.0	235.8	208.0	221.3	14.0	135.5	145.3	127.9	136.2	8.7
14:00	203.0	221.5	202.0	208.8	11.0	125.0	136.4	124.2	128.5	6.8
14:30	196.7	219.4	194.3	203.5	13.9	121.1	135.2	119.5	125.3	8.6
15:00	198.4	221.5	198.1	206.0	13.4	122.2	136.4	121.8	126.8	8.3
15:30	197.9	228.1	185.3	203.8	22.0	121.8	140.5	114.0	125.4	13.6
16:00	203.0	218.9	188.8	203.6	15.1	125.0	134.9	116.1	125.3	9.4
16:30	199.0	203.6	177.2	193.3	14.1	122.5	125.4	109.0	119.0	8.8
17:00	203.0	205.6	175.1	194.6	16.9	125.0	126.7	107.7	119.8	10.5
17:30	176.3	200.5	183.2	186.7	12.5	108.5	123.5	112.6	114.9	7.7
18:00	177.4	202.0	180.2	186.6	13.5	109.2	124.5	110.8	114.8	8.4
18:30	182.5	199.5	174.2	185.4	12.9	112.4	122.9	107.1	114.1	8.0
19:00	179.1	198.5	164.8	180.8	16.9	110.3	122.2	101.3	111.3	10.5
19:30	168.3	199.5	158.9	175.6	21.3	103.6	122.9	97.7	108.1	13.2
20:00	167.7	177.5	152.5	165.9	12.6	103.3	109.3	93.7	102.1	7.9
20:30	135.3	177.5	149.0	154.0	21.5	83.3	109.3	91.6	94.8	13.3
21:00	138.2	174.9	147.8	153.6	19.1	85.1	107.8	90.8	94.6	11.8
21:30	131.3	164.2	145.6	147.1	16.5	80.9	101.1	89.5	90.5	10.2
22:00	135.9	161.6	144.8	147.4	13.1	83.7	99.6	89.0	90.7	8.1
22:30	125.1	154.5	151.2	143.6	16.1	77.0	95.2	92.9	88.4	9.9
23:00	123.4	153.5	140.5	139.1	15.1	76.0	94.5	86.4	85.6	9.3
23:30	143.9	161.1	147.8	150.9	9.1	88.6	99.2	90.8	92.9	5.6
24:00	116.0	143.7	150.3	136.7	18.2	71.4	88.5	92.4	84.1	11.2
Medias										
R	158.4	170.9	165.3	164.9	6.3	97.5	105.3	101.7	101.5	3.9



Tabla 3.15 (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 21 °C y ayuno de 24 horas

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):		Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hora del pico:		Peso (kg):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	116.0	143.7	150.3	136.7	18.2	71.4	88.5	92.4	84.1	11.2
0:30	105.0	130.4	145.6	127.0	20.5	64.6	80.3	89.5	78.2	12.6
1:00	107.3	137.0	141.8	128.7	18.7	66.0	84.4	87.2	79.2	11.5
1:30	107.3	139.0	145.6	130.6	20.5	66.0	85.6	89.5	80.4	12.6
2:00	103.9	134.4	143.9	127.4	20.9	64.0	82.8	88.5	78.4	12.8
2:30	97.7	137.0	140.9	125.2	23.9	60.1	84.4	86.6	77.1	14.7
3:00	112.9	143.6	143.1	133.2	17.6	69.5	88.4	88.0	82.0	10.8
3:30	102.7	142.1	141.4	128.7	22.5	63.3	87.5	86.9	79.2	13.8
4:00	101.0	143.6	144.3	129.7	24.8	62.2	88.4	88.7	79.8	15.2
4:30	103.9	149.2	143.1	132.0	24.6	64.0	91.9	88.0	81.3	15.1
5:00	105.0	142.6	141.4	129.6	21.4	64.6	87.8	86.9	79.8	13.1
5:30	110.1	147.6	141.4	133.0	20.1	67.8	90.9	86.9	81.9	12.4
6:00	117.4	150.7	145.6	137.9	17.9	72.3	92.8	89.5	84.9	11.0
6:30	118.5	160.3	152.9	143.9	22.3	73.0	98.8	94.0	88.6	13.7
7:00	124.8	170.5	149.5	148.2	22.9	76.8	105.0	91.9	91.2	14.1
7:30	130.4	172.0	150.7	151.0	20.8	80.3	105.9	92.7	93.0	12.8
8:00	130.0	172.0	149.0	150.3	21.0	80.0	105.9	91.6	92.5	13.0
8:30	130.2	180.6	158.0	156.3	25.2	80.2	111.3	97.1	96.2	15.6
9:00	127.6	178.1	177.6	161.1	29.0	78.5	109.7	109.2	99.2	17.8
9:30	124.8	156.3	170.0	150.3	23.2	76.8	96.3	104.5	92.5	14.2
10:00	127.6	148.1	152.0	142.6	13.1	78.5	91.3	93.5	87.8	8.1
10:30	110.6	145.1	153.7	136.5	22.8	68.1	89.4	94.5	84.0	14.0
11:00	112.3	141.0	137.1	130.2	15.6	69.2	86.9	84.3	80.1	9.6
11:30	103.9	130.4	135.8	123.4	17.1	64.0	80.3	83.5	75.9	10.5
12:00	134.9	142.6	127.3	134.9	7.7	83.1	87.8	78.2	83.0	4.8
12:30	97.1	136.0	136.7	123.2	22.6	59.8	83.8	84.0	75.9	13.9
13:00	96.5	133.9	126.8	119.1	19.9	59.4	82.5	78.0	73.3	12.2
13:30	101.6	126.3	120.0	116.0	12.8	62.6	77.8	73.8	71.4	7.9
14:00	107.8	125.8	124.7	119.4	10.1	66.4	77.5	76.7	73.5	6.2
14:30	93.7	129.9	122.6	115.4	19.1	57.7	80.0	75.4	71.0	11.8
15:00	91.4	132.4	126.0	116.6	22.0	56.3	81.6	77.5	71.8	13.6
15:30	97.7	125.3	118.3	113.8	14.4	60.1	77.2	72.7	70.0	8.9
16:00	96.5	122.3	115.3	111.4	13.3	59.4	75.3	70.9	68.5	8.2
16:30	100.5	127.3	111.0	113.0	13.5	61.9	78.4	68.3	69.5	8.4
17:00	102.2	117.7	119.6	113.1	9.6	62.9	72.5	73.5	69.6	5.9
17:30	100.5	120.2	119.1	113.3	11.1	61.9	74.1	73.3	69.7	6.8
18:00	105.6	125.8	123.8	118.4	11.2	65.0	77.5	76.1	72.9	6.9
18:30	102.7	112.6	115.3	110.2	6.6	63.3	69.4	70.9	67.8	4.0
19:00	92.6	113.6	107.2	104.5	10.8	57.0	70.0	65.9	64.3	6.6
19:30	85.2	121.8	118.7	108.6	20.3	52.5	75.0	73.0	66.8	12.5
20:00	89.2	121.8	123.0	111.3	19.2	54.9	75.0	75.6	68.5	11.8
20:30	97.1	118.7	114.0	109.9	11.4	59.8	73.1	70.1	67.7	7.0
21:00	94.3	117.7	106.8	106.2	11.7	58.0	72.5	65.6	65.4	7.2
21:30	83.5	118.7	109.7	104.0	18.3	51.4	73.1	67.5	64.0	11.3
22:00	85.8	116.2	111.9	104.6	16.4	52.8	71.6	68.8	64.4	10.1
22:30	83.0	103.0	110.6	98.9	14.3	51.1	63.4	68.0	60.8	8.8
23:00	81.3	116.2	109.3	102.3	18.5	50.0	71.6	67.2	62.9	11.4
23:30	95.4	117.2	112.7	108.4	11.5	58.7	72.2	69.3	66.7	7.1
24:00	97.1	110.0	106.3	104.5	6.7	59.8	67.8	65.4	64.3	4.1
Media										
R	105.0	135.7	132.5	124.4	16.9	64.6	83.6	81.5	76.6	10.4



Tabla 3.15 (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 21 °C y ayuno de 48 horas

Temperatura (°C):	21	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):		Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hora del pico:		Peso (kg):	0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	97.1	110.0	106.3	104.5	6.7	59.8	67.8	65.4	64.3	4.1
0:30	105.0	119.7	113.2	112.6	7.4	64.6	73.7	69.6	69.3	4.5
1:00	107.3	109.5	109.3	108.7	1.3	66.0	67.5	67.2	66.9	0.8
1:30	93.7	106.0	105.5	101.7	6.9	57.7	65.3	64.9	62.6	4.3
2:00	103.9	122.2	109.3	111.8	9.4	64.0	75.3	67.2	68.8	5.8
2:30	97.7	99.9	104.2	100.6	3.3	60.1	61.5	64.1	61.9	2.0
3:00	112.9	106.0	122.6	113.8	8.3	69.5	65.3	75.4	70.0	5.1
3:30	102.7	107.0	105.9	105.2	2.2	63.3	65.9	65.1	64.8	1.4
4:00	101.0	120.7	109.3	110.4	9.9	62.2	74.3	67.2	67.9	6.1
4:30	103.9	111.1	116.6	110.5	6.4	64.0	68.4	71.7	68.0	3.9
5:00	105.0	113.6	119.6	112.7	7.3	64.6	70.0	73.5	69.4	4.5
5:30	110.1	119.7	123.8	117.9	7.1	67.8	73.7	76.1	72.5	4.3
6:00	117.4	113.1	116.6	115.7	2.3	72.3	69.7	71.7	71.2	1.4
6:30	118.5	110.0	117.9	115.5	4.7	73.0	67.8	72.5	71.1	2.9
7:00	124.8	123.7	124.7	124.4	0.6	76.8	76.2	76.7	76.6	0.3
7:30	110.6	118.7	114.0	114.4	4.0	68.1	73.1	70.1	70.4	2.5
8:00	131.5	123.7	129.0	128.1	4.0	81.0	76.2	79.3	78.8	2.4
8:30	118.5	139.0	129.8	129.1	10.2	73.0	85.6	79.8	79.5	6.3
9:00	118.5	133.9	129.8	127.4	7.9	73.0	82.5	79.8	78.4	4.9
9:30	124.8	128.8	119.6	124.4	4.6	76.8	79.3	73.5	76.6	2.9
10:00	127.6	137.4	124.7	129.9	6.7	78.5	84.7	76.7	80.0	4.2
10:30	110.6	131.4	123.0	121.7	10.4	68.1	80.9	75.6	74.9	6.4
11:00	112.3	136.4	126.0	124.9	12.1	69.2	84.0	77.5	76.9	7.4
11:30	103.9	120.2	117.9	114.0	8.8	64.0	74.0	72.5	70.1	5.4
12:00	134.9	133.4	136.2	134.8	1.4	83.1	82.2	83.8	83.0	0.8
12:30	97.1	124.2	122.1	114.5	15.1	59.8	76.5	75.1	70.5	9.3
13:00	96.5	123.2	120.9	113.5	14.8	59.4	75.9	74.3	69.9	9.1
13:30	101.6	123.2	111.0	112.0	10.8	62.6	75.9	68.3	68.9	6.7
14:00	107.8	127.3	117.4	117.5	9.7	66.4	78.4	72.2	72.3	6.0
14:30	93.7	118.2	111.0	107.6	12.6	57.7	72.8	68.3	66.2	7.7
15:00	91.4	110.0	105.5	102.3	9.7	56.3	67.8	64.9	63.0	6.0
15:30	97.7	119.7	112.7	110.0	11.3	60.1	73.7	69.3	67.7	6.9
16:00	96.5	117.1	114.4	109.4	11.2	59.4	72.2	70.4	67.3	6.9
16:30	100.5	109.0	105.1	104.9	4.3	61.9	67.2	64.6	64.5	2.6
17:00	102.2	115.1	110.6	109.3	6.6	62.9	70.9	68.0	67.3	4.0
17:30	100.5	117.6	108.9	109.0	8.6	61.9	72.5	67.0	67.1	5.3
18:00	105.6	107.5	108.5	107.2	1.5	65.0	66.2	66.7	66.0	0.9
18:30	102.7	110.5	115.7	109.7	6.5	63.3	68.1	71.2	67.5	4.0
19:00	92.6	106.5	110.2	103.1	9.3	57.0	65.6	67.7	63.4	5.7
19:30	85.2	108.5	110.2	101.3	13.9	52.5	66.8	67.7	62.4	8.6
20:00	89.2	91.3	104.2	94.9	8.1	54.9	56.2	64.1	58.4	5.0
20:30	97.1	106.5	107.2	103.6	5.6	59.8	65.6	65.9	63.8	3.4
21:00	94.3	105.5	109.7	103.2	8.0	58.0	65.0	67.5	63.5	4.9
21:30	83.5	100.4	107.2	97.0	12.2	51.4	61.8	65.9	59.7	7.5
22:00	85.8	100.9	100.4	95.7	8.6	52.8	62.2	61.7	58.9	5.3
22:30	83.0	100.9	98.2	94.0	9.7	51.1	62.2	60.4	57.9	5.9
23:00	81.3	101.4	99.1	93.9	11.0	50.0	62.5	60.9	57.8	6.8
23:30	95.4	105.5	107.2	102.7	6.4	58.7	65.0	65.9	63.2	3.9
24:00	83.5	94.3	97.8	91.9	7.4	51.4	58.1	60.1	56.6	4.5
Media Rs	103.2	115.1	113.7	110.7	6.5	63.6	71.2	70.0	68.3	4.0



**Tabla 3.16. Resumen energético del registro continuo de 72 horas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento seguido de 24 y 48 h de ayuno**

Día	Ingesta		Componentes del balance energético medidos			
	(%)	(g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )		(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )	(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	(%)
1° día	0.32	2.0	C	72.4 ± 1.0	44.5 ± 0.6	100
			R	54.5 ± 2.1	33.6 ± 1.3	75.3
			Rr	48.1 ± 4.7	29.6 ± 2.9	66.5
			SDA	19.0 ± 2.9	11.7 ± 1.8	26.3
			U*	4.5 ± 0.2	2.8 ± 0.1	6.2
2° día	—	—	R	41.1 ± 5.6	25.3 ± 3.4	
			Rr	40.5 ± 6.1	24.9 ± 3.7	
3° día	—	—	Rs	36.3 ± 2.2	22.4 ± 1.4	
			Rr	35.0 ± 1.9	21.5 ± 1.1	

Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas  
 Reposo (Rr) Valores medios nocturnos de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 h  
 Restandar (Rs) Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas  
 SDA Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas  
 U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)  
 C Contenido energético de la ingesta



Tabla 3.17. Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 25 °C e ingesta de 3.1 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Temperatura (°C):	25	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):	10 a.m.	Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.44	0.62	0.44	0.50	
Hora del pico:	12.00 a.m.	Peso (kg):	2.7	3.8	2.7	3.1	0.6
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.894	0.89	0.908	0.897	0.009
			1.449	1.444	1.467	1.453	0.038

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	170.2	195.8	137.6	167.9	29.2	104.8	120.6	84.6	103.3	18.1
0:30	170.7	193.8	137.2	167.2	28.5	105.1	119.4	84.3	102.9	17.6
1:00	164.3	186.2	143.4	164.7	21.4	101.2	114.7	88.2	101.4	13.3
1:30	163.1	189.2	144.7	165.7	22.4	100.4	116.6	88.9	102.0	13.9
2:00	158.0	184.2	145.5	162.6	19.7	97.3	113.4	89.5	100.1	12.2
2:30	160.6	195.8	146.7	167.7	25.3	98.9	120.6	90.2	103.2	15.7
3:00	157.2	185.7	149.7	164.2	19.0	96.8	114.4	92.0	101.1	11.8
3:30	171.9	185.2	158.8	172.0	13.2	105.8	114.1	97.6	105.9	8.2
4:00	171.1	188.7	158.8	172.9	15.0	105.3	116.3	97.6	106.4	9.4
4:30	171.1	176.6	160.5	169.4	8.2	105.3	108.8	98.7	104.3	5.1
5:00	179.1	191.8	154.2	175.0	19.1	110.2	118.1	94.8	107.7	11.9
5:30	174.9	186.7	160.1	173.9	13.4	107.7	115.0	98.4	107.0	8.3
6:00	175.7	190.8	164.2	176.9	13.3	108.2	117.5	101.0	108.9	8.3
6:30	176.1	226.7	203.7	202.2	25.3	108.4	139.6	125.2	124.4	15.6
7:00	181.6	214.0	231.6	209.1	25.4	111.8	131.8	142.4	128.7	15.5
7:30	166.9	197.8	218.7	194.5	26.1	102.7	121.9	134.4	119.7	16.0
8:00	178.6	211.5	205.8	198.6	17.6	110.0	130.3	126.5	122.3	10.8
8:30	179.9	209.5	197.9	195.8	14.9	110.8	129.0	121.7	120.5	9.2
9:00	173.2	206.9	192.5	190.9	16.9	106.6	127.5	118.3	117.5	10.5
9:30	171.1	209.5	176.7	185.7	20.7	105.3	129.0	108.6	114.3	12.8
10:00	182.4	213.5	219.9	205.3	20.1	112.3	131.5	135.2	126.4	12.3
10:30	217.7	250.5	257.7	242.0	21.3	134.1	154.3	158.5	148.9	13.1
11:00	233.3	251.0	275.6	253.3	21.3	143.6	154.6	169.5	155.9	13.0
11:30	285.0	301.6	282.3	289.6	10.4	175.5	185.8	173.6	178.3	6.6
12:00	286.2	314.2	300.1	300.2	14.0	176.2	193.5	184.5	184.8	8.7
12:30	282.0	308.1	284.3	291.5	14.5	173.7	189.8	174.8	179.4	9.0
13:00	273.2	296.0	278.5	282.6	11.9	168.2	182.3	171.3	173.9	7.4
13:30	264.0	286.9	280.6	277.2	11.8	162.5	176.7	172.5	170.6	7.3
14:00	256.0	280.3	283.9	273.4	15.2	157.6	172.7	174.6	168.3	9.3
14:30	258.1	279.3	278.5	272.0	12.0	158.9	172.0	171.3	167.4	7.4
15:00	250.1	268.2	268.1	262.1	10.4	154.0	165.2	164.9	161.3	6.4
15:30	254.7	270.7	254.0	259.8	9.4	156.8	166.7	156.2	159.9	5.9
16:00	247.2	267.7	240.3	251.7	14.2	152.2	164.9	147.7	154.9	8.9
16:30	250.9	267.7	234.5	251.0	16.6	154.5	164.9	144.2	154.5	10.4
17:00	256.8	268.2	227.4	250.8	21.0	158.1	165.2	139.8	154.4	13.1
17:30	238.3	262.1	224.5	241.6	19.0	146.7	161.4	138.0	148.7	11.8
18:00	232.4	261.1	225.3	239.6	18.9	143.1	160.8	138.5	147.5	11.8
18:30	226.1	263.1	213.3	234.2	25.9	139.2	162.1	131.1	144.1	16.0
19:00	205.5	247.4	204.1	219.0	24.6	126.6	152.4	125.5	134.8	15.2
19:30	200.5	239.8	201.6	214.0	22.4	123.4	147.7	124.0	131.7	13.9
20:00	198.4	230.7	202.9	210.7	17.5	122.2	142.1	124.7	129.7	10.9
20:30	199.2	232.2	203.3	211.6	18.0	122.7	143.1	125.0	130.2	11.2
21:00	192.5	213.5	191.2	199.1	12.5	118.5	131.5	117.6	122.5	7.8
21:30	200.1	204.9	195.8	200.3	4.6	123.2	126.2	120.4	123.3	2.9
22:00	197.1	196.3	194.6	196.0	1.3	121.4	120.9	119.6	120.6	0.9
22:30	185.4	195.3	193.7	191.5	5.3	114.1	120.3	119.1	117.8	3.3
23:00	177.8	215.0	193.3	195.4	18.7	109.5	132.5	118.9	120.3	11.6
23:30	175.7	210.5	191.2	192.5	17.4	108.2	129.7	117.6	118.5	10.8
24:00	172.5	210.5	143.6	175.5	33.6	106.2	129.7	88.3	108.1	20.8
Medias										
R	204.4	229.2	206.8	213.5	13.7	125.8	141.2	127.1	131.4	8.5



Tabla 3.17 (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 25 °C y ayuno de 24 horas

Temperatura (°C):	25	Ingesta (%):	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Hora de comida (h):		Ingesta (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> ):	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hora del pico:		Peso (kg):	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		Peso metab. (kg <sup>0.8</sup> ):	0.894	0.89	0.908	0.897	0.009
			1.449	1.444	1.467	1.453	0.038

Hora	<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>)</i>					<i>(mgO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)</i>				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	172.5	210.5	143.6	175.5	33.6	106.2	129.7	88.3	108.1	20.8
0:30	180.5	202.4	146.9	176.6	28.0	111.2	124.7	90.3	108.7	17.3
1:00	174.2	194.3	139.7	169.4	27.6	107.3	119.7	85.9	104.3	17.1
1:30	175.9	193.8	151.9	173.9	21.0	108.3	119.4	93.4	107.0	13.0
2:00	183.5	210.5	154.6	182.9	27.9	113.0	129.7	95.1	112.6	17.3
2:30	174.2	211.5	149.1	178.3	31.4	107.3	130.3	91.7	109.7	19.4
3:00	169.2	206.4	148.5	174.7	29.3	104.2	127.2	91.3	107.5	18.2
3:30	172.5	181.6	144.1	166.1	19.6	106.2	111.9	88.6	102.2	12.1
4:00	168.3	188.2	138.0	164.9	25.3	103.6	115.9	84.9	101.5	15.7
4:30	185.2	187.7	149.7	174.2	21.3	114.0	115.6	92.0	107.2	13.2
5:00	183.5	185.7	151.9	173.7	18.9	113.0	114.4	93.4	106.9	11.7
5:30	175.9	197.8	148.5	174.1	24.7	108.3	121.9	91.3	107.2	15.3
6:00	182.2	199.4	149.7	177.1	25.2	112.2	122.8	92.0	109.0	15.6
6:30	189.8	190.8	154.1	178.2	20.9	116.9	117.5	94.7	109.7	13.0
7:00	206.3	182.2	148.5	179.0	29.0	127.0	112.2	91.3	110.2	17.9
7:30	209.7	189.2	143.0	180.6	34.1	129.1	116.6	87.9	111.2	21.1
8:00	202.9	196.8	149.1	182.9	29.5	124.9	121.2	91.7	112.6	18.2
8:30	209.2	190.3	150.8	183.4	29.8	128.8	117.2	92.7	112.9	18.4
9:00	203.3	185.2	159.6	182.7	22.0	125.2	114.1	98.2	112.5	13.6
9:30	207.1	184.2	161.9	184.4	22.6	127.5	113.4	99.5	113.5	14.0
10:00	201.6	193.8	166.3	187.2	18.6	124.2	119.4	102.2	115.3	11.5
10:30	202.1	174.1	167.9	181.4	18.2*	124.4	107.2	103.3	111.6	11.2
11:00	199.1	203.9	191.2	198.1	6.4	122.6	125.6	117.6	121.9	4.1
11:30	202.1	192.8	170.2	188.3	16.4	124.4	118.7	104.6	115.9	10.2
12:00	190.2	184.2	160.7	178.4	15.6	117.1	113.4	98.8	109.8	9.7
12:30	175.1	175.1	154.1	168.1	12.1	107.8	107.8	94.7	103.5	7.5
13:00	177.2	178.1	139.7	165.0	21.9	109.1	109.7	85.9	101.6	13.6
13:30	169.6	164.4	139.7	157.9	16.0	104.4	101.3	85.9	97.2	9.9
14:00	160.7	166.0	135.2	154.0	16.4	99.0	102.2	83.2	94.8	10.2
14:30	158.6	164.4	128.6	150.6	19.2	97.7	101.3	79.1	92.7	11.9
15:00	150.2	155.8	134.1	146.7	11.3	92.5	96.0	82.5	90.3	7.0
15:30	143.8	153.3	121.9	139.7	16.1	88.6	94.4	75.0	86.0	10.0
16:00	150.6	154.3	126.4	143.8	15.2	92.7	95.1	77.7	88.5	9.4
16:30	143.4	151.3	138.0	144.2	6.7	88.3	93.2	84.9	88.8	4.2
17:00	144.3	143.7	125.3	137.7	10.8	88.8	88.5	77.0	84.8	6.7
17:30	147.6	156.3	132.5	145.5	12.1	90.9	96.3	81.5	89.6	7.5
18:00	149.3	144.2	134.7	142.7	7.4	91.9	88.8	82.8	87.9	4.6
18:30	140.9	146.2	124.7	137.3	11.2	86.7	90.1	76.7	84.5	7.0
19:00	137.9	145.7	134.7	139.5	5.7	84.9	89.8	82.8	85.8	3.6
19:30	134.6	146.2	131.9	137.6	7.6	82.9	90.1	81.1	84.7	4.8
20:00	136.7	141.2	129.7	135.8	5.8	84.2	87.0	79.7	83.6	3.6
20:30	139.6	148.8	135.8	141.4	6.7	86.0	91.6	83.5	87.0	4.2
21:00	137.1	149.8	134.1	140.3	8.3	84.4	92.3	82.5	86.4	5.2
21:30	139.2	143.2	130.8	137.7	6.3	85.7	88.2	80.4	84.8	4.0
22:00	134.1	143.7	128.0	135.3	7.9	82.6	88.5	78.7	83.3	4.9
22:30	131.6	145.7	130.3	135.9	8.6	81.0	89.8	80.1	83.6	5.3
23:00	128.2	142.2	121.9	130.8	10.4	79.0	87.6	75.0	80.5	6.4
23:30	127.0	143.7	117.0	129.2	13.5	78.2	88.5	71.9	79.5	8.4
24:00	140.0	144.1	150.3	144.8	5.2	86.2	88.8	92.4	89.1	3.1
Medias										
R	167.7	173.2	143.2	161.4	15.9	103.3	106.7	88.1	99.3	9.9



Tabla 3.17. (Cont.) Tasas metabólicas en ciclos de 72 horas, a 25 °C y ayuno de 48 horas

		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
Temperatura (°C):	25	0.00	0.00	0.00	0.00	
Hora de comida (h):		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Hora del pico:		0.894	0.89	0.908	0.897	0.009
		1.449	1.444	1.467	1.453	0.038

Hora	$(mgO_2 h^{-1} kg^{-1})$					$(mgO_2 h^{-1} kg^{0.8})$				
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD
0:00	140.0	144.1	150.3	144.8	5.2	86.2	88.8	92.4	89.1	3.1
0:30	135.5	139.0	146.0	140.2	5.4	83.4	85.6	89.8	86.3	3.2
1:00	138.9	131.9	146.9	139.2	7.5	85.5	81.3	90.3	85.7	4.5
1:30	144.5	135.0	152.0	143.8	8.6	89.0	83.1	93.5	88.5	5.2
2:00	143.4	141.0	150.3	144.9	4.8	88.3	86.9	92.4	89.2	2.9
2:30	133.2	129.4	143.5	135.4	7.3	82.0	79.7	88.2	83.3	4.4
3:00	133.2	133.4	148.2	138.3	8.6	82.0	82.2	91.1	85.1	5.2
3:30	137.7	133.9	143.9	138.5	5.0	84.8	82.5	88.5	85.3	3.0
4:00	136.0	132.4	141.4	136.6	4.5	83.8	81.6	86.9	84.1	2.7
4:30	138.9	133.4	148.2	140.2	7.5	85.5	82.2	91.1	86.3	4.5
5:00	171.6	137.5	149.0	152.7	17.3	105.7	84.7	91.6	94.0	10.7
5:30	145.6	141.0	146.9	144.5	3.1	89.7	86.9	90.3	89.0	1.8
6:00	137.2	130.9	143.9	137.3	6.5	84.5	80.6	88.5	84.5	3.9
6:30	147.9	136.0	141.4	141.7	6.0	91.1	83.8	86.9	87.2	3.7
7:00	144.5	127.3	142.2	138.0	9.3	89.0	78.4	87.4	84.9	5.7
7:30	131.5	131.4	151.6	138.2	11.6	81.0	80.9	93.2	85.0	7.1
8:00	137.7	131.9	164.8	144.8	17.6	84.8	81.3	101.3	89.1	10.7
8:30	151.8	145.6	157.6	151.7	6.0	93.5	89.7	96.9	93.4	3.6
9:00	140.0	145.6	161.0	148.9	10.9	86.2	89.7	99.0	91.6	6.6
9:30	148.5	151.7	181.1	160.4	18.0	91.4	93.4	111.3	98.7	11.0
10:00	155.2	154.7	181.1	163.7	15.1	95.6	95.3	111.3	100.7	9.2
10:30	157.5	160.8	187.0	168.5	16.2	97.0	99.1	115.0	103.7	9.9
11:00	173.9	158.8	180.6	171.1	11.2	107.0	97.8	111.1	105.3	6.8
11:30	157.5	167.4	164.4	163.1	5.1	97.0	103.1	101.1	100.4	3.1
12:00	158.1	164.4	164.8	162.4	3.8	97.3	101.3	101.3	100.0	2.3
12:30	159.7	159.3	166.1	161.7	3.8	98.4	98.1	102.1	99.5	2.3
13:00	152.4	157.3	155.0	154.9	2.4	93.8	96.9	95.3	95.3	1.5
13:30	146.8	142.6	150.7	146.7	4.1	90.4	87.8	92.7	90.3	2.4
14:00	142.2	143.1	155.9	147.1	7.6	87.6	88.1	95.8	90.5	4.6
14:30	138.3	144.1	150.7	144.4	6.2	85.2	88.8	92.7	88.9	3.8
15:00	137.2	137.0	143.1	139.1	3.5	84.5	84.4	88.0	85.6	2.0
15:30	136.6	137.5	137.5	137.2	0.5	84.1	84.7	84.5	84.4	0.3
16:00	132.1	130.4	136.7	133.0	3.2	81.3	80.3	84.0	81.9	1.9
16:30	137.2	132.9	134.9	135.0	2.1	84.5	81.9	83.0	83.1	1.3
17:00	133.8	124.3	133.2	130.4	5.3	82.4	76.6	81.9	80.3	3.2
17:30	125.3	116.7	131.5	124.5	7.5	77.2	71.9	80.9	76.6	4.5
18:00	140.6	129.4	129.4	133.1	6.4	86.5	79.7	79.6	81.9	4.0
18:30	129.3	116.7	128.5	124.8	7.1	79.6	71.9	79.0	76.8	4.3
19:00	133.2	118.7	123.0	125.0	7.4	82.0	73.1	75.6	76.9	4.6
19:30	137.7	118.2	123.8	126.6	10.0	84.8	72.8	76.1	77.9	6.2
20:00	151.3	117.2	129.0	132.5	17.3	93.1	72.2	79.3	81.5	10.7
20:30	137.7	129.4	129.4	132.2	4.8	84.8	79.7	79.6	81.4	3.0
21:00	137.2	127.3	129.8	131.4	5.1	84.5	78.4	79.8	80.9	3.2
21:30	140.0	120.8	131.5	130.8	9.6	86.2	74.4	80.9	80.5	5.9
22:00	135.5	123.8	128.5	129.3	5.9	83.4	76.3	79.0	79.6	3.6
22:30	131.5	116.2	126.4	124.7	7.8	81.0	71.6	77.7	76.8	4.8
23:00	136.0	120.8	127.3	128.0	7.7	83.8	74.4	78.2	78.8	4.7
23:30	123.6	112.6	119.1	118.5	5.5	76.1	69.4	73.3	72.9	3.4
24:00	137.2	119.7	120.9	125.9	9.8	84.5	73.8	74.3	77.5	6.0
Media										
Rs	141.9	135.4	145.5	140.9	5.1	87.4	83.4	89.5	86.7	3.1



**Tabla 3.18 Resumen energético del registro continuo de 72 horas, a 25°C e ingesta a nivel de mantenimiento seguido de 24 y 48 h de ayuno**

Día	Ingesta		Componentes del balance energético medidos			
	(%)	(g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )		(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )	(kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	(%)
1° día	0.50	3.1	C	109.7 ± 22.7	67.7 ± 14.4	100
			R	70.6 ± 4.5	43.5 ± 2.8	64.1
			Rr	63.8 ± 3.9	39.3 ± 2.4	58.0
			SDA	26.1 ± 5.7	16.0 ± 3.5	23.7
			U*	5.8 ± 0.4	3.6 ± 0.2	5.3
2° día	—	—	R	53.4 ± 5.3	32.9 ± 3.3	
			Rr	53.4 ± 6.2	32.9 ± 3.9	
3° día	—	—	Rs	46.2 ± 1.7	28.4 ± 1.0	
			Rr	45.1 ± 1.7	27.8 ± 1.0	

Todos los valores se expresan como media ± SD

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.78 (alimentación a nivel de mantenimiento)

Qox (J/mg O<sub>2</sub>): 13.65 (ayuno)

\*U Obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

R	Valor medio de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
Rreposito (Rr)	Valores medios nocturnos de consumo de O <sub>2</sub> sobre un registro de 24 h
Restandar (Rs)	Valor estable a la temperatura dada después de un ayuno de 48 horas
SDA	Magnitud de SDA: área comprendida entre R y Rs en ciclos de 24 horas
U	Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH <sub>3</sub> )
C	Contenido energético de la ingesta



#### 3.2.2.3.4 REGISTRO CONTÍNUO DE LA EXCRECIÓN NITROGENADA

Se ha medido la excreción amoniacal de forma continua con sensor.

