



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN AGRONOMÍA

EXPOSICIÓN TEMPRANA DE OVINOS A ALIMENTOS DE BAJA
CALIDAD NUTRICIONAL Y SU VALORACIÓN A EDADES
ADULTAS

Importancia del contexto alimentario

Francisco Hernán Catanese

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2011

Prefacio

Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Agronomía de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en ámbito del Departamento de Agronomía y el Centro de Recursos Naturales Renovables de la zona semiárida (CERZOS, CCT CONICET Bahía Blanca-UNS) durante el período comprendido entre Junio de 2007 y Noviembre de 2010, bajo la dirección del Dr. Roberto A. Distel, Profesor Titular a cargo de las asignaturas *Producción Bovina y Ovina* y *Utilización de pastizales*.

Francisco H. Catanese



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../..... , mereciendo la calificación de(.....)

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a Roberto Distel, mi director, por iniciarme en este camino académico que no es común en mi carrera y por su apoyo durante el trabajo y la constancia que significo llevar a cabo un trabajo científico sobre este tema que dista de ser sencillo y predecible. A Ricardo M. Rodríguez Iglesias por la ayuda con el desarrollo del marco teórico, diseño experimental y manejo de los animales en el campo. A todos los integrantes, y en especial amigos, del CERZOS-CCT Bahía Blanca y del Departamento de Agronomía que me brindaron su ayuda y un ambiente de trabajo cordial. A CONICET por financiarme con una beca doctoral el desarrollo de esta tesis. A mi familia, fundamentalmente, por permitirme realizar esta carrera e inculcarme la convicción de no rendirse nunca ante las adversidades.

Resumen

Incrementos en aceptación y preferencia por alimentos de baja calidad nutricional en rumiantes contribuirían a mejorar el aprovechamiento de los recursos forrajeros y disminuir la selectividad en condiciones de pastoreo. La presente tesis comprendió el estudio de la experiencia alimentaria temprana, y el contexto alimentario en la que ocurre, en relación al desarrollo de aceptación y preferencia por un heno de baja calidad en ovinos. Se comenzó evaluando la hipótesis que la experiencia temprana con un forraje de baja calidad, en un contexto alimentario enriquecido con suplementos nutricionales, incrementa la aceptación y preferencia por el mismo. Un grupo de corderos de dos meses de edad se expuso a heno de avena molido (forraje de baja calidad), en forma simultánea con harina de girasol y grano de maíz, por un lapso de siete meses (corderos con experiencia). Otro grupo, similar en todo al anterior pero alimentado con heno de alfalfa, actuó como control (corderos sin experiencia). Contrario a lo esperado, la preferencia y aceptación por el heno de avena fue igual o menor en los corderos con experiencia. En un segundo experimento quedó demostrado que los corderos con experiencia valoraban menos el heno de avena en comparación con los corderos sin experiencia. Se argumentó que el contexto en el cual los corderos con experiencia experimentaron el heno de avena (en forma simultánea con altos niveles de suplementos) habría provocado la devaluación del mismo, producto de comparaciones continuas y simultáneas entre alimentos de calidad contrastante (heno de avena vs. suplementos). De aquí surgió la necesidad de evaluar la hipótesis que el ofrecimiento de heno de avena seguido por una cantidad limitada (0,4% PV) de suplemento nutricional incrementa la aceptación y preferencia por el forraje de baja calidad. Se realizó un experimento con un diseño cross-over, en el cual los corderos se alimentaron con heno de avena saborizada seguido o no por el ofrecimiento de suplemento (según el sabor). Los corderos desarrollaron aceptación y preferencia por el heno de avena saborizada que había precedido el suministro de suplemento durante la exposición. Los resultados en conjunto sugieren que el nivel de suplementación de un alimento de baja calidad modula la aceptación y/o preferencia por el mismo. Debido a que los resultados obtenidos no se ajustan a los modelos actuales de comportamiento ingestivo y aprendizaje en rumiantes, se desarrolló un modelo funcional de aprendizaje que incluye fenómenos observados en la psicología experimental y los relaciona con procesos de pastoreo conocidos en el sector de la producción ganadera. El modelo permite predecir cualitativamente la experiencia que el animal adquiere con un alimento de baja calidad dentro un contexto nutricional específico (i.e., determinadas condiciones de suplementación: cantidad, calidad, momento, etc.), y formular proyecciones con el objetivo de avanzar en el entendimiento del desarrollo de preferencias dietarias en rumiantes.

Palabras clave: experiencia temprana, aprendizaje, alimentos de baja calidad, preferencia, aceptación, contexto alimentario, rumiantes

Abstract

Improvements in acceptance and preference for low quality foods by ruminants would serve to improve the use of forage resources and to reduce selectivity under grazing conditions. The present dissertation dealt with the study of early alimentary experience, and the alimentary context in which it happens, in relation to the development of acceptance and preference for low quality forages by sheep. It begins evaluating the hypothesis that early experience with low quality forage, in an alimentary context enriched by the provision of nutritional supplements, increases its subsequent acceptance and preference. A group of two-month-old lambs was exposed to mature oat hay simultaneously with sunflower meal and corn grain for a period of seven months (experienced lambs), whereas a similar group fed with alfalfa hay served as control (inexperienced lambs). Contrary to expectations, acceptance and preference for the mature oat hay was similar or lower in experienced lambs. In a second experiment it was demonstrated that experienced lambs were giving a lower value to the mature oat hay than inexperienced lambs. It was suggested that the context in which lambs had experienced the mature oat hay (simultaneously with high levels of supplementation) caused its devaluation, probably due to continuous and simultaneous comparisons between foods of contrasting quality (oat hay vs high quality supplements). This observation encouraged me to test the hypothesis that the offer of mature oat hay followed by the offer of a limited amount (0.4% live weight) of a nutritional supplement may increase its acceptance and preference. A cross-over trial was designed in which lambs were fed flavored oat hay, followed or not by a nutritional supplement (depending on flavor). Lambs developed acceptance of and preference for the flavored oat hay that preceded the supplement during experience. All together, the results suggest that supplementation level modulates the knowledge that animal acquire about the low quality food and, consequently, the acceptance and preference for this type of foods. Since present results can not be explained by traditional models of ruminant´ ingestive behaviour and learning, it was developed a functional model of learning that includes behavioural processes studied in the field of experimental psychology, and relates them with known processes of foraging in cattle. This model allows us to qualitatively predict the type of experience an animal will obtain with a low quality food when it is placed in a specific alimentary context (i.e., specific supplementation conditions: amount, quality, time, etc.), and also helps to develop novel hypothesis with the objective to better understand the development of dietary preferences in ruminants.

Keywords: early experience, learning, low quality foods, preference, acceptance, alimentary context, ruminants

Índice

Prefacio	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Lista de tablas	viii
Lista de figuras	x
Capítulo 1: <i>Introducción general</i>	
1. Descripción del problema.....	1
2. Antecedentes generales.....	2
Capítulo 2: <i>Rol de la experiencia temprana en el desarrollo de preferencia por alimentos de baja calidad en ovinos</i>	
1. Introducción.....	5
2. Materiales y métodos.....	7
2.1. Animales e instalaciones.....	7
2.2. Exposición temprana.....	8
2.3. Periodo post-exposición.....	13
2.4. Experimentos de preferencia.....	13
2.5. Experimento de disminución progresiva en la disponibilidad de un alimento de alta calidad.....	14
2.6. Experimento de digestibilidad <i>in vivo</i> y retención de nitrógeno.....	15
2.7. Análisis estadísticos.....	17
3. Resultados.....	18
3.1. Experimento de preferencia 1: heno de avena, heno de alfalfa, y grano de maíz.....	18
3.2. Experimento de preferencia 2: heno de avena, harina de girasol, y grano de maíz.....	19
3.3. Experimento de preferencia 3: heno de avena, heno de alfalfa, y harina de girasol.....	21

3.4. Experimento de disminución progresiva en la disponibilidad de un alimento de alta calidad.....	23
3.5. Experimento de digestibilidad <i>in vivo</i> y retención de nitrógeno.....	25
4. Discusión.....	26
Capítulo 3: <i>Devaluación de un alimento de baja calidad por borregos expuestos al mismo en edades tempranas y en forma simultánea con fuentes de energía y proteína</i>	
1. Introducción.....	31
2. Materiales y métodos.....	34
2.1. Animales e instalaciones.....	34
2.2. Procedimiento de contraste sucesivo negativo.....	34
2.3. Análisis estadístico.....	36
3. Resultados.....	37
3.1. Fase pre-cambio.....	37
3.2. Fase pos-cambio.....	38
4. Discusión.....	40
Capítulo 4: <i>Aprendizaje contexto-dependiente con un alimento de baja calidad</i>	
1. Introducción.....	43
2. Experimento 1.....	46
2.1. Materiales y métodos.....	46
2.1.1. Animales e instalaciones.....	47
2.1.2. Alimentos y diseño experimental.....	47
2.1.3. Análisis estadístico.....	49
2.2. Resultados y discusión.....	50
3. Experimento 2.....	54
3.1. Materiales y Métodos.....	55
3.1.1. Alimentos y diseño experimental.....	55
3.1.2. Análisis estadístico.....	57
3.2. Resultados y discusión	58
4. Experimento 3.....	60
4.1. Materiales y Métodos.....	62

4.1.1. Alimentos y diseño experimental.....	62
4.1.2. Análisis estadístico.....	64
4.2. Resultados y discusión	65
5. Discusión general.....	67
Capítulo 5: Modelo funcional de aprendizaje del valor de los alimentos	
1. Introducción.....	69
2. Modelo de aprendizaje contexto-dependiente.....	72
2.1. Aprendizaje del valor de un alimento de baja calidad.....	74
2.1.1. Información postingestiva	75
2.1.2. Información contexto-dependiente.....	75
2.2. Implicancia de la información contexto-dependiente en la valoración de un alimento de baja calidad.....	81
Capítulo 6: Síntesis y proyecciones.....	85
Bibliografía.....	89

Lista de Tablas

Tabla 2.1. Cantidad de heno de avena, heno de alfalfa, grano de maíz, harina de girasol, alimento total, proteína bruta (PB) y energía metabolizable (EM) consumida por corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 15 días desde el segundo hasta el séptimo mes de vida de los animales. El alimento base fue heno de avena en el caso de E+ y heno de alfalfa en el caso de E-, y está representado en términos del porcentaje en relación al total de la dieta. Los valores son medias de 12 animales.....12

Tabla 2.2. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), heno de alfalfa (A) y grano de maíz (M), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó como el cociente entre el consumo del mismo y el consumo total. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, valores en la misma fila que contienen letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).....18

Tabla 2.3. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), grano de maíz (M) y harina de girasol (G), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó según lo indicado en el Tabla 2.2. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, en ningún caso los valores ubicados en la misma fila difirieron significativamente ($P > 0,05$).....20

Tabla 2.4. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), heno de alfalfa (A) y harina de girasol (G), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó según lo indicado en el Tabla 2.2. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, valores en la misma fila que contienen letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).....22

Tabla 3.1. Historia nutricional previa de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de un alimento de baja calidad (heno de avena cortado en estado maduro [B]), y esquema del procedimiento utilizado en el experimento de Contraste Sucesivo Negativo (CSN). Los suplementos fueron grano de maíz y harina de girasol; “A” se refiere a heno de alfalfa. Ambos grupos de corderos con experiencias diferentes (E+ y E-) fueron expuestos a una condición de cambio (E+c y E-c, respectivamente) o a una condición sin cambio (E+s y E-s, respectivamente) como lo requiere el procedimiento de CSN.....35

Tabla 5.1. Síntesis de la relación entre los fenómenos de sustitución y complementación, observados en rumiantes a pastoreo en condición de suplementación, y fenómenos desarrollados en la psicología experimental ligados a la valoración de alimentos.....71

Lista de figuras

Figura 2.1. Peso vivo (cuadrados) y condición corporal (círculos) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 15 días desde el segundo hasta el séptimo mes de vida de los animales. Para cada variable, un ANAVA de cada intervalo no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las medias de los tratamientos en ninguna de las fechas. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....10

Figura 2.2. Consumo diario de heno de avena (B) y heno de alfalfa (A) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....19

Figura 2.3. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....21

Figura 2.4. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y de 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....23

Figura 2.5. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de este alimento, bajo diferentes niveles de restricción de la disponibilidad de heno de alfalfa (A). Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M. Dentro de cada nivel de disponibilidad de A, * denota una diferencia significativa entre las medias ($P < 0,05$).....24

Figura 2.6. Tasa de sustitución de heno de avena (B) en corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de este alimento, bajo diferentes niveles de restricción de la disponibilidad de heno de alfalfa (A). Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M. Dentro de cada nivel de disponibilidad de A, * denota una diferencia significativa entre las medias ($P < 0,05$).....25

Figura 3.1. Consumo diario de materia seca (MS) en la fase de pre-cambio y pos-cambio de corderos provistos (E+; Figura A) o no (E-; Figura B) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). En el caso de aquellos animales que estaban en la condición de cambio (E+c y E-c) el alimento ofrecido en la fase pre-cambio fue heno de alfalfa, mientras que aquellos expuestos a la condición sin cambio (E+s y E-s) el alimento fue heno de avena. Para todos los grupos, el alimento ofrecido durante la etapa pos-cambio fue heno de avena. Los valores son medias de 6 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M, y * diferencia significativa entre las medias en la fase pos-cambio ($P < 0,05$).....38

Figura 3.2. Relación entre el consumo observado en la primera sesión pos-cambio y en la última sesión pre-cambio en corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de heno de avena. Los valores son medias de 6 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.....39

Figura 4.1. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos que luego del ofrecimiento de dicho alimento recibían harina de soja (SP) a un nivel del 0,4% del peso vivo, grano de maíz (SE) a un nivel del 0,4% del peso vivo, o ningún suplemento (SN). Los valores son medias de 8 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....51

Figura 4.2. Preferencia por heno de avena (B) de corderos que recibieron harina de soja (SP) a un nivel del 0,4% del peso vivo, grano de maíz (SE) a un nivel del 0,4% del peso vivo o ningún suplemento (SN), cuando B fue ofrecido de manera simultanea con heno alfalfa durante tres días consecutivos. La preferencia por cada alimento se calculó como el cociente entre el

consumo del mismo y el consumo total. Los valores son medias de ocho animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....54