Este registro se ha realizado conjuntamente con el oxígeno cuyos resultados están expuestos en la tabla 3.2 (cont. 2º día).

El contenido energético de la excreción nitrogenada (U) se ha calculado multiplicando la producción de amoníaco medida con el sensor, por 20.5 ( $\text{J mg}^{-1} \text{NH}_3$ ), tal como se refleja en la sección 3.2.2.2.

El cociente amoniacal (AQ) se ha calculado dividiendo la producción de amoníaco por el consumo de oxígeno, tal como se refleja en la tabla 3.19.



Tabla 3.19. Producción de amoníaco en ciclo de 24 horas, a 21 °C e ingesta de 2.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD					
Temperatura (°C):	21						0.39	0.41	0.37	0.39	
Hora de comida (h):	11.30 a.m.						2.4	2.5	2.3	2.4	0.1
Hora del pico:	14.30 p.m.						0.882	0.883	0.887	0.884	0.003
							1.433	1.435	1.440	1.436	0.014

Hora	(mgNH <sub>3</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup> )					(mgNH <sub>3</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )					
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	± SD	
0:00	3.4	2.8	1.3	2.5	1.1	2.1	1.7	0.8	1.5	0.7	
0:30	3.4	2.1	1.0	2.2	1.2	2.1	1.3	0.6	1.3	0.8	
1:00	2.9	1.6	0.8	1.8	1.1	1.8	1.0	0.5	1.1	0.7	
1:30	2.4	1.9	2.2	2.1	0.3	1.5	1.1	1.3	1.3	0.2	
2:00	2.1	1.0	0.6	1.2	0.8	1.3	0.6	0.4	0.8	0.5	
2:30	1.8	1.2	1.6	1.5	0.3	1.1	0.8	1.0	0.9	0.2	
3:00	1.5	0.9	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	0.3	0.6	0.3	
3:30	1.3	0.9	1.2	1.2	0.2	0.8	0.6	0.8	0.7	0.1	
4:00	1.2	0.6	0.4	0.7	0.4	0.7	0.4	0.2	0.5	0.3	
4:30	1.1	0.5	0.3	0.6	0.4	0.7	0.3	0.2	0.4	0.2	
5:00	0.9	0.4	0.3	0.6	0.4	0.6	0.3	0.2	0.3	0.2	
5:30	0.8	0.6	0.7	0.7	0.1	0.5	0.4	0.4	0.4	0.1	
6:00	0.9	0.4	0.2	0.5	0.3	0.5	0.2	0.1	0.3	0.2	
6:30	1.0	0.7	0.7	0.8	0.2	0.6	0.4	0.4	0.5	0.1	
7:00	1.1	0.5	0.4	0.7	0.4	0.7	0.3	0.2	0.4	0.2	
7:30	1.2	0.8	1.0	1.0	0.2	0.8	0.5	0.6	0.6	0.1	
8:00	1.1	0.4	0.4	0.7	0.4	0.7	0.3	0.2	0.4	0.3	
8:30	1.0	0.5	0.3	0.6	0.4	0.6	0.3	0.2	0.4	0.2	
9:00	1.0	0.5	0.3	0.6	0.3	0.6	0.3	0.2	0.4	0.2	
9:30	0.9	0.7	0.6	0.7	0.1	0.5	0.4	0.4	0.5	0.1	
10:00	0.8	0.4	0.4	0.5	0.3	0.5	0.3	0.2	0.3	0.2	
10:30	0.8	0.6	0.6	0.7	0.1	0.5	0.3	0.4	0.4	0.1	
11:00	0.8	0.6	0.6	0.7	0.1	0.5	0.3	0.4	0.4	0.1	
11:30	0.8	0.6	0.6	0.7	0.1	0.5	0.3	0.4	0.4	0.1	
12:00	0.8	0.6	0.6	0.7	0.1	0.5	0.3	0.4	0.4	0.1	
12:30	3.8	0.6	2.2	2.2	1.6	2.3	0.3	1.4	1.3	1.0	
13:00	6.8	5.7	5.7	6.1	0.6	4.2	3.5	3.5	3.7	0.4	
13:30	8.1	6.4	7.0	7.1	0.9	5.0	3.9	4.3	4.4	0.5	
14:00	9.0	7.3	8.6	8.3	0.9	5.5	4.5	5.3	5.1	0.6	
14:30	9.0	8.0	9.9	8.9	1.0	5.5	4.9	6.1	5.5	0.6	
15:00	9.0	7.7	8.7	8.5	0.7	5.5	4.8	5.4	5.2	0.4	
15:30	8.5	7.8	8.0	8.1	0.4	5.3	4.8	4.9	5.0	0.2	
16:00	8.9	8.1	7.8	8.3	0.5	5.5	5.0	4.8	5.1	0.3	
16:30	9.1	8.1	7.8	8.3	0.7	5.6	5.0	4.8	5.1	0.4	
17:00	9.2	8.3	7.6	8.4	0.8	5.7	5.1	4.7	5.2	0.5	
17:30	9.1	8.3	7.6	8.3	0.7	5.6	5.1	4.7	5.1	0.4	
18:00	9.0	8.0	7.3	8.1	0.8	5.5	5.0	4.5	5.0	0.5	
18:30	8.7	8.5	6.8	8.0	1.1	5.4	5.2	4.2	4.9	0.7	
19:00	8.2	8.5	6.4	7.7	1.1	5.0	5.2	3.9	4.7	0.7	
19:30	7.8	8.0	6.0	7.3	1.1	4.8	4.9	3.7	4.5	0.7	
20:00	7.3	7.7	5.3	6.8	1.3	4.5	4.8	3.3	4.2	0.8	
20:30	6.3	7.4	4.5	6.0	1.4	3.9	4.5	2.8	3.7	0.9	
21:00	6.3	5.9	3.6	5.3	1.4	3.9	3.6	2.2	3.2	0.9	
21:30	3.9	3.7	2.8	3.5	0.6	2.4	2.3	1.7	2.1	0.4	
22:00	2.9	3.1	2.5	2.8	0.3	1.8	1.9	1.6	1.8	0.2	
22:30	2.6	2.8	3.0	2.8	0.2	1.6	1.7	1.8	1.7	0.1	
23:00	2.4	2.6	2.7	2.6	0.2	1.5	1.6	1.7	1.6	0.1	
23:30	2.1	2.4	2.3	2.3	0.2	1.3	1.5	1.4	1.4	0.1	
24:00	1.9	2.3	2.5	2.3	0.3	1.2	1.4	1.6	1.4	0.2	
V. Medios											
NH <sub>3</sub>	4.0	3.4	3.1	3.5	0.4	2.5	2.1	1.9	2.2	0.3	
R	178.2	178.8	175.8	177.6	1.6	109.7	110.1	108.1	109.3	1.1	
AQ	0.022	0.019	0.018	0.02	0.002	0.022	0.019	0.018	0.020	0.002	



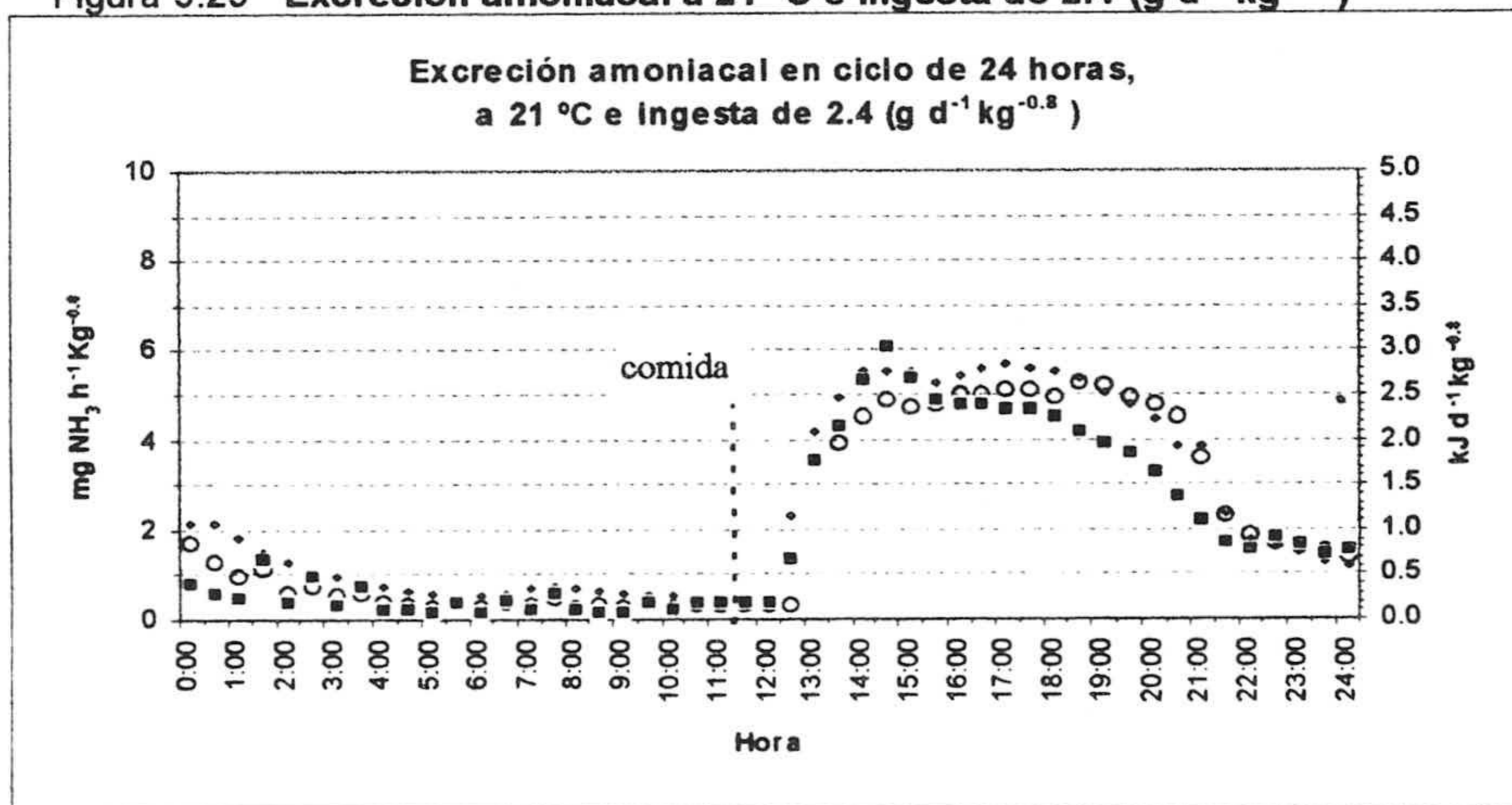
Tabla 3.19. Resumen energético, a 21 °C e ingesta de 2.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

	kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-1</sup>		kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>		%
C	86.1	± 3.6	53.0	± 2.2	100
U	1.7	± 0.2	1.1	± 0.1	2.0
R	58.7	± 0.5	36.1	± 0.4	68.2

Nota: Los valores de R están reflejados en la tabla 3.2. (Cont. 2º día)

Todos los valores se expresan como media ± SD  
 U medido directamente (con sensor)

Figura 3.23 Excreción amoniaca a 21 °C e ingesta de 2.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)



- R Valor medio de consumo de O<sub>2</sub> sobre un registro de 24 horas
- U Contenido energético de la excreción nitrogenada (a NH<sub>3</sub>)
- AQ Cociente entre NH<sub>3</sub> y R
- C Contenido energético de la ingesta



### 3.3. VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS

#### 3.3.1 ESTABILIDAD DE LA TASA METABÓLICA A TEMPERATURA CONSTANTE Y RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN DE MANTENIMIENTO

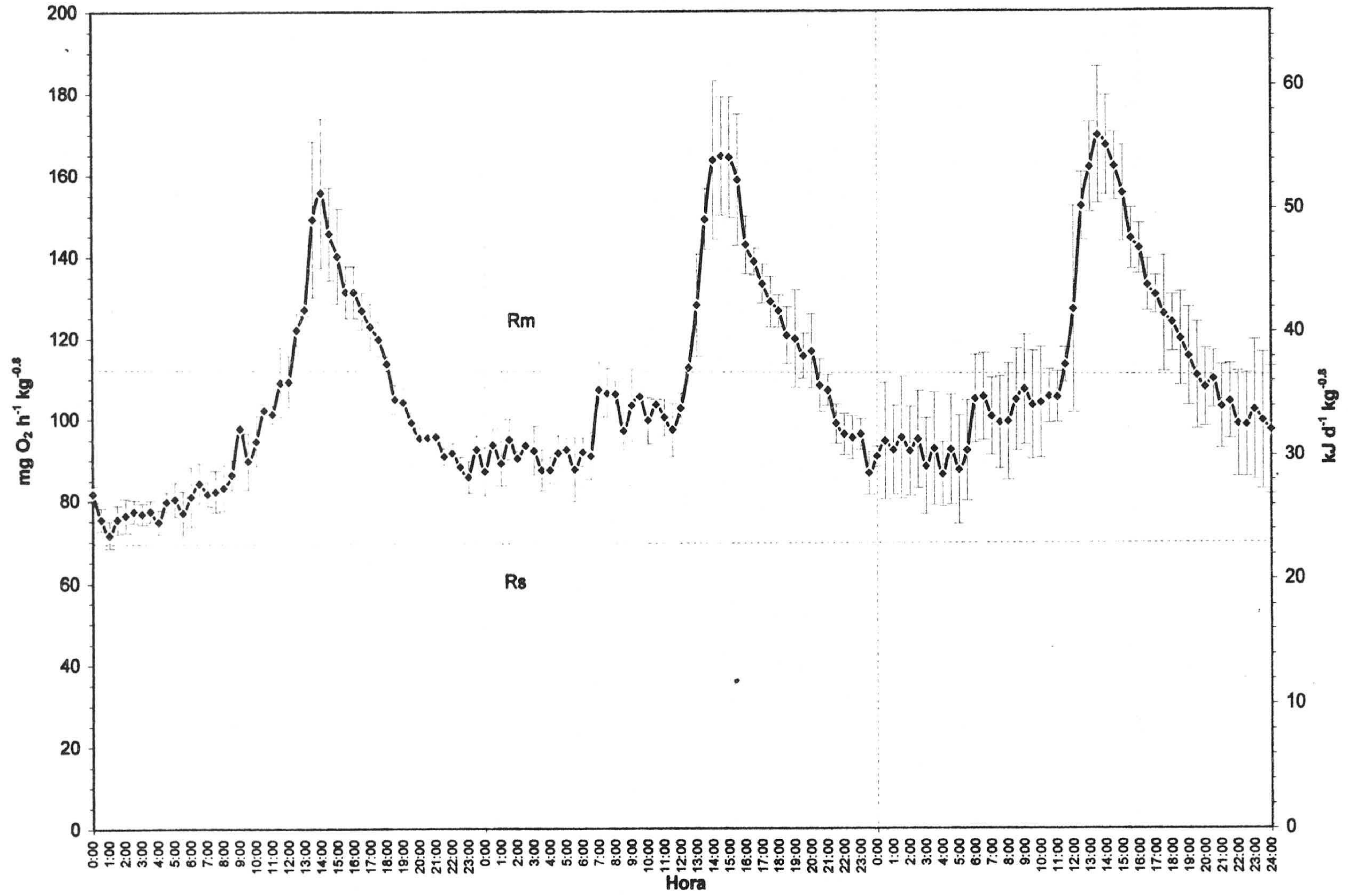
Los registros continuos de consumo de oxígeno ofrecen una información muy completa de los cambios que se producen en el metabolismo energético de los peces y de sus tasas metabólicas (metabolismo estándar, metabolismo de reposo, SDA, etc.).

En el transcurso de un día y en días consecutivos, se puede apreciar como el metabolismo de los peces alimentados y no forzados a realizar actividad alguna, pasa por diferentes estados energéticos que se repiten siguiendo un patrón determinado como se puede observar en la figura 3.24, en la que se representa una muestra seleccionada de registro continuo de consumo de oxígeno de 72 horas, a la temperatura de 21 °C y régimen de alimentación diaria a nivel de mantenimiento. Este gráfico se han realizado con los valores de la tabla 3.2, cuyo resumen energético refleja la tabla 3.3 (de la sección 3.2.2.3.1). En dicha figura se puede apreciar que durante las horas nocturnas la tasa metabólica es mínima y casi estacionaria, por lo que la hemos denominado tasa metabólica de reposo ( $R_r$ ). También encontramos que dicha tasa metabólica aumenta con el nivel de ingesta previa, como se puede apreciar en la figura 3.30, de manera que aunque sea muy estable, es sin embargo móvil, razón por la cual la mayoría de los autores que han trabajado en este tema (Brafield, 1985; Carter y Brafield, 1992; Chakraborty, et al. 1992; Guinea y Fernández, 1997), no la consideran como la línea base de referencia para medir el efecto de la alimentación, utilizando en su lugar la tasa metabólica de ayuno de dos días, que en nuestro caso la hemos denominado tasa metabólica estándar ( $R_s$ ).

En las primeras horas de la mañana se observa un aumento espontáneo de la demanda de oxígeno, que se mantiene aproximadamente hasta la hora de la comida (10 horas a.m.) y que algunos autores (Guinea y Fernández, 1977) llaman tasa metabólica de prealimentación. Tras la comida,  $R$  aumenta considerablemente hasta alcanzar un máximo ( $R_{pico}$ ) unas horas más tarde, que en nuestro caso se ha producido entre 2.30 y 3 horas para ingesta a nivel de mantenimiento. Posteriormente el consumo de oxígeno disminuye gradualmente hasta hacerse mínimo y casi estacionario durante las horas



Figura 3.24 . Registro continuo durante 72 horas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento





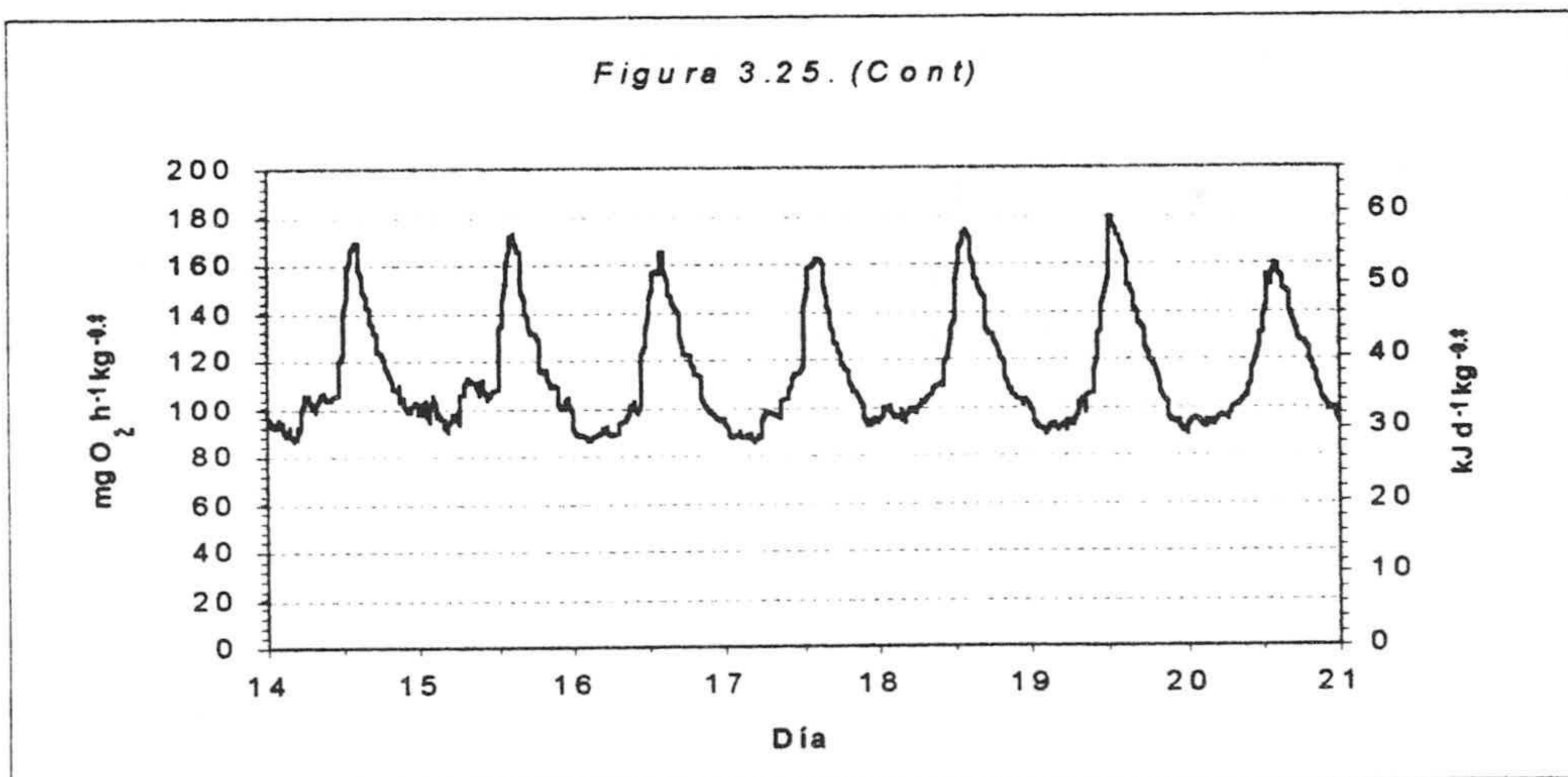
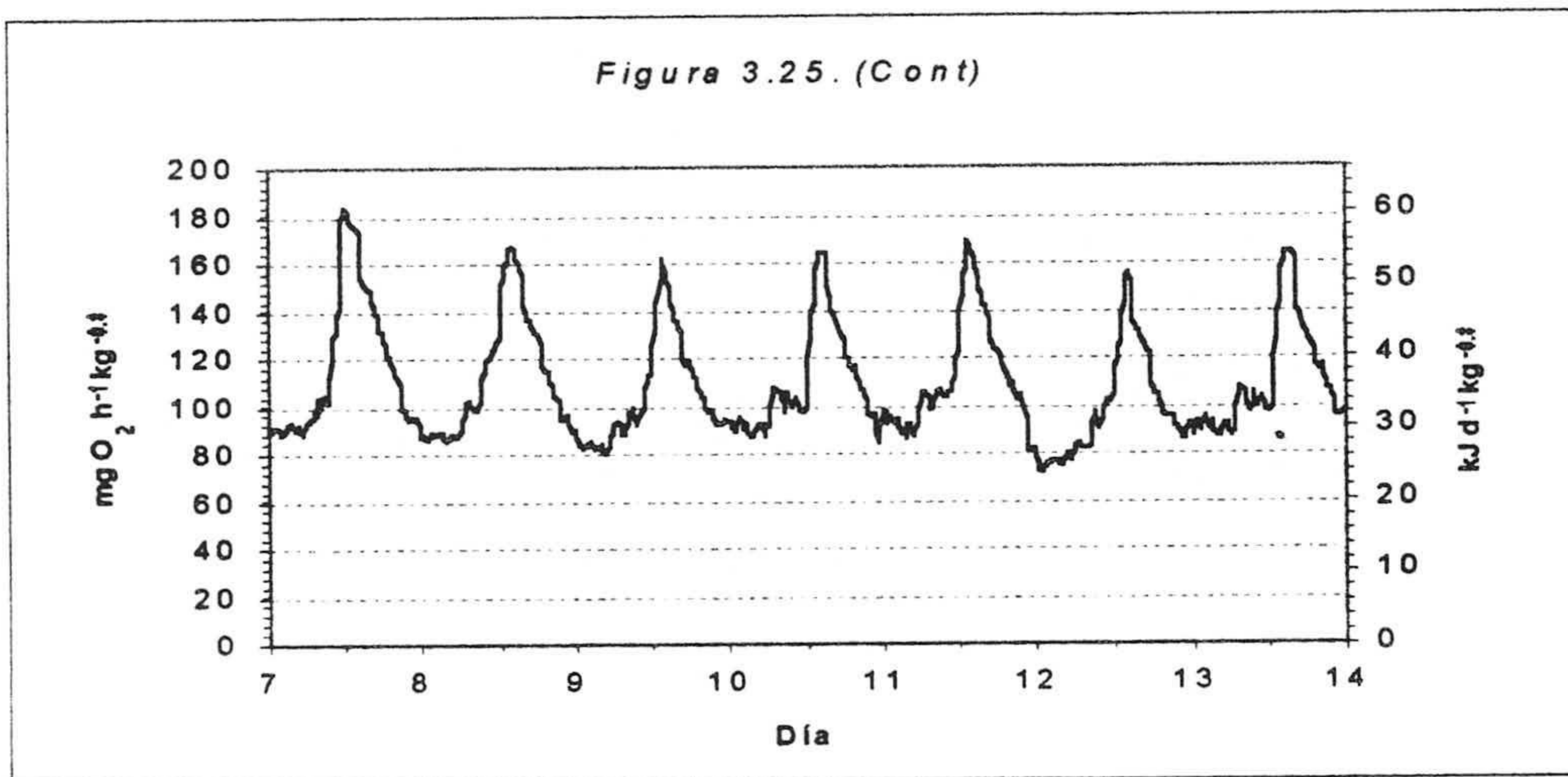
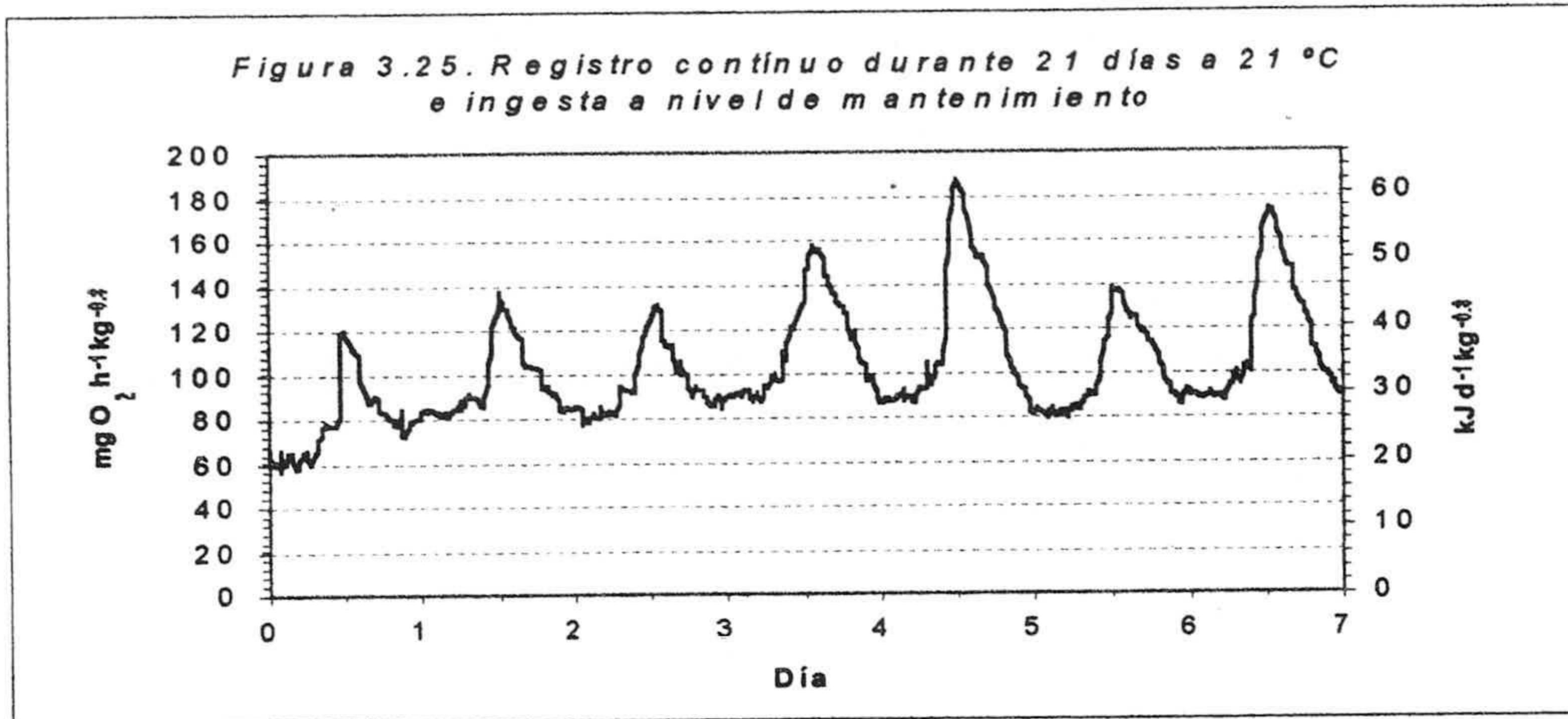
nocturnas. Este registro continuo de 72 horas forma parte de un registro mucho más amplio de tres semanas con los que se ha elaborado los gráficos de la figura 3.25 y cuyos valores se resumen en la tabla 3.20.

**Tabla 3.20 Registro continuo durante un período de tres semanas de la tasa metabólica R, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento**

Ingesta (%)	R (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rp (mg O <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	C	R (kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rr	SDA	SDA (%)	
0.23	1.40	78.8	120.3	30.9	26.1	24.6	4.8	16
0.29	1.80	96.2	137.7	39.8	31.8	28.2	9.4	24
0.28	1.74	95.5	131.1	38.4	31.6	28.5	9.3	24
0.43	2.67	112.7	158.0	58.9	37.3	30.0	14.7	25
0.46	2.82	117.1	187.6	62.3	38.7	29.4	16.1	26
0.32	1.94	100.7	138.6	42.9	33.3	29.3	11.4	27
0.45	2.77	114.9	174.6	61.1	38.0	29.8	15.4	25
0.46	2.83	116.8	183.7	62.6	38.6	30.0	16.1	26
0.43	2.63	112.5	167.3	58.1	37.2	29.3	14.6	25
0.39	2.40	104.8	161.8	53.0	34.6	28.0	12.1	23
0.41	2.51	109.5	163.4	55.4	36.2	29.8	13.6	25
0.44	2.69	115.8	173.6	59.5	38.3	32.3	15.7	26
0.32	1.97	98.9	155.7	43.4	32.7	30.0	11.4	26
0.39	2.40	109.3	164.5	53.0	36.2	31.6	13.6	26
0.43	2.67	112.6	169.6	58.9	37.2	33.2	15.2	26
0.42	2.57	113.6	173.0	56.8	37.6	32.1	15.0	26
0.41	2.55	110.2	164.8	56.3	36.4	29.4	13.9	25
0.43	2.62	109.8	162.2	57.9	36.3	29.6	13.7	24
0.46	2.82	118.0	174.2	62.3	39.0	32.5	16.4	26
0.46	2.82	116.1	179.0	62.2	38.4	31.1	15.9	26
0.44	2.70	113.8	159.7	59.6	37.7	31.1	15.1	25

Consideramos estos registros importantes, ya que demuestran que nuestra cámara, al estar capacitada para registros continuos en periodos prolongados, permite medir con gran precisión y detalle la tasa metabólica (R) y detectar pequeñas variaciones de ésta con la ingesta. Esperamos que sea igualmente sensible para registrar la influencia de diferentes tipos de dieta sobre la tasa metabólica (R), proporcionando en definitiva un estudio rápido y preciso de las repercusiones que diferentes tamaños de ración y tipos de dieta puedan ejercer sobre la tasa metabólica y deducir qué fracción de la energía metabolizable (EM) de la dieta queda disponible para ser utilizada en el crecimiento. Asimismo consideramos de gran interés el poder apreciar el papel de otros factores tanto bióticos como abióticos sobre la evolución de los cambios rítmicos de la tasa metabólica. Por último, hemos de destacar que no hemos encontrado en la bibliografía registros continuos tan prolongados y detallados como estos.







### 3.3.2 EFECTO DE LA INGESTA Y DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TASA METABÓLICA

Con el conjunto de los resultados obtenidos (tablas 3.20, 3.21 y 3.22), parte de los cuales aparecen expresados en extenso en la sección 3.2.2.3 de este capítulo, se han elaborado rectas de regresión que relacionan el nivel de ingesta con los distintos componentes de la tasa metabólica a diferentes temperaturas.

**Tabla 3.21 Registro continuo de la tasa metabólica R, a 20 °C e ingesta a nivel de mantenimiento**

	Ingesta (%)	R (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rp (mg O <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	C	R (kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rr (kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	SDA	SDA (%)	
	0.26	1.6	84.7	115.4	35.3	28.0	25.6	9.0	26
	0.28	1.7	103.3	147.5	37.6	34.2	29.1	11.7	31
	0.29	1.8	92.1	141.8	39.8	30.5	25.9	8.3	21
	0.25	1.5	89.5	117.1	33.8	29.6	26.9	10.1	30
	0.25	1.6	87.5	112.5	34.7	28.9	25.2	7.2	21
	0.29	1.8	99.5	125.8	40.0	32.9	28.7	10.8	27
	0.31	1.9	93.6	141.5	42.0	31.0	26.8	12.4	30
	0.32	2.0	104.4	145.0	43.5	34.5	28.6	11.8	27
	0.49	3.0	122.0	169.9	66.3	40.3	36.0	17.6	26

**Tabla 3.22 Registro continuo de la tasa metabólica R, a 25 °C e ingesta a nivel de mantenimiento**

	Ingesta (%)	R (g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rp (mg O <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	C	R (kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	Rr (kJ d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup> )	SDA	SDA (%)	
	0.45	2.80	129.3	186.9	61.9	42.8	31.8	13.9	22
	0.41	2.50	121.1	164.2	55.2	40.1	33.7	12.5	23
	0.39	2.40	118.7	164.9	53.0	39.3	34.2	9.7	18
	0.44	2.71	125.9	176.2	59.9	41.6	34.4	12.7	21
	0.62	3.80	141.1	193.5	83.9	46.7	39.0	19.1	23
	0.44	2.70	127.7	184.5	59.6	42.2	31.5	12.6	21



En las figuras 3.26, 3.27 y 3.28, aparecen las correlaciones positivas significativas entre ingesta y tasa metabólica (R) de los peces a 20, 21 y 25 °C respectivamente. Es interesante observar que extrapolando a valores cero de ingesta (ayuno), las rectas de regresión correspondientes cortan al eje (parámetro a de la tabla 3.24) en valores próximos a la tasa metabólica estándar a cada temperatura, tal como esperábamos que sucediera.