Figura 4.3. Consumo promedio (últimos dos ciclos) de heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que luego del ofrecimiento del heno con uno de los sabores recibían harina de soja (“Perejil +” u “Orégano +”) a un nivel del 0,4% del peso vivo. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.....59

Figura 4.4. Preferencia por heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que habían experimentado el sabor perejil (“Perejil +”) u orégano (“Orégano +”) seguido de harina de soja a un nivel del 0,4% del peso vivo. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.....60

Figura 4.5. Preferencia por heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que habían experimentado el sabor perejil (“Perejil +”) u orégano (“Orégano +”) seguido de harina de soja a un nivel del 0,4% del peso vivo, luego de que los animales recibieran un tratamiento aversivo con CILi. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.....66

Figura 5.1. Evolución del consumo de un forraje de baja calidad y nutrientes totales (e.g., energía metabolizable) a niveles incrementales de un suplemento nutricional de base proteica. La figura fue elaborada con información obtenida de trabajos con ovinos que cubrieron una gran amplitud de niveles de suplementación (Freer, 1985, 1988; Doyle et al., 1988; Matejovsky y Sanson, 1995; Orskov, 1999), y representa de manera objetiva la tendencia natural observada para la variable en consideración (Moore et al., 1999).....70

Figura 5.2. Esquema representativo del modelo funcional de aprendizaje contexto-dependiente. Los círculos denotan alimentos, siendo B el de menor calidad y A el de mayor calidad. El rombo representa el punto de decisión en el cual el animal determina si consume B o desea esperar (i.e., buscar) por un tiempo t_i el alimento A. Las flechas discontinuas

representan la causalidad de las acciones del animal (e.g., si decido consumir B me dirijo hasta este alimento). Las flechas continuas indican flujos de información. Debido a que el estudio se focaliza sobre los alimentos de menor calidad solamente se incluye en el esquema la información que se refiere a los procesos de aprendizaje que involucran a este alimento (e.g., se excluye la información postingestiva propia de A).....73

Figura 5.3. Asumiendo que el incremento en el valor de un alimento de baja calidad (B) determinado por el consumo de niveles crecientes de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2) se debe principalmente a la mejora a nivel digestivo, se modeló el efecto (i.e., variación proporcional en el valor de B) utilizando la ecuación: $f(x) = v * [1 - \exp(-u * x)]$, donde v y u son constantes (0,1 y 0,5; respectivamente para el ejemplo) y x representa la disponibilidad del suplemento. Esta función ha sido utilizada para explicar el comportamiento de la performance ruminal (producción de AGV, proteína microbiana, etc.) cuando un rumiante consume un alimento de baja calidad, y nutrientes limitantes para el desarrollo microbiano son incorporados al ambiente ruminal (Hoover, 1986; Leng, 1990; Russell et al., 1992). En la ecuación se incluyó la influencia del retraso en el aporte de los nutrientes del suplemento a nivel digestivo luego de que B fuese consumido. El retraso del efecto postingestivo de un nutriente afecta el desarrollo adecuado de una preferencia condicionada por la clave apareada (Ackroff, 2008); siguiendo una de las principales reglas del condicionamiento: cuanto más corto el intervalo entre estímulo condicionado e incondicionado, mejor el condicionamiento (Lieberman, 1993 pp. 81-83). Yearsley et al. (2006) utilizando un modelo teórico mostraron que a medida que el retraso en la aparición de las consecuencias postingesta se incrementa se produciría una reducción monotónica en la precisión de la asociación. Para estimar el valor de B luego de incluir el efecto del retraso se utilizó una función que se comporta de manera similar a las predicciones expuestas por Yearsley et al.: $f(f(x)_0, t_i) = f(x)_0 / (1 + (\exp (t_i * k) - \exp (- t_i * z)))$, donde t_i es el retraso unidades de tiempo entre el consumo de B y el suplemento, $f(x)_0$ define el incremento potencial en el valor de B a un nivel de suplemento x que ocurre cuando el retraso entre el consumo de ambos alimentos es mínimo (t_i es igual a 0), y k y z son parámetros fijos que definen la forma de la hipérbola (para el ejemplo toman valores de 0,15 y 0,5;

respectivamente). En la figura se observa que a medida que el consumo de B y el del suplemento se distancian en el tiempo se reduce el beneficio de la preferencia condicionada hasta lograr independencia entre eventos.....77

Figura 5.4. Reducción proporcional del valor atribuido a un alimento de baja calidad (B) generado por la comparación con niveles incrementales de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2). La función de devaluación está representada por la ecuación de Stevens (1969), donde la intensidad percibida de la diferencia entre estímulos es igual a una constante k multiplicada por la magnitud real de la diferencia entre estímulos (x) elevada a un exponente n : $f(x) = k * x^n$. Para el ejemplo el valor de los parámetros k y $n = 0,0015$ y $1,18$; respectivamente. Para el ejemplo, x toma el valor de la disponibilidad del suplemento luego de aplicarle el factor de corrección mencionado abajo. Se incluyó en la función el efecto del retraso temporal entre el consumo de ambos alimentos, que en el caso del modelo (Figura 5.2) representa t_i . Es bien conocido que los animales restan valor a aquellas opciones cuya ocurrencia se produce en momentos distantes en el tiempo (“descuento temporal” ver Kalenscher y Pennartz, 2008). Alimentos que son ofrecidos con retrasos pequeños sufren descuentos marginales mayores en su valor que aquellos que son ofrecidos en eventos más distantes, lo cual es comúnmente descrito por una función de descuento hiperbólica (Richards et al., 1997; Frederick et al., 2002; Green et al, 2007). Por esto, que el suplemento nutricional este inmediatamente disponible o sea provisto con determinada frecuencia (i.e., con mayor o menor retardo en el tiempo) tendría un efecto diferente sobre el proceso de devaluación de B. Para analizar el efecto de esta variable (t_i) en la intensidad con la que el suplemento afecta el valor de B se introdujo la ecuación modificada de Mazur (1987), la cual representa el valor descontado del suplemento al ser provisto con un retraso t_i desde el consumo de B; $f(x_0, t_i) = x_0 / (1 + m * t_i)$. x_0 representa el valor real del suplemento cuando ocurre de manera inmediata al consumo de B (t_i es igual a 0), y m una constante que determina el grado de curvatura de la función hiperbólica resultante (para el ejemplo el valor del parámetro $m = 0,2$). Es posible observar en la gráfica que a medida que la ocurrencia de ambos alimentos se distancia en el tiempo la fuerza del contraste disminuye

hasta llegar a afectar mínimamente la valoración del alimento de baja calidad (e.g., Lucas et al., 1988; Flaherty et al., 1991).....80

Figura 5.5. Efecto neto de la acción de ambas fuerzas contexto-dependientes (preferencia condicionada y contraste) sobre la valoración de un alimento de baja calidad (B) a diferentes niveles de disponibilidad de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2). El efecto del tiempo transcurrido entre la oferta de ambos alimentos (ti) sobre la valoración también fue incluido.....82

“And the first step, as you know, is always what matters most, particularly when we are dealing with those who are young and tender. That is the time when they are easily molded and when any impression we choose to make leaves a permanent mark”

Platón, 428-347 a.C

CAPÍTULO 1

Introducción general

1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Los rumiantes poseen la capacidad de reconocer los atributos nutricionales de los alimentos. Dicha capacidad esta mediada por procesos de aprendizaje que involucran mecanismos de retroalimentación entre receptores nerviosos sensoriales (responden a estímulos gustativos, olfatorios, táctiles y visuales) y viscerales (responden a estímulos físicos y químicos) (Provenza, 1995). Se ha demostrado que los rumiantes pueden adquirir preferencias por sabores asociados con provisión de energía (Burritt y Provenza, 1992; Villalba y Provenza, 1996; 1997 a, c) o proteína (Villalba y Provenza, 1999). Potencialmente dichas preferencias quedarían expresadas en la selección de una dieta acorde a los requerimientos nutricionales (Atwood et al., 2001).

El comportamiento selectivo, que tiende a optimizar la nutrición animal, en condiciones de libre pastoreo genera la utilización persistente de las especies de mayor calidad nutricional. El pastoreo selectivo del ganado puede reducir la diversidad vegetal de los pastizales (Milchunas et al., 1988), y provocar el reemplazo de especies palatables por especies de baja palatabilidad (e.g., O' Connor, 1991; Distel y Bóo, 1996; Perelman et al., 1997; Chaneton et al., 2002). Además, si el animal comienza su periodo de pastoreo siguiendo la estrategia "comer lo mejor y dejar lo peor" (*sensu* Provenza et al., 2003), en un futuro cercano queda forzado al consumo de especies menos

nutritivas y/o tóxicas, sin poder aprovechar las interacciones positivas entre nutrientes o entre nutrientes y toxinas que se generan con dietas más diversas (Provenza et al., 2003).

En el intento de manipular la amplitud dietaria, para mejorar el aprovechamiento de los recursos forrajeros y contribuir a sistemas pastoriles sostenibles, uno de los principales desafíos es lograr incrementos duraderos en la aceptación y preferencia por los alimentos de menor calidad nutricional presentes en el ambiente alimentario.

2. ANTECEDENTES GENERALES

La capacidad de aprendizaje representa una fuente de plasticidad que permite a los animales adaptarse y sobrevivir en ambientes variables (Davey, 1989). Tal es el caso del ambiente alimentario de los rumiantes, que comúnmente presenta una alta variabilidad espacial y temporal, tanto en disponibilidad como en la composición nutricional de los alimentos (O'Reagain y Schwartz, 1995). Provenza y Balph (1988) destacan el rol fundamental del aprendizaje en el comportamiento a pastoreo y el desarrollo de hábitos dietarios en rumiantes.

La disposición y capacidad de aprender a consumir alimentos está relacionada con la edad del animal. El aprendizaje en edades tempranas es más rápido y persistente que en edades adultas (Provenza y Balph, 1987, 1988). Las edades juveniles de los organismos representan una etapa clave del desarrollo, en las que existe una amplia plasticidad fisiológica, morfológica, y neurológica (Dufty et al., 2002; Knudsen, 2004). Así es como experiencias a

edades tempranas pueden afectar el comportamiento de manera permanente (Scott, 1962; Immelmann, 1972; Crawford et al., 1996). En los rumiantes los hábitos dietarios de animales adultos son modulados por experiencias particulares en edades juveniles, en las que la presencia de la madre cumple un rol primordial (Provenza y Balph, 1990). La mayor plasticidad para el desarrollo de preferencias dietarias ocurriría durante el periodo de transición de monogástrico a rumiante (4 a 10 semanas de edad); etapa en la cual el animal joven comienza a valerse gradualmente del alimento sólido para satisfacer sus requerimientos nutricionales (Provenza y Balph, 1987, 1988; Squibb et al., 1990).

Existe una amplia variedad de información empírica sobre los efectos de una exposición temprana a diversos alimentos, aunque los resultados distan de ser consistentes. Se han informado resultados positivos en el desarrollo de preferencia (e.g., Bartman et al., 1982; Provenza y Balph, 1987; Walker et al., 1992; Distel y Provenza, 1991; Distel et al., 1994), neutrales o limitados en su persistencia (e.g., Nolte et al., 1990, experimento 1; Distel et al., 1996, experimento 3; Olson et al., 1996; Burritt et al., 2000), e incluso resultados negativos como los observados en ratas (Bronson, 1966), perros (Ferrell, 1984), gatos (Stasiak, 2001), y humanos (Birch, 1998). Dicha variabilidad en los resultados podría explicarse por diferencias en el conocimiento adquirido por el animal durante la experiencia con el alimento problema.

El resultado del aprendizaje (i.e., qué conocimientos adquiere el animal) con un alimento problema dependería del contexto alimentario en el cual se desarrolla la experiencia (Provenza et al., 2003). Cuando un alimento de baja calidad nutricional es experimentado en cercana asociación temporal con

alimentos de mayor calidad, el alimento resultaría más preferido que cuando es experimentado solo o junto a otros alimentos de baja calidad (Baraza et al., 2005). El primer contexto podría representarse por una situación de suplementación del alimento de baja calidad con concentrados energético-proteico; mientras que el último contexto ocurriría en un pastizal integrado por especies de alta y de baja calidad nutricional, en el que los animales experimentan las últimas especies cuando las primeras ya no están disponibles.

El objetivo general de mi tesis fue determinar el efecto de la experiencia temprana de ovinos con un alimento de baja calidad nutricional bajo diferentes contextos alimentarios en la posterior aceptación y preferencia (i.e., valoración) por el mismo, y contribuir a dilucidar el proceso de aprendizaje subyacente a las respuestas observadas.

CAPÍTULO 2

Rol de la experiencia temprana en el desarrollo de preferencia por alimentos de baja calidad en ovinos

1. INTRODUCCIÓN

Las etapas tempranas del desarrollo de los mamíferos están caracterizadas por una alta plasticidad neuronal (Berardi et al., 2000). Esta cualidad adaptativa está definida por sustratos neuronales que requieren de experiencias sensoriales para modelar la arquitectura de sus conexiones sinápticas (Niell & Smith, 2004). Tanto la cantidad como la calidad de la experiencia resultan primordiales en la determinación del tipo de conocimiento que perdurará y modulará el comportamiento del animal en edades adultas (Knudsen, 2004).

Los estudios sobre comportamiento ingestivo realizados con rumiantes en edades juveniles comúnmente fundamentan la interpretación de sus resultados en la mera exposición y consumo de un alimento problema. No obstante, el contexto alimentario global en el que el animal experimenta el alimento problema influye en el resultado. Villalba et al. (2002) observaron que la exposición de ovinos a una planta con terpenos (sustancias tóxicas) produjo una aversión hacia la misma, que posteriormente generó una reducción en la preferencia por la misma. En cambio, cuando el contexto alimentario incluyó nutrientes que facilitan la detoxificación de los terpenos, la preferencia por la planta con terpenos aumentó (Villalba et al., 2006; Papachristou et al., 2007).

Si bien se ha observado que la cantidad de exposición a un alimento puede aumentar la preferencia por el mismo (Pliner, 1982; Burritt y Provenza, 1996), la mera presencia del alimento dentro del contexto alimentario no sería suficiente para que esto ocurra (Provenza et al., 2003). Inducir a los animales a combinar alimentos de baja calidad con alimentos de alta calidad permitiría el aprendizaje de las interacciones positivas entre nutrientes o nutrientes y toxinas, y posibilitaría el desarrollo de preferencias por alimentos de baja calidad (Provenza et al., 2003; Villalba et al., 2006).

En base a los antecedentes se formuló la hipótesis que la exposición temprana a un alimento de baja calidad, en un contexto nutricional positivo (provisto por el ofrecimiento de suplementos energético y proteico), incrementa su valoración en edades adultas. La valoración de un alimento queda definida operacionalmente por el nivel de aceptación (consumo voluntario cuando es ofrecido como única alternativa) o preferencia (consumo proporcional cuando es ofrecido junto a otras alternativas) por el mismo. En consecuencia, el objetivo de esta parte de la tesis fue (1) exponer ovinos jóvenes a un alimento de baja calidad nutricional, en forma simultánea con suplementos energético y proteico, a los efectos de promover una experiencia nutricional positiva con el alimento de baja calidad y (2) determinar la preferencia y aceptación del alimento de baja calidad en edades adultas, en comparación con animales carentes de la experiencia descrita. Con el fin de ayudar a la interpretación de los resultados se realizaron determinaciones de digestibilidad y retención de nitrógeno en animales con y sin la experiencia señalada, alimentados con el alimento de baja calidad nutricional únicamente.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en instalaciones del “Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida” (CERZOS), ubicadas en la ciudad de Bahía Blanca, Argentina, desde principios de Junio de 2007 hasta fines de julio de 2008.

2.1. Animales e instalaciones

Veinticuatro corderos Corriedale (*Ovis aries L.*) (doce hembras y doce machos castrados) de un mes de edad y sus madres (hembras multíparas de tres a seis años de edad) fueron divididos de manera aleatoria en dos grupos experimentales balanceados por sexo, y ubicados en corrales experimentales contiguos (200 m²). Los corrales estuvieron separados por mallas media-sombra negra de cobertura total, con la finalidad de impedir la interacción visual y el contacto físico entre los animales de ambos grupos. Cada corral estuvo provisto con bebederos automáticos, dos receptáculos para la provisión de sales minerales, y diez comederos plásticos ubicados bajo cobertizo (40 m²). El cobertizo cubría un área suficiente como para permitir a los animales (corderos y madres) protegerse de la exposición al sol y las inclemencias climáticas (lluvia, heladas, etc.)

2.2. Exposición temprana

Los corderos permanecieron expuestos a los tratamientos de experiencia temprana desde el segundo hasta el séptimo mes de vida, rango de edades que abarcaría el periodo de mayor plasticidad para el desarrollo de preferencias dietarias (Squibb et al., 1990; Provenza et al., 2003). Durante el primer mes de dicho periodo estuvieron expuestos a los tratamientos junto a sus madres. A lo largo del periodo de exposición todos los corderos se alimentaron con un alimento base, el cual representó el 51-52% del consumo diario de alimento. El alimento base fue heno de avena cortada en estado maduro (alimento de baja calidad, de aquí en mas denominado “B”; energía metabolizable (EM): 1,8 Mcal/kg, proteína bruta (PB): 6,1 %, y fibra detergente neutro (FDN): 69,3 %) o heno de alfalfa cortado en estado vegetativo (alimento de alta calidad, de aquí en mas denominado “A”; EM: 2,2 Mcal/kg, PB: 15,1 %, y FDN: 44,5 %), ambos molidos a tamaños de partícula de dos a tres centímetros de longitud. Los animales alimentados con B correspondieron al tratamiento “experiencia temprana con un alimento de baja calidad” (de aquí en mas denominado “E+”, n = 12), mientras que los alimentados con A correspondieron al tratamiento “sin experiencia temprana con un alimento de baja calidad” (de aquí en mas denominado “E-”, n = 12). Los animales de ambos tratamientos tuvieron además acceso a cantidades limitadas de harina de girasol (de aquí en mas denominada “G”; EM: 2,0 Mcal/kg, PB: 28,4 %, y FDN: 45,2 %) y grano de maíz molido (de aquí en mas denominado “M”; EM: 3,4 Mcal/kg, PB: 8,5 %, y FDN: 10,1 %), como fuentes adicionales de proteína y energía, respectivamente. Los suplementos se ofrecieron en forma

simultánea con el alimento base. Cada tipo de alimento (i.e., B, A, G, y M) se suministró diariamente en comederos separados (cuatro comederos para el alimento basal y tres para cada suplemento) a las 0900 h; el tipo de alimento en cada comedero fue aleatorizado diariamente.

Todos los corderos tuvieron libre acceso a una premezcla de sales minerales (calcio: 11%, fósforo: 5%, magnesio: 2%, cobre: 0,05%, hierro: 0,12%, manganeso: 0,05%, y cloruro de sodio: 50%; Daasons S.A., Argentina). Además fueron inyectados con un suplemento polivitamínico (vitamina A, D3, y E; Pfizer Ltd., Brazil) a los dos y cinco meses de edad, con una vacuna clostridial polivalente (CDV S.A., Argentina) a los tres meses de edad, y desparasitados con ivermectina 1 % p/v (Ivomec®, Merial Saúde Animal Ltd., Brazil) a los seis meses de edad.

El peso vivo y el índice de condición corporal (Russel, 1991) de los animales se registró a intervalos de 15 días, desde el inicio de la etapa de exposición (Figura 2.1). Ambas mediciones permitieron evaluar la adecuación de las dietas, y fueron usados en forma conjunta con tablas de requerimientos nutricionales de ovinos (National Research Council, 1985) para realizar ajustes en la cantidad y proporción de cada alimento en cada tratamiento. Además, las mediciones de peso y condición corporal sirvieron para controlar que el consumo del alimento basal representara el 50 % o más del consumo total diario de alimento, y que a ambos grupos (E+ y E-) se les ofrecía niveles semejantes de energía y proteína (Tabla 2.1). Se ha observado que un consumo diferencial de nutrientes o toxinas en edades tempranas puede modificar aspectos críticos de la fisiología digestiva de los animales, que si bien pueden contribuir a explicar modificaciones en la preferencia dietaria (Distel y

Provenza 1991; Distel et al., 1994; 1996) se confunden con la influencia de aspectos relacionados al aprendizaje contextual (interés primario de mi estudio).

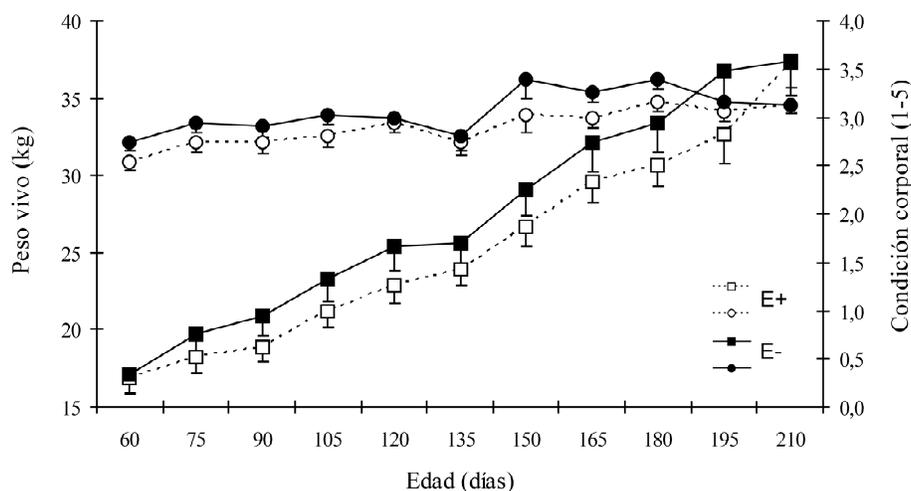


Figura 2.1. Peso vivo (cuadrados) y condición corporal (círculos) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 15 días desde el segundo hasta el séptimo mes de vida de los animales. Para cada variable, un ANAVA de cada intervalo no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las medias de los tratamientos en ninguna de las fechas. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

De cada uno de los alimentos ofrecidos se tomaron muestras (100 g) a intervalo de 15 días para la determinación del contenido de materia seca (“MS”). Posteriormente las muestras se agruparon, se molieron hasta atravesar una malla de 1 mm (Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA), y se analizaron mediante el Método Kjeldahl (AOAC, 1990) para determinar el contenido de proteína bruta y mediante el Método de los Detergentes (Goering y Van Soest, 1970) para determinar el contenido de fibra detergente neutro.

Los valores de energía metabolizable se estimaron mediante tablas específicas para ovinos (National Research Council, 1985), controlando por la similitud en proteína bruta y fibra detergente neutro entre los alimentos usados y los descritos en las tablas.

g/animal/día	Edad (días)																			
	60		75		90		105		120		135		150		165		180		195	
	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-	E+	E-
Heno de avena	310	0	330	0	350	0	360	0	400	0	450	0	530	0	600	0	640	0	650	0
Heno de alfalfa	0	260	0	280	0	300	0	320	0	330	0	380	0	440	0	500	0	530	0	545
Grano de maíz	50	100	50	100	60	100	60	120	60	120	70	130	80	160	90	180	90	180	90	180
Harina de girasol	240	150	260	160	275	180	290	180	320	190	350	230	430	260	480	300	510	330	530	340
Alimento total	600	510	640	540	685	580	710	620	780	640	870	740	1040	860	1170	980	1240	1040	1270	1065
Alimento base (%)	51,7	51,0	51,6	51,9	51,1	51,7	50,7	51,6	51,3	51,6	51,7	51,4	51,0	51,2	51,3	51,0	51,6	51,0	51,2	51,2
PB (g/animal/día)	90	90	97	95	103	104	108	109	119	113	131	132	160	152	179	174	190	187	196	192
EM (kcal/animal/día)	1215	1217	1292	1281	1392	1365	1441	1477	1574	1520	1759	1745	2099	2040	2360	2321	2493	2448	2552	2501

Tabla 2.1. Cantidad de heno de avena, heno de alfalfa, grano de maíz, harina de girasol, alimento total, proteína bruta (PB) y energía metabolizable (EM) consumida por corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 15 días desde el segundo hasta el séptimo mes de vida de los animales. El alimento base fue heno de avena en el caso de E+ y heno de alfalfa en el caso de E-, y está representado en términos del porcentaje en relación al total de la dieta. Los valores son medias de 12 animales.

2.3. Periodo post-exposición

Inmediatamente después de finalizado el periodo de exposición los animales de ambos tratamientos (E+ y E-) se alimentaron con una asignación diaria de 400 g de B, 400 g de A, 300 de G, y 100 g de M por animal durante un periodo de 30 días. De este modo, A fue incluida en la dieta de E+ y B en la dieta de E- a los ocho meses de edad, i.e., fuera del periodo considerado de mayor sensibilidad para el desarrollo de preferencias alimentarias en ovinos (Squibb et al., 1990). La exposición al alimento no consumido en edades tempranas fue implementada con el fin de minimizar conductas neofóbicas (ver Provenza et al., 1995) durante las pruebas de preferencia.

2.4. Experimentos de preferencia

Se determinó el consumo diario y el patrón de consumo horario de heno de avena en corderos de ambos tratamientos (E+ y E-) enfrentados a situaciones de elección que involucraron diferentes combinaciones de alimentos alternativos.

Inmediatamente después del periodo post-exposición, los animales de ambos tratamientos fueron pesados y ubicados en corrales individuales (3 m²) protegidos bajo techo. Cada corral estuvo provisto de un bebedero automático y de tres comederos plásticos.

Se realizaron tres experimentos de preferencia consecutivos exponiendo a los animales de ambos tratamientos a una situación de libre elección entre heno de avena molido (B), heno de alfalfa molido (A), y grano de maíz molido

(M) (Experimento 1); B, harina de girasol (G), y M (Experimento 2); y B, A, y G (Experimento 3). En los tres experimentos los alimentos se ofrecieron de 0840 h a 1800 h, en cantidad tal que permitiera un rechazo de al menos el 20 % de lo ofrecido. Cada experimento duró 15 días. Los primeros doce días fueron para el acostumbramiento de los animales a las condiciones experimentales, y los tres días finales para la recolección de datos. La posición de los alimentos en los comederos se estableció al azar diariamente. El contenido de materia seca de los alimentos se determinó tomando muestras (10%) de lo ofrecido y de lo rechazado y secando en estufa (65 °C) hasta peso constante. El patrón de consumo horario se determinó realizando pesadas sistemáticas de los rechazos a intervalos de 80 minutos a lo largo del periodo de alimentación.

2.5. Experimento de disminución progresiva en la disponibilidad de un alimento de alta calidad

Se determinó el consumo y la tasa de sustitución de heno de avena (B) en los animales de ambos tratamientos (E+ y E-) frente a una disminución progresiva en la disponibilidad de heno de alfalfa (A).

El experimento consistió de cinco periodos consecutivos de diez días cada uno. Los primeros siete días de cada periodo sirvieron para la familiarización de los animales a las condiciones experimentales, y los tres días finales para la recolección de datos. En el primer periodo los animales fueron alimentados simultáneamente con B y A en comederos individuales desde las 0900 h hasta 1800 h, y en cantidad suficiente para obtener un rechazo de al menos el 20 % de lo ofrecido. Durante este periodo se determinó el consumo

individual *ad libitum* de A. En los restantes periodos los animales fueron alimentados con B en las mismas condiciones de libre disponibilidad, y con una cantidad de A que correspondió al 75 %, 50 %, 25 % o 0 % del consumo individual *ad libitum* (Periodos 2, 3, 4 y 5, respectivamente). La posición de los alimentos en los comederos se estableció al azar diariamente. La tasa de sustitución de B fue calculada para cada nivel de disponibilidad de A (i.e., 75 %, 50 %, 25 %, o 0 % del consumo individual *ad libitum* de A) como:

$$\text{Tasa de sustitución} = (B_0 - B_i) / A_i$$

Donde, B_0 : consumo de B a un nivel de 0 % de disponibilidad de A, B_i : consumo de B a un nivel de i % del consumo *ad libitum* de A, y A_i : cantidad de A disponible al i % del consumo *ad libitum*.