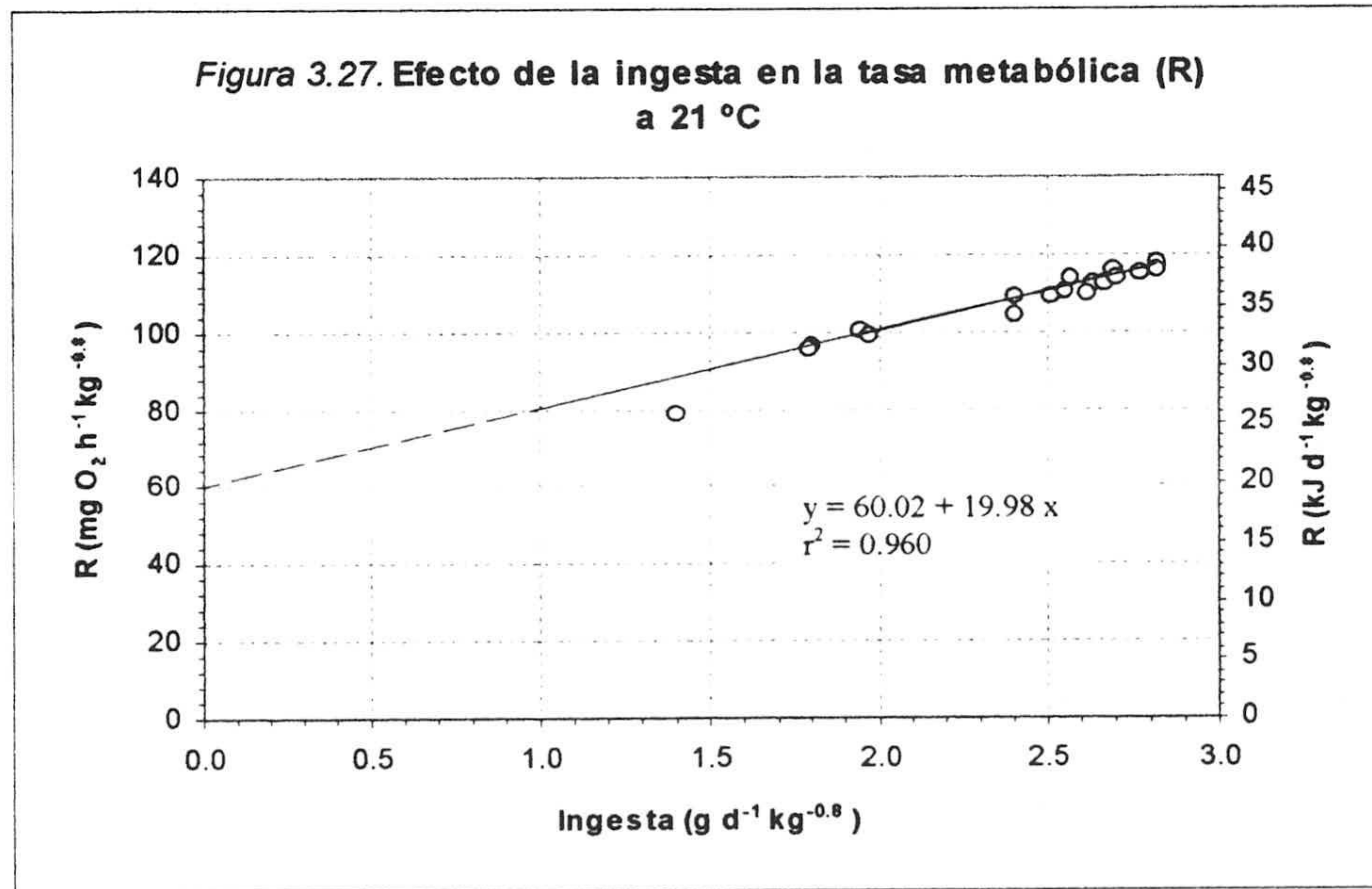
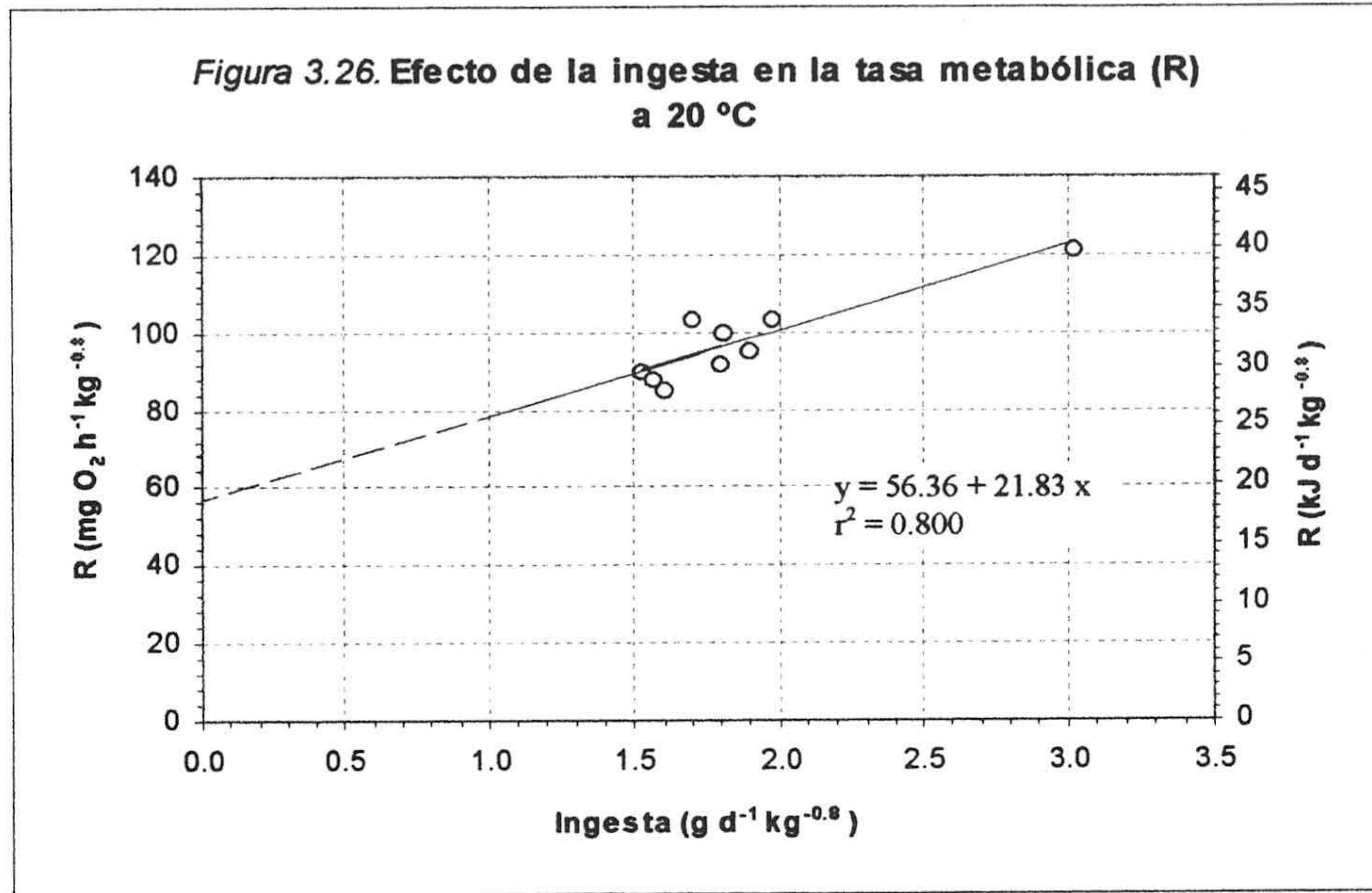
La tasa metabólica de reposo (Rr) (figuras 3.29, 3.30 y 3.31), es la tasa más baja que se registra en régimen de alimentación y coincide siempre con las horas nocturnas, aunque aumenta a medida que el animal ingiere mayor cantidad de alimento. Por lo general el aumento del consumo de oxígeno que sigue a la ingesta, vuelve a los niveles que había antes de la comida, pero si la ingesta está aumentando, el metabolismo de reposo se estabiliza en valores cada vez mayores; nuestros resultados son muy similares a los publicados por Becker et al. (1992).

El aumento de la tasa metabólica (R) motivado por la ingesta se debe a la elevación de sus distintos componentes y fundamentalmente al SDA, como se puede apreciar por la mayor pendiente de las rectas de regresión correspondientes (figuras 3.32, 3.33 y 3.34). El pico que se produce en el SDA (figuras 3.35, 3.36 y 3.37), también aumenta con la ración. En el caso del SDA, si extrapolamos a valores cero de ingesta (ayuno), las rectas de regresión correspondientes cortan al eje en el origen, como era de esperar.

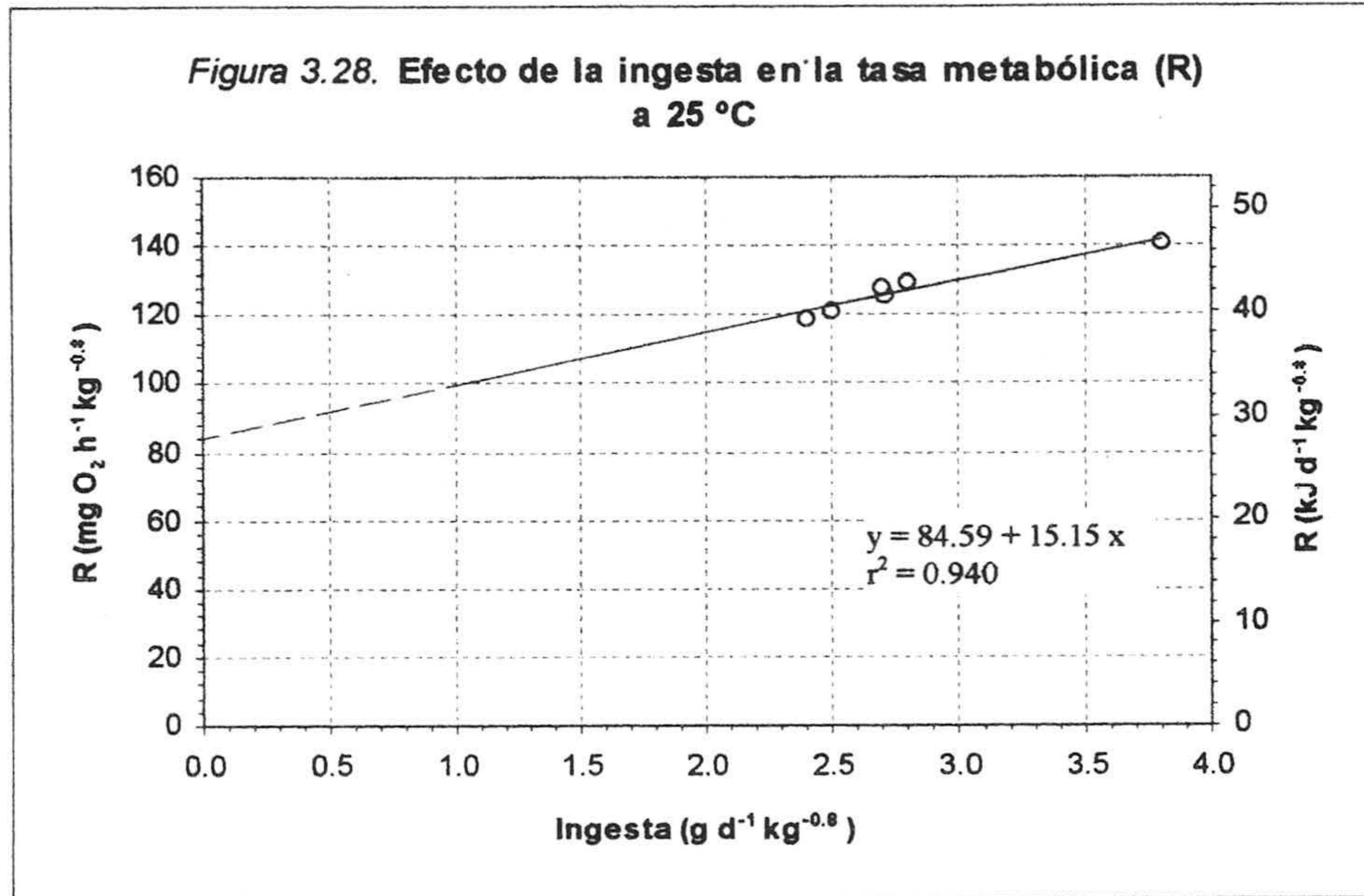
La proporción de energía ingerida que se utiliza en el SDA (% SDA o SDAC en tablas 3.20, 3.21 y 3.22), solo tiene correlación negativa con la temperatura. Parece que a mayor temperatura, los peces obtienen mejor rendimiento energético de la dieta. Nuestros resultados coinciden con los de Guinea y Fernández (1997) y Carter y Brafield, (1992).



Efecto de la ingesta en la tasa metabólica (R)







Coefficientes para las rectas de regresión (fig. 3.26, 3.27 y 3.28):

$$y = a + b x$$

donde:

y es la tasa metabólica media (R) en 24 horas en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

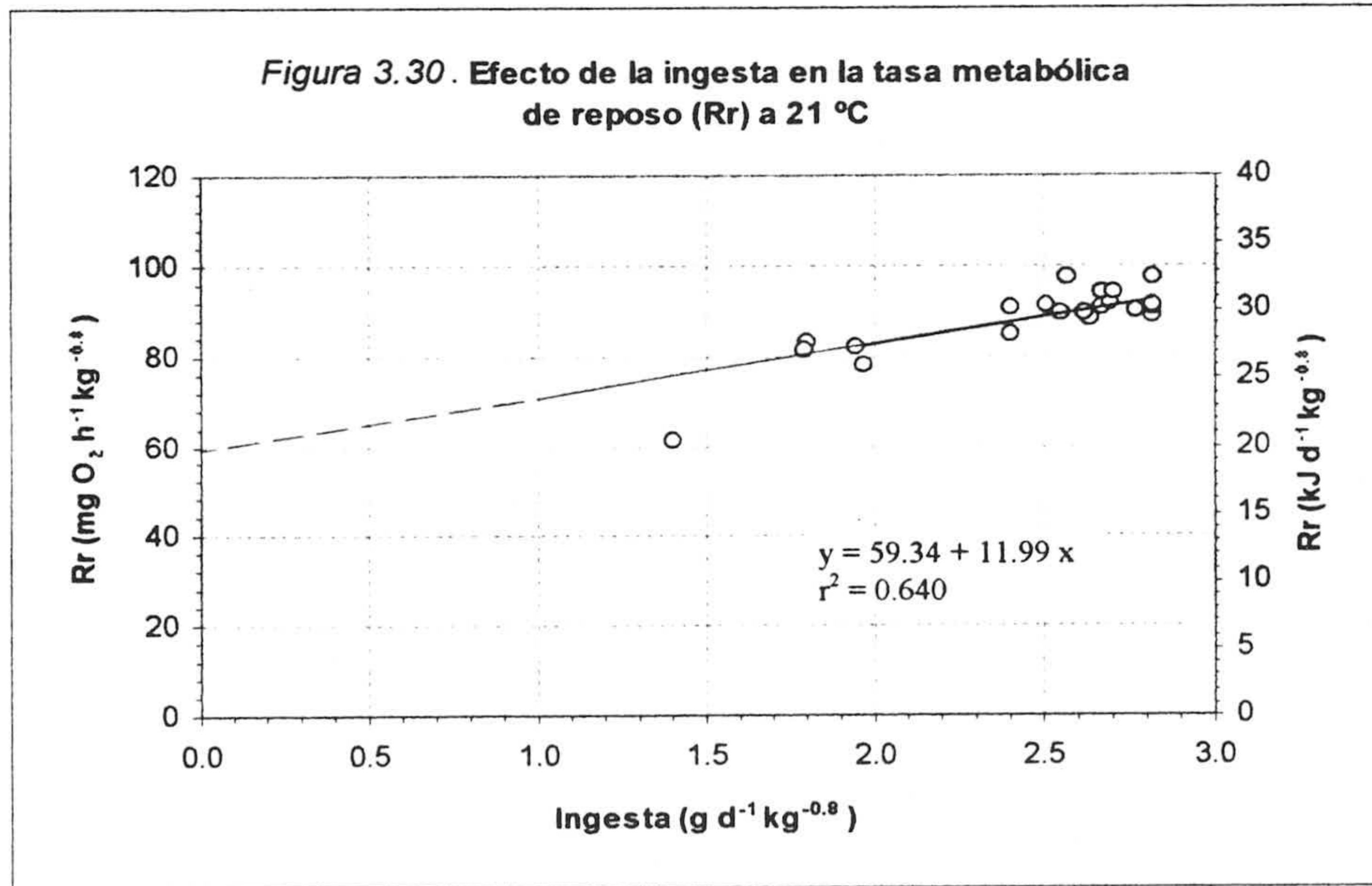
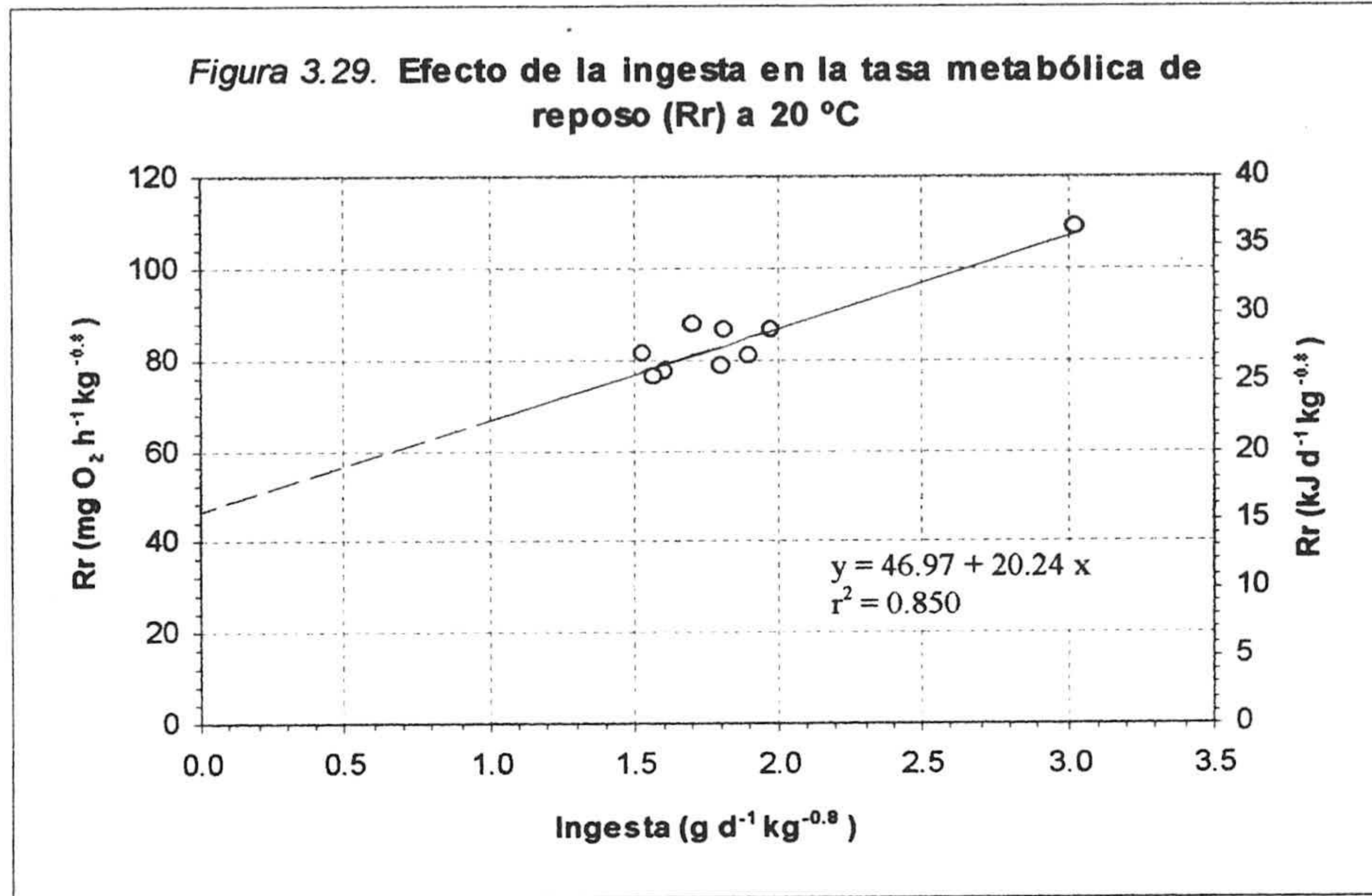
x es la ingesta en (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Tabla 3.24

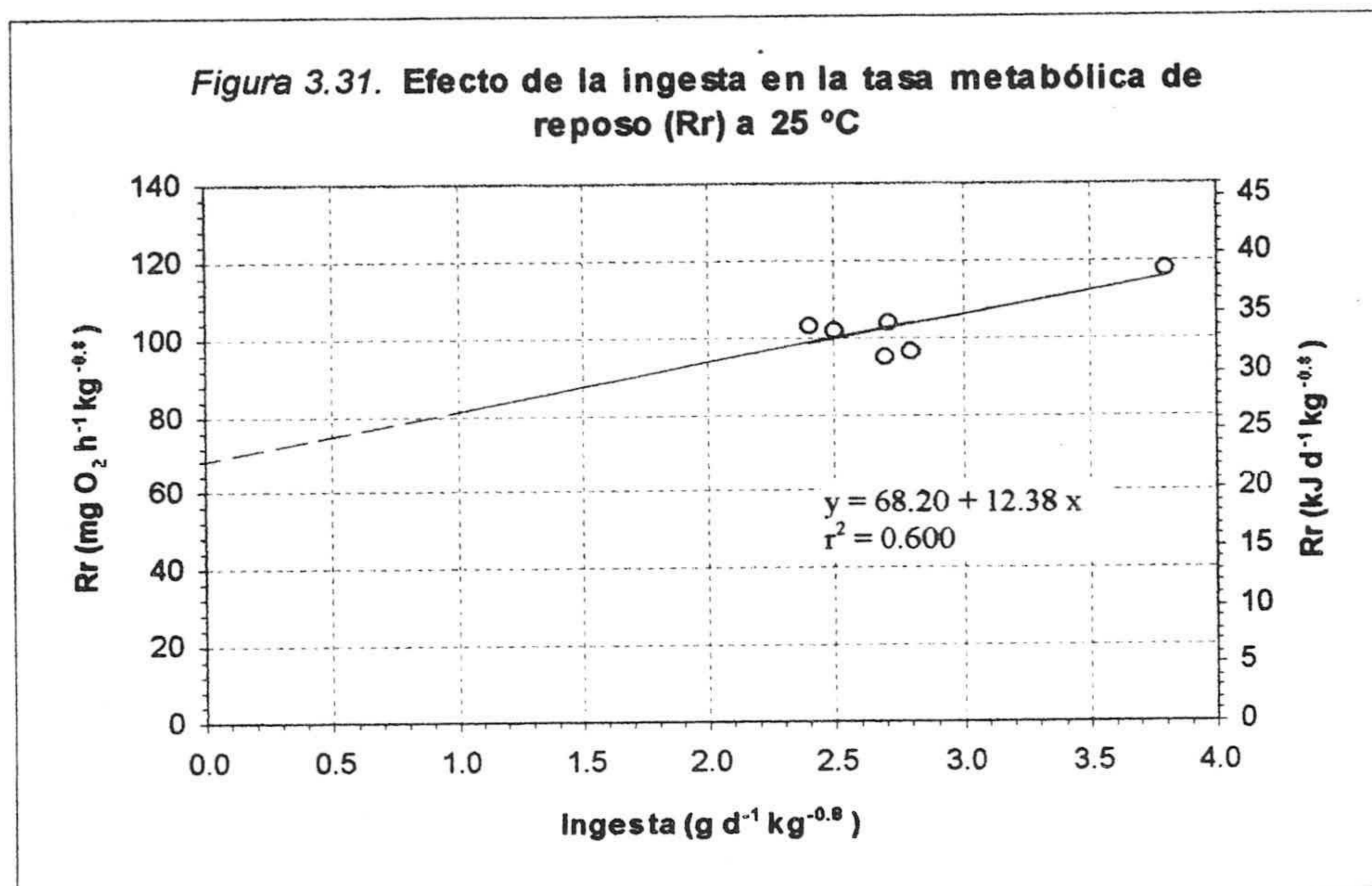
t (°C)	a (± SE)	b (± SE)	n	r <sup>2</sup>	P
20	56.36 ± 8.03	21.83 ± 4.15	9	0.800	< 0.05
21	60.02 ± 2.41	19.98 ± 0.96	21	0.960	< 0.05
25	84.59 ± 5.42	15.15 ± 1.90	6	0.940	< 0.05



Efecto de la ingesta en la tasa metabólica de reposo (Rr)







Coeficientes para las rectas de regresión (fig. 3.29, 3.30 y 3.31):

$$y = a + b x$$

donde:

y es la tasa metabólica media (Rr) en 24 horas en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

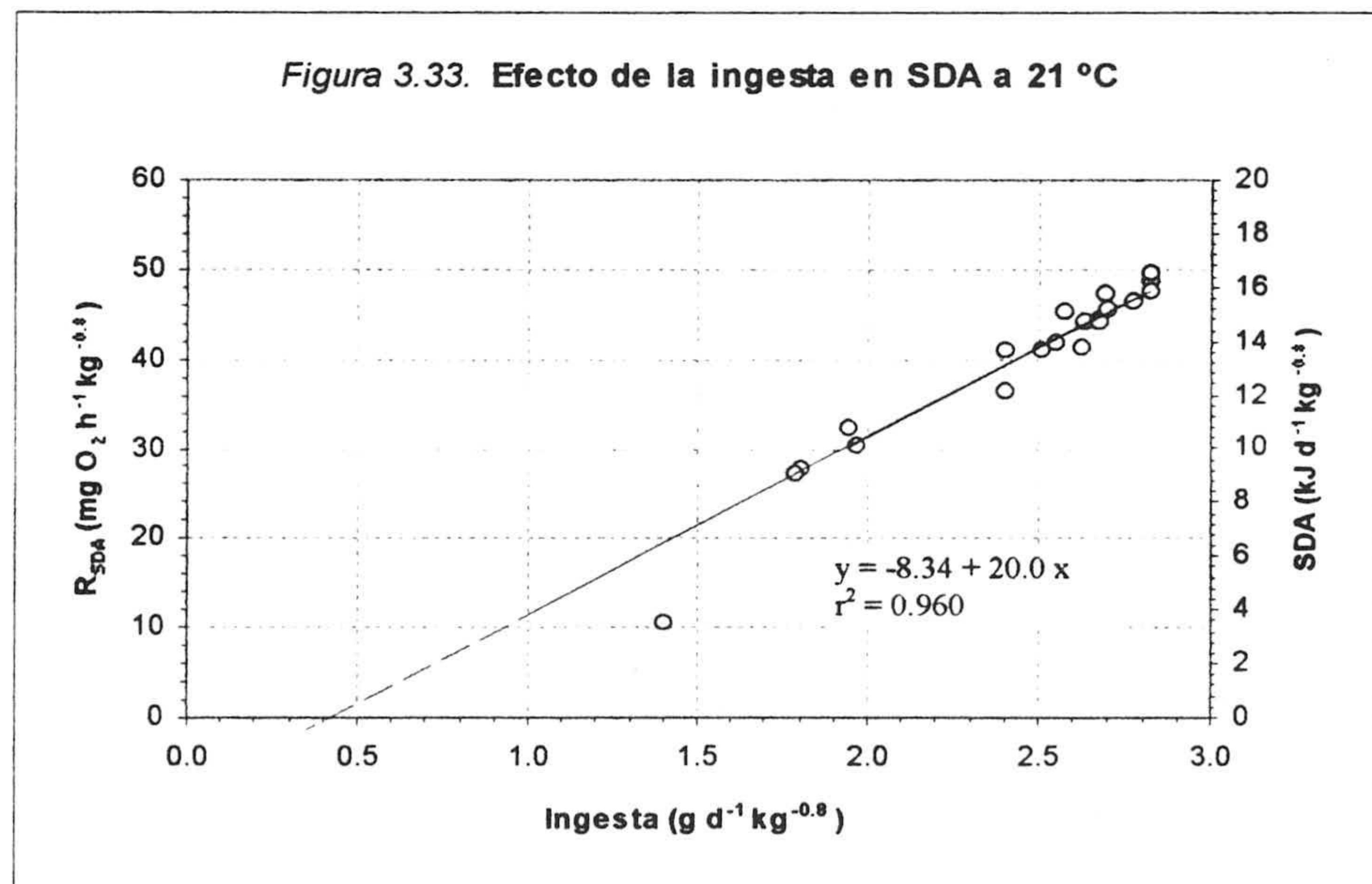
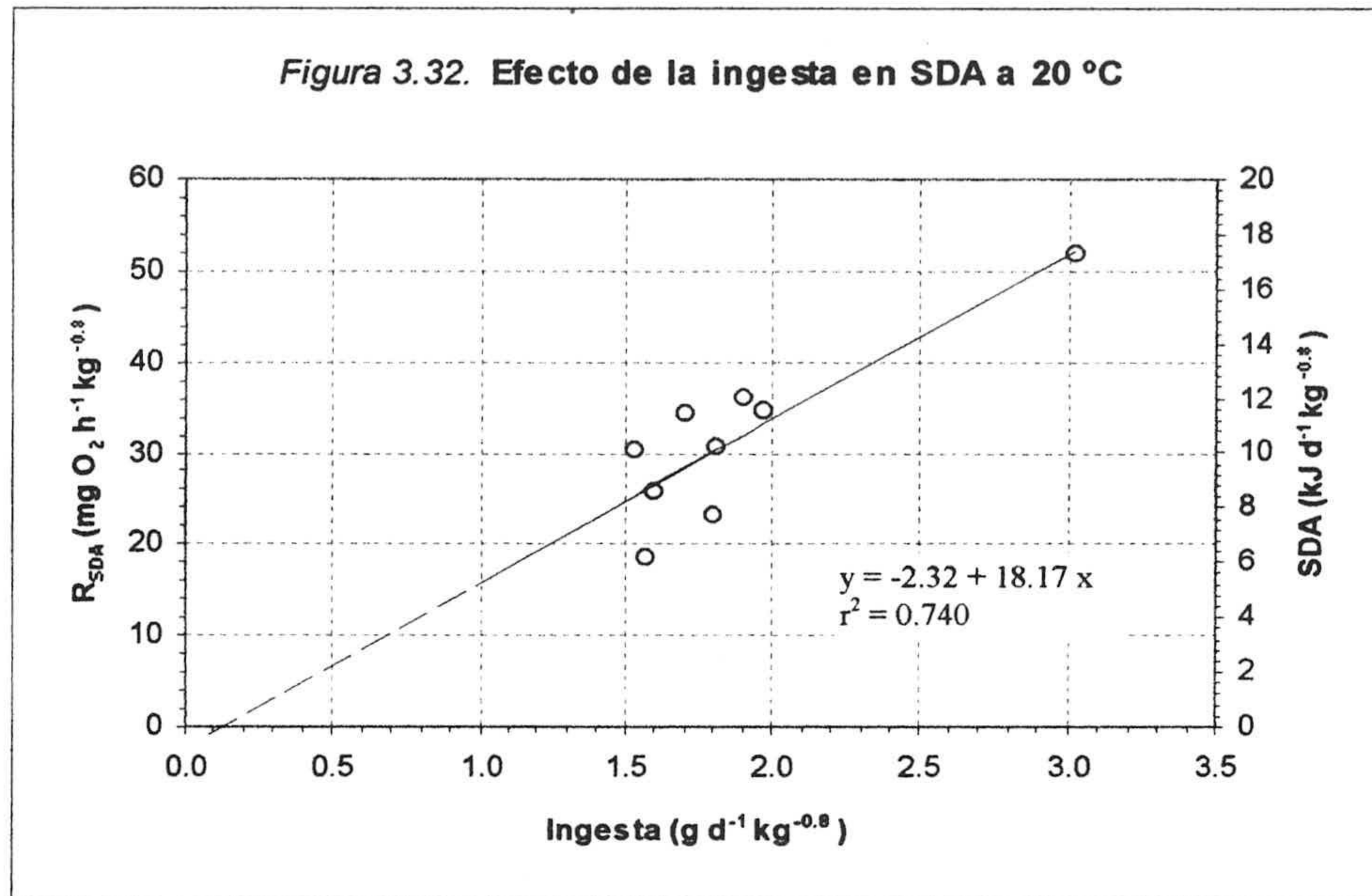
x es la ingesta en (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Tabla 3.25