2.6. Experimento de digestibilidad *in vivo* y retención de nitrógeno

Se determinó la digestibilidad aparente *in vivo* y la retención de nitrógeno de los animales de ambos tratamientos (E+ y E-) alimentados exclusivamente con heno de avena molido (B).

Cinco machos seleccionados de manera aleatoria dentro de cada tratamiento se ubicaron en jaulas de metabolismo provistas de un comedero frontal, un depósito de agua, y dos recipientes para la recolección de orina o heces. El experimento tuvo una duración de doce días. Los primeros nueve días sirvieron para la familiarización de los animales a las condiciones experimentales, y los tres días finales para la recolección de datos. Los animales fueron alimentados con B entre las 0900 h y las 1800 h, con una cantidad suficiente para obtener un rechazo del 20 %. Las excreciones de

heces y orina se recolectaron y pesaron diariamente a las 1000 h. Al momento de reponer los recipientes de recolección de orina se agregó a cada uno 200 ml de una solución de ácido clorhídrico (5ml/l), con el fin de prevenir pérdidas de nitrógeno por volatilización de NH_3 .

Los datos de consumo y de excreción fecal total fueron utilizados para el cálculo de la digestibilidad aparente de B como:

$$\text{Digestibilidad aparente (\%)} = (\text{Consumo de materia seca de B} - \text{Peso seco de las heces excretadas}) / \text{Consumo de materia seca de B} * 100$$

Muestras individuales equivalentes al 10 % del alimento ofrecido, 10 % del rechazo, 5 % de la orina excretada, y 10 % de las heces excretadas, se recolectaron diariamente y se mantuvieron a $-18\text{ }^\circ\text{C}$ hasta la realización de los análisis de laboratorio. Las muestras de alimento y heces se secaron en estufa ($65\text{ }^\circ\text{C}$) hasta peso constante para determinar el contenido de materia seca. Las muestras molidas (hasta pasar a través de una malla de 1 mm) de alimento y heces, y las de orina, se analizaron mediante el Método Kjeldahl (AOAC, 1990) para determinar su contenido de nitrógeno. Los datos de consumo y excreción diaria de nitrógeno fueron utilizados para estimar la retención de nitrógeno como:

$$\text{Retención de nitrógeno (g / d)} = \text{Consumo de nitrógeno} - (\text{Contenido de nitrógeno en heces} + \text{Contenido de nitrógeno en la orina})$$

2.7. Análisis estadísticos

Los datos de consumo diario de cada alimento o total se expresaron en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo (de aquí en más denominado, "g/kg PV").

Cada experimento de preferencia y cada periodo del experimento de disminución progresiva en la disponibilidad de un alimento de alta calidad fueron analizados de manera separada. Los datos de consumo diario de alimento y tasa de sustitución del heno de avena fueron analizados mediante un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas, utilizando la herramienta estadística PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). El modelo estadístico incluyó el tratamiento (E+ o E-), el día (1, 2, y 3), y su interacción (tratamiento x día) como efectos fijos. El consumo diario fue la medida repetida, y cada animal la unidad experimental y el único término aleatorio del modelo. El modelo estadístico del patrón de consumo diario incluyó cada intervalo de 80 minutos a lo largo del periodo de alimentación (desde 0840 h hasta 1800 h), y la interacción tratamiento x intervalo como efectos fijos. La matriz de covarianza dentro de cada animal fue modelada con una estructura de simetría compuesta, la cual probó tener el mejor ajuste para los datos involucrados en todos los experimentos de acuerdo con el criterio Bayesiano de Schwarz (Littell et al., 1998).

Los datos de consumo diario de heno de avena, digestibilidad aparente de la misma, y retención de nitrógeno obtenidos durante el último experimento se analizaron usando un diseño completamente aleatorizado de un solo factor, siendo el tratamiento (E+ o E-) el factor fijo del modelo.

3. RESULTADOS

3.1. Experimento de preferencia 1: heno de avena, heno de alfalfa, y grano de maíz

El consumo diario y la preferencia por B (heno de avena) (Tabla 2.2) fue mayor ($P= 0,049$ y $P= 0,042$, respectivamente) en E- (animales con experiencia temprana con A [heno de alfalfa]) que en E+ (animales con experiencia temprana con B), mientras que el consumo diario y la preferencia por A fue mayor ($P= 0,037$ y $P= 0,045$, respectivamente) en E+ que en E-. El tratamiento no afectó el consumo diario de M (grano de maíz) ($P= 0,258$) o su preferencia ($P= 0,311$). El consumo diario total fue mayor ($P= 0,020$) en E+ que en E-.

Alimento	Experimento 1					
	Consumo			Preferencia		
	E+	E-	E.E.M.	E+	E-	E.E.M.
B	0,95b	2,05a	0,36	0,02b	0,05a	0,006
A	20,85a	16,87b	1,39	0,52a	0,46b	0,017
M	17,92	15,29	2,15	0,46	0,49	0,028
Total	39,72a	34,21b	1,5	-	-	-

Tabla 2.2. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), heno de alfalfa (A) y grano de maíz (M), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó como el cociente entre el consumo del mismo y el consumo total. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, valores en la misma fila que contienen letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

El consumo diario de B a intervalos de 80 minutos fue mayor ($P= 0,017$) en E- que en E+ (0,323 vs. 0,172 g/kg PV respectivamente, E.E.M.= 0,052; Figura 2.2.); mientras que el consumo diario de A fue mayor ($P= 0,026$) en E+ que en E- (2,940 vs. 2,389 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,159). No hubo interacción significativa entre tratamiento e intervalo en el consumo diario de B ($P= 0,312$) ni de A ($P= 0,141$).

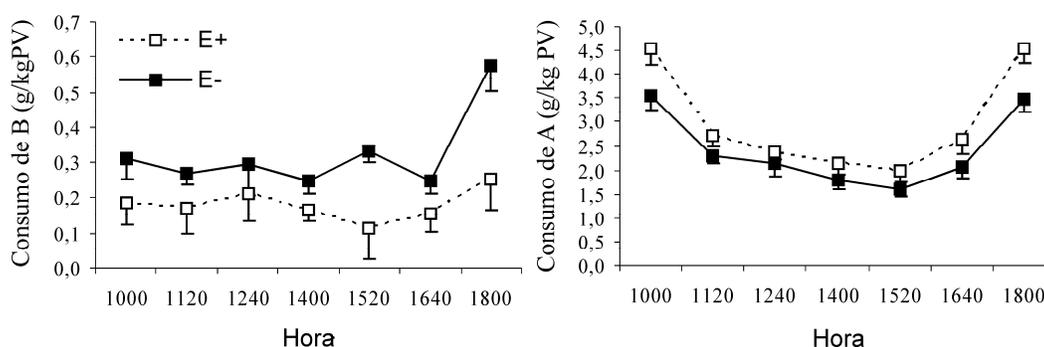


Figura 2.2. Consumo diario de heno de avena (B) y heno de alfalfa (A) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

3.2. Experimento de preferencia 2: heno de avena, harina de girasol, y grano de maíz

El consumo diario de y la preferencia por B, G (harina de girasol), y M (Tabla 2.3) no difirió significativamente entre E+ y E- ($P= 0,210$, $P= 0,351$, y $P= 0,543$ para el consumo, y $P= 0,261$, $P= 0,409$, y $P= 0,631$ para la preferencia, respectivamente). El consumo diario total tampoco resultó influenciado por el tratamiento ($P= 0,707$).

Experimento 2						
Alimento	Consumo			Preferencia		
	E+	E-	E.E.M.	E+	E-	E.E.M.
B	4,68	3,6	0,60	0,09	0,11	0,015
M	18,99	18,09	1,04	0,42	0,45	0,041
G	18,79	21,73	2,13	0,49	0,44	0,035
Total	42,46	43,42	1,82	-	-	-

Tabla 2.3. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), grano de maíz (M) y harina de girasol (G), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó según lo indicado en el Tabla 2.2. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, en ningún caso los valores ubicados en la misma fila difirieron significativamente ($P > 0,05$).

El consumo diario de B a intervalos de 80 minutos fue mayor ($P = 0,009$) en E- que en E+ (0,681 vs. 0,517 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,040; Figura 2.3). No hubo interacción significativa entre tratamiento e intervalo en el consumo de B ($P = 0,748$).

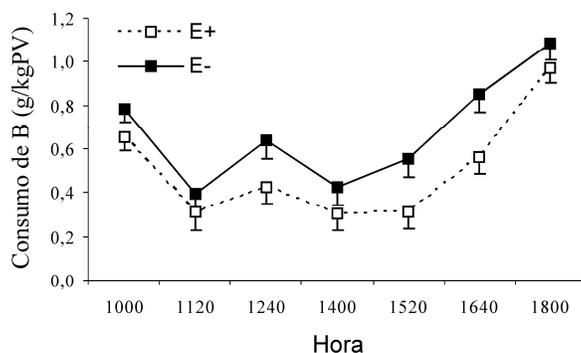


Figura 2.3. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

3.3. Experimento de preferencia 3: heno de avena, heno de alfalfa, y harina de girasol

El consumo diario y la preferencia por B (Tabla 2.4) fue mayor ($P= 0,051$ y $P= 0,039$, respectivamente) en E- que en E+, mientras que el consumo diario y la preferencia por A fue mayor ($P= 0,004$ y $P= 0,022$, respectivamente) en E+ que en E-. El consumo diario y la preferencia por G no resultaron afectados significativamente por el tratamiento ($P= 0,512$ y $P= 0,431$, respectivamente). El consumo diario total tampoco fue afectado significativamente por el tratamiento ($P= 0,414$).

Experimento 3						
Alimento	Consumo			Preferencia		
	E+	E-	E.E.M.	E+	E-	E.E.M.
B	1,09b	1,71a	0,15	0,03b	0,05a	0,005
A	15,56a	12,28b	0,71	0,40a	0,33b	0,02
G	22,27	23,41	1,31	0,57	0,62	0,035
Total	38,92	37,4	1,29	-	-	-

Tabla 2.4. Consumo diario (g/kg PV) y preferencia por heno de avena (B), heno de alfalfa (A) y harina de girasol (G), y consumo diario Total, de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). La preferencia por cada alimento se calculó según lo indicado en el Tabla 2.2. Los valores son medias de 12 animales y 3 días. En cada variable, valores en la misma fila que contienen letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

El consumo diario de B a intervalos de 80 minutos fue mayor ($P = 0,002$) en E- que en E+ (0,247 vs. 0,163 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,017; Figura 2.4); mientras que el consumo diario de A fue mayor ($P = 0,004$) en E+ que en E- (2,22 vs. 1,75 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,103). No hubo interacción significativa entre tratamiento e intervalo en el consumo de B ($P = 0,151$) ni de A ($P = 0,248$).

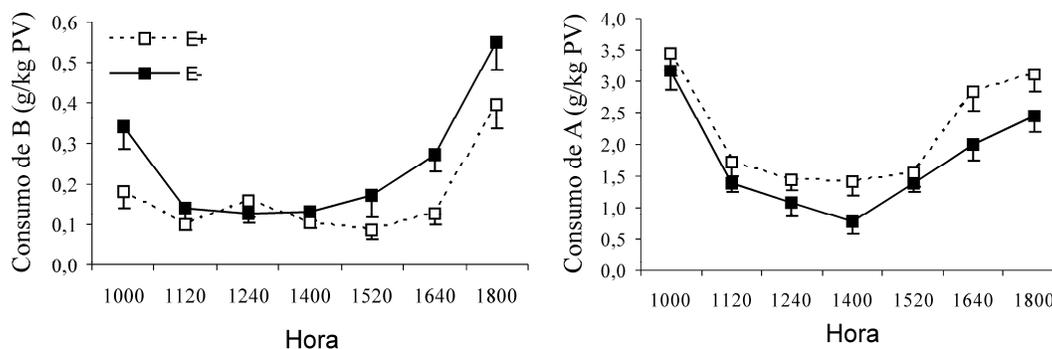


Figura 2.4. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro), a intervalos de 80 minutos desde 0840 hasta 1800 h. Los valores son medias de 12 animales y de 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

3.4. Experimento de disminución progresiva en la disponibilidad de un alimento de alta calidad

La figura 2.5 muestra el consumo diario de B por E+ y E- a lo largo de una disminución progresiva en la disponibilidad de A. En el primer periodo del experimento (libre disponibilidad de A) el consumo diario de B fue mayor ($P=0,022$) en E- que en E+ (3,11 vs. 4,98 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,401), mientras que el consumo diario de A fue mayor ($P=0,045$) en E+ que en E- (29,38 vs 25,62 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 1,124). Cuando la disponibilidad de A fue restringida al 75% del consumo *ad libitum* el consumo diario de B siguió siendo mayor ($P=0,030$) en E- que en E+ (8,85 vs 6,65 g/kg BW, respectivamente, E.E.M.= 0,662), mientras que cuando fue restringida al 50 % y luego al 25% del consumo *ad libitum* no se observaron diferencias entre tratamientos ($P=0,812$ y $P=0,263$, respectivamente). Finalmente, cuando a los

animales no se les ofreció A, el consumo diario de B fue mayor ($P= 0,039$) en E+ que en E- (21,64 vs. 19,49 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,789).

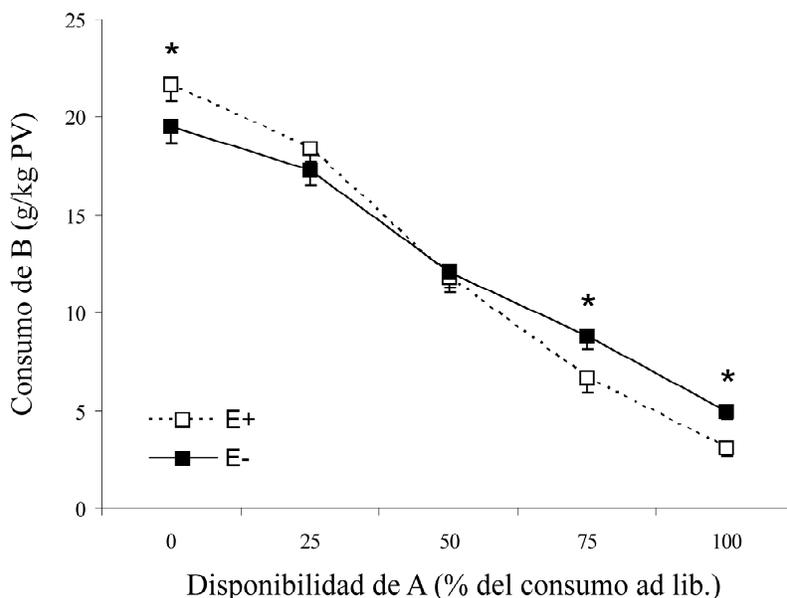


Figura 2.5. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de este alimento, bajo diferentes niveles de restricción de la disponibilidad de heno de alfalfa (A). Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M. Dentro de cada nivel de disponibilidad de A, * denota una diferencia significativa entre las medias ($P < 0,05$).

La Figura 2.6 muestra la tasa de sustitución de B en E+ y E- a lo largo de la disminución progresiva en la disponibilidad de A. Con A disponible *ad libitum* la tasa de sustitución de B no difirió ($P= 0,200$) entre tratamientos. Por otro lado, cuando la disponibilidad de A fue restringida a 75%, 50%, y 25% del consumo *ad libitum*, la tasa de sustitución de B fue mayor ($P= 0,040$, $P= 0,016$, y $P= 0,025$, respectivamente) en E+ que en E-.

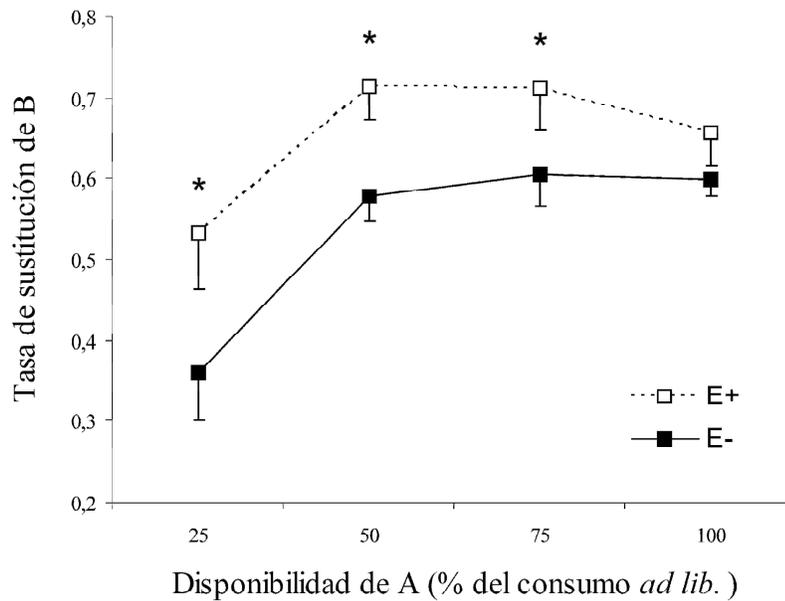


Figura 2.6. Tasa de sustitución de heno de avena (B) en corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de este alimento, bajo diferentes niveles de restricción de la disponibilidad de heno de alfalfa (A). Los valores son medias de 12 animales y 3 días. Las barras de error denotan -1 E.E.M. Dentro de cada nivel de disponibilidad de A, * denota una diferencia significativa entre las medias ($P < 0,05$).

3.5. Experimento de digestibilidad *in vivo* y retención de nitrógeno

El consumo diario de B no difirió ($P = 0,750$) entre los animales de E+ y E- (14,29 vs. 13,87 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,615). El tratamiento de experiencia temprana tampoco afectó la digestibilidad aparente de B (52% v. 50 % para E+ y E-, respectivamente, E.E.M.= 1,614, $P = 0,210$) o la retención de nitrógeno (3,15 vs. 3,01 g/animal/día para E+ y E-, respectivamente, E.E.M.= 0,577, $P = 0,540$).

4. DISCUSIÓN

Contrario a lo esperado a partir de la hipótesis formulada, el consumo de B (heno de avena) fue similar o menor en E+ (experiencia temprana con heno de avena) que en E- (sin experiencia temprana con heno de avena), independientemente de los alimentos alternativos presentes. Dichos resultados no concuerdan con resultados de estudios previos con cabras (Distel y Provenza, 1991) y ovejas (Distel et al., 1994), donde la exposición temprana a un alimento de baja calidad nutricional incrementó la aceptación y preferencia por este tipo de alimentos. En los estudios referidos los efectos de la experiencia temprana sobre el consumo del alimento de baja calidad estuvieron asociados a cambios en procesos fisiológicos que posibilitaron una mayor capacidad de digerir la fibra, reciclar nitrógeno, o detoxificar compuestos químicos secundarios (ver también McEachern et al., 2006). Por el contrario, en el presente trabajo la experiencia temprana con un alimento de baja calidad nutricional no afectó la capacidad de digestión y utilización de nitrógeno, posiblemente debido a la suplementación energético-proteica que mantuvo niveles similares de consumo de nutrientes entre los tratamientos, lo cual ayudaría a explicar la discrepancia entre los resultados actuales y aquellos de trabajos anteriores.

Asimismo, y también contrario a lo esperado a partir de la hipótesis formulada, el consumo de B resultó similar o menor en E+ que en E- a diferentes niveles de disponibilidad de A (heno de alfalfa), excepto cuando la disponibilidad de A fue nula. Cuando la disponibilidad de A estuvo limitada, E+ mostró una mayor tasa de sustitución de B que E-, sugiriendo que los animales

en E+ estaban motivados a reemplazar mayores cantidades de B por unidad de A consumida en comparación con aquellos en E-. De esta manera, aunque el fenómeno de sustitución sea frecuentemente abordado dentro de un marco estrictamente nutricional (Moore et al., 1999), los resultados obtenidos sugieren que la experiencia alimentaria previa también ejerce una influencia importante en el desarrollo del fenómeno. Por otro lado, cuando los animales fueron forzados a consumir B (A no disponible) se observó que el tratamiento E+ consumió un 10% más que E-. Del mismo modo, Distel et al. (1994, 1996) observaron un mayor consumo de heno de sorgo forrajero maduro en ovejas expuestas a edades tempranas a un forraje de baja calidad (pasto llorón diferido) que en ovejas expuestas tempranamente a un forraje de mayor calidad (avena en estado vegetativo). El desarrollo de aceptación por un alimento de baja calidad a través de una experiencia temprana con este tipo de forrajes ha sido atribuido a incrementos en la capacidad de digestión (Distel et al. 1994). Sin embargo, en el presente trabajo no se observó diferencia en la capacidad digestiva entre ambos tratamientos (E+ y E-). El consumo de un alimento con alto contenido de fibra (heno de avena) durante el periodo de exposición podría haber incrementado la capacidad retículo-ruminal de los animales en E+ (Milne et al. 1978; Distel y Provenza 1991), posibilitando una mayor ingestión de B.

A pesar que los resultados no corroboraron la hipótesis, la experiencia temprana con un alimento de baja calidad en un contexto nutricionalmente positivo provocó cambios persistentes en la preferencia de los corderos a edades adultas. En todas las situaciones de elección que involucraron libre disponibilidad de B y A, la preferencia por B fue mayor en E- que en E+.

mientras que la preferencia por A fue mayor en E+ que en E-. Estos patrones de preferencia fueron también observados cuando el consumo diario fue analizado a intervalos de 80 minutos a lo largo del periodo de alimentación. Por otro lado, aún cuando la cantidad de grano de maíz asignada a cada animal durante la etapa de exposición fue menor, y la de harina de girasol mayor en E+ que en E-, no se observaron diferencias entre los tratamientos en el consumo de ambos alimentos en los experimentos de preferencia. En conjunto, y contrario a proposiciones previas (Pliner 1982; Burritt y Provenza 1996), los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que la cantidad de experiencia con un alimento no necesariamente conlleva el desarrollo de preferencia por el mismo.

Una explicación posible para las diferencias observadas entre E- y E+ en la preferencia por B, es que el contexto alimentario en el que los animales experimentaron B (en forma simultánea con fuentes adicionales de proteína y energía) haya afectado negativamente el valor que los animales en E+ le asignaron a B durante la etapa de exposición. El valor que un animal asigna a un alimento no está determinado solo por sus consecuencias post-ingesta, sino también por presencia de otros alimentos dentro del contexto en el cual el alimento es consumido (Flaherty, 1996). Por ejemplo, Bergvall et al. (2007) y Bergvall y Balogh (2009) en estudios con ciervos (*Dama dama*) observaron una reducción en el consumo de un alimento que contenía un 1% de taninos cuando era presentado inmediatamente después que los animales habían consumido una pequeña cantidad de la misma comida pero conteniendo 0,25% de taninos (considerada de mayor calidad que la anterior), en comparación con cuando los animales consumían previamente el mismo alimento con 1% de

taninos. Este fenómeno, conocido en el área de la psicología experimental como “contraste negativo”, ocurre cuando como resultado de comparaciones realizadas entre alimentos de diferente calidad los animales muestran una reducción exagerada en el consumo de aquel de menor calidad (Flaherty, 1996). Se ha sugerido que este tipo de contraste entre alimentos juega un papel importante en el comportamiento a pastoreo de herbívoros mamíferos, debido a que la aparición inesperada de un alimento de baja calidad incitaría la búsqueda o la espera del animal por una alternativa de mayor calidad, sesgando la selección de dieta hacia los mejores alimentos (Flaherty et al., 1978; Flaherty et al., 1979; Pellegrini y Mustaca, 2000; Bergvall et al., 2007).

La probable devaluación de B en el tratamiento E+ podría haber resultado de las comparaciones continuas entre este alimento de baja calidad y los suplementos energético (grano de maíz) y proteico (harina de girasol), ofrecidos en forma simultánea durante el periodo de exposición temprana. Como evidencia circunstancial, los animales en E+ consumían B únicamente luego de haber consumido toda la harina de girasol y el grano de maíz. Del mismo modo, Nolte et al. (1990) informaron que corderos expuestos en edades tempranas a un arbusto (*Cercocarpus montanus*) de baja calidad nutricional y a grano de trigo de manera simultánea, no desarrollaron preferencia por el arbusto. Los mismos autores observaron que los corderos consumían todo el trigo desde el comienzo, pero se mantuvieron renuentes a consumir el arbusto, lo cual puede ser interpretado como un contraste negativo entre alimentos.

En síntesis, los resultados obtenidos sugieren que la mera exposición a un alimento de baja calidad nutricional a edades tempranas, aún en un contexto nutricional positivo, no necesariamente implica un incremento en la

preferencia por este tipo de alimentos a edades adultas. A edades tempranas los procesos de aprendizaje son altamente eficientes (Provenza and Balph, 1987), y la información que el animal extrae del ambiente alimentario determinaría el comportamiento que persistirá en el futuro. De ahí la necesidad de estudios sobre desarrollo de preferencias alimentarias en rumiantes focalizados en dilucidar *qué aprenden* los herbívoros de los alimentos a edades tempranas, y hasta qué punto este aprendizaje es relevante en determinar el comportamiento ingestivo a edades adultas.

CAPÍTULO 3

Devaluación de un alimento de baja calidad por borregos expuestos al mismo en edades tempranas y en forma simultánea con fuentes de energía y proteína

1. INTRODUCCIÓN

El modelo clásico de forrajeo óptimo (Stephens y Krebs, 1986) asume de manera implícita que el valor adjudicado a un alimento es absoluto, y por lo tanto independiente de la cantidad y calidad de las demás opciones que pueden encontrarse presentes al momento de la elección. Una de las predicciones de este supuesto es que la preferencia por un alimento de alta calidad no debería ser afectada por la presencia de alimentos de menor calidad en el contexto alimentario o por experiencias pasadas con estos últimos (Tversky y Simonson, 1993). Contrariamente, la evidencia empírica muestra que tanto humanos como otras especies animales tienden a elegir alimentos mediante evaluaciones comparativas que ocurren entre las opciones presentes (Tversky y Griffen, 1991; Flaherty, 1996)

El resultado de las comparaciones entre alimentos determinaría básicamente que aquello que es considerado “bueno” sea percibido como “mucho mejor” en un contexto en el cual aparecen alimentos de menor calidad, del mismo modo que lo “malo” sea percibido como “mucho peor” en compañía de alimentos de alta calidad (ver Zellner, 2007). En ratas se observó un mayor

consumo de solución de sacarosa al 32% (alta calidad) cuando la misma estuvo apareada con una solución de sacarosa al 4% (baja calidad), que cuando estuvo apareada con una solución de igual concentración (32%). Por otra parte, el consumo de una solución de sacarosa al 4% fue menor cuando las ratas habían consumido previamente una solución de sacarosa al 32%, que cuando habían consumido previamente una solución de sacarosa a igual concentración (4%) (Flaherty y Largen 1975; Flaherty, 1982).

En el Capitulo anterior se destacó el menor consumo y preferencia por heno de avena (baja calidad), así como el mayor consumo y preferencia por heno de alfalfa (alta calidad), que mostraron animales expuestos al heno de baja calidad en edades tempranas. Una posible explicación es que durante la etapa de exposición temprana el heno de avena haya resultado devaluado, como consecuencia de comparaciones recurrentes con los suplementos de alta calidad nutricional. Los mecanismos de comparación contexto-dependientes que habrían operado a edades tempranas en los animales expuestos al heno de avena también explicarían la sobrevaluación del heno de alfalfa (aumento de preferencia) por los mismos a edades adultas. Para poner a prueba la “hipótesis de la devaluación” se utilizó un procedimiento empleado en el campo de la psicología experimental, denominado “contraste sucesivo negativo” (de aquí en mas denominado “CSN”).