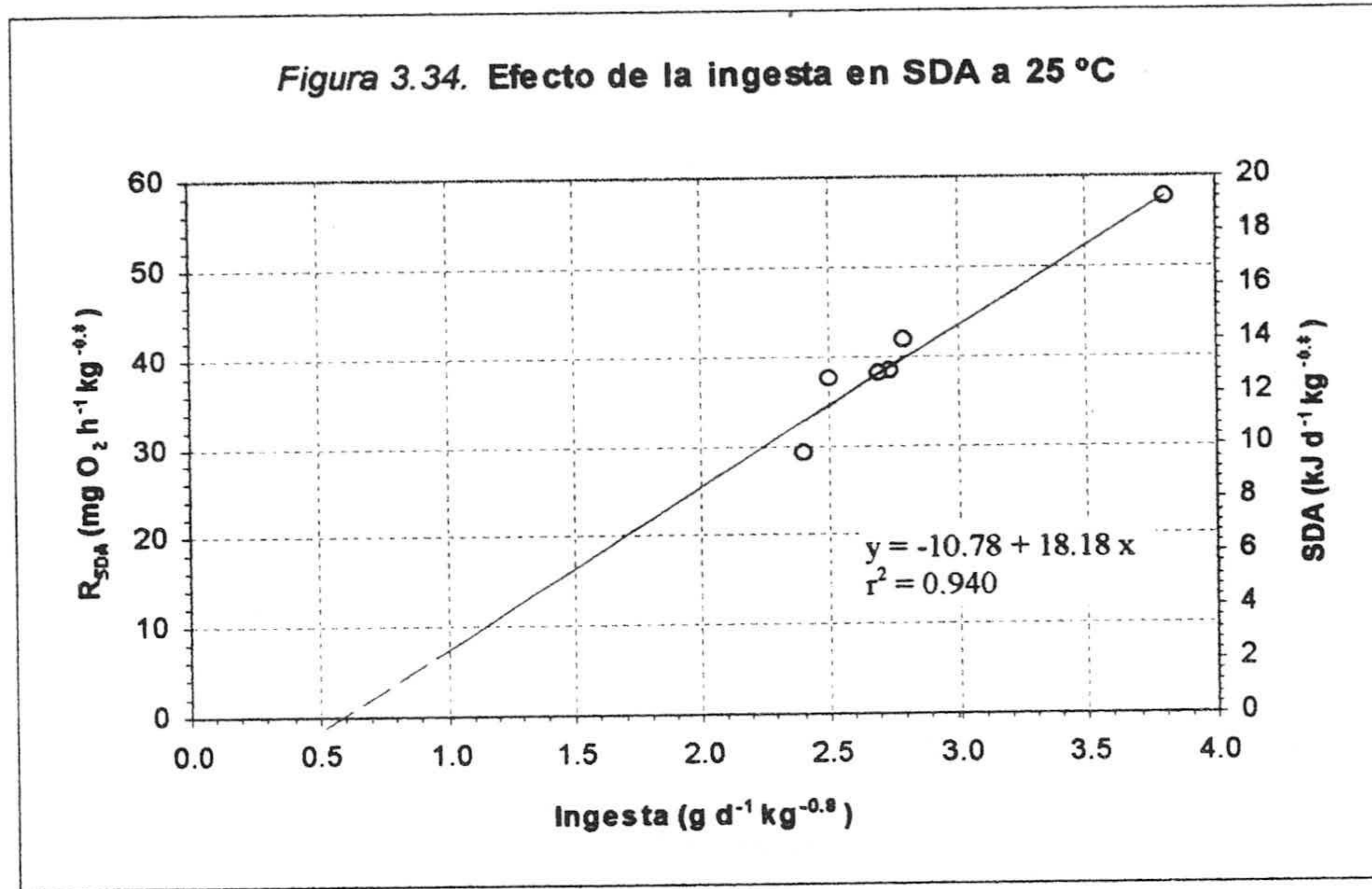
t (°C)	a (± SE)	b (± SE)	n	r <sup>2</sup>	P
20	46.97 ± 6.23	20.24 ± 3.23	9	0.850	< 0.05
21	59.34 ± 5.39	11.99 ± 2.14	21	0.640	< 0.05
25	68.20 ± 14.71	12.38 ± 5.15	6	0.600	< 0.05



Efecto de la ingesta en el SDA







Coeficientes para las rectas de regresión (fig. 3.32, 3.33 y 3.34):

$$y = a + b x$$

donde:

y es el SDA en 24 horas en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

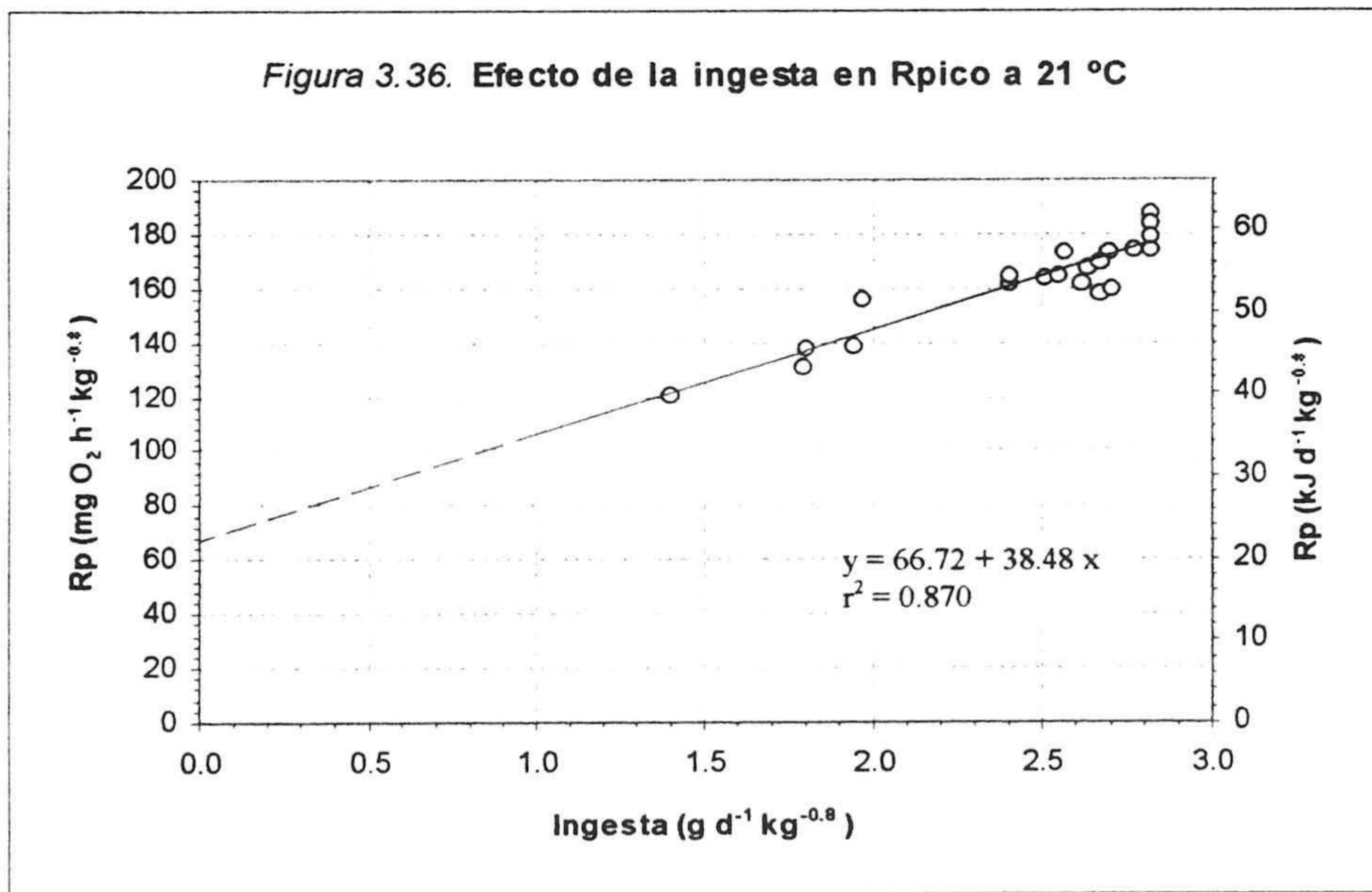
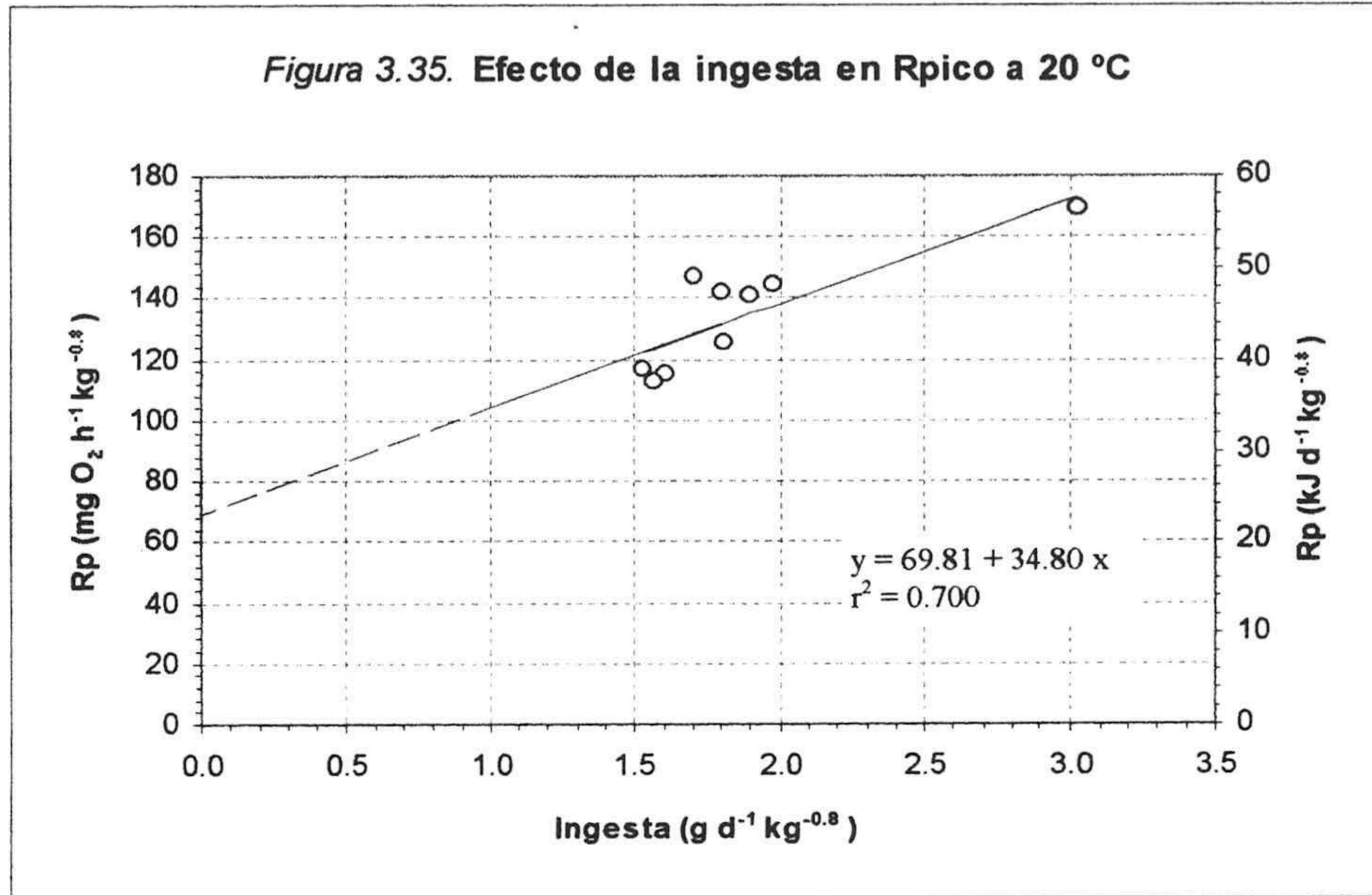
x es la ingesta en (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Tabla 3.26

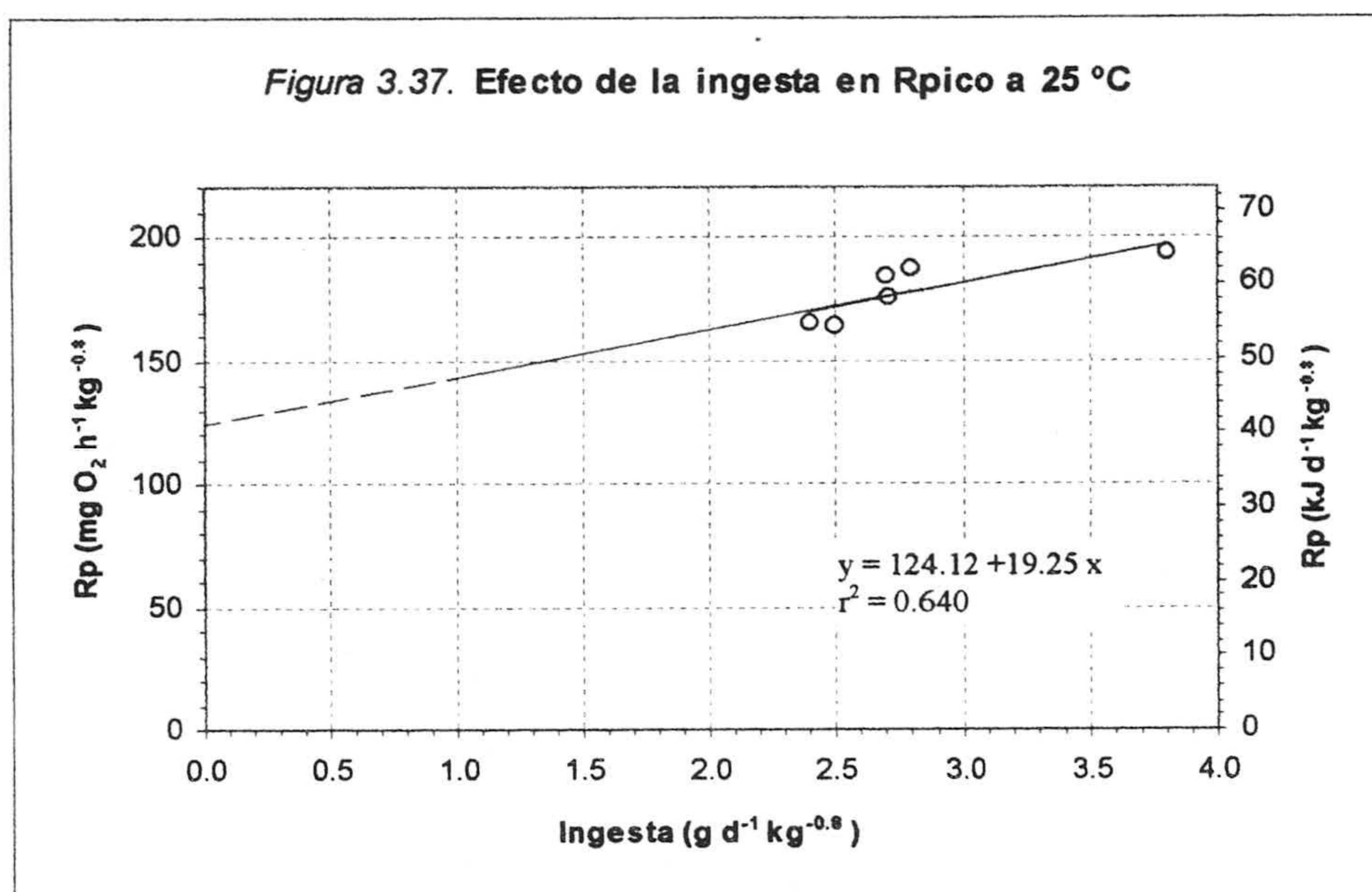
t (°C)	a (± SE)	b (± SE)	n	r <sup>2</sup>	P
20	-2.32 ± 7.75	18.17 ± 4.02	9	0.740	< 0.05
21	-8.34 ± 2.42	20.00 ± 4.43	21	0.960	< 0.05
25	-10.78 ± 6.56	18.18 ± 2.29	6	0.940	< 0.05



Efecto de la ingesta en Rpico







Coeficientes para las rectas de regresión (fig. 3.35, 3.36 y 3.37):

$$y = a + b x$$

donde:

y es Rpico en 24 horas en (mg O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

x es la ingesta en (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

Tabla 3.27

t (°C)	a (± SE)	b (± SE)	n	r <sup>2</sup>	P
20	69.81 ± 16.62	34.80 ± 8.63	9	0.700	< 0.05
21	66.72 ± 8.72	38.48 ± 3.52	21	0.870	< 0.05
25	124.12 ± 20.41	19.25 ± 7.15	6	0.640	< 0.05



Con los valores de la tabla 3.23 se ha elaborado la relación que se representa en la figura 3.38. En este caso hemos utilizado un ajuste polinómico de segundo grado y hemos comparado con la curva de Becker et al. (1992) realizada con *Cyprinus carpio* en un rango de temperaturas de 7-33 °C.

Hemos encontrado que las diferencias de la tasa metabólica estándar a diferentes temperaturas, son significativas entre 20 y 25 °C y entre 21 y 25 °C; sin embargo, las diferencias no son significativas entre 20 y 21 °C.

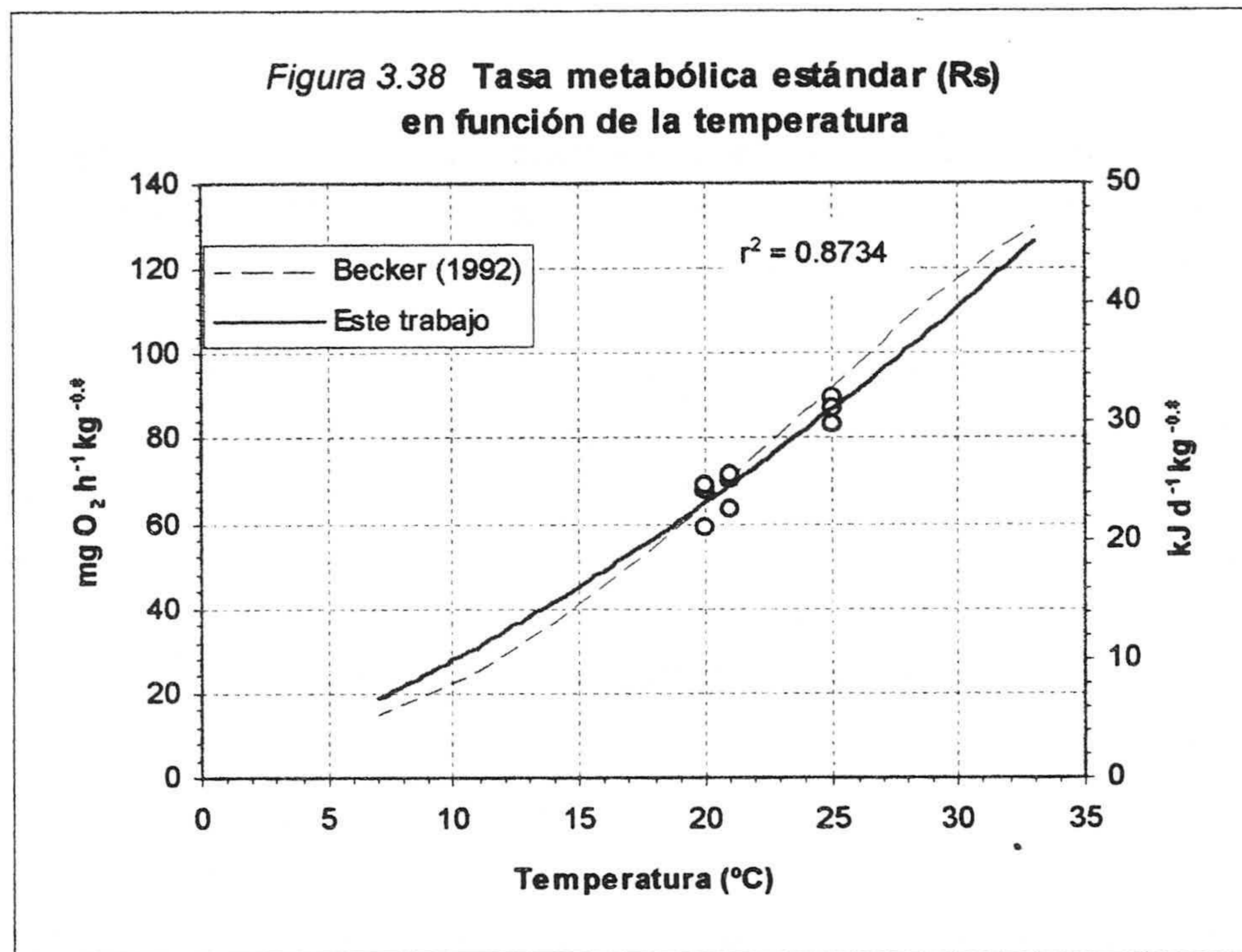
El peso de nuestros animales de experimentación no coincide, como era de esperar, con el de los animales utilizados en otros trabajos experimentales consultados y la única forma de comparar datos metabólicos de animales con pesos diferentes es utilizando la unidad de peso metabólico, confirmando de esta manera que, nuestros valores coinciden con los de Becker et al., (1992) y son del mismo orden que los obtenidos por Yamamoto, (1991) y Chakraborty et al., (1995).

**Tabla 3-23 Tasa metabólica estándar (48 horas de ayuno), a las temperaturas de 20, 21 y 25 °C**

t (° C)	mg O <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>				kJ h <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media
20	58.9	68.7	68.8	65.5	19.4	22.5	22.5	21.5
21	63.3	71.2	70.0	68.3	20.7	23.3	22.9	22.4
25	87.4	83.4	89.5	86.7	28.6	27.3	29.3	28.4



*Efecto de la temperatura en la tasa metabólica estándar (Rs)*



En este caso los resultados se presentan comparando la curva encontrada para *Cyprinus carpio* por Becker et al. (1992), con la que se ha obtenido en este trabajo.

Coeficientes para el ajuste polinómico:

$$R_s = 2.3258 t + 0.0456 t^2 \quad (\text{este trabajo})$$

donde:  $R_s$  es la tasa metabólica estándar y  $t$  es la temperatura (°C).

$$\ln R_s = -145.5 + 94.670 \cdot 10^3 T^{-1} - 14.889 \cdot 10^6 T^{-2}, \quad r^2 = 0.908 \quad (\text{Becker et al. 1992})$$

donde:  $R_s$  es la tasa metabólica estándar y  $T$  es la temperatura absoluta (K).



### 3.3.3 EFECTO DEL AYUNO EN LA TASA METABÓLICA

Las figuras 3.39, 3.40 y 3.41 representan registros continuos de consumo de oxígeno durante 72 horas y a las temperaturas de 20, 21 y 25 °C. A las 10 horas a.m. del primer día, los animales reciben alimento y se les mantiene en ayunas durante los dos días siguientes.

Es interesante comprobar como la evolución del consumo de oxígeno es muy parecido en los animales sometidos a las distintas temperaturas. Asimismo el nivel de oxígeno consumido durante las 72 horas, no varia significativamente a las temperaturas de 20 y 21 °C, pero aumenta considerablemente a 25 °C; siendo el nivel de ingesta y la temperatura determinantes en estos resultados. Es curioso observar como durante el periodo de ayuno (2º y 3er. día), el consumo de oxígeno sigue un patrón rítmico muy parecido al que se produce el primer día, aunque este consumo es mucho más bajo y que el aumento del consumo de oxígeno ocurre a la misma hora aproximadamente, en los días de ayuno que cuando estaban siendo alimentados. Sin descartar que la tasa metabólica presente un ritmo circadiano endógeno sincronizado con el fotoperiodo, parece que también la memoria o recuerdo de la hora de comida puede intervenir en este patrón rítmico. Es importante comprobar en un futuro la importancia de los factores ingesta-fotoperiodo, entre otros, como sincronizadores del ritmo circadiano de la tasa metabólica.

En el segundo periodo la tasa metabólica se estabiliza aproximadamente a partir de las 19 h y se mantiene en unos valores medios similares a los que se observan durante el tercer día; por esta razón hemos considerado que el efecto de la alimentación (SDA) ha cesado a partir de ese momento. Este periodo dura aproximadamente 33 horas desde que los animales comieron por última vez, independientemente de la temperatura. Nuestros resultados no son muy diferentes de los que obtienen Guinea y Fernández, (1997), que utilizan dos niveles de ingesta (1 y 2 % peso corporal/día), a dos temperaturas diferentes (16 y 21 °C); encontrando que la duración del efecto del SDA ( 37-39 horas) es independiente del nivel de ración. Por tanto, para medir el metabolismo estándar de un pez, conviene esperar más de 24 horas después de la última comida, para asegurarnos que estamos midiendo realmente la tasa metabólica de ayuno.



Figura 3 - 39 Duración del efecto SDA a 20 °C y ración de mantenimiento

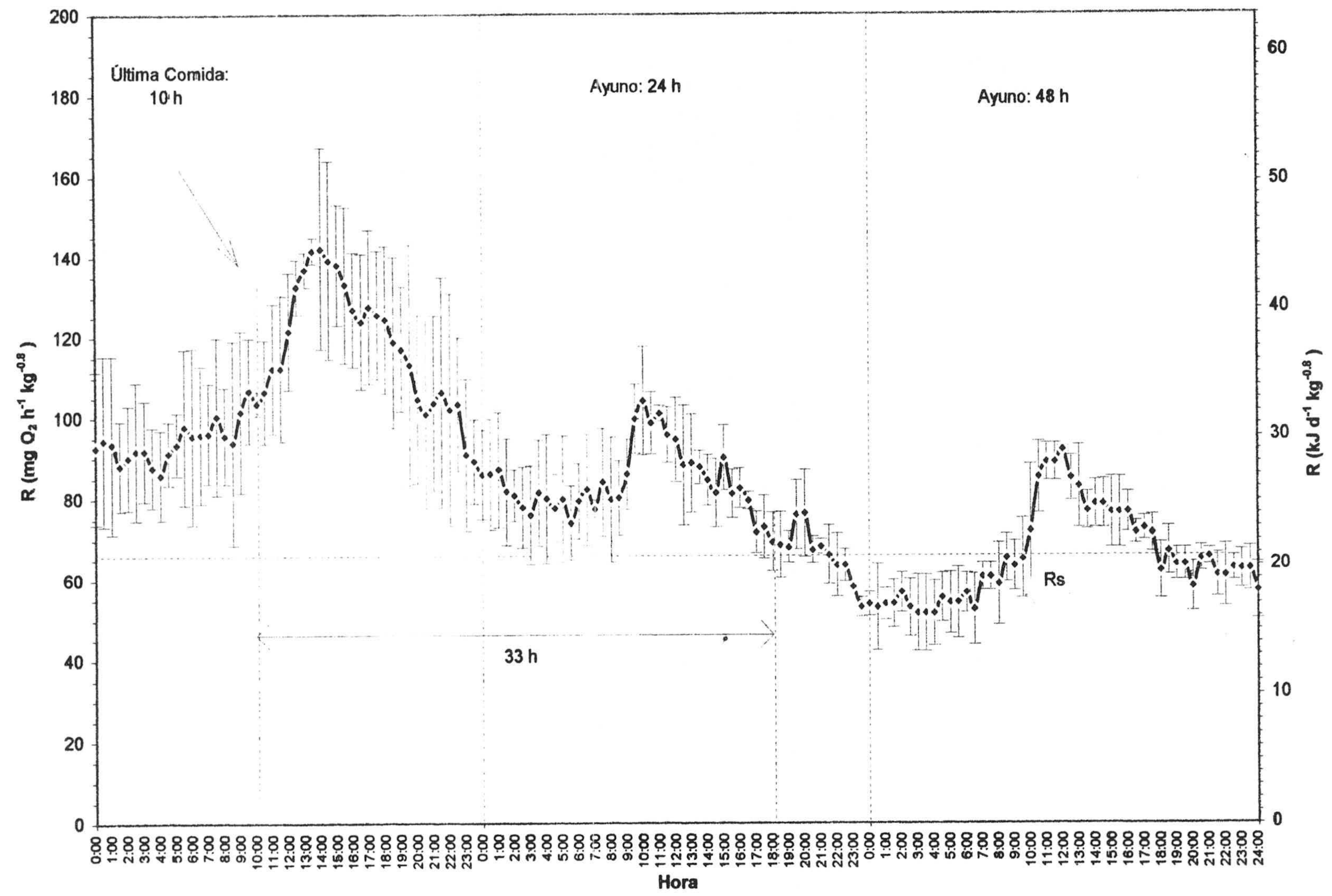




Figura 3.40 Duración del efecto SDA a 21 °C y ración de mantenimiento

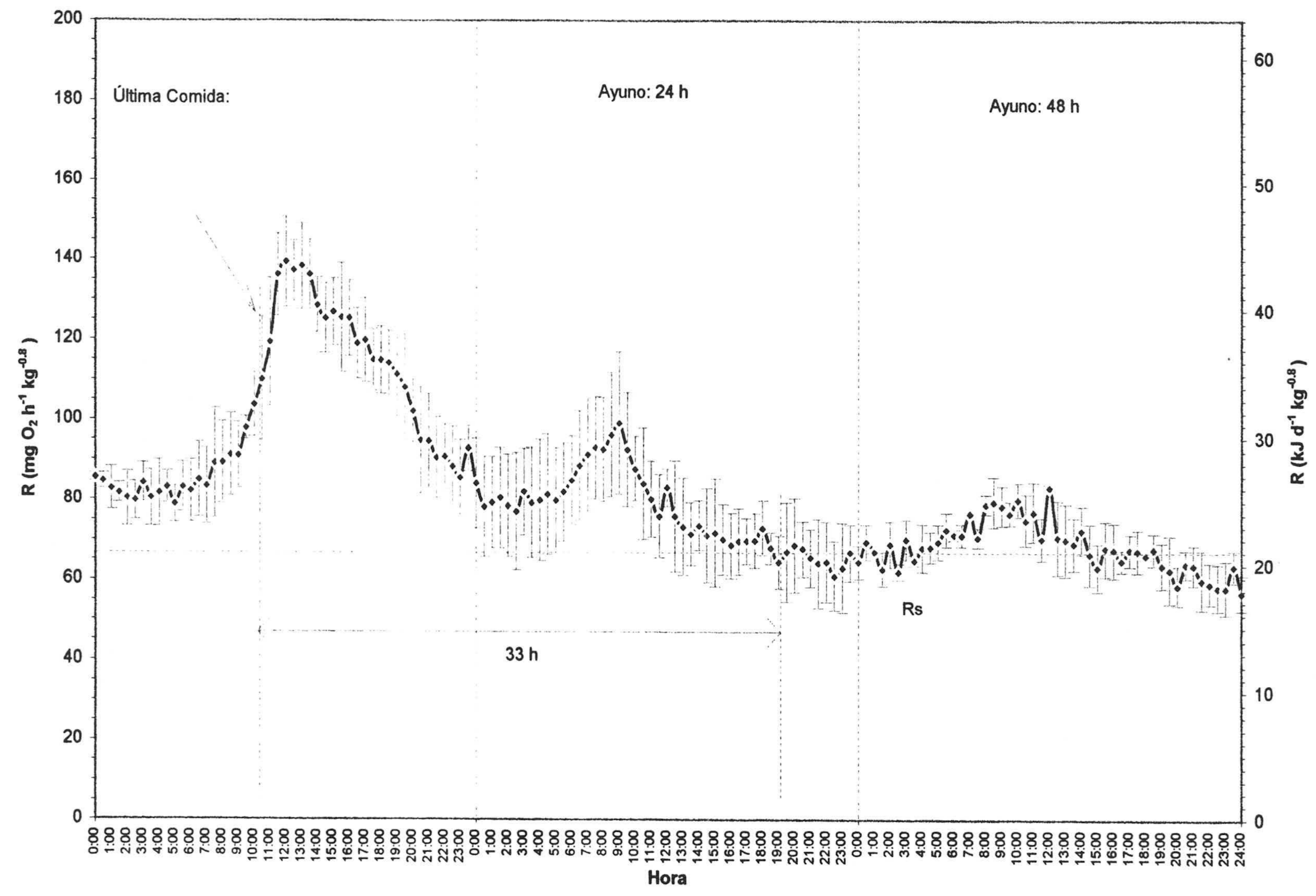




Figura 3.41 Duración del efecto SDA a 25 °C y ración de mantenimiento

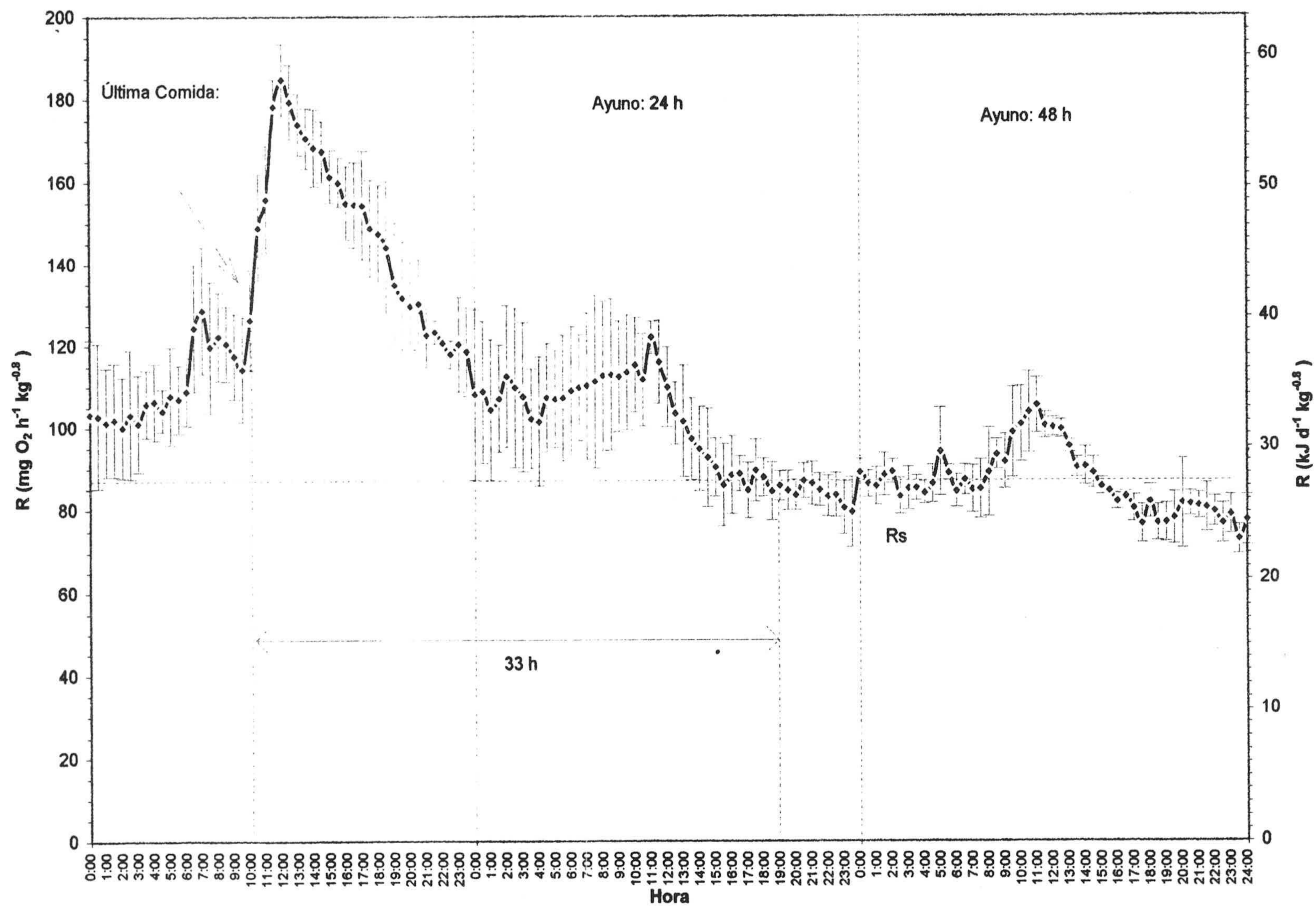
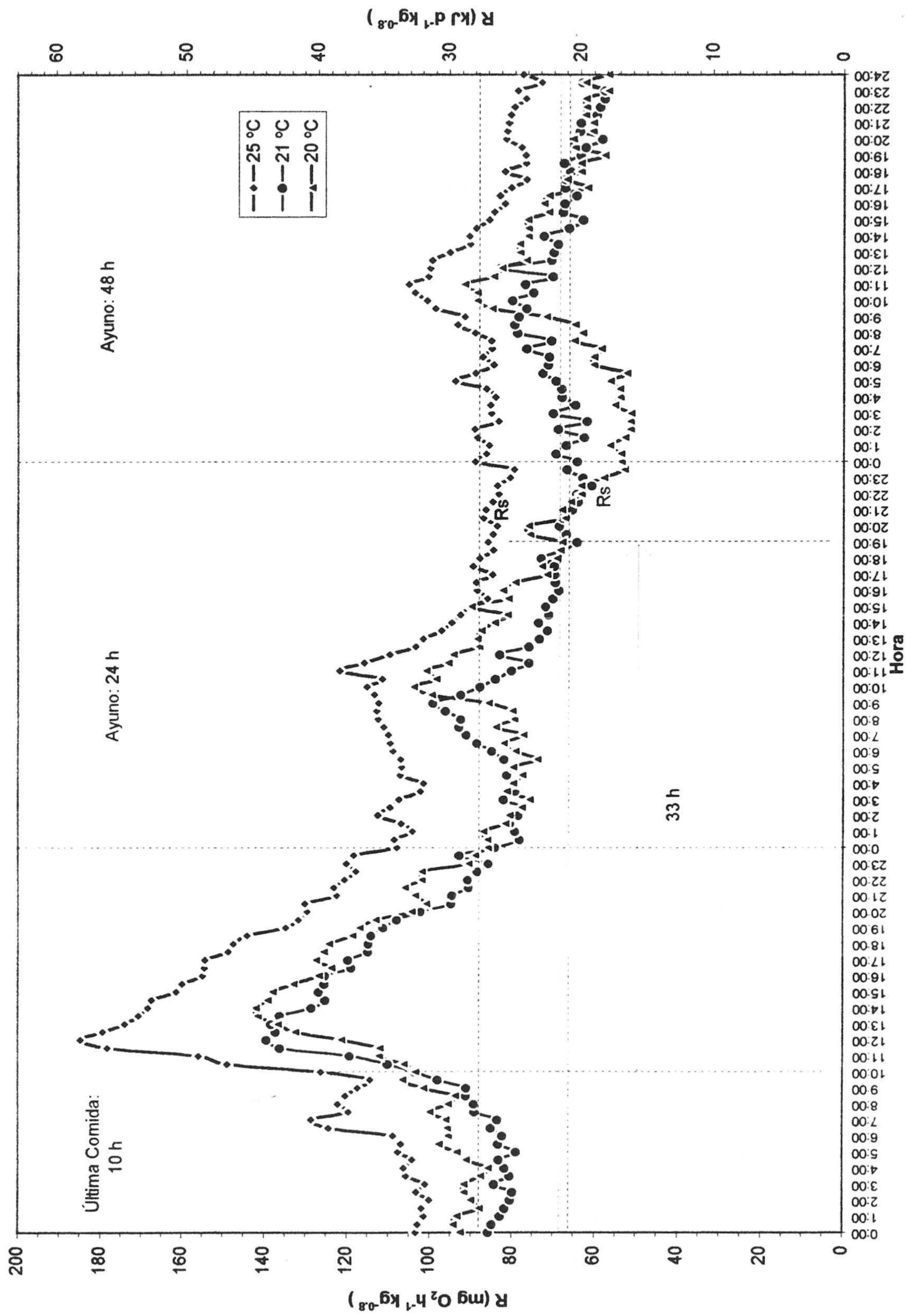




Figura 3.42 Duración del efecto SDA a 20, 21 y 25 °C y ración de mantenimiento





Estos registros ilustran la dificultad de separar el aumento de la actividad espontánea debida al alimento, del efecto de la propia alimentación, pues aunque los patrones son similares, se puede ver como en el primer día de ayuno hay una actividad espontánea mayor que en el segundo día; esta actividad que se aprecia bastante bien cuando el animal está en ayunas, queda sin embargo, enmascarada por el efecto de la propia alimentación en el registro del primer día, cuando los peces estaban alimentados.

En el gráfico de la figura 3.42 se han superpuesto tres registros continuos de 72 horas a 20, 21 y 25 °C donde llama la atención que las tres curvas tienen el mismo patrón de comportamiento, a pesar de que se realizaron con semanas de diferencia. Esto hace pensar que el consumo de oxígeno de los peces es un índice bastante exacto de su metabolismo aerobio y de cómo responden sus mecanismos adaptativos a los cambios de temperatura.



#### 3.3.4 EXCRECIÓN DE AMONÍACO A LA TEMPERATURA DE 21 °C E INGESTA A NIVEL DE MANTENIMIENTO

La puesta a punto de los sensores correspondientes para la medición en continuo de la concentración de amoníaco y dióxido de carbono en las cubas de los peces para, por diferencia con una cuba blanco, estimar la producción por unidad de tiempo de ambos catabolitos, resultó ser un objetivo laborioso y solo parcialmente conseguido como se expone en otros apartados de esta Memoria. En concreto, los datos de producción de CO<sub>2</sub> son muy fragmentarios y consideramos que, aunque disponemos de algunas medidas, el proceso está por concluir.

La sonda de amoníaco presentó menos problemas y, por consiguiente se obtuvieron algunos datos más. En cualquier caso no con la abundancia de los referidos a consumo de oxígeno que constituyen el grueso de esta parte de verificación "in vivo" del funcionamiento de la cámara. De entre los registros continuos (24 horas) conseguimos exponemos sólo uno como representativo de los demás, en la figura 3.43.

Como se puede observar en dicha figura, la producción basal de amoníaco por unidad de peso metabólico es extremadamente baja durante las horas nocturnas, coincidiendo con una tasa metabólica general más baja y como cabría esperar de unos animales ingiriendo una ración reducida. Tras la ingesta de la ración diaria, aumenta espectacularmente la tasa de producción de este catabolito nitrogenado, alcanzando un máximo a las 3 horas tras la comida y manteniéndose relativamente estable durante bastantes horas para volver a decaer a los niveles preprandiales a las 10 horas después de haber comido.

Esta respuesta es en cierto modo paralela a la del consumo de oxígeno, si bien el declinar de esta última se inicia antes y es más progresiva, en tanto que la de la excreción nitrogenada es más abrupta. En términos relativos, el incremento en la producción de amoníaco es notablemente mayor que el correspondiente al consumo de oxígeno como se expone gráficamente en la figura 3.44, donde se observa que la relación AQ (relación entre amoníaco producido y oxígeno consumido) sube espectacularmente llegando a multiplicar sus valores por un factor del orden de 13.



Figura 3.43 Consumo de O<sub>2</sub> y excreción de NH<sub>3</sub> a 21 °C e ingesta de 2.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)

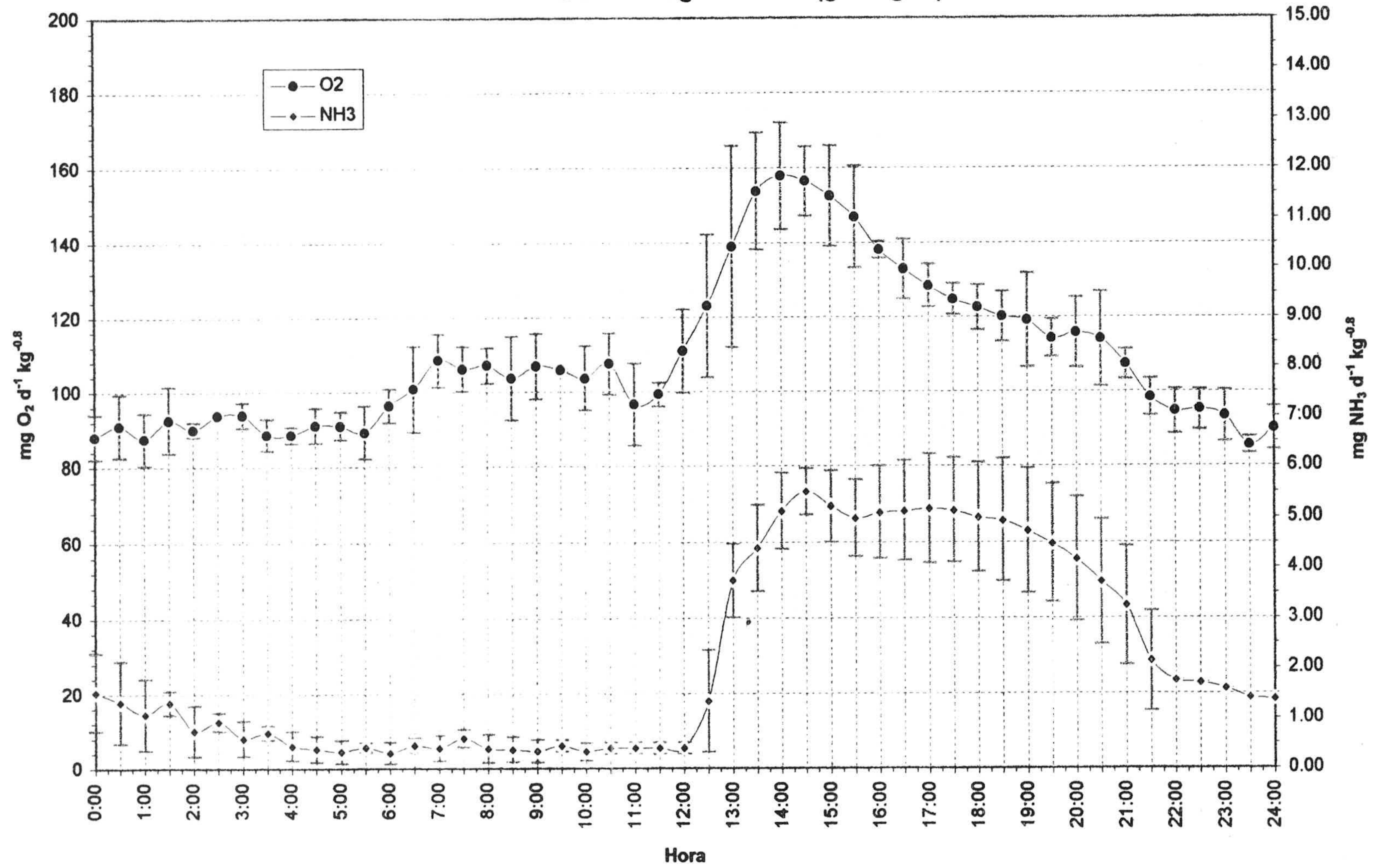
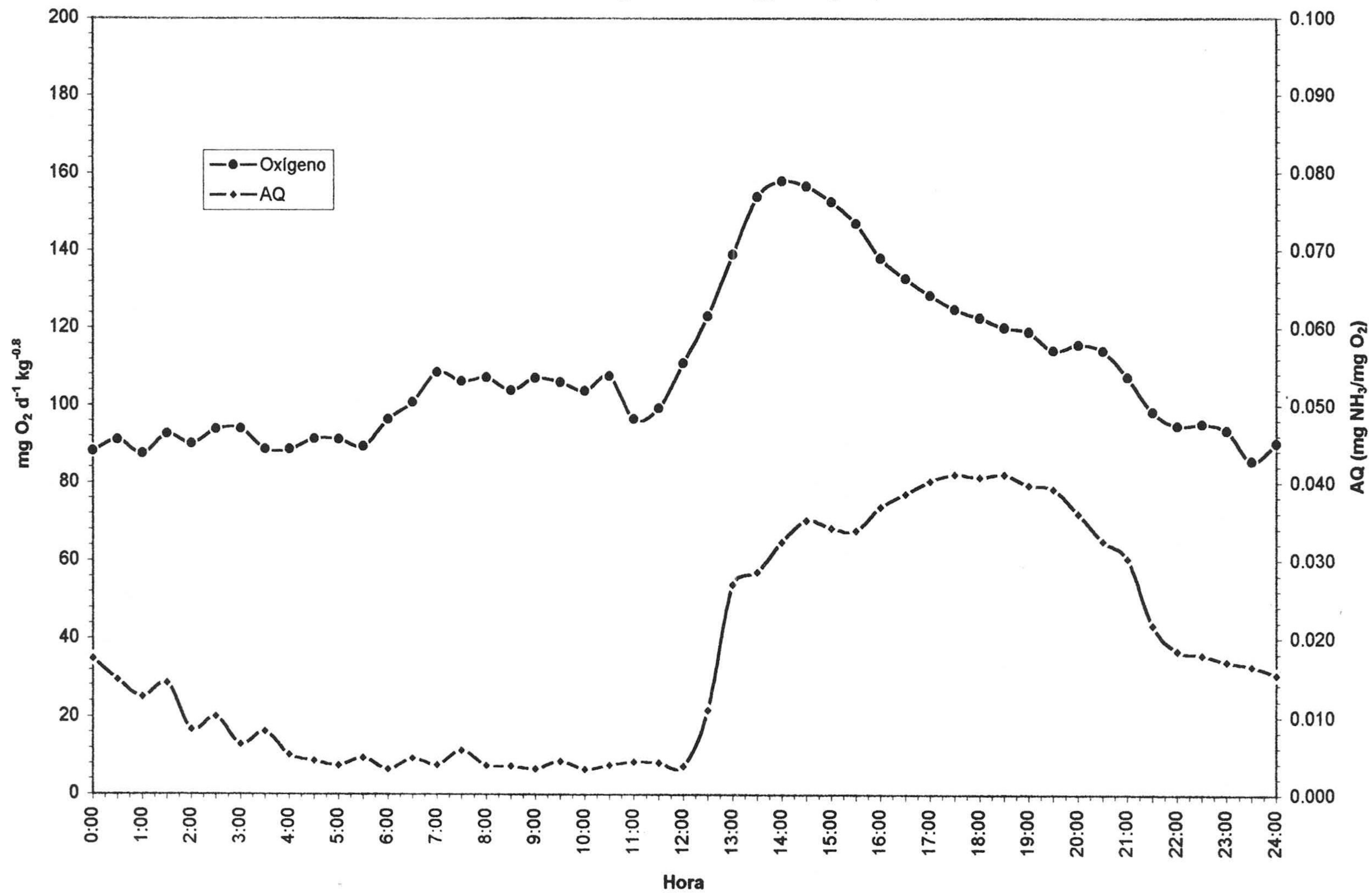




Figura 3.44 Consumo de O<sub>2</sub> y AQ  
a 21 °C e ingesta de 2.4 (g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>)





La respuesta postprandial en la excreción de amoníaco ha sido bien caracterizada en otras especies de peces, siendo su magnitud y duración variables reflejando un aumento en el catabolismo proteico para cubrir las demandas energéticas asociadas al periodo postprandial (SDA y aumento de la actividad espontánea debida a la alimentación), (Cui y Liu, 1990; Gershanovich y Pototstskij, 1992; Flowerdew y Grove, 1980). Nuestros datos parecen confirmar una alta participación de la proteína para la oxidación generadora de energía durante este periodo.

Varios autores han verificado una dependencia de la tasa de excreción nitrogenada con respecto a la composición de la dieta, esencialmente en la dirección indicada por una menor excreción (menor uso de la proteína con fines energéticos, esto es, mejor aprovechamiento para crecimiento) cuanto más baja es la relación proteína/energía de la dieta y hasta cierto límite (Chakraborty et al. 1995; Carter y Brafield, 1992; LeGrow y Beamish, 1985). En nuestro caso, tal variable no ha podido ser considerada al usar sólo una dieta. Por otra parte la no disponibilidad de datos en número suficiente nos impide valorar el posible efecto del tamaño de la ingesta o de la temperatura sobre este parámetro, situaciones ambas que serán objeto de futuros estudios, una vez que hemos podido comprobar que el sistema resulta útil para este tipo de determinaciones.



### 3.3.5 BALANCE ENERGÉTICO A 21 °C E INGESTA DE MANTENIMIENTO

Con la generalidad de los datos obtenidos a 21 °C (los más numerosos y cuyo resumen se refleja más adelante en la tabla 3.28) nos hemos permitido estimar un reparto global del uso de la energía de la dieta tal como el que se representa en la figura 3.45 y que corresponde a una ingesta de mantenimiento. En dichas condiciones, obviamente el porcentaje de energía del alimento dirigida a crecimiento/producción es cero, esto es, toda la energía metabolizable es disipada como calor (R), en el intervalo de tiempo entre una comida y la siguiente. Estimaciones indirectas nos han permitido considerar que la proporción 2:1 es muy adecuada para definir el porcentaje de energía ingerida que queda disponible al animal y la que es eliminada en forma de energía química (heces y excretas nitrogenadas). Por otra parte, el animal dispone de una energía metabolizable que, en las condiciones descritas de ración y temperatura es de aproximadamente los 2/3 de la ingerida.

A partir del protocolo seguido, resulta difícil determinar con precisión la cantidad de energía dedicada a cubrir las necesidades básicas (tasa metabólica estándar) y las derivadas de la ingesta de la comida (SDA), ya que ambos componentes se ven modulados por un cierto factor agregado, a saber, la energía empleada para mantener una actividad locomotora espontánea. Pensamos que este componente debe ser poco importante dados los hábitos relativamente sedentarios de los carpines así como su adaptación a las condiciones de unas cubas de tamaño reducido y que no obliga a grandes desplazamientos. De forma que nos atreveríamos a asociar este elemento en mayor proporción a la actividad locomotora asociada a la alimentación y englobarlo junto al SDA, aunque en sentido estricto no se puede descartar una cierta participación en lo que estamos considerando como Rs.

Hecha esta salvedad, nos resulta que, en condiciones de mantenimiento, algo más del 40% de la energía ingerida se emplea en cubrir las necesidades básicas en tanto que la captura, deglución y utilización digestiva y metabólica del alimento llegaría a representar el 25% de la energía ingerida; insistiendo que este elevado porcentaje puede resultar de un aumento de la actividad locomotora que se inicia antes incluso del suministro de alimento.



**Balance energético a 21°C e ingesta de mantenimiento (2.44 g d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup> )**

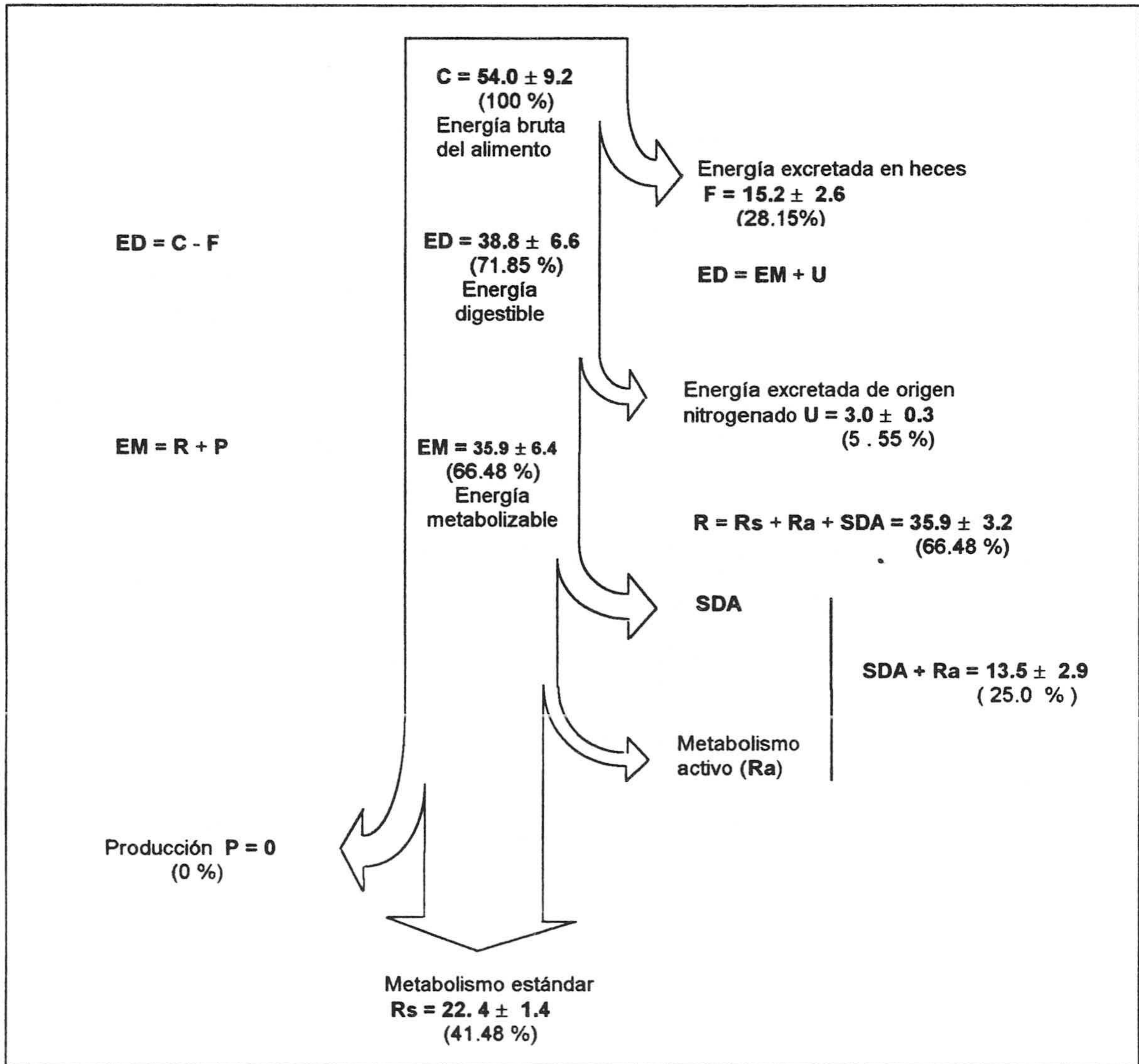


Figura 3.45

No se ha valorado separadamente del SDA, el aumento de la actividad al azar (Ra)  
 Todas las magnitudes están expresadas en kJ d<sup>-1</sup> kg<sup>-0.8</sup>



Con este resumen queremos destacar la importancia que para los estudios de nutrición en peces tiene la utilización de la unidad de metabolismo energético aquí presentada. El poder determinar R y U y, opcionalmente, F nos proporciona el verificar en un corto periodo de tiempo la utilización metabólica de la dieta (energía digestible, energía metabolizable-calidad proteica, energía disponible para crecimiento, etc.), evitando así los largos ensayos de nutrición.

Otra circunstancia que queremos hacer constar es que cuando se expresan los repartos energéticos en peces como porcentajes de la energía ingerida, la misma maquinaria metabólica utilizando la misma dieta proporciona resultados diferentes dependiendo de la cantidad de la ingesta; un hecho que es obvio, pero no por ello menos interesante de comentar, ya que es acostumbrado en bibliografía comparar los distintos repartos energéticos (expresados en %) obtenidos con distintas especies de peces y por distintos autores. Por este motivo, pensamos que tan solo sería adecuado cuando se utilizase el mismo nivel de ración.



### 3.3.6 CALIBRACIÓN DE LA CÁMARA METABÓLICA

Como ya se ha comentado anteriormente (sección 2.3), la energía metabolizable (EM) se reparte entre la energía neta retenida en los tejidos del animal (P) y el calor liberado (R), según el principio general de conservación de la energía.

$$EM = P + R$$

En nuestro caso la ingesta es de mantenimiento por lo que:

$$P = 0 \quad \text{y} \quad EM = R \quad \text{siendo } R = R_m \text{ que es la tasa metabólica de mantenimiento}$$

por otra parte, para  $EM = 0$ , (situación que se produce en ayuno),  $P = -R_s$ , con lo que podemos concluir según lo explicado que:

$$P = k_m EM - R_s$$

donde:

- P es la energía retenida
- EM es la energía metabolizable
- $R_s$  es la tasa metabólica estándar (48 horas de ayuno)

Esta recta intercepta a los ejes en dos puntos determinados experimentalmente ( $R_m$  y  $R_s$ ) y tiene una pendiente  $k_m$ :

$$k_m = \frac{R_s}{R_m}$$

A partir de la tabla 3.28 que es una recopilación de los experimentos llevados a cabo a 21 °C, extraemos:

- $R_m = 35.9 \pm 3.2 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8} \text{)} ; (n = 21; N = 3)$  donde n es el número de determinaciones y N el número de réplicas
- $R_s = 22.4 \pm 1.4 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8} \text{)} ; (n = 48; N = 3)$  donde n es el número de determinaciones y N el número de réplicas



con lo que se obtiene un coeficiente de utilización de la energía de:

$$k_m = 0.62$$

que coincide con el valor obtenido por Schwarz y Kirchegeessner 1984, para *Cyprinus carpio* a una temperatura de 23 °C y ración de mantenimiento, y del mismo orden que los publicados por Huisman (1976) y Meyer-Burgdorff et al. (1989).

La utilización de la energía quedaría expresada para nuestras condiciones experimentales de la forma:

$$P = 0.62 EM - 22.4$$

donde:

**P** es la energía retenida ( $\text{kJ d}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ )

**EM** es la energía metabolizable ( $\text{kJ d}^{-1} \text{kg}^{-0.8}$ )

esta es la ecuación de una recta que se representa en la figura 3.46 por una línea roja.

Teniendo en cuenta que el parámetro que se determina experimentalmente es R, si queremos predecir directamente P podemos sustituir  $EM = P + R$  en la ecuación anterior, y obtenemos una relación entre P y R:

$$P = 1.63 R - 58.95$$

Esta forma de predecir P está basada en las condiciones de que el SDA crezca linealmente con R y que la actividad espontánea del animal no varíe significativamente de la observada en mantenimiento.

Una forma de saber si las medidas realizadas en la cámara metabólica son correctas, es comprobar que la pendiente de la recta que pasa por los puntos  $R_m$  y  $R_s$  (línea roja), no difiere significativamente de la recta realizada con los valores calculados para EM y P a partir de los valores experimentales de R (línea azul) y que ambas rectas cortan en  $-R_s$ . Esta circunstancia además corrobora la validez de la fórmula matemática utilizada por los autores citados anteriormente; siendo los términos de la ecuación característicos de cada especie y de las condiciones experimentales (dieta, temperatura, etc.).



Los estudios sobre la utilización nutritiva de la dieta enfocados desde el punto de vista energético, nos permiten predecir el crecimiento de los animales en unas determinadas condiciones experimentales de una forma más rápida que en los tradicionales ensayos de nutrición. Se necesitan pocos días para conocer los componentes de la ecuación del balance energético (F,U, y R) con distintos niveles de ración y estableciendo la recta de regresión correspondiente calcular la efectividad de la dieta para el crecimiento de los animales.