El procedimiento de CSN es habitualmente utilizado con el objetivo de determinar, a través de cambios en el comportamiento ingestivo, el valor relativo que los animales asignan a un alimento cuando es comparado con otro de mayor calidad (e.g., Papini y Pellegrini, 2006). El CSN queda definido operacionalmente por la reducción abrupta y exagerada del consumo

observada cuando animales expuestos en forma repetida a un alimento de alta calidad son sorpresivamente cambiados a un alimento de menor calidad, en comparación con animales que se mantienen expuestos en forma constante al alimento de menor calidad (Flaherty 1996, p. 33). Conceptualmente se asume que durante el desarrollo del CSN se produce una discrepancia entre la expectativa del animal de recibir un incentivo de alta calidad y la aparición inesperada de un incentivo de menor calidad. Mustaca et al. (2000) observaron que cuando ratas alimentadas con una solución de sacarosa al 32% se comenzaron a alimentar repentinamente con una solución de sacarosa al 4%, las mismas consumieron una cantidad menor en comparación con animales alimentados con solución de sacarosa al 4% a lo largo de todo el periodo experimental. Más aun, cuanto mayor la discrepancia entre la calidad de los alimentos ofrecidos en las dos fases (previa y posterior al cambio, de aquí en mas denominadas “pre-cambio” y “pos-cambio”, respectivamente), mayor la supresión del consumo del alimento de menor calidad el día del cambio (Flaherty y Stepanak 1978; Papini y Pellegrini 2006).

El objetivo de esta parte de la tesis fue determinar variaciones de consumo en borregos con y sin experiencia temprana con un alimento de baja calidad nutricional (heno de avena), al ser sorpresivamente cambiados de heno de alfalfa a heno de avena durante un procedimiento de CSN.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el “Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida” (CERZOS), desde septiembre hasta fines de noviembre de 2008.

2.1. Animales e instalaciones

Se utilizaron los mismos animales y las mismas instalaciones que en el estudio anterior (Capítulo 2).

2.2. Procedimiento de contraste sucesivo negativo

La Tabla 3.1 resume la experiencia dietaria previa de los animales y la sucesión de alimentos ofrecidos en las fases de pre- y pos-cambio del procedimiento de CSN.

Los borregos de los tratamientos E+ y E- fueron asignados aleatoriamente a una de dos condiciones experimentales: con cambio de alimento (c) y sin cambio de alimento (s; i.e., control). De esta manera, se obtuvieron cuatro niveles experimentales, resultantes de la combinación de dos tratamientos de experiencia temprana (E+ y E-) y dos condiciones alimentarias (“con y sin cambio de alimento”; E+c, E+s, E-c, y E-s, respectivamente; n=6, balanceado por sexo).

Experiencia temprana <i>2 a 7 meses de edad</i>		Ensayos en edades adultas <i>7 a 10 meses de edad</i>	Experimento CSN <i>10 meses de edad</i>		
Tratamiento	Dieta	Dieta	Tratamiento	Fases	
				Pre-cambio	Pos-cambio
E+	B y suplementos	B, A, y suplementos	E+c	A	B
			E+s	B	B
E-	A y suplementos	B, A, y suplementos	E-c	A	B
			E-s	B	B

Tabla 3.1. Historia nutricional previa de corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de un alimento de baja calidad (heno de avena cortado en estado maduro [B]), y esquema del procedimiento utilizado en el experimento de Contraste Sucesivo Negativo (CSN). Los suplementos fueron grano de maíz y harina de girasol; “A” se refiere a heno de alfalfa. Ambos grupos de corderos con experiencias diferentes (E+ y E-) fueron expuestos a una condición de cambio (E+c y E-c, respectivamente) o a una condición sin cambio (E+s y E-s, respectivamente) como lo requiere el procedimiento de CSN.

El procedimiento de CSN duró 15 días, y se dividió en dos fases: pre-cambio y pos-cambio. Durante la fase pre-cambio, los borregos en la condición “con cambio de alimento” (E+c y E-c) fueron alimentados con A, mientras que los borregos en la condición “sin cambio de alimento” (E+s y E-s) fueron alimentados con B. En ambos casos los alimentos fueron ofrecidos en una sesión diaria, de 0840 h a 1000 h, en cantidad tal que permitiera obtener un rechazo de al menos el 20% de la cantidad ofrecida. Luego, de 1500 h a 1730 h, se suministró una dieta suplementaria (65% harina de girasol, 30% grano de maíz y 5% de un suplemento mineral) a todos los borregos. Dicha dieta se suministró al 95% del consumo voluntario de cada individuo, y sirvió para homogeneizar las condiciones nutricionales entre los animales expuestos a diferentes alimentos y para satisfacer los requerimientos nutricionales diarios de los animales. La fase pre-cambio finalizó una vez que los siguientes criterios

fueron alcanzados: un mínimo de diez sesiones y tres días consecutivos de consumo promedio estable en cada uno de los cuatro grupos. La fase pos-cambio comenzó un día después de la última sesión pre-cambio. Durante la fase de pos-cambio, de 0840 h a 1000 h todos los borregos fueron alimentados con B. Dicha manipulación en la alimentación significó que los animales en la condición “con cambio de alimento” (E+c y E-c) experimentarían el cambio sorpresivo de un alimento de alta calidad (A) a uno de baja calidad (B). No fue este el caso de los animales “en la condición sin cambio” (E+s y E-s), ya que los mismos continuaron recibiendo el mismo tipo de alimento (B). La fase pos-cambio concluyó cuando los borregos en E+c y E-c alcanzaron niveles de consumo de B semejantes a E+s y E-s, respectivamente (sus grupos controles).

2.3. Análisis estadístico

El consumo diario de A y B se expresó en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo (de aquí en más denominado, “g/kg PV”).

Los datos se analizaron mediante un diseño factorial 2 x 2 con medidas repetidas, utilizando la herramienta estadística PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). El modelo estadístico incluyó el tipo de experiencia temprana (E+ o E-), la sesión (i.e., día) y la condición con (c) o sin (s) cambio de alimento durante el procedimiento de contraste como factores fijos. El consumo en cada sesión fue la medida repetida, y cada animal la unidad experimental y el único término aleatorio del modelo. La matriz de covarianza dentro de cada animal fue modelada con una estructura de simetría

compuesta, la cual probó tener el mejor ajuste para los datos involucrados en todos los experimentos de acuerdo con el criterio Bayesiano de Schwarz (Littell et al., 1998).

El modelo estadístico descripto también se utilizó para someter a prueba tres comparaciones planeadas: E+c vs. E+s, E-c vs. E-s, y E+c vs. E-c, en la primera sesión pos-cambio. Debido a la pérdida de la condición de ortogonalidad en el conjunto de comparaciones, las mismas se realizaron mediante la prueba de Tukey-Kramer (Ruxton y Beauchamp, 2008). También se comparó E+c vs. E-c mediante la magnitud de la reducción en el consumo entre la última sesión pre-cambio y la primera sesión pos-cambio, la cual fue representada como la relación entre el consumo de ambas fases (pos-cambio/pre-cambio) para cada borrego.

3. RESULTADOS

3.1. Fase pre-cambio

En las tres sesiones finales (día 9, 10, y 11) de la fase pre-cambio (Figura 3.1) la interacción entre el tipo de experiencia temprana y la condición con o sin cambio de alimento durante el procedimiento de contraste fue significativa ($P= 0,048$). Esto se explica por un mayor consumo diario de A en E+c que en E-c (9,28 vs 7,38 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,52; $P= 0,003$), mientras que el consumo diario de B no difirió entre E+s y E-s (4,10 vs 4,27 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,35; $P= 0,423$). Por otro lado, el efecto sesión resultó no significativo ($P= 0,832$)

3.2. Fase pos-cambio

El análisis de la última sesión pre-cambio y la primera sesión pos-cambio (cambio de heno de alfalfa a heno de avena) mostró una reducción diferencial del consumo entre los grupos E+c y E-c (Figura 3.1), resultando en una interacción significativa ($P= 0,022$) entre sesión, tipo de experiencia y la condición con o sin cambio de alimento durante el procedimiento de contraste. La relación de consumo pos-cambio/pre-cambio (Figura 3.2) fue significativamente menor ($P= 0,001$) en E+c que E-c.

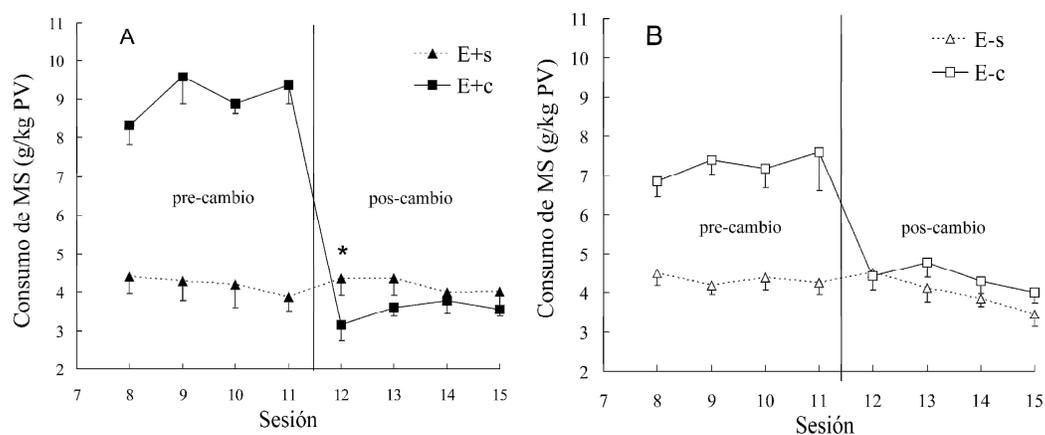


Figura 3.1. Consumo diario de materia seca (MS) en la fase de pre-cambio y pos-cambio de corderos provistos (E+; Figura A) o no (E-; Figura B) de una experiencia temprana con un alimento de baja calidad (heno de avena en estado maduro). En el caso de aquellos animales que estaban en la condición de cambio (E+c y E-c) el alimento ofrecido en la fase pre-cambio fue heno de alfalfa, mientras que aquellos expuestos a la condición sin cambio (E+s y E-s) el alimento fue heno de avena. Para todos los grupos, el alimento ofrecido durante la etapa pos-cambio fue heno de avena. Los valores son medias de 6 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M, y * diferencia significativa entre las medias en la fase pos-cambio ($P < 0,05$).

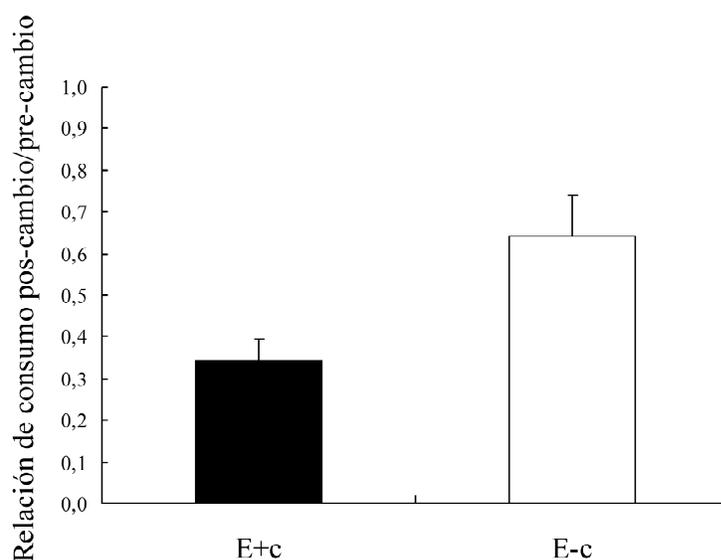


Figura 3.2. Relación entre el consumo observado en la primera sesión pos-cambio y en la última sesión pre-cambio en corderos provistos (E+) o no (E-) de una experiencia temprana con el consumo de heno de avena. Los valores son medias de 6 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.

En la primer sesión pos-cambio se observó un efecto de interacción entre tipo de experiencia temprana y condición con o sin cambio de alimento ($P= 0,045$). Este efecto de interacción puede ser explicado por menor consumo ($P= 0,033$) de B en E+c que E+s (Figura 3.1 A). Por otro lado, los animales de E-c y los de E-s no se diferenciaron ($P= 0,865$) en el consumo de B. En esta misma sesión, el consumo de B fue menor ($P= 0,031$) en E+c que en E-c (3,14 vs. 4,42 kg/PV, respectivamente, E.E.M. = 0,36).

El consumo de B incluyendo el resto de las sesiones de la fase pos-cambio (días 13, 14, y 15) no mostró efectos de sesión ($P= 0,541$) ni de interacción entre sesión, tipo de experiencia y la condición con o sin cambio de alimento durante el procedimiento de contraste ($P= 0,895$). Por otro lado, se

observo un efecto de interacción entre tipo de experiencia y la condición con o sin cambio ($P= 0,042$), debida principalmente a que el consumo promedio de B en E+c fue menor que en E+s (3,40 vs 4,17 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,300; $P= 0,048$), y menor que en E-c (3,40 vs 4,38 g/kg PV, respectivamente, E.E.M.= 0,202; $P= 0,021$) para el periodo en cuestión (i.e., fase pos-cambio).