Tabla 3.28 Utilización de la energía durante un registro continuo de 3 semanas, a 21 °C e ingesta a nivel de mantenimiento

Día	Ingesta		C	R	U	F	EM	P
	%	g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>						
1	0.23	1.40	30.9	26.1	2.1	8.7	20.1	-6.0
2	0.29	1.80	39.8	31.8	2.6	11.2	26.0	-5.8
3	0.28	1.74	38.4	31.6	2.6	10.8	25.0	-6.6
4	0.43	2.67	58.9	37.3	3.1	16.5	39.3	2.0
5	0.46	2.82	62.3	38.7	3.2	17.5	41.6	2.9
6	0.32	1.94	42.9	33.3	2.7	12.1	28.1	-5.2
7	0.45	2.77	61.1	38.0	3.1	17.2	40.8	2.8
8	0.46	2.83	62.6	38.6	3.2	17.6	41.8	3.2
9	0.43	2.63	58.1	37.2	3.1	16.3	38.7	1.5
10	0.39	2.40	53.0	34.6	2.9	14.9	35.3	0.6
11	0.41	2.51	55.4	36.2	3.0	15.6	36.9	0.7
12	0.44	2.69	59.5	38.3	3.2	16.7	39.6	1.3
13	0.32	1.97	43.4	32.7	2.7	12.2	28.6	-4.1
14	0.39	2.40	53.0	36.2	3.0	14.9	35.2	-1.0
15	0.43	2.67	58.9	37.2	3.1	16.5	39.3	2.1
16	0.42	2.57	56.8	37.6	3.1	15.9	37.7	0.2
17	0.41	2.55	56.3	36.4	3.0	15.8	37.5	1.1
18	0.43	2.62	57.9	36.3	3.0	16.2	38.6	2.3
19	0.46	2.82	62.3	39.0	3.2	17.5	41.6	2.6
20	0.46	2.82	62.2	38.4	3.2	17.5	41.6	3.2
21	0.44	2.70	59.6	37.7	3.1	16.7	39.8	2.1
V.medios	0.40	2.44	54.0	35.9	3.0	15.2	35.9	0.0
SD		0.4	9.2	3.2	0.3	2.6	6.4	3.4

$$R_s = 22.4 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$R_m = 35.9 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$\text{Peso medio de los tres lotes (kg)} = 0.884$$

$$\text{Peso metabólico medio de los tres lotes (kg}^{0.8}\text{)} = 1.436$$

$$\text{Coeficiente de digestibilidad aparente de la energía de la dieta (CDA E)} = 0.72$$

$$F = C (1 - \text{CDA E})$$

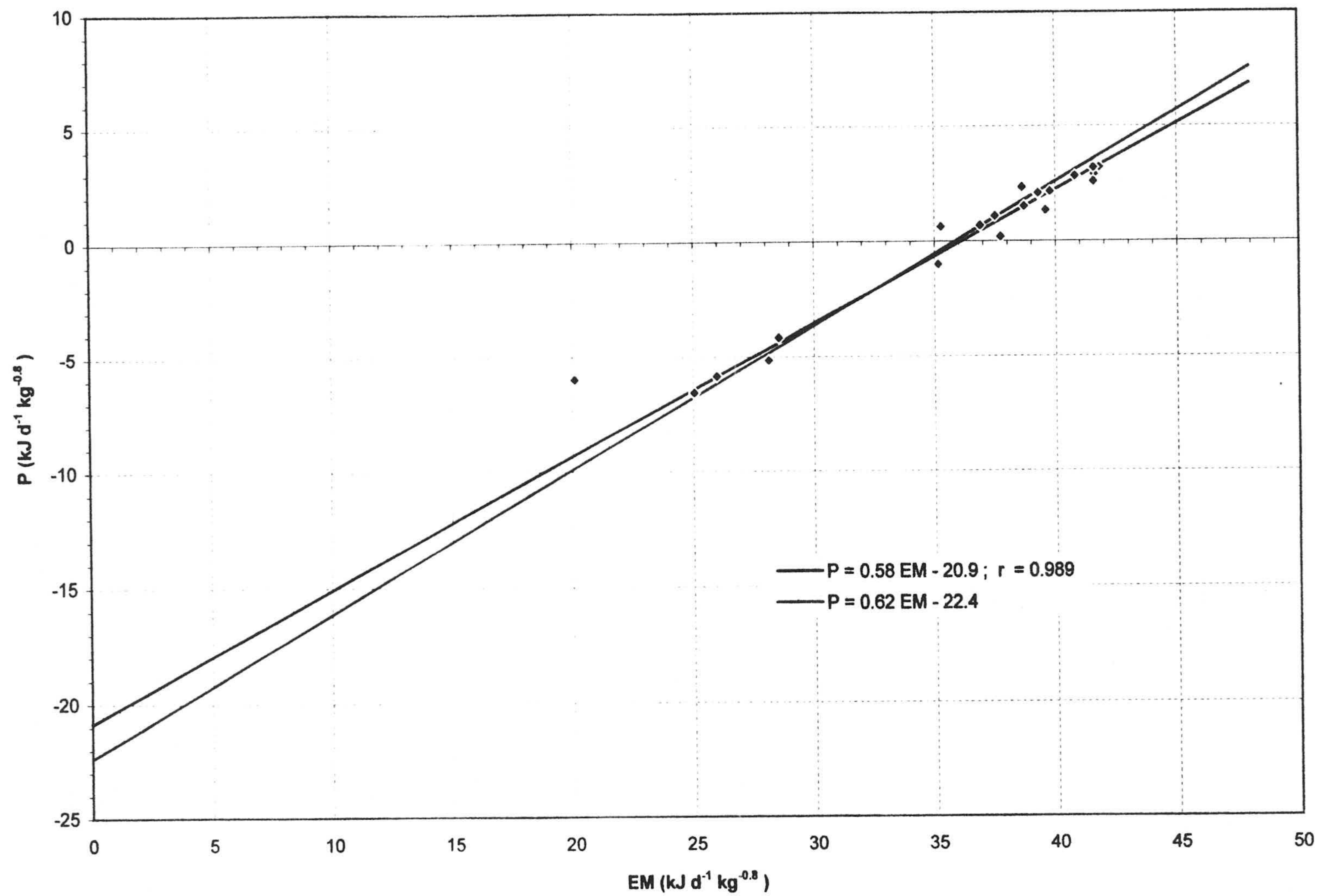
$$EM = C - U - F$$

$$P = C - (R+U+F)$$

U obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)



Figura 3.46 Utilización de la energía metabolizable (EM)  
a 21 °C e ingesta de mantenimiento





A continuación se incluyen los mismos cálculos para las temperatura de 20 y 25 °C, aunque en ambos casos, el número de datos disponibles es sensiblemente menor y, en consecuencia, la significación de los resultados.

Tabla 3.29 Utilización de la energía durante un registro continuo a 20 °C e ingesta a nivel de mantenimiento

Día	Ingesta		C	R	U	F	EM	P
	%	g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>						
1	0.26	1.60	35.3	28.0	2.3	9.9	23.1	-4.9
2	0.28	1.70	37.6	34.2	2.8	10.5	24.2	-9.9
3	0.29	1.80	39.8	30.5	2.5	11.1	26.1	-4.3
4	0.25	1.53	33.8	29.6	2.4	9.5	21.9	-7.7
5	0.26	1.57	34.7	28.9	2.4	9.7	22.6	-6.3
6	0.29	1.81	40.0	32.9	2.7	11.2	26.1	-6.8
7	0.31	1.90	42.0	31.0	2.5	11.8	27.7	-3.8
8	0.32	1.97	43.5	34.2	2.8	12.2	28.5	-5.7
9	0.50	3.10	66.3	40.0	3.3	18.6	46.4	6.0
V.medios	<b>0.31</b>	<b>1.90</b>	<b>41.4</b>	<b>32.2</b>	<b>2.7</b>	<b>11.6</b>	<b>27.4</b>	<b>-4.8</b>
SD		0.5	10.6	3.7	0.3	3.0	7.4	4.5

$$R_s = 21.5 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$R_m = 36.2 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$\text{Peso medio de los tres lotes (kg)} = 0.884$$

$$\text{Peso metabólico medio de los tres lotes (kg}^{0.8}\text{)} = 1.436$$

$$\text{CDA E} = 0.72$$

(en este caso hemos considerado que CDA E es el mismo que a 21 °C)

$$F = C (1 - \text{CDA E})$$

$$\text{EM} = C - U - F$$

$$P = C - (R+U+F)$$

U obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)

Tabla 3.30 Utilización de la energía durante un registro continuo a 25 °C e ingesta a nivel de mantenimiento

Día	Ingesta		C	R	U	F	EM	P
	%	g d <sup>-1</sup> kg <sup>-0.8</sup>						
1	0.45	2.80	61.9	42.8	3.5	17.3	41.0	-1.7
2	0.41	2.50	55.2	40.1	3.3	15.5	36.5	-3.6
3	0.39	2.40	53.0	39.3	3.2	14.8	34.9	-4.3
4	0.44	2.71	59.9	41.6	3.4	16.8	39.7	-2.0
5	0.62	3.80	83.9	46.7	3.8	23.5	56.6	9.9
6	0.44	2.70	59.6	42.2	3.5	16.7	39.5	-2.8
V.medios	<b>0.46</b>	<b>2.82</b>	<b>62.26</b>	<b>42.1</b>	<b>3.46</b>	<b>17.43</b>	<b>41.4</b>	<b>-0.74</b>
SD		0.5	11.1	2.6	0.2	3.1	7.8	5.3

$$R_s = 28.4 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$R_m = 42.1 \text{ (kJ d}^{-1} \text{ kg}^{-0.8}\text{)}$$

$$\text{Peso medio de los tres lotes (kg)} = 0.884$$

$$\text{Peso metabólico medio de los tres lotes (kg}^{0.8}\text{)} = 1.436$$

$$\text{CDA E} = 0.72$$

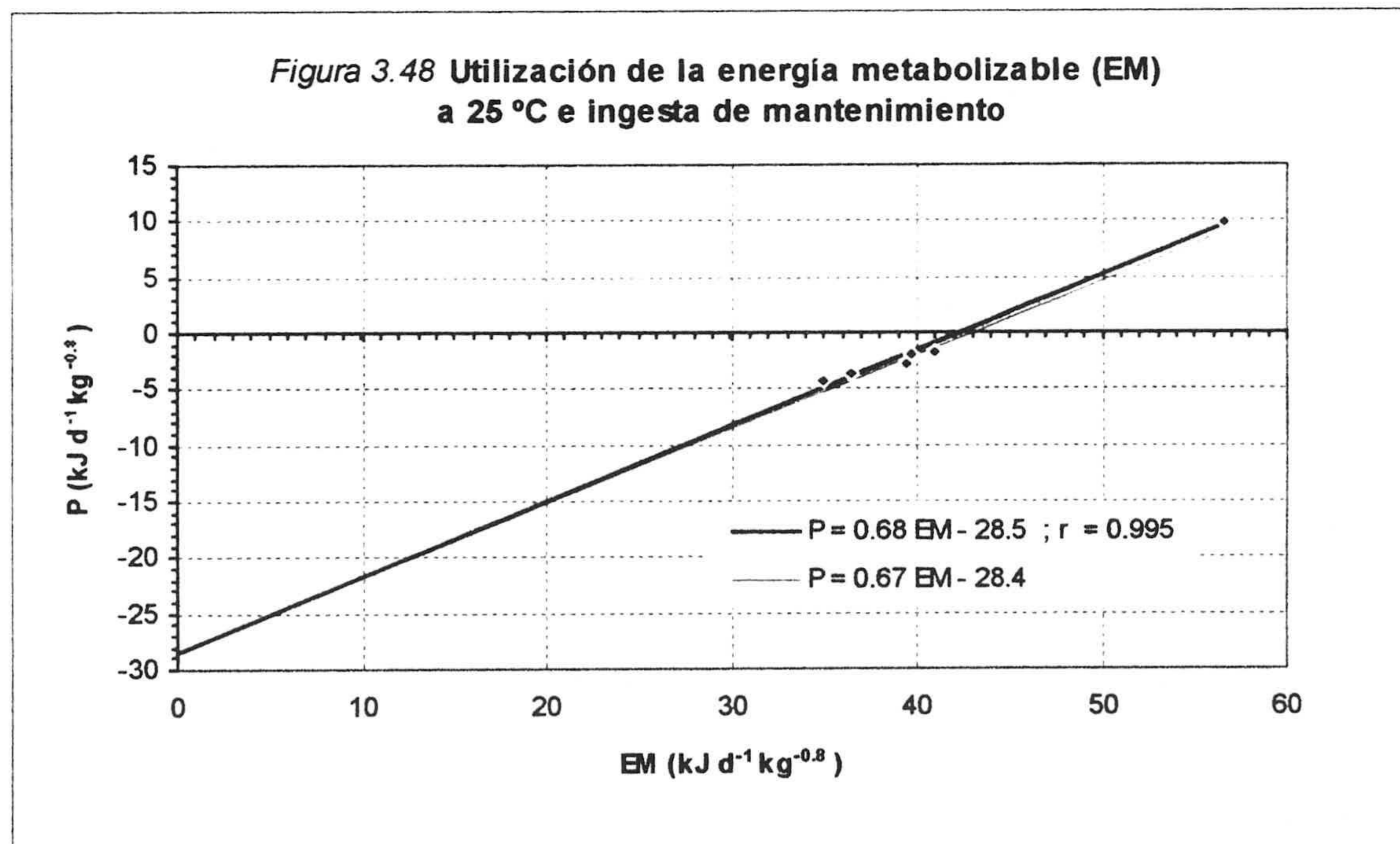
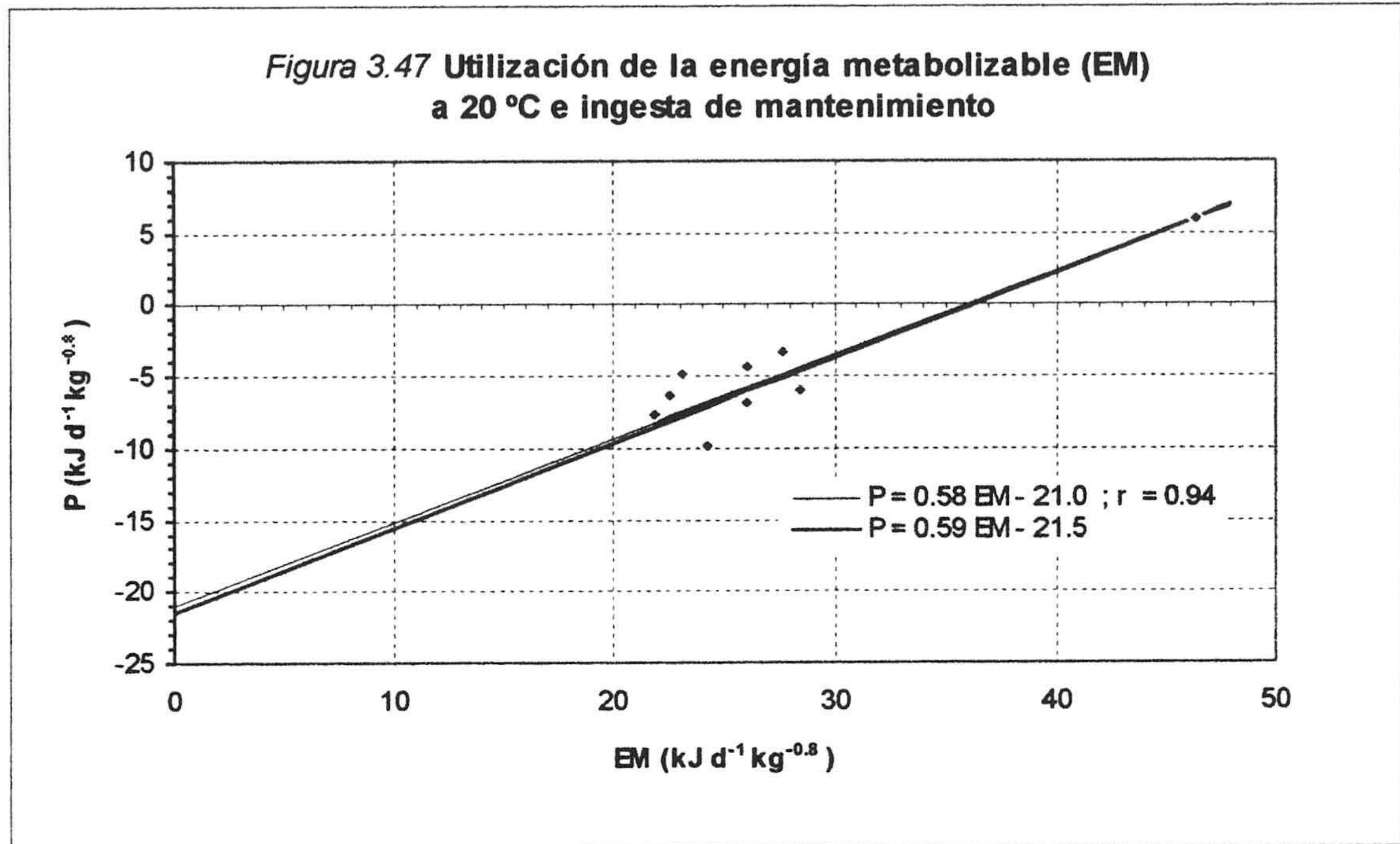
$$F = C (1 - \text{CDA E})$$

$$\text{EM} = C - U - F$$

$$P = C - (R+U+F)$$

U obtenido por el método de Solomon y Brafield (1972)







#### 4. VALORACIÓN GENERAL



# 4

## VALORACIÓN GENERAL

La instalación de cámaras de respirometría para realizar estudios de metabolismo energético en peces y la verificación de su funcionamiento mediante un estudio detallado de los distintos componentes de la tasa metabólica en el carpín dorado, nos llevan a afirmar que:

1. El sistema permite la determinación junto con las técnicas analíticas pertinentes, de todos los componentes del balance energético en peces utilizando numerosos lotes de animales y proporcionando así resultados con gran facilidad estadística. Esto permitirá que en un futuro podamos conocer de forma rápida y precisa la utilización nutritiva de diferentes dietas y predecir el crecimiento de los animales sin tener que esperar los resultados de largos y arriesgados ensayos de nutrición tradicionales.
2. El control automático e informatizado de los parámetros del metabolismo en peces, de forma continua hasta 48 días. Pudiéndose medir con gran precisión y detalle la evolución de los cambios cíclicos en la tasa metabólica y la influencia que sobre ellos puedan ejercer los factores bióticos y abióticos.
3. Por último, pensamos que el sistema aunque es susceptible de ser perfeccionado, constituye la base para el desarrollo de investigaciones destinadas a ampliar los estudios que hasta ahora se vienen realizando en el campo de la alimentación y nutrición de peces.



## 5. APÉNDICES



---

---

Apéndice

**Bases del funcionamiento de un filtro biológico**

**A**

**Bacterias nitrificantes**

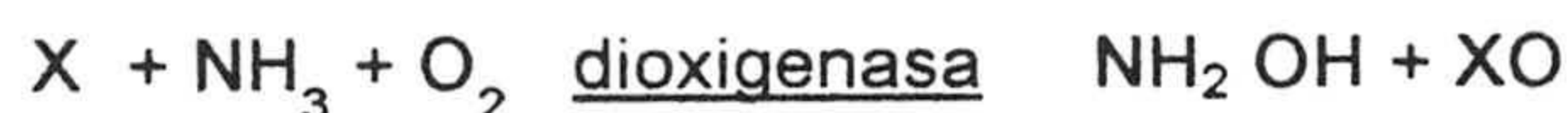
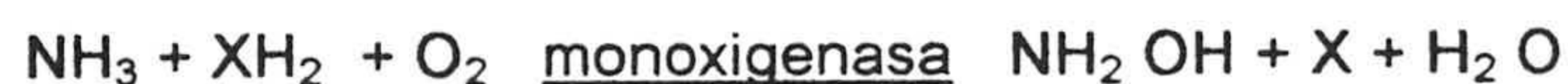
---

---

La base de un filtro biológico son las bacterias nitrificantes: *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*.

*Nitrosomonas*: son bacterias que oxidan el amoníaco a nitritos. Son quimiolitótrofas, tienen un crecimiento óptimo a una temperatura de 30 °C, pH de 7.5-8 y se inhiben con luz ultravioleta, luz de 410 nm y altas concentraciones de oxígeno.

La oxidación del amoníaco la realizan en dos etapas: la primera es la oxidación del amoníaco a hidroxilamina u otro enzima relacionado químicamente, incorporando oxígeno molecular, esta reacción puede estar catalizada por una monooxigenasa o dioxigenasa:



si interviene la monooxigenasa los electrones se originan de la oxidación de la hidroxilamina y pueden ser transferidos vía citocromo 554. Se cree que es la monooxigenasa la que interviene en la oxidación del  $\text{NH}_3$  a  $\text{NH}_2\text{OH}$ , ya que en estudios realizados sobre *Nitrosomonas* que oxidan metano, etileno y compuestos bromocarbonados, requieren una fuente reductora como la



hidracina que oxida a  $N_2$  mediante la hidroxilamina oxidoreductasa. La posibilidad de que el amoníaco y compuestos carbonados sean oxidados por la misma reacción se basan en la inhibición competitiva de oxidación del amoníaco por CO, y metano por la inhibición del etileno.

La oxidación del amoníaco a nitrito es muy sensible a la inhibición de muchos compuestos a muy bajas concentraciones, mientras que la oxidación de la hidroxilamina a nitritos es mucho menos susceptible.

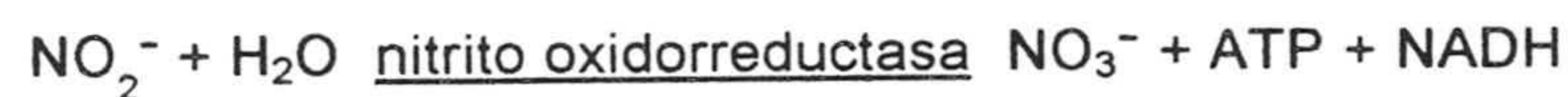
La segunda etapa de la oxidación del amoníaco es la oxidación de hidroxilamina a nitritos, catalizada por hidroxilamina oxidoreductasa (HAO). Este enzima cataliza dos deshidrogenaciones de la hidroxilamina hasta HNO. El segundo oxígeno para la formación de  $HNO_2$  lo puede aportar el oxígeno o el agua, aunque se cree que es ésta última la que lo aporta.

La oxidación de la hidroxilamina a nitritos va acompañada de una producción de gradiente de protones: el ácido nitroso en disolución acuosa se disocia en iones nitrito y protones.

Las *Nitrosomonas* fijan el  $CO_2$  vía ciclo de Calvin como fuente primaria de carbono.

*Nitrobacter*: son bacterias que oxidan los nitritos a nitratos, su crecimiento óptimo es cuando la concentración de nitritos está entre 2-30 mM, pH entre 7.5-8.0 y la temperatura entre 25-30 °C. El crecimiento de estas bacterias se inhibe a concentraciones altas de nitritos. Estas bacterias son muy ricas en citocromos c y a.

La oxidación de nitritos a nitratos que está catalizada por el enzima nitrito oxidoreductasa:



se realiza en dos pasos electrónicos y los electrones son liberados del enzima-substrato, aunque no se sabe muy bien si este substrato es el ion nitrito, el ácido nitroso no disociado o la forma hidratada de uno de los dos.

La nitrito oxidoreductasa de *Nitrobacter* está compuesta por tres proteínas que forman un particular transporte electrónico junto con el citocromo c, una



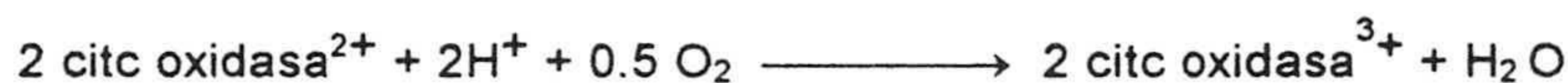
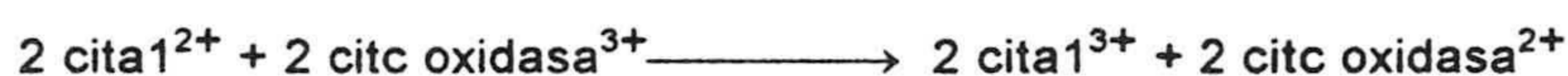
quinona desconocida y NADH deshidrogenasa como componentes del sistema enzimático. El sistema de oxidación de nitritos es inducible. El crecimiento celular requiere nueve días antes de poder crecer quimiolitotróficamente. En el metabolismo quimiolitotrófico el nitrito tiene una doble función: primero como donador de electrones para la fosforilación oxidativa, y segundo como donador de electrones para la síntesis de NADH.

De acuerdo con el potencial redox ( $E_0' = 0.42 \text{ V}$ ) para  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  los electrones pasan de la nitrito oxidoreductasa y penetran en la cadena respiratoria de *Nitrobacter* a nivel de citocromo a1 para generar energía.

La ecuación:



es el producto de tres fases de reacción:



El citocromo a1 es el aceptor de electrones para el nitrito, está presente en altas concentraciones en células con crecimiento quimiotrófico, mixotrófico y heterotrófico en presencia de nitratos, sin embargo, se encuentra en muy bajas concentraciones en células que tienen crecimiento heterotrófico en ausencia de nitratos.

Termoquímicamente la reducción de citocromo c con nitrito como donador electrónico es un proceso que consume energía, y por otro lado las células heterótroficas contienen un co-reactivo citocromo b, por lo que es muy posible que *Nitrobacter* tenga dos terminales para la oxidación de nitritos y otra para la respiración heterotrófica, y que las dos ramas terminales para el transporte electrónico estén conectadas vía citocromo c.

El ATP se produce por fosforilación oxidativa, cuando el nitrito se incorpora a la respiración celular endógena la cantidad de ATP aumenta mientras que la de ADP disminuye y el AMP permanece constante; a altas presiones parciales de oxígeno cuando el crecimiento celular cesa y la tasa de respiración



disminuye, la cantidad de ATP y fosfatos aumenta. El NADH se forma a expensas del ATP en un proceso que consume energía y que está catalizado por la nitrito oxidorreductasa.

En células de *Nitrobacter* con crecimiento quimiolitotrófico sólo el 2-11% de la energía libre generada en la oxidación de nitritos es utilizada para el crecimiento celular; de 85-115 moles de  $\text{NO}_2^-$  deben ser oxidados para la fijación de un mol de  $\text{CO}_2$ . En cultivos, el máximo de células producidas por miligramo de nitrito oxidado y por mililitro es de  $4 \times 10^8$  cel/ml, pero este número puede aumentar en medios mixotróficos.

Las bacterias que oxidan nitritos fijan el  $\text{CO}_2$  vía ciclo de reducción de las pentosas fosfato. En *Nitrobacter*, la ribulosa 1.5 bifosfatasacarboxilasa oxigenasa (RuBisCO) es la responsable de dicha fijación.



---

---

Apéndice

**Oxígeno disuelto en agua**

**B**

**Sensor de oxígeno**

---

---

CALIBRACIÓN A CONCENTRACIÓN CONOCIDA

La calibración al aire es fácil y rápida de realizar, pero es conveniente comprobar de vez en cuando que el sensor funciona correctamente, mediante la calibración a una concentración conocida. Para este propósito hemos elaborado nuestras propias tablas de solubilidad del oxígeno en el agua, para la ciudad de Granada a diferentes presiones y temperaturas.

Los gases se disuelven en mayor o menor extensión en los líquidos dependiendo de la naturaleza del gas y del líquido, de la temperatura y de la presión. En general, la solubilidad de un gas en líquido disminuye al aumentar la temperatura y es directamente proporcional a la presión del gas sobre el líquido (a la presión parcial, si se trata de una mezcla de gases). La relación entre la presión y la solubilidad de un gas se conoce como **ley de Henry**, que aplicada al oxígeno disuelto en agua, podemos escribir:

$$[O_2] = k P$$

donde:

$[O_2]$  = concentración de oxígeno en la disolución

$k = k(t)$  = constante de la **ley de Henry**. A una presión dada, varía con la temperatura  $t$

$P$  = Presión parcial del oxígeno



Dependencia de la temperatura

Para calcular la constante de la **ley de Henry** a cada temperatura, partimos de la ecuación que proporciona la IUPAC Solubility Data Serie:

$$\ln x = A + B \frac{100}{T} + C \ln \left( \frac{T}{100} \right)$$

donde:

$x$  = fracción molar de  $O_2$

$T = 273.15 + t$  = temperatura absoluta

Para oxígeno disuelto en agua pura a la presión de 1 Atm y un rango de temperaturas :  $0 \text{ }^\circ\text{C} \leq t \leq 75 \text{ }^\circ\text{C}$

$A = -66.7354$

$B = 8747.55$

$C = 24.4526$

Es conveniente, por razones prácticas, expresar la concentración en p. p. m. o (mg/l) de  $O_2$  en lugar de en fracción molar, para lo cual tenemos que:

$$x = \frac{n_1}{n_1 + n_2}$$

$n_1$  = moles de  $O_2$  disueltos

$n_2$  = moles de agua en disolución

Las disoluciones de oxígeno en agua son siempre muy diluidas, razón por la que  $n_1 \ll n_2$  y podemos escribir :

$$n_1 = n_2 x$$

o bien, dividiendo por  $V$  ambos términos de la ecuación, nos queda:

$$\frac{n_1}{V} = \frac{n_2}{V} x$$



y si expresamos las masas en mg y el volumen en litros podemos escribir:

$$[O_2] = 1776201.34 \times \left( \frac{mg}{l} \right) \text{ o p. p. m. de } O_2$$

Teniendo en cuenta que, según la **ley de Henry**:

$$k = \frac{[O_2]}{P} = \frac{1776201.34}{760} x \left( \frac{p. p. m.}{mmHg} \right)$$

que es igual a la expresión :

$$k = 2337.107 x$$

donde la fracción molar  $x$  depende de la temperatura de la forma:

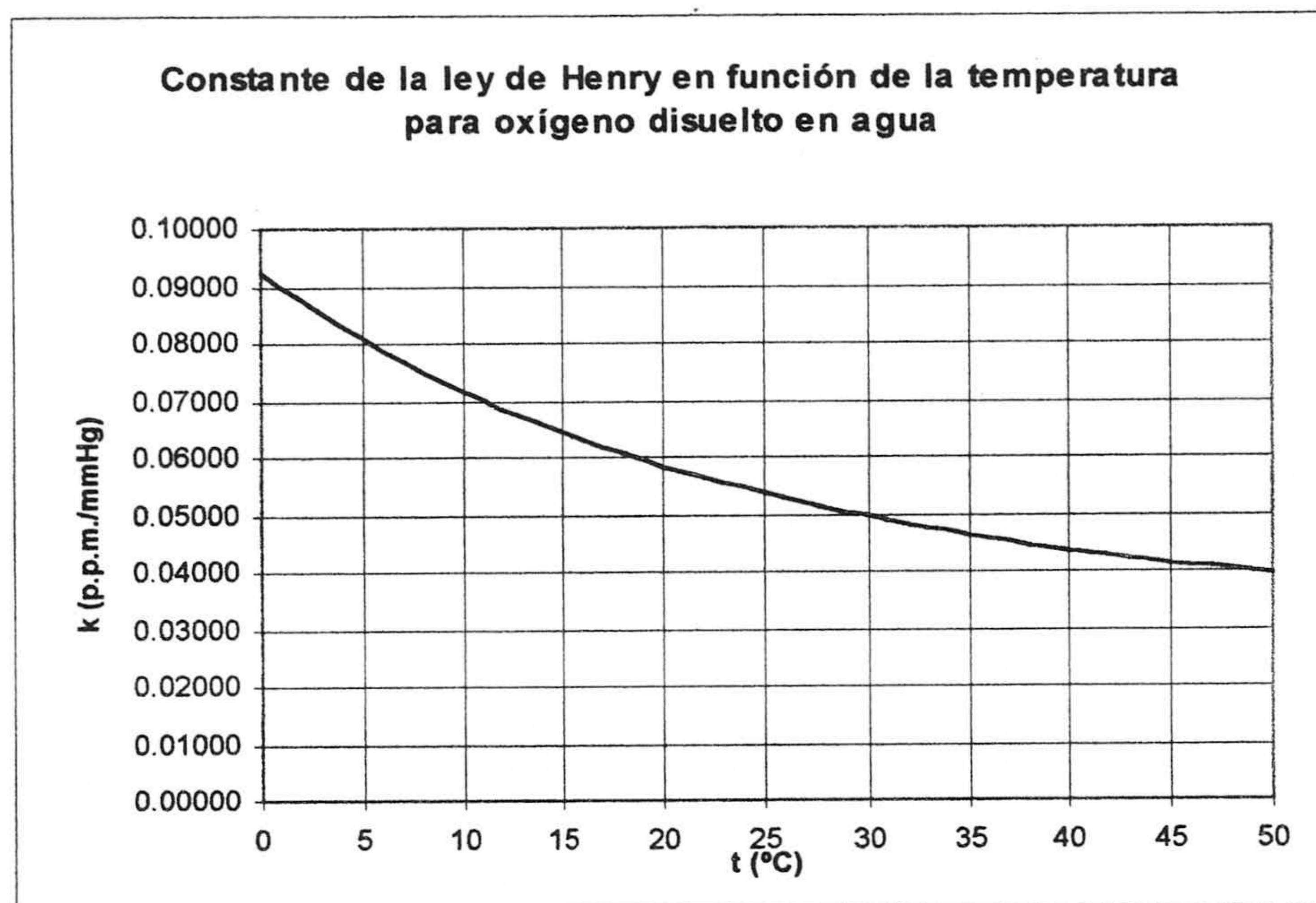
$$x = e^{-66.7354 + \frac{8747.55}{273.15+t} + 24.4526} \ln \left( \frac{273.15+t}{100} \right)$$

Constante de Henry en función de la temperatura para oxígeno disuelto en agua

t(°C)	k (ppm/mmHg)	t(°C)	k (ppm/mmHg)	t(°C)	k (ppm/mmHg)	t(°C)	k (ppm/mmHg)	t(°C)	k (ppm/mmHg)
0	0.09229	10	0.07175	20	0.05844	30	0.04959	40	0.04364
1	0.08979	11	0.07015	21	0.05739	31	0.04889	41	0.04317
2	0.08741	12	0.06862	22	0.05638	32	0.04821	42	0.04271
3	0.08513	13	0.06715	23	0.05541	33	0.04756	43	0.04227
4	0.08295	14	0.06575	24	0.05447	34	0.04693	44	0.04185
5	0.08087	15	0.06440	25	0.05358	35	0.04633	45	0.04144
6	0.07888	16	0.06311	26	0.05272	36	0.04575	46	0.04106
7	0.07698	17	0.06187	27	0.05189	37	0.04519	47	0.04068
8	0.07516	18	0.06068	28	0.05109	38	0.04465	48	0.04033
9	0.07342	19	0.05954	29	0.05033	39	0.04414	49	0.03998
								50	0.03966



y gráficamente:



### Dependencia de la presión

A una temperatura dada, la concentración de  $O_2$  disuelto en agua depende de la presión parcial del oxígeno atmosférico, que, a su vez depende de la presión barométrica y de la humedad relativa del aire.

Consideremos en primer lugar aire seco, cuya composición es:

Composición del aire seco	
Gas	% en volumen
$N_2$	0.78084
$O_2$	0.209476
Ar	0.00934
$CO_2$	0.000314
Ne	0.00001818
He	0.00000524
Kr	0.00000114
Xe	0.000000087
$CH_4$	0.000002
$H_2$	0.0000005

*Ref.: U.S. Standard atmosphere, 1976, N. A. S. A.. Handbook of Chemistry and Physics, 76ª Edición.*



Por ejemplo, para aire seco a una presión barométrica  $P = 760$  mmHg y temperatura  $t = 25$  (°C)

$$\text{presión parcial de O}_2 = 760 \text{ mmHg} \cdot 0.209476 = 159.2 \text{ mmHg}$$

$$k = 0.05358 \text{ (p. p. m. / mmHg)}$$

$$[\text{O}_2] = k \text{ Presión parcial O}_2 = 0.05358 \left( \frac{\text{p. p. m.}}{\text{mmHg}} \right) \cdot 159.2 \text{ mmHg} = 8.53 \text{ p.p.m.}$$

Sin embargo sucede que en las condiciones de experimentación, el aire en contacto con el agua se satura de humedad y, como consecuencia, la presión parcial del oxígeno es menor que la correspondiente al aire seco.

Presión de vapor de agua en función de la temperatura

t (°C)	Presión de vapor de agua (mmHg)	t (°C)	Presión de vapor de agua (mmHg)	t (°C)	Presión de vapor de agua (mmHg)	t (°C)	Presión de vapor de agua (mmHg)	t (°C)	Presión de vapor de agua (mmHg)
0	4.59	10	9.21	20	17.54	30	31.84	40	55.36
1	4.93	11	9.85	21	18.66	31	33.72	41	58.38
2	5.30	12	10.52	22	19.84	32	35.69	42	61.55
3	5.69	13	11.24	23	21.08	33	37.75	43	64.85
4	6.10	14	11.99	24	22.39	34	39.92	44	68.31
5	6.55	15	12.79	25	23.77	35	42.20	45	71.93
6	7.02	16	13.64	26	25.22	36	44.59	46	75.71
7	7.52	17	14.54	27	26.75	37	47.10	47	79.66
8	8.05	18	15.48	28	28.37	38	49.73	48	83.79
9	8.61	19	16.48	29	30.06	39	52.48	49	88.09
								50	92.59

Ref.: L. Haar, J. S. Gallagher and G. S. Kell, *NBS/NRC Steam Tables*, Hemisphere Publishing Corp., New York, 1984.

Si repetimos el mismo ejemplo, a una presión barométrica  $P = 760$  mmHg y **aire saturado de humedad** a la temperatura de 25 °C:

$$U = 23.77 \text{ mmHg} = \text{presión de vapor de agua}$$

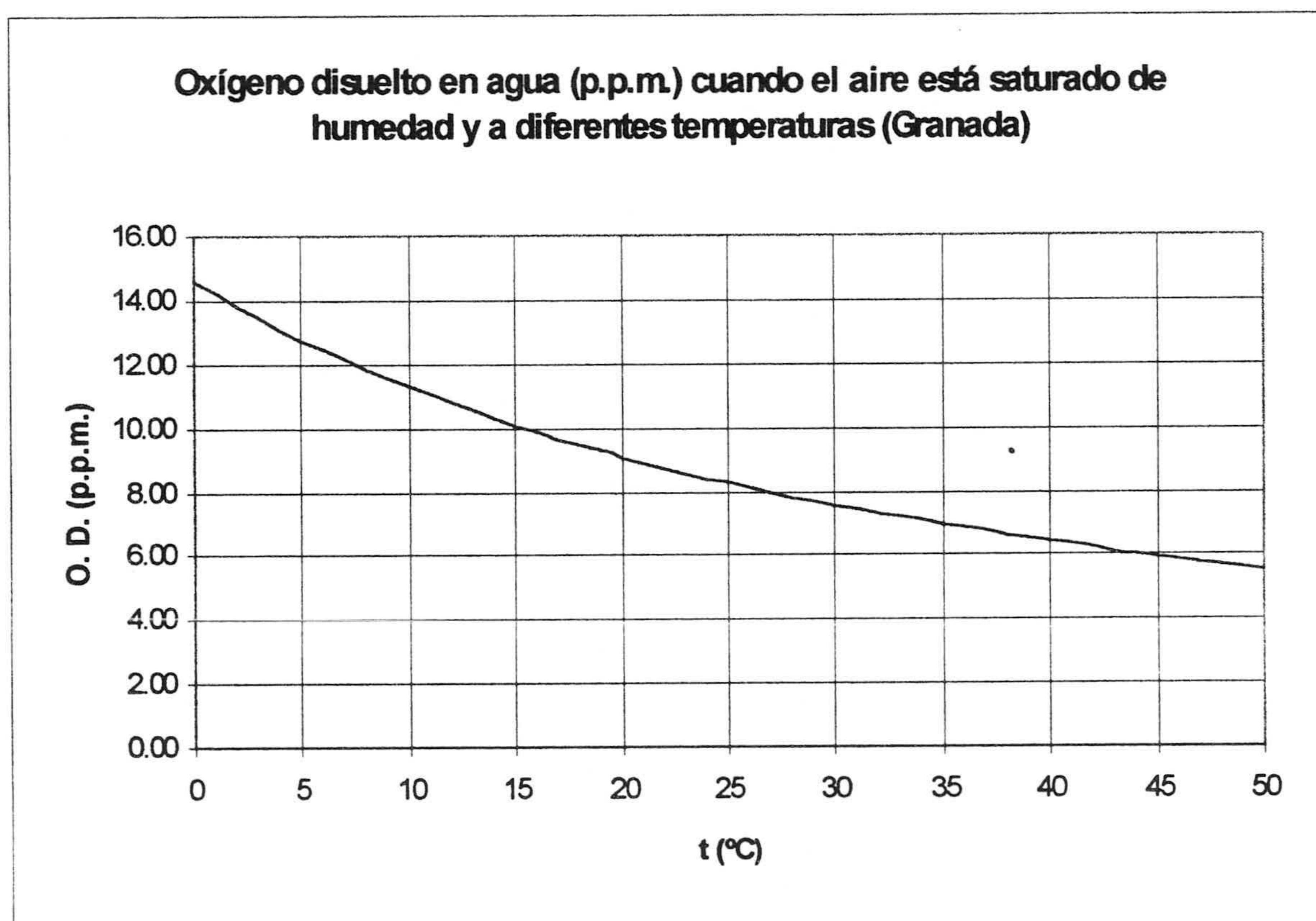
$$\text{Presión parcial de O}_2 = (P - U) 0.209476 = (760 - 23.77) \text{ mmHg} \cdot 0.209476 = 154.22 \text{ mmHg}$$

$$k = 0.05358 \text{ (p.p.m./mmHg)}$$

$$[\text{O}_2] = K \text{ Presión parcial O}_2 = 0.05358 \left( \frac{\text{p. p. m.}}{\text{mmHg}} \right) \cdot 154.22 \text{ mmHg} = 8.26 \text{ p.p.m.}$$



Si la presión barométrica es distinta de 760 mmHg, se corrigen los valores anteriores multiplicando por  $P/760$ , donde  $P$  es la presión barométrica. Así se ha confeccionado el gráfico y la tabla que se muestra a continuación, en la que se obtiene el oxígeno disuelto en agua (p.p.m.) a diferentes temperaturas y presiones, cuando el aire está saturado de humedad.



Estos valores coinciden prácticamente con los que se obtienen de las fórmulas aproximadas propuestas por H. P. Stirling en *Chemical and Biological Methods of Water Analysis for Aquaculturalists*, De H. P. Stirling, Scotland, 1985.:

$$[O_2] = 0.678 \frac{(P - U)}{35 + t} \quad (\text{Rango de temperatura: } 0 \text{ }^\circ\text{C} \leq t \leq 30 \text{ }^\circ\text{C})$$

$$[O_2] = 0.827 \frac{(P - U)}{49 + t} \quad (\text{Rango de temperaturas: } 0 \text{ }^\circ\text{C} \leq t \leq 50 \text{ }^\circ\text{C})$$



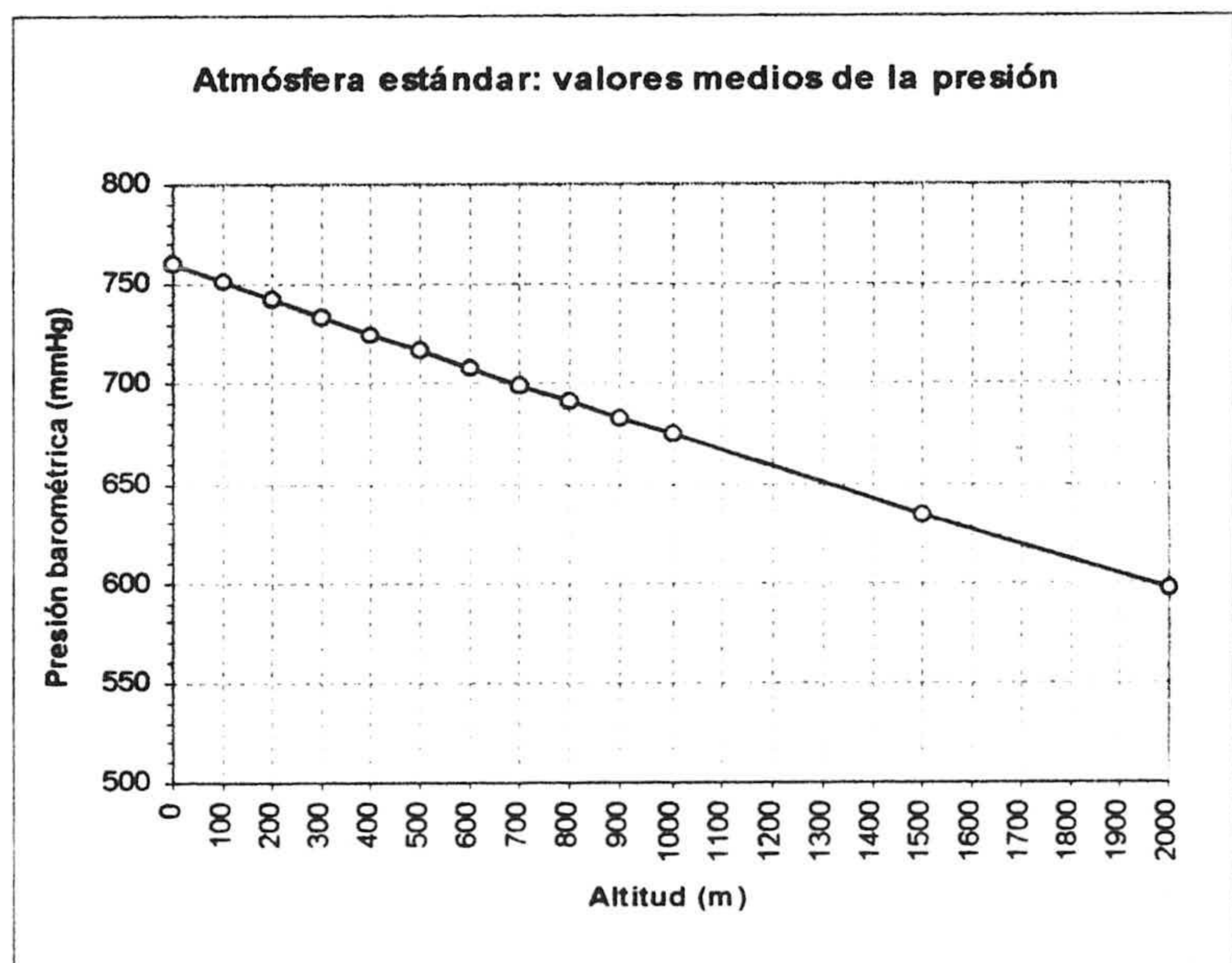
donde:

- P = Presión barométrica (mmHg)
- U = Presión de vapor de agua (mmHg)
- [O<sub>2</sub>] = Oxígeno disuelto (p.p.m.)
- t = Temperatura (°C)

Corrección por la altitud

La presión barométrica disminuye con la altitud. Para latitudes templadas, los valores medios de presión aceptados internacionalmente vienen dados por la denominada *Atmósfera Estándar*.

<i>Atmósfera Estándar (latitudes templadas)</i>	
<i>Altitud sobre el nivel del mar (m)</i>	<i>Presión (mmHg)</i>
0	760
100	751
200	743
300	734
400	725
500	716
600	708
700	700
800	691
900	683
1000	674
1500	634
2000	596



La altitud de Granada es aproximadamente 700 m sobre el nivel del mar. En la siguiente tabla se expresan los valores de oxígeno disuelto en agua, tanto a nivel del mar como a la altitud de Granada. Según las condiciones meteorológicas la columna mercurial oscila entre  $\pm 5\%$  de los valores normales a cada altitud. Para agua marina la salinidad afecta a la solubilidad del oxígeno de forma no lineal y debe hacerse la corrección correspondiente tal como indica Stirling, (1985).







---

---

Apéndice

**Amoníaco disuelto en agua**

**C**

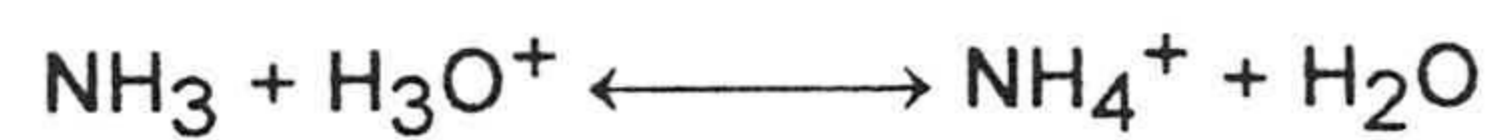
**Sensor de amoníaco**

---

---

QUÍMICA DEL AMONÍACO

Como es sabido el amoníaco disuelto en agua reacciona con el ion hidrógeno para formar ion amonio:



Teniendo en cuenta que en el equilibrio:

$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{NH}_3]} = k = 10^{9.3}$$

$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_3]} = 10^{9.3} [\text{H}_3\text{O}^+]$$

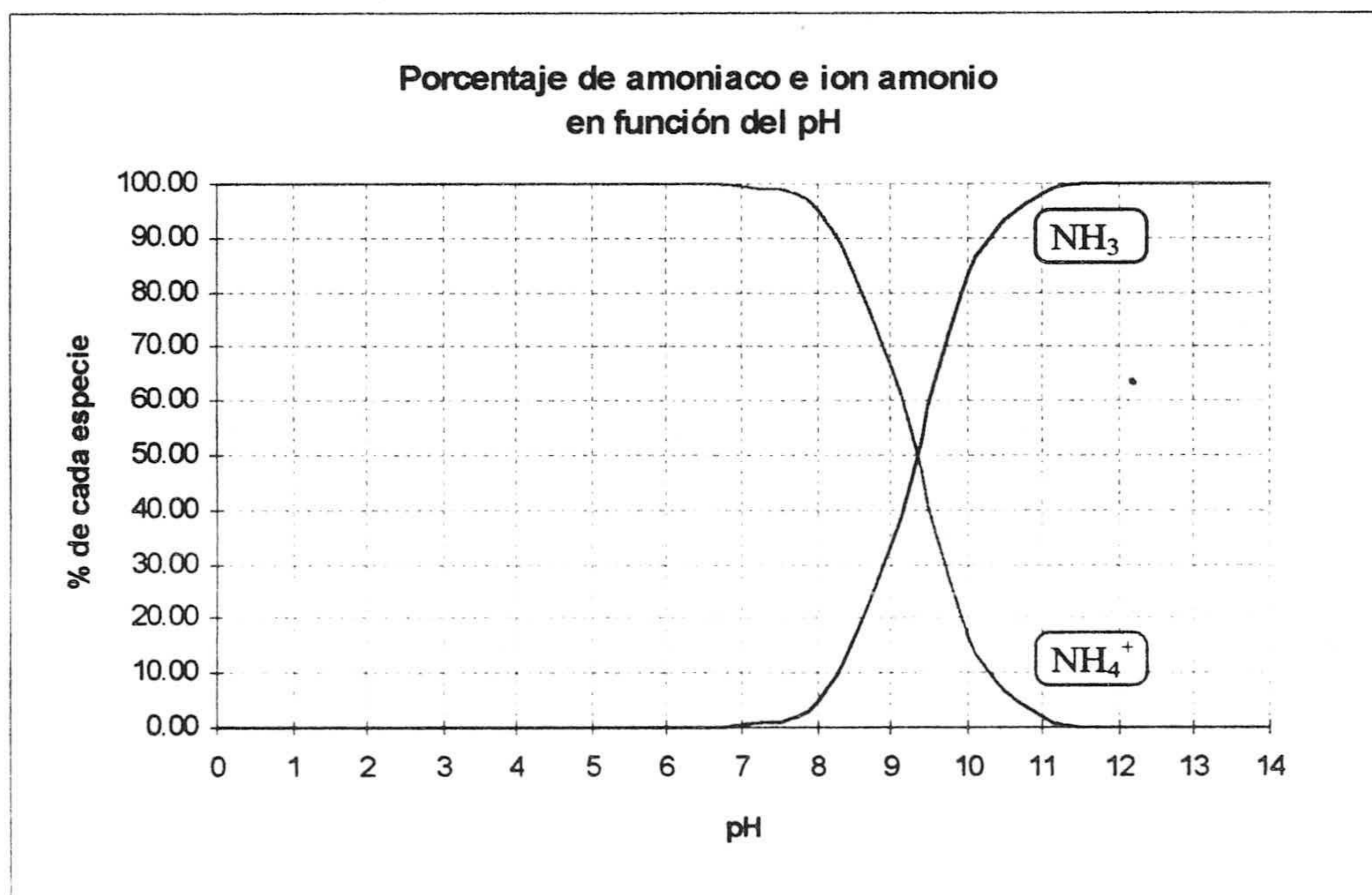
$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_3]} = 10^{9.3} 10^{-\text{pH}}$$

$$\frac{[\text{NH}_4^+]}{[\text{NH}_3]} = 10^{9.3-\text{pH}}$$



La cantidad de amonio e ión amonio está relacionada con el pH de la disolución.

- En disoluciones ácidas (en las que hay disponibilidad de  $\text{H}_3\text{O}^+$ ) todo el  $\text{NH}_3$  pasa a  $\text{NH}_4^+$ .
- A  $\text{pH} = 9.3$ , la mitad está en forma de  $\text{NH}_3$  y la otra mitad está en forma de  $\text{NH}_4^+$ .
- A  $\text{pH} > 11$  prácticamente sólo existe  $\text{NH}_3$



por lo que para medir el amoníaco hay que mantener la disolución muestra a un  $\text{pH} \geq 11$ , tal como se muestra en la figura.



## TEORIA DEL SENSOR DE AMONÍACO

El  $\text{NH}_3$  que pasa de la muestra a la disolución interna del sensor reacciona con el agua de la forma:



en el equilibrio 
$$k = \frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]}$$

Pero la disolución interna contiene un alto nivel de cloruro amónico, por lo que la concentración de ión amonio puede considerarse constante y entonces:

$$[\text{OH}^-] = k [\text{NH}_3]$$

Como el electrodo activo es sensible a la  $[\text{OH}^-]$  también lo es a la  $[\text{NH}_3]$  de forma lineal.

Según la teoría de Nerst el potencial del elemento sensible de pH se relaciona con la concentración de  $\text{OH}^-$  por la ecuación:

$$E = E_0 - S \log [\text{OH}^-]$$

$E$  = potencial medido

$E_0$  = potencial de referencia

$[\text{OH}^-]$  = concentración de ion hidróxido

$S$  = pendiente del electrodo (-59.2 mV/década a 25 °C)

La pendiente depende de la temperatura y viene dada por:

$$S = 2.3 RT / nF = -0.05915 \text{ V a } 25 \text{ °C } (-59.15 \text{ mV})$$

$R = 8.3144 \text{ J / mol K} = \text{Cte. de los gases}$

$T = 273.16 + t = \text{temperatura absoluta}$

$F = 96496 \text{ C} = \text{Faraday}$

$n = \text{carga y signo del ión } (-1 \text{ en este caso})$



Temperatura (°C)	5	10	15	20	25	30	35
S (mV/década)	-55.18	-56.17	-57.17	-58.16	-59.15	-60.14	-61.13

Desafortunadamente, el **Medidor 720A** no corrige automáticamente el efecto de la temperatura y esto puede representar una importante fuente de errores, como puede verse en la tabla que incluimos a continuación donde se observa una significativa diferencia en mV para valores extremos de pH.

El potencial puede expresarse como medida del **pH de su disolución interna** de la forma:

$$E = E_0 - S \text{ pOH}$$

donde:

$$\text{pOH} = - \log [\text{OH}^-]$$

o bien:

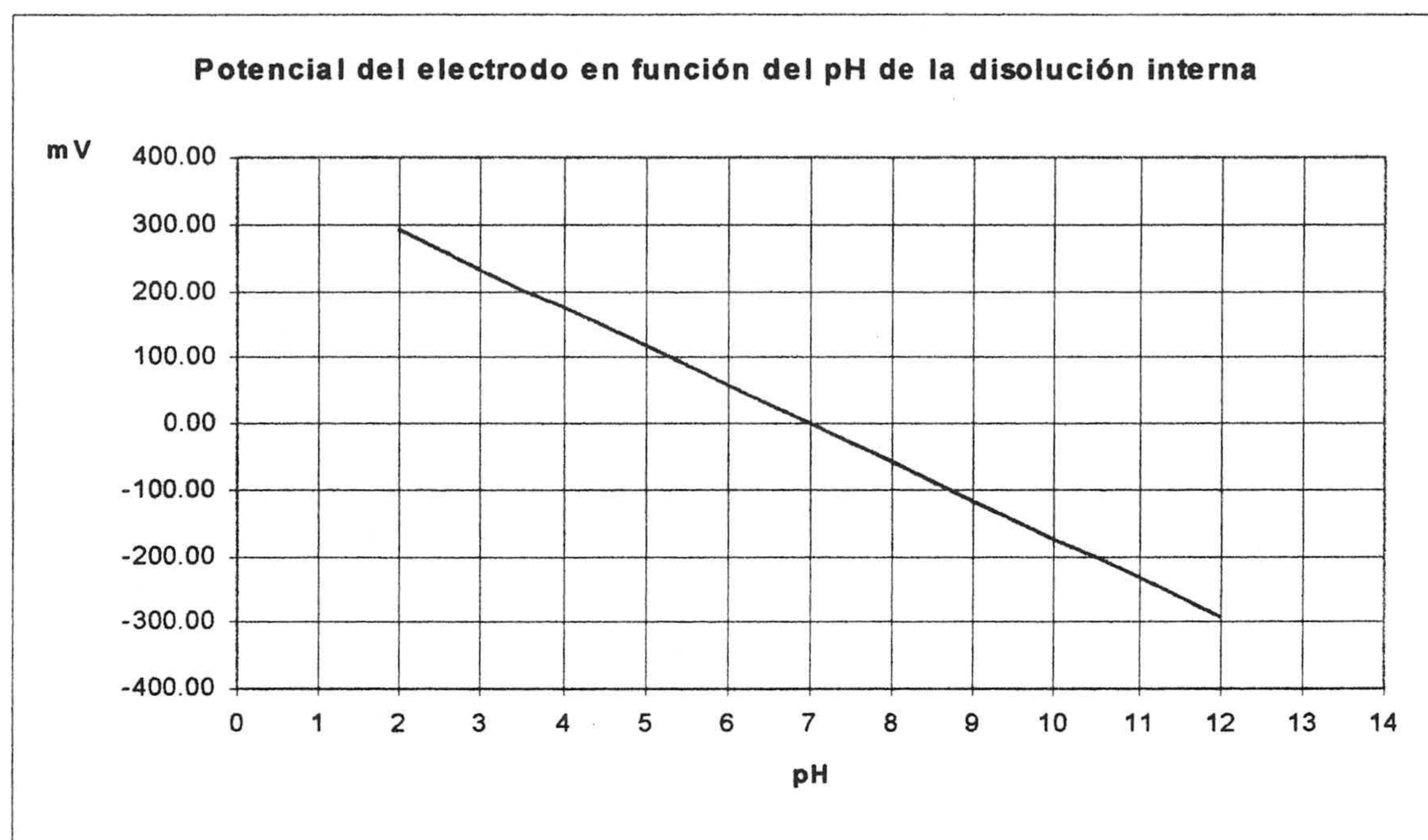
$$\text{pOH} = (E_0 - E) / S \quad (\text{pH} + \text{pOH} = 14)$$

Potenciales del electrodo en función de la temperatura y el pH

Potenciales del electrodo en función de la temperatura y el pH							
pH	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
0	386.28	393.22	400.16	407.11	414.05	420.99	427.94
1	331.09	337.05	343.00	348.95	354.90	360.85	366.80
2	275.91	280.87	285.83	290.79	295.75	300.71	305.67
3	220.73	224.70	228.66	232.63	236.60	240.57	244.54
4	165.55	168.52	171.50	174.47	177.45	180.43	183.40
5	110.36	112.35	114.33	116.32	118.30	120.28	122.27
6	55.18	56.17	57.17	58.16	59.15	60.14	61.13
7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	-55.18	-56.17	-57.17	-58.16	-59.15	-60.14	-61.13
9	-110.36	-112.35	-114.33	-116.32	-118.30	-120.28	-122.27
10	-165.55	-168.52	-171.50	-174.47	-177.45	-180.43	-183.40
11	-220.73	-224.70	-228.66	-232.63	-236.60	-240.57	-244.54
12	-275.91	-280.87	-285.83	-290.79	-295.75	-300.71	-305.67
13	-331.09	-337.05	-343.00	-348.95	-354.90	-360.85	-366.80
14	-386.28	-393.22	-400.16	-407.11	-414.05	-420.99	-427.94



Esta relación traducida a pH se expresa en la siguiente figura:



#### CALIBRACIÓN DEL SENSOR

En el sensor de amoníaco la calibración puede hacerse con un sólo punto si el sensor funciona correctamente, es decir, si su pendiente es la correcta a la temperatura dada. Para calibrar el sensor se sumerge en una disolución cuya  $[\text{NH}_3]$  es conocida, y se introduce dicho valor en el medidor. A partir de este momento el microprocesador nos proporciona la concentración que corresponde a cada variación del potencial.

Una calibración con dos puntos, nos proporciona además la pendiente del sensor en las condiciones actuales; dato que nos sirve para comprobar el buen funcionamiento del sensor.

Una calibración de uno o dos puntos es suficiente si el sensor funciona en un rango de medidas en que la pendiente sea constante, pero a concentraciones muy bajas o cuando se mide un blanco, la curva no tiene pendiente constante y la ecuación de Nerst empleada es:



$$E = E_0 - S \log (C + b)$$

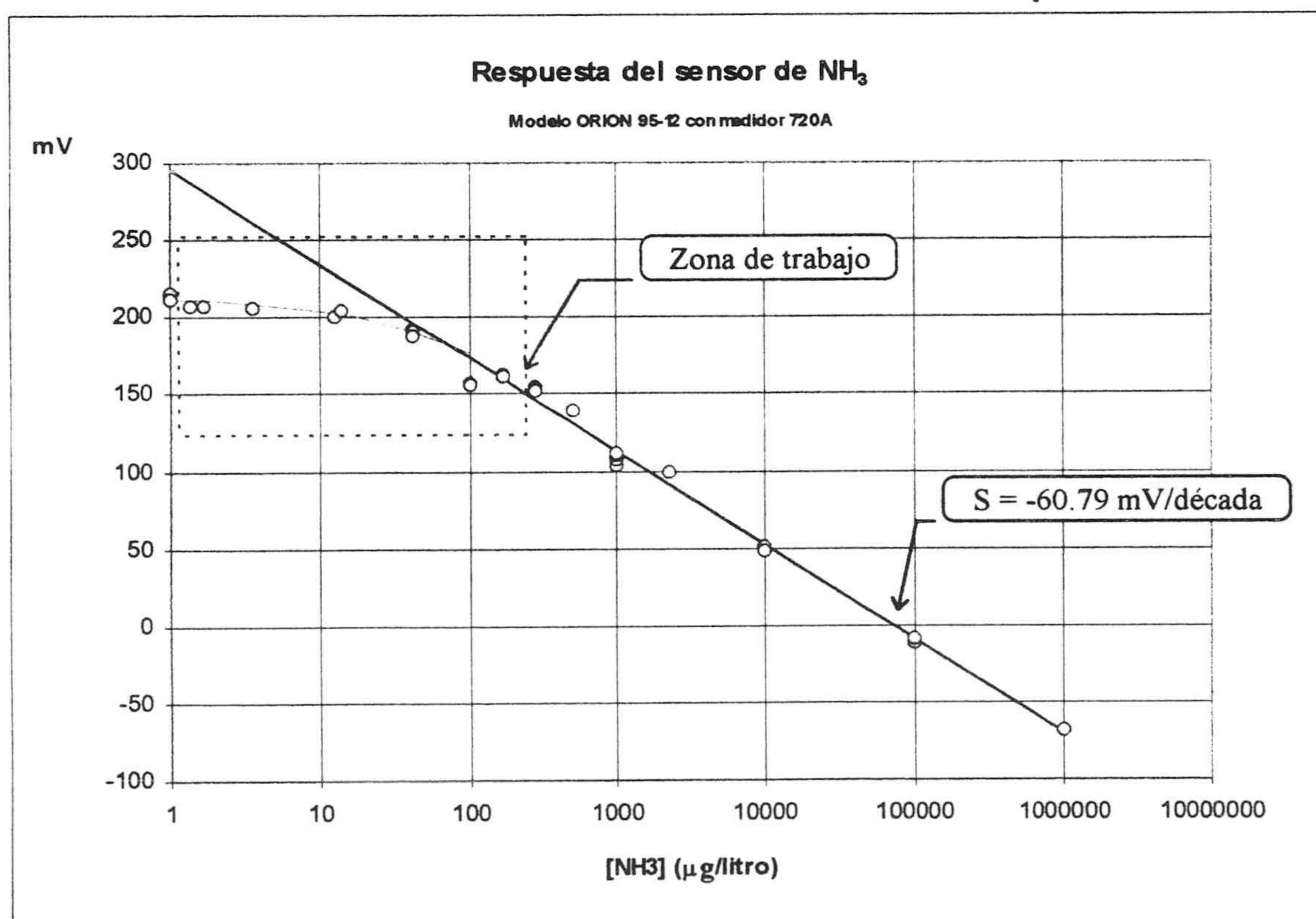
Hacen falta un mínimo de tres puntos para aproximar una curva con pendiente variable. Se requiere en tal caso una calibración multipunto (mínimo 3 puntos):

$$E_1 = E_0 - S \log (C_1 + b)$$

$$E_2 = E_0 - S \log (C_2 + b)$$

$$E_3 = E_0 - S \log (C_3 + b)$$

El medidor evalúa entonces las relaciones entre los tres potenciales y las tres concentraciones estandar. Si las relaciones sugieren la corrección de blanco, éste será calculado automáticamente, y se corregirá de manera no lineal para la ecuación de Nerst.





Como puede verse en la figura anterior, la respuesta del sensor es lineal en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.1 p.p.m ( $10^2 \mu\text{g/l}$ ) y 1000 p.p.m. ( $10^6 \mu\text{g/l}$ ), con una pendiente media de  $-60.79 \text{ mV/década}$  a  $24 \text{ }^\circ\text{C}$ , pero deja de serlo a concentraciones por debajo de 0.1 p.p.m ( $10^2 \mu\text{g/l}$ ), que es precisamente la zona donde el sensor debe de trabajar en condiciones de experimentación.

Un ajuste de mínimos cuadrados nos proporciona las ecuaciones siguientes:

$$E = 295.3 - 60.79 \log C \quad (\text{para concentraciones entre } 10^2 \mu\text{g/l} \text{ y } 10^6 \mu\text{g/l})$$

$$E = 294.8 - 56 \log (C + 30) \quad (\text{para concentraciones inferiores a } 10^2 \mu\text{g/l})$$

donde:  $E$  (mV),  $C$  es la concentración de amoníaco  $[\text{NH}_3]$  ( $\mu\text{g/l}$ ).