4. DISCUSIÓN

Los resultados fueron consistentes con la hipótesis de devaluación del heno de avena por los borregos que lo experimentaron a edades tempranas en forma simultánea con los suplementos (energético y proteico; E+). En la primera sesión pos-cambio los borregos en E+c (experiencia temprana con heno de avena y que durante el procedimiento de contraste experimentaron el cambio de heno de alfalfa a heno de avena) consumieron una cantidad significativamente menor de heno de avena en comparación con borregos en E+s (experiencia temprana con heno de avena que fueron alimentados con heno de avena a lo largo de todo el procedimiento de contraste) y en E-c (experiencia temprana con heno de alfalfa y que durante el procedimiento de contraste experimentaron el cambio de heno de alfalfa a heno de avena). Dichos resultados, sumados a la significativamente menor relación de consumo pos-cambio/pre-cambio en E+ que E- y al menor consumo promedio de B en E+c que en E+s y E-c durante la fase pos-cambio, demuestran un efecto de contraste sucesivo negativo (CSN) en E+ pero no en E-. Durante el procedimiento de CSN, el grado de supresión del consumo observado en la etapa de pos-cambio está íntimamente relacionado con la diferencia de valor

percibido por los animales entre los alimentos presentados antes y después del cambio (Papini y Pellegrini, 2006). Podría argumentarse entonces que los borregos en E+ percibieron una diferencia de valor entre el heno de avena y el heno de alfalfa mayor que los borregos en E-. En otras palabras, el alimento de baja calidad pudo haber sido percibido como “peor” y el de alta calidad como “mejor” por los borregos en E+ comparado con los borregos en E-. Análogamente, el consumo de heno de alfalfa en la etapa pre-cambio fue mayor en E+ que en E-, coincidiendo con lo observado en las pruebas de preferencia descritas en el Capítulo 2. Contrario a lo esperado, el consumo de heno de avena en la etapa pre-cambio fue similar en ambos tratamientos de experiencia temprana (E+ y E-). Una posible explicación es que los borregos en E+ no redujeron el consumo por debajo de aquellos en E- debido a una restricción (“efecto de piso”) impuesta por el ayuno nocturno (ver Newman et al., 1994).

Una explicación posible de la devaluación del heno de avena por los animales que lo experimentaron a edades tempranas es que el valor percibido por el mismo haya quedado disminuido por comparación con alimentos de mayor calidad presentes en el contexto alimentario. Ha quedado demostrado que aspectos comparativos que afectan la valoración de incentivos (alimentos en la presente tesis) no solo se restringen al momento de la exposición, sino que mediante aprendizaje afectan la percepción del valor del mismo incentivo en otros contextos (Zentall y Clement, 2001). Palomas entrenadas en dos procedimientos simultáneos de discriminación de teclas iluminadas: A₁₀₀B_{12.5} y C₅₀D_{12.5} (las letras representan colores de las luces y los subíndices se refieren a la tasa de recompensa que obtiene el animal por presionar la tecla, e.g. C₅₀ el

50% de las veces que se presiona esta tecla aparece alimento), cuando fueron expuestas a una elección entre B y D seleccionaron D, aún cuando ambas alternativas ofrecían la misma recompensa (Clement y Zentall, 2000). Los autores sugieren que la opción B era percibida como “peor” que D debido a que, en el contexto que había sido experimentada, el contraste con la opción de mayor valor (A_{100}) superaba el contraste que ocurría en el contexto de D y el incentivo de mayor valor (C_{50}).

En síntesis, aún cuando se espera que la experiencia del consumo de un alimento de baja calidad con fuentes complementarias de nutrientes mejore la preferencia por el alimento de baja calidad (Baraza et al., 2005; Villalba et al., 2006), existirían mecanismos de valoración contexto-dependientes (e.g., contrastes entre incentivos) que pueden adquirir relevancia y definir el resultado concreto de la experiencia con el alimento en cuestión. De aquí surge la necesidad de estudiar específicamente de que manera atributos del contexto alimentario afectan el conocimiento que los ovinos adquieren de los alimentos, motivo del capítulo siguiente.

CAPÍTULO 4

Aprendizaje contexto-dependiente con un alimento de baja calidad

1. INTRODUCCIÓN

La valoración de un alimento, por lo tanto la preferencia y aceptación por el mismo, estaría determinada en parte por sus consecuencias postingesta y en parte por aspectos contextuales que involucran interacciones presentes o pasadas con otros alimentos (Flaherty, 1996; Bateson, 2004; Rosati y Stevens, 2009). El primer proceso de carácter digestivo es bien conocido en rumiantes (e.g., Provenza, 1995), no así el segundo proceso de carácter psicológico y contexto-dependiente.

La influencia del contexto alimentario en la conducta de los animales hacia un alimento particular ha sido ampliamente estudiada por psicólogos experimentales (e.g., Stephens y Dunlap, 2009; Bateson et al., 2003; Zentall y Clement, 2001; Flaherty y Kaplan, 1979). Uno de los paradigmas más relevantes es el de “contraste anticipatorio” (Flaherty et al., 1994). En el mismo se observa que los animales son capaces de aprender qué alimentos se encuentran en el contexto, modificando anticipadamente el consumo de aquellos de menor calidad durante el forrajeo (Flaherty, 1996 pp. 107-134). En el caso del “contraste anticipatorio negativo” los animales disminuyen el consumo de un alimento de baja calidad ofrecido en primer término, a la espera

de uno de mayor calidad ofrecido con posterioridad (Flaherty et al., 1996). Este tipo de comportamiento podría relacionarse al fenómeno de sustitución comúnmente observado en el ganado a pastoreo suplementado con grano, donde el aporte de un alimento de alta calidad (grano) produce una disminución del consumo de la alternativa de menor calidad (forraje) (Caton y Dhuyvetter, 1997). Si bien este fenómeno suele atribuirse a efectos asociativos negativos entre nutrientes (Mould et al., 1983), el grado de sustitución en el que el animal incurre es generalmente mayor que la tasa a la que se ve afectada la digestión de la fibra (Dixon y Stockdale, 1999). Por otro lado, niveles elevados de suplementos proteicos o de forrajes de alta calidad pueden ocasionar sustitución (Allden, 1981; Stafford et al., 1996; Freer et al., 1985), lo cual no puede explicarse por efectos asociativos negativos entre nutrientes.

Esta visión conductual del fenómeno de sustitución permite intuir que su desarrollo estaría ligado en cierta medida a un proceso de toma de decisiones, en el cual el animal deja de consumir el alimento de menor calidad para consumir aquel de mayor calidad que anticipa estará disponible. La decisión implicaría la comparación directa entre el alimento sustituido y el sustituto, pudiendo generar la devaluación del alimento de menor calidad por los efectos de contraste mencionados anteriormente (discriminación y contraste entre estímulos, Gilbert y Kesner, 2002).

Moore et al. (1999) compilaron datos de una gran cantidad de trabajos de suplementación en ganado y observaron que cuando la cantidad de suplemento aportaba un nivel de suplementación de TND (total de nutrientes digestibles) mayor al 0,7% del peso vivo, independientemente de la naturaleza del suplemento, se producía el fenómeno de sustitución; mientras que niveles

menores favorecían el fenómeno de complementación (aumento del consumo del forraje debido a la suplementación). En el trabajo presentado en el Capítulo 2, el TND aportado por el total de los suplementos (harina de girasol + grano de maíz) a los corderos en E+ representó el 1,19% del peso vivo (considerando un valor de TND de la harina de girasol del 68% y del grano de maíz del 95%, para ovinos [National Research Council, 1985]), nivel que según Moore et al. (1999) promovería la sustitución de forraje por suplemento. Por esto, es posible que la devaluación del heno de avena por los animales en E+ haya sucedido como resultado de comparaciones continuas con los suplementos, generadas en condiciones de sustitución.

En esta parte de la tesis se planteó profundizar en aspectos relacionados a la influencia del contexto alimentario sobre la calidad de la experiencia que el animal obtiene con un alimento específico. Debido a que la intención fue la búsqueda de condiciones que mejoran la experiencia de los animales con un alimento de baja calidad, se planteó explorar con niveles de suplemento menores a aquellos que se consideran propensos a generar condiciones de sustitución. La hipótesis establece que un alimento de baja calidad, experimentado con un suplemento nutricional suministrado a un nivel de complementación, es más valorado por el animal en comparación con el mismo alimento en ausencia de suplemento. Complementariamente, se espera que este incremento de valor esté relacionado en principio con las mejoras en las consecuencias post-ingesta producidas por los suplementos. De este modo, animales suplementados con un concentrado proteico deberían mostrar una mayor aceptación y desarrollo de preferencia por el alimento de baja calidad, que aquellos suplementados con un concentrado energético. El primero

suministra proteína, que es el nutriente requerido por los microorganismos para la degradación de la fibra del alimento de baja calidad, mientras que el segundo aporta hidratos de carbono altamente fermentables, que podrían competir con la fibra del alimento de baja calidad como fuente energética de los microorganismos del rumen.

El objetivo central fue determinar en corderos jóvenes el consumo y la preferencia por un alimento de baja calidad cuando este es seguido o no de un nivel bajo (0,4% del peso vivo) de suplementación proteica o energética (Experimento 1). Adicionalmente, y ante una respuesta positiva en el consumo y preferencia por el alimento de baja calidad en los corderos suplementados, determinar en qué medida la respuesta observada constituye una conducta aprendida (i.e., perciben que el alimento de baja calidad es una alternativa de mayor valor) (Experimento 2) y, de ser así, indagar de manera más profunda el aprendizaje que los animales adquieren del contexto al que se exponen (Experimento 3).

2. EXPERIMENTO 1

2.1. Materiales y métodos

El presente estudio fue conducido en el “Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida” (CERZOS), desde febrero hasta fines de abril de 2009.

2.1.1. Animales e instalaciones

Veinticuatro corderos machos Corriedale de cuatro meses de edad se pesaron y se ubicaron de manera aleatoria en corrales individuales (3 m²) protegidos bajo techo. Cada corral estuvo provisto de un bebedero automático y dos comederos plásticos.

2.1.2. Alimentos y diseño experimental

Los alimentos utilizados fueron heno de avena molido (alimento de baja calidad, de aquí en mas denominado “B”; energía metabolizable (EM): 1,6 Mcal/kg, proteína bruta (PB): 5,8 %, y fibra detergente neutro (FDN): 75,9 %), harina de soja (suplemento proteico, de aquí en mas denominado “P”; EM: 3,1 Mcal/kg, PB: 45,8 %, y FDN: 16,1 %), grano de maíz molido (suplemento energético, de aquí en mas denominado “E”; EM: 3,3 Mcal/kg, PB: 8,9 %, y FDN: 10,2 %), y heno de alfalfa peleteado (EM: 2,2 Mcal/kg, PB: 19,2 %, y FDN: 48,7 %).

Los corderos se separaron al azar en tres grupos experimentales (n=8) balanceados por peso y condición de entero o castrado. Los tres grupos se alimentaron con B sin restricción entre 0840 h y 0900 h. Luego, de 0915 h a 0935 h uno de los grupos se suplementó con P al 0,4% del peso vivo (de aquí en mas denominado “SP”), otro con E al 0,4% del peso vivo (de aquí en mas denominado “SE”), y el restante no recibió suplemento (de aquí en mas denominado “SN”). En la psicología experimental el procedimiento descrito se denomina “respuesta anticipatoria” (Flaherty et al., 1994), debido a que los

animales deciden cuanto consumir del alimento en estudio (B en el presente caso) en función del tipo de alimento que encontrarán en el futuro (P, E, o nada en el presente caso). Por la tarde todos los animales se alimentaron con heno de alfalfa peleteado en cantidades sin restricción de 1700 h a 1800 h, con el fin de completar requerimientos, homogeneizar la situación nutricional, y mantener niveles de saciedad semejantes a la mañana siguiente. El criterio seguido para la finalización de esta primera parte del experimento fue un mínimo de diez días, y al menos cinco días de consumo estable en todos los grupos experimentales. La variable de respuesta medida fue el consumo de B.

Inmediatamente después de finalizado el periodo anterior todos los animales fueron expuestos a una serie de ensayos de preferencia entre B y heno de alfalfa molido (de aquí en mas denominado "A"; EM: 2,3 Mcal/kg, PB: 16,3 %, y FDN: 45,6 %). Durante el primer ensayo se ofreció a todos los corderos ambos alimentos de manera simultánea, en comederos individuales y en cantidades sin restricción, de 0900 h a 0940 h. Por la tarde los animales fueron alimentados con el heno de alfalfa peleteado ofrecido en cantidades sin restricción de 1700 h a 1800 h. El procedimiento descrito se repitió durante los dos días siguientes.

Todos los alimentos ofrecidos se muestrearon (100 g) cada tres días, para la determinación del contenido de materia seca ("MS"). Posteriormente las muestras se agruparon y se molieron hasta atravesar una malla de 1 mm (Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA). En el material molido se analizó el contenido de proteína bruta por el procedimiento Kjeldahl (AOAC, 1990), y el contenido de fibra detergente neutro por el Método de los Detergentes (Goering y Van Soest, 1970). Las estimaciones de energía

metabolizable fueron obtenidas mediante tablas específicas para ovinos (National Research Council, 1985), controlando por la similitud en proteína bruta y fibra detergente neutro entre los alimentos usados y los mismos alimentos descritos en las tablas.

2.1.3. Análisis estadístico

El consumo diario de B se expresó en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo (de aquí en más denominado “g/kg PV”).

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas utilizando la herramienta estadística PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). El modelo estadístico incluyó el tratamiento (SP, SE, y SN) como factor fijo. El consumo de cada una de las últimas cinco sesiones diarias fue la medida repetida, y cada animal la unidad experimental y el único término aleatorio del modelo. La matriz de covarianza dentro de cada animal fue modelada con una estructura autorregresiva de primer orden, la cual probó tener el mejor ajuste de acuerdo con el criterio Bayesiano de Schwarz (Littell et al., 1998). Cuando la variación debida al factor tratamiento resultó significativa se utilizó la prueba de Tukey-Kramer para comparar las diferencias entre pares de medias.

Los datos de proporción de los ensayos de preferencia se analizaron independientemente. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Siegel y Castellan, 1988) con tratamiento (SP, SE, y SN) como factor principal del modelo.

2.2. Resultados y discusión

El consumo diario del alimento de baja calidad (B) difirió significativamente entre los tratamientos ($P= 0,009$; Figura 4.1). Los corderos suplementados con concentrado proteico (SP) o con concentrado energético (SE) no difirieron ($P= 0,192$) entre sí en el consumo de B, pero mostraron un mayor consumo de B ($P= 0,003$ y $P= 0,047$; respectivamente) que aquellos que no recibieron suplemento (SN). Los resultados pusieron de manifiesto la disposición de los corderos de aumentar de manera anticipada el consumo del alimento de baja calidad, aún cuando fuera inminente el arribo de un suplemento más nutritivo. Este tipo de respuesta positiva en el consumo de un alimento de baja calidad en función de la futura provisión de un alimento de mayor calidad ha sido observada en trabajos anteriores (e.g., Weatherly et al., 2006), y se interpreta como la consecuencia de un incremento en el valor que el animal le adjudica al primer alimento (Weatherly et al., 2004). Es posible entonces que los corderos hayan tenido una mejor experiencia con el alimento de baja calidad cuando fue seguido del ofrecimiento del suplemento energético o proteico. Dicha revaloración quedó también reflejada en el incremento diferencial del consumo del alimento de baja calidad durante la etapa previa a la recolección de datos (datos no mostrados).