---

---

Apéndice

**Dióxido de carbono disuelto en agua**

**D**

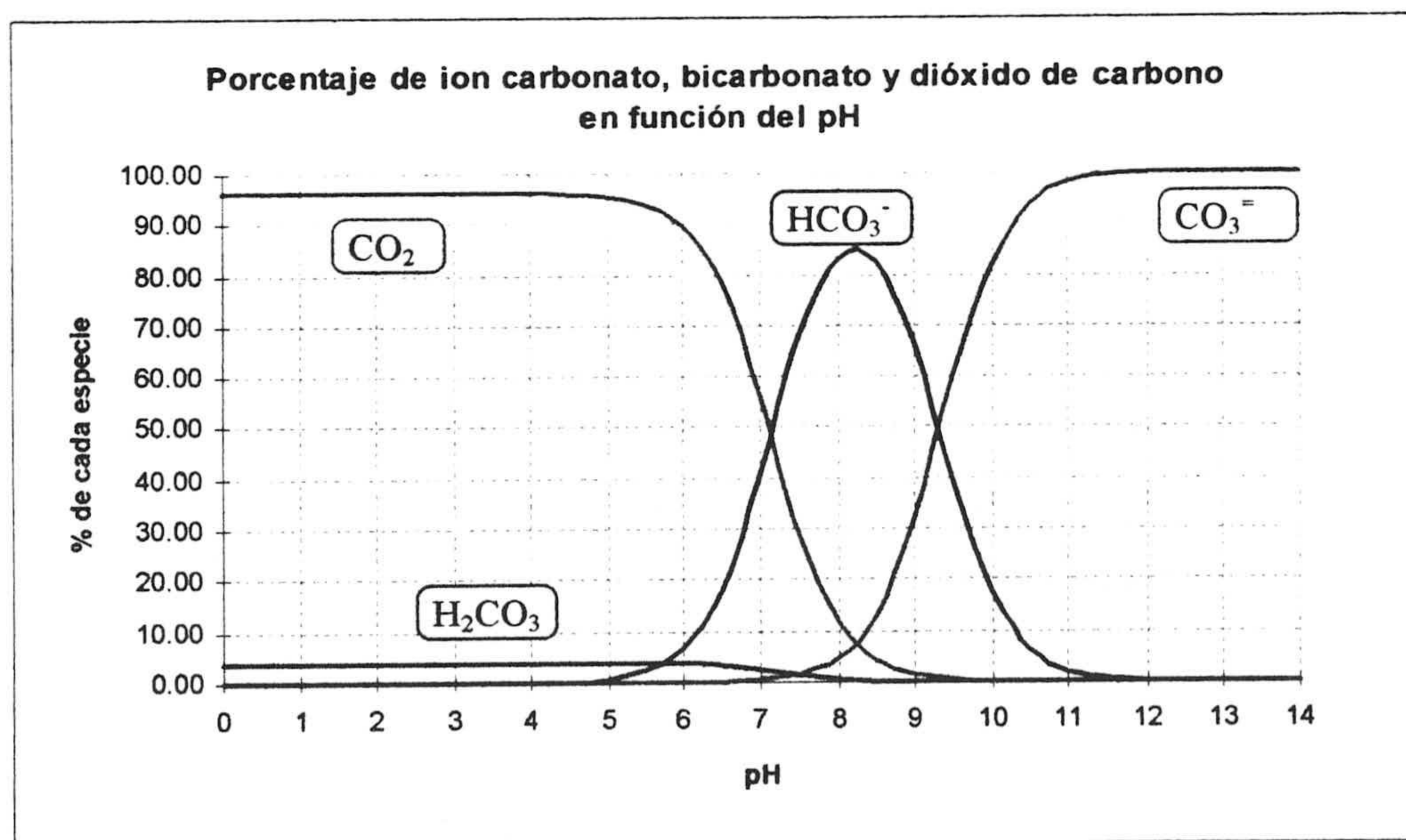
**Sensor de dióxido de carbono**

---

---

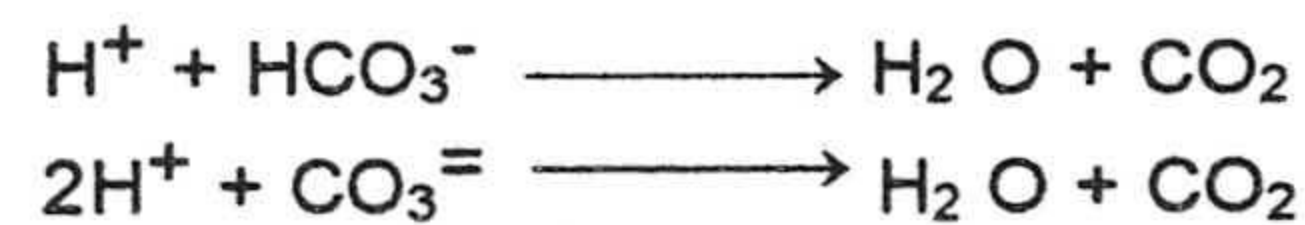
La QUÍMICA DEL DIÓXIDO DE CARBONO

El dióxido de carbono reacciona con el agua formando una pequeña cantidad de ácido carbónico.



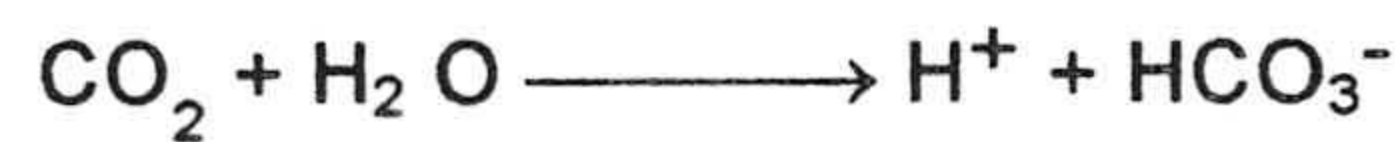


En medio ácido sólo el 0.17 % del  $\text{CO}_2$  está en forma de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  que se disocia dando iones bicarbonato y carbonato. Como puede apreciarse en la figura anterior, la cantidad de dióxido de carbono en forma de carbonato y bicarbonato depende de pH de la disolución, sin embargo para  $\text{pH} \leq 5$  prácticamente todo está en forma  $\text{CO}_2$ , razón por la que se usa un tampón (ISA) que mantiene el pH entre 4.8 y 5.2 y convierte todo el carbonato y bicarbonato a  $\text{CO}_2$



#### TEORIA DEL SENSOR DE DIÓXIDO DE CARBONO

El  $\text{CO}_2$  que pasa de la muestra a la disolución interna del sensor reacciona con el agua de la forma:



en el equilibrio

$$k = \frac{[\text{HCO}_3^-] [\text{H}^+]}{[\text{CO}_2]}$$

Pero la disolución interna es rica en bicarbonato sódico hasta el punto que la concentración de ión bicarbonato puede considerarse constante y entonces:

$$[\text{H}^+] = k [\text{CO}_2]$$

Como el electrodo activo es sensible a la  $[\text{H}^+]$  también lo es a la  $[\text{CO}_2]$  de forma lineal.

Según la teoría de Nerst el potencial del elemento sensible de pH se relaciona con la concentración de  $\text{H}^+$  por la ecuación:

$$E = E_0 + S \log [\text{H}^+]$$

$E$  = potencial medido

$E_0$  = potencial de referencia



$[H^+]$  = concentración de ion hidrógeno

S = pendiente del electrodo (59.2 mV/década a 25 °C)

La pendiente depende de la temperatura y viene dado por :

$$S = 2.3 RT/nF = 0.05915 V \text{ a } 25 \text{ °C (59.15 mV)}$$

R = 8.3144 J/mol K = Cte. de los gases

T = 273.16 + t = temperatura absoluta

F = 96496 C = Faraday

n = carga y signo del ión (+1 en este caso)

El potencial puede expresarse como medida del **pH de su disolución interna** de la forma:

$$E = E_0 - S \text{ pH} \quad \text{donde } \text{pH} = - \log [H^+]$$

o bien:  $\text{pH} = (E_0 - E) / S$

#### CALIBRACIÓN DEL SENSOR

En el sensor de dióxido de carbono la calibración puede hacerse con un sólo punto si el sensor funciona correctamente, es decir, si su pendiente es la correcta a la temperatura dada. Para calibrar el sensor se sumerge en una disolución cuya  $[CO_2]$  es conocida, y se introduce dicho valor en el medidor. A partir de este momento el microprocesador nos proporciona la concentración que corresponde a cada variación del potencial.

Una calibración con dos puntos, nos proporciona además la pendiente del sensor en las condiciones actuales; dato que nos sirve para comprobar el buen funcionamiento del sensor.

Una calibración de uno o dos puntos es suficiente si el sensor funciona en un rango de medidas en que la pendiente sea constante, pero a concentraciones muy bajas o cuando se mide un blanco, la curva no tiene



pendiente constante y la ecuación de Nerst empleada es:

$$E = E_0 + S \log (C + b)$$

Hacen falta un mínimo de tres puntos para aproximar una curva con pendiente variable. Se requiere en tal caso una calibración multipunto (mínimo 3 puntos):

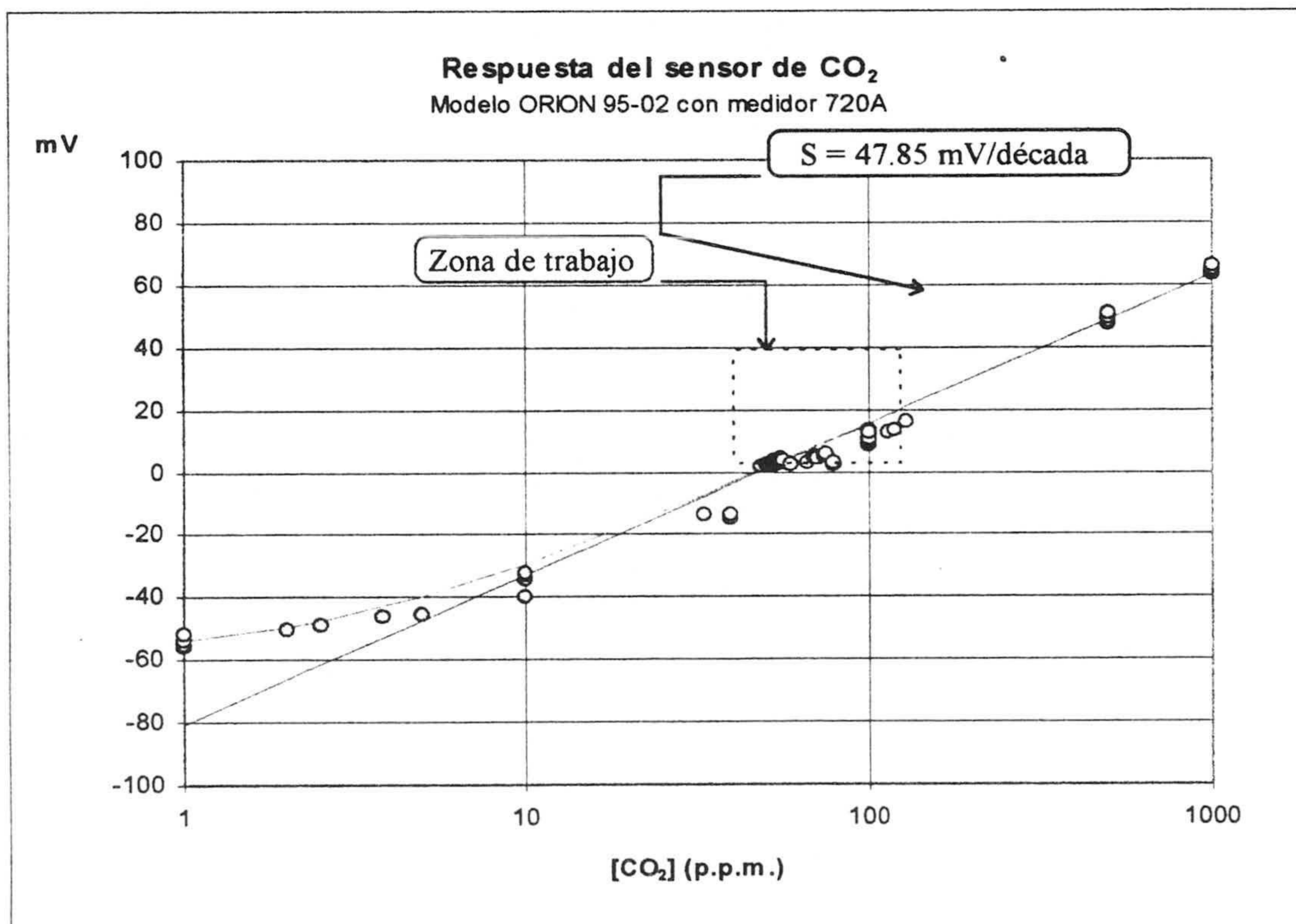
$$E_1 = E_0 + S \log (C_1 + b)$$

$$E_2 = E_0 + S \log (C_2 + b)$$

$$E_3 = E_0 + S \log (C_3 + b)$$

El medidor evalúa entonces las relaciones entre los tres potenciales y las tres concentraciones estandar. Si las relaciones sugieren la corrección de blanco, éste será calculado automáticamente, y se corregirá de manera no lineal para la ecuación de Nerst.

Como puede verse en la figura la respuesta del sensor es lineal en el



intervalo de concentraciones comprendidas entre 100 p.p.m. y 1000 p.p.m., con una pendiente media de 47.85 mV/década, inferior a la que el fabricante



asegura en sus especificaciones. La zona de trabajo del sensor se sitúa entre 40 p.p.m. y 100 p.p.m. donde la respuesta es aproximadamente lineal, pero la correlación no es muy buena ya que se observa una significativa dispersión. Por debajo de 20 p.p.m. la respuesta del sensor es claramente no lineal.

Un ajuste de mínimos cuadrados nos proporciona las ecuaciones siguientes:

$$E = -80.54 + 47.85 \log C \quad (\text{para concentraciones entre } 100 \text{ p.p.m. y } 1000 \text{ p.p.m.})$$

$$E = -87 + 51 \log (C + 3.5) \quad (\text{para concentraciones entre } 1 \text{ p.p.m. y } 100 \text{ p.p.m.})$$

donde:

E viene expresado en mV

C es la concentración  $[\text{CO}_2]$  en (p.p.m.)



## 6. BIBLIOGRAFÍA





## BIBLIOGRAFÍA

ALEKSEEVA, K. D., 1967. "Influence of muscle work on fishes energetic metabolism". *Metabolism and Biochemistry of Fishes*. Ed. G.S: Karzinkin. Moscow. p. 193-198.

ALLEN, J. R. M. y R. J. WOOTON, 1983. "Rate of food consumption in a population of threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, estimated from the faecal production". *Envir. Biol. Fish.*, **8**, p.157-162.

BEAMISH, F. W. H., 1978. "Swimming capacity." *Fish Physiology*, Vol. VII Eds. W.S. Hoar and D.J. Randall. Academic Press, London, p. 101-187.

BEAMISH, F. W. H., 1974. "Apparent specific dynamic action of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **31**, p. 1763-1769.

BEAMISH, F. W. H., 1964b. "Respiration of fishes with special emphasis on standard oxygen consumption II. Influence of weight and temperature on respiration of several species". *Can. J. Zool.*, **42**, p.177-188.

BECKER, K., K. MEYER-BURGDORFF y U. FOCKEN, 1992. "Temperature inducen metabolic costs in carp, *Cyprinus carpio*, during warm and cold acclimatization". *J. Appl. Ichthyol.*, **8**, p. 10-20.

BLAZKA. P., 1958. "Anaerobic metabolism of fish". *Physiol. Zool.*, **31**, p. 117-128.

BOESE, B. L., 1988. "Hypoxia induced respiratory changes in english sole (*Parophrys vetulus girard*)". *Comp. Biochem. Physiol.*, **89A**, p. 257-260.



- BOISCLAIR, D. y M. TANG, 1993. "Empirical analysis of the influence of swimming pattern on the net energetic cost of swimming in fishes". *Journal of Fish Biology*, **42**, p. 169-183.
- BRAFIELD, A. E., 1985. "Laboratory studies of energy budgets". *Fish Energetics: New perspectives*, Eds. Tytler, P. y Calow, P. London: Croom Helm. p. 257-282.
- BRAFIELD, A. E. y M. J. LLEWELLYN, 1982. *Animal energetics*, Glasgow, Braikie.
- BRETT, J., 1972. "The metabolic demand for oxygen in fish, particularly salmonids, and a comparison with other vertebrates". *Res. Physiol.*, **14**, p. 151-170.
- BRETT, J., 1965. "The relation of size to rate of oxygen consumption and sustained swimming speed of sockeye salmon". *J. Fish. Res. Bd Canad.*, **22**, p. 1491-1501.
- BRETT, J. y T. D. D. GROVES, 1979. "Physiological energetics". *Fish Physiology*, Vol. VIII, p. 280-344.
- BROCKESEN, R. W. y J. P. BUGGE, 1974. "Preliminary investigations on the influence of temperature on food assimilation by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson". *J. Fish Biol.*, **6**, p. 93-97.
- CARTER, C. G. y A. E. BRAFIELD., 1992. "The bioenergetics of grass carp: the influence of body weight, ration and dietary composition on nitrogenous excretion". *Journal of Fish Biology*, **41**, p. 533-543.
- CARTER, C. G. y A. E. BRAFIELD, 1992. "The relationship between specific dynamic action and growth in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*". *Journal of Fish Biology*. **40**, p. 895-907.
- CARTER, C. G. y A. E. BRAFIELD, 1991. "The bioenergetics of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, energy allocation at different planes of nutrition". *Journal of Fish Biology*, **39**, p. 873-887.
- CHAKRABORTY, S. C., L. G. ROSS y B. ROSS, 1995. "Energy budget and



metabolism in common carp *Cyprinus carpio*, fed on different dietary protein levels and at different ration levels". *Aquaculture Nutrition*, **1**, p. 179-187.

CHAKRABORTY, S. C., L. G. ROSS y B. ROSS, 1992. "The effect of dietary protein level and ration level on excretion of ammonia in common carp *Cyprinus carpio*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **103A**, p. 801-808.

CHAKRABORTY, S. C., L. G. ROSS y B. ROSS, 1992. "Specific dynamic action and feeding metabolism in common carp, *Cyprinus carpio*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **103A**, (4), p. 809-815.

CHEN, S., L. TIAN y X. SUN, 1985. "Study on the digestion and utilization of *Daphnia hyalina* by fingerlings of silver carp and bighead". *Trans. Chinese Ichthyol. Soc.*, **4**, p. 164-170.

CHO, C. Y. y S. J. KAUSHIK, 1985. "Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets". *Nutrition and feeding in fish*, Eds. Cowey, C.B.; Mackie, A.M. y Bell, J.G. Academic Press. London, p. 95-117.

CHO, C. Y., S. J. SLINGER y T. WATANABE, 1982. "Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity". *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, p. 25-41.

CUI, Y. y R. J. WOOTTON, 1988b. "The metabolic rate of the minnow, *Phoxinus phoxinus*, in relation to ration, body size and temperature". *Funct. Ecol.*, **2**, p. 157-161.

CUI, Y. y J. LIU, 1990. "Comparison of energy budget among six teleosts. III. Growth rate and energy budget". *Comp. Biochem. Physiol.*, **97A**, (3), p. 381-384.

DABROWSKI, K. R., 1986. "A new type of metabolism chamber for the determination of active and postprandial metabolism of fish, and consideration of results for coregonid and salmon juveniles". *J. Fish Biol.*, **28**, p. 105-117.

DAVIES, P. M. C., 1966. "The energy relations of *Carassius auratus*. The effect of food, crowding and darkness on heat production". *Comp. Biochem. Physiol.*, **17**, p. 983-995.

DU PREEZ, H. H. y A. C. COCKCROFT, 1988a. "Nonfaecal and faecal losses of



the marine teleost of *Pomadasys commersonni* deeding on the surf clam *Donax serra*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **90A**, p. 63-70.

DU PREEZ, H. H. y A. C. COCKCROFT, 1988b. "Nonfaecal and faecal losses on the marine teleost *Lichia amia*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **90A**, p. 71-77.

DU PREEZ, H. H., A. MCLACHLAN y J. F. K. MARAIS, 1986. "Oxygen consumption of a shallow water teleost, the spotted grunter, *Pomadasys commersonni*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **84A**, p. 61-70.

ELLIOTT, J. M., 1982. "The effects of temperature and ration size on the growth and energetics of salmonids in captivity". *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, (1), p. 81-91.

ELLIOTT, J. M., 1979. "Energetics of freshwater teleost". *Symp. Zool. Soc. Lond.*, **44**, p. 29-61.

ELLIOTT, J. M., 1976b. "The energetics of feeding, metabolism and growth of brown trout in relation to body weight, water, temperature and ration size". *J. Anim. Ecol.*, **45**, p. 923-948.

ELLIOTT, J. M., 1975. "The growth rate of brown trout, *Salmo trutta*, fed on reduction rations". *J. Anim. Ecol.*, **44**, p. 823.

ELLIOTT, J. M. y W. DAVISON, 1975. "Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics". *Oecologia*, **19**, p. 195-201.

FABRIDGE, K. y J. F. LEATHERLAND, 1987. "Lunar cycle of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Growth and feeding". *J. Exp. Biol.*, **129**, p. 165-178.

FLOWERDEW, M. W. y D. J. GROVE, 1980. "An energy budget for juvenile thick-lipped mullet, *Crenimugil labrosus*". *J. Fish Biol.*, **17**, p. 395-410.

FONDS, M. y V. P. SAKSENA, 1977. "The daily intake of young soles (*Solea solea*) in relation to their size and water temperature. *Actes de Colloques du C.N.E.X.O.*, **4**, P. 51-58.

FORSTER, M. E. 1990. "Conformation of the low metabolic rate of hagfish". *Comp. Biochem. Physiol.* **96A**, (1), p. 113-116.



FROM, J. y G. RASMUSSEN, 1984. "Agrowth model, gastric evacuation, and body composition in rainbow trout, *salmo gairdneri*". *Dana*, **3**, p. 61-139.

FRY, F. E. J., 1957. "Aquatic respiration of fish". *The physiology of fishes*. Ed. by Brown. M.E., I, p. 1-63.

GERSHANOVICH, A. D. y I. V. POTOTSKIJ, 1992. "The peculiarities of nitrogen excretion in sturgeons (*Acipenser ruthenus*). The influence of ration size". *Comp. Biochem. Physiol.* **103A**, (3), p. 609-612.

GNAIGER, E., 1983. "Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In Polargraphic Oxygen Sensors". *Aquatic and Physiological Applications*. eds. Gnaiger, E. y Forstner, H. Berlin: Springer. p. 337-345.

GUINEA, J. y F. FERNANDEZ, 1997. "Effect of feeding frequency, feeding level and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata*". *Aquaculture*, **148**, p. 125-142.

GUINEA, J. y F. FERNANDEZ, 1991. "The effect of SDA, temperature and daily rhythm on the energy metabolism of the mullet *Mugil saliens*". *Aquaculture*, **97**, p. 353-364.

HEINSBROEK, L. T. N., P. A. T. TIJSSEN, R. B. FLACH y G. D. C. DE JONG, 1991. "Energy and nitrogen balance studies in fish". *Fish Nutrition in Practice, Biarritz (France), June 24-27, 1991*. Ed. Inra, Paris 1993 (*Les Colloques*, nº 61). p. 375-389.

HEMMINGSEN, A. M., 1969. "Energy metabolism as related to body size and respiratory surfaces, and its evolution". *Rep. Steno. Mem. Hosp. Nordisk Insulinlaboratorium*. **9**, p. 1-110.

HOGENDOORN, H., 1983. "Growth and production of the African Catfish, *Clarias lacera*. Bioenergetic relations of body weight and feeding level". *Aquaculture*, **35**, p. 1.

HOGENDOORN, H., F. Van KORLAAR y H. BOSCH, 1982. "An open circuit balance respirometer for bioenergetic studies of fish growth". *Aquaculture*, **26**, p. 183-187.



- HOLOPAINEN, I. J. y RANTA, E., 1977. "Respiration of *Psidium amnicum* (Bivalvia) measured by infrared gas analysis". *Oikos*, **28**, p. 196-200.
- HUISMAN, E. A., 1976. *Aquaculture*, **9**, p. 259-273.
- JOBLING, M., 1994. "Fish Bioenergetics". Ed. *Chapman y Hall*. London
- JOBLING, M., 1985 "Growth". *Fish Energetics. New Perspectives*. Ed. by P. Titler & P. Calow. *Beckenham, Kent*. Great Britain, p. 213-230.
- JOBLING, M., 1983. "A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies". *J. Fish Biol.*, **23**, p. 685-703.
- JOBLING, M., 1982. "Food and growth relationships of the cod, *Gadus morhua* with special reference to Balsfjorden, north Norway". *J. Fish Biol.*, **21**, p. 357.
- JOBLING, M., 1980. "The influences of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review". *J. Fish. Biol.*, **18**, p. 385-400.
- JOBLING, M., B. M. BAARDVICK., J. S. CRISTIENSEN y E. H. JORGENSEN, 1993. "The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish". *Aquaculture International*.
- JOBLING, M. y P. S. DAVIES, 1980. "Effects of feeding on metabolic rate, and the specific dynamic action in *Pleuronectes platessa*". *J. Fish. Biol.*, **16**, p. 629-638.
- KATCHALSKY, A. y P. F. CURRAN, 1965. "Nonequilibrium thermodynamics in biophysics". *Cambridge (Mass): Harvard Univ. Press*.
- KAUSHIK, S. J., 1980. "Influence of nutritional status on the daily patterns of nitrogen excretion in the carp, (*Cyprinus carpio*) and the rainbow trout (*Salmo gairneri*)". *Reprod. Nutr. Dev.*, **20**, p. 1751-1765.
- KINNE, O., 1960. "Growth, food intake and food conversion in a euryplastic fish exposed to different temperatures and salinities". *Physiol. Zool.*, **33**, p. 288-317.
- KUTTY, M. N., 1972. "Respiratory quotient and ammonia excretion in *Tilapia mossambica*". *Mar. Biol.*, **16**, p. 126-133.



KUTTY, M. N., 1981. "Energy metabolism of mullets". *Aquaculture of Grey Mullet*, Eds. Oren, O:H., Cambridge University Press, p. 219-264.

KUTTY, M. N., 1968. "Respiratory quotients in goldfish and rainbow trout". 1968. *J. Fish. Res. BD. Canada*, **25**, p. 1689-1728.

LeGROW, S. M. y F. W. H. BEAMISH, 1985. "Influence of dietary protein and lipid on apparent heat increment of rainbow trout". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43**, p. 19-25.

LOWE, G. D., 1978. "The measurement by direct calorimetry of the energy lost as heat by a polychaete, *Neanthes virens*". *Ph. D. thesis*, University of London.

MARTINEZ PALACIOS, C. A. y L. G. ROSS, 1986. "The effects of temperature, body and hypoxia on the oxygen consumption of the mexican mojarra (*Cichlasoma urophthalmus*)". *Aquaculture and Fisheries Management*, **17**, p. 243-248.

MAXIME, V., G. BOEUF, J. P. PENNEC y C. PEYRAUD, 1989. "Comparativ study of the energetic metabolism of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) parr and smolts". *Aquaculture*, **82**, p. 163-171.

MEDLAND, T. E y F. W. H. BEAMISH, 1985. "Influence of diet and fish density on apparent heat increment in rainbow trout". *Aquaculture*, **47**, p. 1-10.

MEYER-BURGDOR, C., C. MULLER, K. BECKER y K. D. GUNTHER, 1989. "Determination of energy metabolism in mirror carp at maintenance and different production levels". *Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.*, **62**, p. 75-84.

MOREAU, Y., F. MEDALE, T. BOUJARD y P. LUQUET, 1991. "Indirect calorimetry method to study energy metabolism of an air breathing fish, *Hoplosternum littorale*". *J. Aqua. Trop.* **6**, p. 193-199.

MUSISI, L., 1984. "The nutrition, growth and energetics of tilapia *Sarotherodon mossambicus*". *Ph. D. thesis, thesis*, University of London.

OIKAWA, S., Y. ITAZAWA y M. GOTOH, 1991. "Ontogenetic change in the relationship between metabolic rate and body mass in sea bream *Pagrus major*".



*Journal of Fish Biology*, **38**, p. 483-496.

OIKAWA, S. y Y. ITAZAWA, 1984. "Allometric relationship between tissue respiration and body mass in the carp". *Comp. Biochem. Physiol.*, **77A**, p.415-418.

ONSANGE, L., 1931. "Reciprocal relations in irreversible processes. I". *Phys. Rev.*, **37**, p. 405-426.

PANDIAN, T. J., 1967. "Intake digestion, absorption and conversion of food in the fishes *Megalops cyprinoides* and *Ophinocephalus striatus*". *Mar. Biol*, **1**, 16-32.

PANDIAN, T. J. y E. VIVEKANANDAN, 1985. "Energetics of feeding and digestion". *Fish Energetics: New Perspectives*. Eds. Tytler, P. y Calow, P. Croom Helm, London. p. 99-124.

PETER MOHAMED, M. y KUTTY, M. N., 1986. "Influence of ambient oxygen and random swimming activity on metabolic rates and quotients in the freshwater mullet, *Rhinomugil corsula*". *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, **95**, p- 67-76.

PIERCE, R. J. y E. WISSING, 1974. "Energy cost of food utilization in the bluegill (*Lepomis macrochirus*)". *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **1**, p. 38-45.

PRIGOGINE, I. y G. NICOLIS, 1967. "On symmetry-breaking instabilities in dissipative systems". *J. Chem. Phys.*, **46**, p. 3542-3549.

ROBERT, J. y T. E. WISSING, 1974. "Energy cost of food utilization in the bluegill (*Lepomis macrochirus*)". *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **1**, p. 38-45.

ROSS, L. G. y R. W. MCKINNEY, 1988. "Respiratory cycles in *Oreochromis niloticus*. Measured using a six-channel microcomputer-operated respirometer". *Comp. Biochem. Physiol.*, **89A**, p. 637-643.

SAYER, M. D. J., 1988. "An investigation of the pattern of nitrogen excretion in *Blenius pholis*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **89A**, p. 359-363.

SCHRODINGER, E., 1944. "What is life?". *Cambridge: Univ. Press*.

SCHWALB, A. y J. GROPP, 1979. "A system for continuous measurement of



oxygen consumption by fish". *From Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Hamburg 20-23 June, 1978. Vol. II. Berlin 1979.* p. 608-611.

SCHWARZ, F. J. y M. KIRCHGESSNER, 1984. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.*, **49**, p. 88-98.

SHAW, H. M., R. L. SAUNDERS, H. C. HALL y E. B. HENDERSON, 1975. "The effect of dietary sodium chloride on growth of Atlantic salmon". *J. Fish. Res. Board Can.*, **32**, p. 1813-1819.

SMAGULA, E. M. y I. R. ADELMAN, 1982. "Day to day variation in food consumption by largemouth bass". *Trans. Am. Fish. Soc.*, **111**, p. 543-548.

SMITH, R. R., 1976. "Metabolizable energy of feedstuffs for trout". *Fish Nutrition*, **7**, p. 20-21.

SMITH, R. R., G. L. RUMSEY y M. L. SCOTT, 1978a. "Heat increment associated with dietary protein, fat and carbohydrate and complete diets in salmonids: comparative energetic efficiency". *J. Nutr.*, **108**, p. 1017-1024.

SMITH, R. R., G. L. RUMSEY y M. L. SCOTT, 1977. "Net energy maintenance requirements of salmonids as measured by direct calorimetry: effect of body size and environmental temperature". *J. Nutr.*, **108**, p. 1017-1024.

SOLOMON, D. J. y A. E. BRAFIELD, 1972. "The energetics of feeding, metabolism and growth of perca (*Perca Fluviatilis L*)". *J. Anim. Ecol.*, **41**, p. 699-718.

SOROKIN, Y. I., 1968. "The use of <sup>14</sup>C in the study of nutrition of aquatic animals". *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **16**, p. 1-41.

STAPLES, D. J. y M. NOMURA, 1976. "Influence of body size and food ration on the energy budget of rainbow trout". *J. Fish Biol.*, **9**, p. 29.

STIRLING, H. P., 1985. "Chemical and biological methods of water analysis for aquaculturalists". Ed. by H:P: Stirling. Stirling FK9 4ALA. Scotland.

STIRLING, H. P., 1977. "Growth, food utilization and effect of social interaction in



the European bass". *Mar. Biol.*, **40**, p. 173-184.

SUKUMARAN, N., 1986. "Oxygen consumption, carbon dioxide output and nitrogen excretion in cichlid fish, *Oreochromis mossambicus*, with special reference to swimming speed". *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, **95**, p. 215-222.

TALBOT, C., 1985. "Laboratory methods in fish feeding and nutritional studies". *Fish Energetics: New Perspectives*. Tytler, P. y Calow, P. Eds. Croom Helm Ltd., London. p. 125-154.

TANDLER, A. y F. W. H. BEAMISH, 1980. "Specific dynamic action and diet in largemouth bass (*Micropterus salmoides*)". *J. Nutr.*, **110**, p. 750-764.

THILLART, G. Van Den. y F. KESBEKE, 1978. "Anaerobic production of carbon dioxide and ammonia by goldfish (*Carassius auratus*)". *Comp. Biochem. Physiol.*, **59A**, p. 393-400.

URSIN, E., 1967. "A mathematical model of some aspects of fish growth, respiration and mortality". *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **24**, p. 2355-2453.

VILLARREAL, H. y L. OCAMPO, 1993. "Effect of size and temperature on the oxygen consumption of the brown shrimp *Penaeus californiensis*". *Comp. Biochem. Physiol.*, **106A**, (1), p. 97-101.

Van ES, A. J. H., 1972. Ed. Lenkeit, w., Craseman, E. y Breirem, K. *Handbuch der Tierernährung Bd. II, Part 1*. Hamburg und Berlin: Paul Parey. p. 1-54.

Van WAARDE, A., 1983. "Aerobic and anaerobic ammonia production by fish". *Comp. Biochem. Physiol.*, **74B**, (4), p. 675-684.

Van WAVERSVELD, J., A. D.F. ADDINK, G. Van den THILLART y H. SMIT, 1987. "Direct calorimetry on free swimming goldfish at different oxygen levels". *Proc. ESTAC 4 Symposium*.

Van WAVERSVELD, J., A. D. F. ADDINK, G. Van Den THILLART y H. SMIT, 1988. "Short communication anaerobic heat production measurements: a new perspective". *J. exp. Biol.*, **138**, p. 529-533.

Van WAVERSVELD, J., A. D. F. ADDINK, G. Van Den THILLART y H. SMIT,



1989. "Heat production of fish: a literature review". *Comp. Biochem. Physiol.*, **92A**, p. 159-162.

WEATHERLEY, A. H., 1976. "Factors affecting maximization of fish growth". *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **33**, p. 1046-1058.

WINBERG, G. G., 1956. "Metabolism intensity and nutrient requirements of fishes". *Minsk: Univ. Press. Russian.*

WOOD, J. D., 1958. "Nitrogen excretion in some marine teleosts". *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, p. 1237-1242.

YAMAMOTO, K. I., 1992. "Relationship of respiration to body weight in the tilapia *Oreochromis niloticus* under resting and normoxic conditions". *Comp. Biochem. Physiol.*, **103A**, (1), p. 81-83.

YAMAMOTO, K. I., 1991. "Relationship of respiration to body weight in the carp *Cyprinus carpio* under resting and normoxic condition". *Comp. Biochem. Physiol.*, **100A**, p. 113-116.

ZOTIN, A.I., 1990. "Thermodynamic bases of biological processes". *Ed. by Walter de Gruyter. Berlin 30. D-1000.*





Biblioteca Universitaria de Granada



01052841