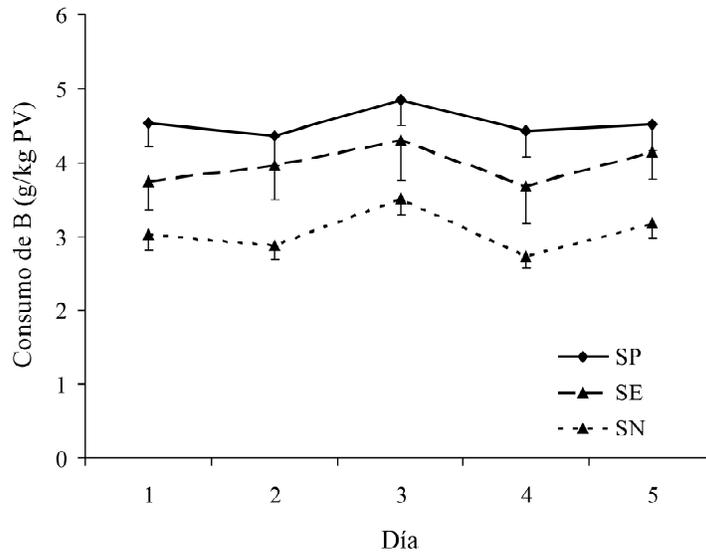


Figura 4.1. Consumo diario de heno de avena (B) de corderos que luego del ofrecimiento de dicho alimento recibían harina de soja (SP) a un nivel del 0,4% del peso vivo, grano de maíz (SE) a un nivel del 0,4% del peso vivo, o ningún suplemento (SN). Los valores son medias de 8 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

Si bien los animales consumieron por la tarde un alimento que habría compensado las diferencias nutricionales generadas por los tratamientos de alimentación aplicados por la mañana, en el caso de los corderos suplementados con concentrado proteico podría argumentarse que el mayor consumo de B al día siguiente se debía al menos en parte a una mayor disponibilidad de nitrógeno a nivel ruminal (efecto carry-over). Pero dicha posibilidad pierde sustento frente al mayor consumo de B observado en los corderos que recibieron el suplemento energético. El efecto similar de SP y SE sobre el consumo de B sugiere que la mejora en el consumo del alimento de baja calidad se debió a la provisión de nutrientes por parte de los suplementos, sin intervención de los efectos de interacción entre nutrientes que pueden

ocurrir a nivel ruminal y son claramente diferentes entre suplementos proteicos y energéticos (Dove, 2002).

Los resultados de los tres días del ensayo de preferencia entre el heno de avena (B) y heno de alfalfa (A) se muestran en la Figura 4.2. En el primer ensayo la preferencia por B fue significativamente mayor en los corderos que habían experimentado B con el suplemento (SP y SE) que en los que no habían sido suplementados (SP vs SN, $P= 0,002$; SE vs SN, $P= 0,004$), mientras que no se observaron diferencias entre SP y SE ($P= 0,958$). La preferencia por B durante el segundo y tercer ensayo se redujo drásticamente en los animales suplementados, aunque siguió siendo significativamente mayor que en los no suplementados (ensayo 2: SP vs SN, $P= 0,02$; SE vs SN, $P= 0,05$; ensayo 3: SP vs SN, $P= 0,01$; SE vs SN, $P= 0,03$). Si bien los resultados apoyan el incremento de valor de B por la suplementación, la abrupta caída de la preferencia observada anteriormente pone en duda la utilización de este tipo de prueba (libre elección) para estimar el valor atribuido a los alimentos (ver Bateson, 2004). Los ensayos de libre elección (Forbes et al., 1997) asumen que la frecuencia con la que un animal dirige su comportamiento hacia un alimento es proporcional a la relación entre el valor que el animal le asigna al alimento y el valor total de todas las opciones presentes (ver “matching law”; Baum, 1973). Por lo tanto, cabría esperar que en la medida que un animal le asigna un mayor valor a un alimento de baja calidad se produzca un incremento directo en la preferencia por el mismo, independientemente de la situación de elección (como fue establecido en la hipótesis inicial detallada en el Capítulo 2). Este supuesto fue elaborado en base a estudios desarrollados en la rama del comportamiento instrumental (se evalúa la respuesta del animal

mediante acciones que ejerce sobre palancas, cadenas, teclas, etc.) y podría resultar erróneo aplicarlo a la selección de alimentos, la cual responde de manera más ajustada a modelos de optimización adaptados para la herbivoría (Farnsworth y Illius, 1998). Un corolario importante de estos modelos es que la selección de un alimento de menor calidad dependería en gran medida del valor y de la disponibilidad de alimentos de mayor calidad (Charnov, 1973). Consecuentemente, en la medida que un animal disponga de un alimento de alta calidad para consumir a voluntad, no debería resultar extraño que la elección y consumo del alimento de menor calidad sea mínima, aún cuando este último tuviera incrementado su valor producto de una experiencia particular positiva (ver “regla cero-uno” Stephens y Krebs, 1986). En el primer ensayo de preferencia, los animales desconocían las nuevas condiciones contextuales (i.e., libre disponibilidad de un alimento de alta calidad) y las características nutricionales de A (no había sido experimentado antes), siendo únicamente familiar el heno de avena. Esto posiblemente permitió que se expresara el mayor valor que los animales en SP y SE le atribuían a B, debido a su apareamiento durante el condicionamiento con los suplementos nutricionales. Pero al día siguiente, y luego de aprender las consecuencias nutricionales del heno de alfalfa (los animales pueden aprender en el plazo de horas las características nutricionales de los alimentos [Provenza et al., 1994]), los corderos realizaron una elección más ajustada a un criterio de optimalidad, reduciendo la sensibilidad de este tipo de método de evaluación para estimar el valor de los alimentos de baja calidad.

Finalmente, independientemente de la sensibilidad del método para estimar el efecto de la exposición, hay que destacar el incremento en la

amplitud dietaria observado en los animales de SP y SE que siguieron incluyendo en la dieta mayores proporciones de B aún con libre disponibilidad de un alimento de mayor calidad (i.e., A).

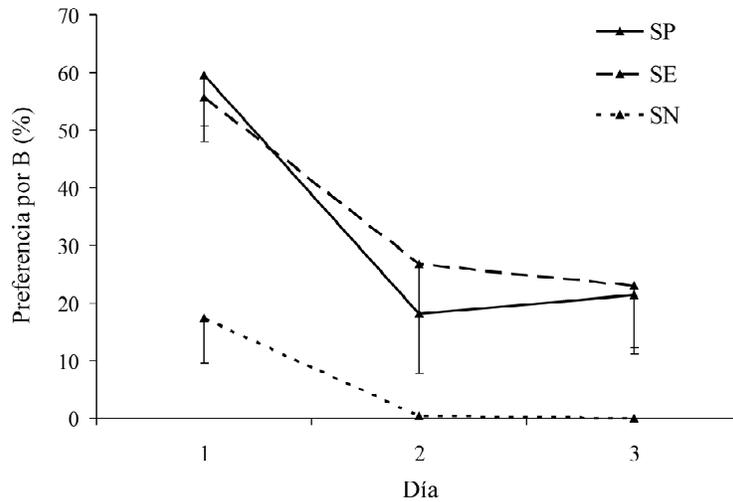


Figura 4.2. Preferencia por heno de avena (B) de corderos que recibieron harina de soja (SP) a un nivel del 0,4% del peso vivo, grano de maíz (SE) a un nivel del 0,4% del peso vivo o ningún suplemento (SN), cuando B fue ofrecido de manera simultánea con heno alfalfa durante tres días consecutivos. La preferencia por cada alimento se calculó como el cociente entre el consumo del mismo y el consumo total. Los valores son medias de ocho animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

3. EXPERIMENTO 2

El objetivo fue el de replicar la respuesta anticipatoria observada en el Experimento 1 en los animales de los tratamientos SP y SE (mayor consumo de heno), pero eliminando la posibilidad de que efectos nutricionales “arrastrados” de días anteriores pudieran explicar el efecto. Por otro lado,

también se planteó como objetivo obtener una medida más sensible del valor “aprendido” de un alimento de baja calidad mediante el uso de claves de sabor.

3.1. Materiales y Métodos

El presente experimento se realizó en las mismas instalaciones y con los mismos animales que el experimento anterior, desde inicios de Mayo hasta Junio de 2009.

3.1.1. Alimentos y diseño experimental

Los alimentos utilizados fueron heno de avena molido (B), harina de soja y heno de alfalfa peleteado, todos con características nutricionales similares a las descritas en el Experimento 1 para los mismos alimentos. La diferencia en este caso fue que el heno de avena se mezcló con orégano (20 g por kilo) o perejil en polvo (20 g por kilo). De manera que se generaron dos alimentos con la misma calidad nutricional, pero con diferente sabor (es posible condicionar ovinos con claves de sabor, Villalba y Provenza [1996, 1997a, 1997b]).

Los 24 corderos se separaron al azar en dos grupos (n=12) balanceando por peso, condición de entero o castrado, y experiencia anterior (SP, SE, o SN). Uno de los grupos se suplementó con harina de soja al 0,4% del peso vivo luego del ofrecimiento de heno de avena saborizado con perejil, mientras que el grupo restante recibió el mismo tipo y nivel de suplementación pero luego del ofrecimiento de heno de avena saborizado con orégano. Por ciclos de tres días a la mitad de los animales de cada grupo se les ofreció heno de un

determinado sabor y a la mitad restante heno con el otro sabor. Finalizado cada ciclo los sabores ofrecidos se invertían para contrabalancear en forma apropiada el orden de los tratamientos y sabores en cada ciclo. El heno saborizado se ofreció en cantidades sin restricción de 0840 h a 0900 h, e inmediatamente después el suplemento de 0915 h a 0935 h, según correspondía. Por la tarde todos los animales se alimentaron con heno de alfalfa peleteado en cantidades sin restricción de 1700 h a 1800 h, con el fin de completar requerimientos, homogeneizar la situación nutricional, y mantener niveles semejantes de saciedad a la mañana siguiente.

El criterio seguido para la finalización de esta primera parte del experimento fue que cada cordero tuviera al menos dos ciclos (seis días) de consumo estable con cada sabor. Se tomó el recaudo que la cantidad de experiencia con cada sabor fuese la misma en todos los animales. La variable de respuesta fue el consumo de heno saborizado con perejil u orégano. Inmediatamente después de finalizado el periodo anterior todos los animales fueron expuestos a un ensayo de preferencia entre heno sabor orégano y heno sabor perejil. Debido a la suficiente experiencia de todos los animales con cada sabor se consideró innecesario repetir el ensayo en días posteriores. De 0900 h a 0940 h se les ofreció a todos los corderos el heno en ambos sabores de manera simultánea en comederos individuales y en cantidades sin restricción (más del 5% del peso vivo).

3.1.2. Análisis estadístico

El consumo diario de heno de avena saborizada se expresó en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo (de aquí en mas denominado “g/kg PV”).

Para el análisis de los datos se utilizó un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas. El modelo estadístico incluyó el tratamiento (suplementado o no) y el sabor (orégano o perejil) como factores fijos. El consumo individual de cada uno de los últimos tres días de cada ciclo fue la medida repetida, y cada animal la unidad experimental y el único término aleatorio del modelo. También se incorporó la interacción tratamiento x sabor y tratamiento x día. Los factores del modelo se evaluaron utilizando la herramienta estadística PROC MIXED de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). La matriz de covarianza dentro de cada animal fue modelada con una estructura de simetría compuesta, la cual probó tener el mejor ajuste para los datos involucrados en todos los experimentos de acuerdo con el criterio Bayesiano de Schwarz (Littell et al., 1998).

Los datos de proporción del ensayo de preferencia fueron analizados independientemente mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas, con tratamiento (suplementado o no) como factor principal del modelo.

3.2. Resultados y discusión

La Figura 4.3 muestra las respuestas promedio de los corderos al tratamiento y sabor durante los dos últimos ciclos del procedimiento. Se observó un mayor consumo del heno saborizado que era posteriormente suplementado con harina de soja (suplementado vs no suplementado: 5,46 vs $4,23 \pm 0,22$ g/kg PV [media \pm EEM]; $P < 0,001$). No se observó un efecto de sabor ($P = 0,823$) ni de interacción entre el tratamiento y el sabor ($P = 0,301$). Los resultados concordaron con los obtenidos en el Experimento 1, y demostraron la consistencia de la respuesta anticipatoria del consumo de heno cuando fue seguido del ofrecimiento de un suplemento proteico en cantidades limitadas (0,4% del peso vivo). En este caso, el efecto no puede ser explicado por una posible carga de nitrógeno residual en aquellos animales suplementados al momento de ofrecerles el heno al día posterior. Los corderos que pasaron un ciclo (3 días) sin recibir suplemento respondieron inmediatamente al sabor asociado al suplemento el primer día del ciclo posterior, consumiendo mayor cantidad de heno aún cuando el suplemento todavía no se les había ofrecido. Por otra parte, los animales expuestos al sabor disociado del suplementado respondieron inmediatamente reduciendo el consumo de heno, aún cuando los tres días previos habían recibido el suplemento (no existió un efecto de tratamiento x día, $P = 0,705$). El mayor consumo de alimento como respuesta anticipatoria a la llegada de otro alimento de mayor calidad es conocido en la psicología experimental como un efecto de “inducción” (Weatherly et al., 2006) y, como se expresó anteriormente, ha sido

observado en numerosas oportunidades (Flaherty et al., 1995; Lucas y Timberlake, 1992).

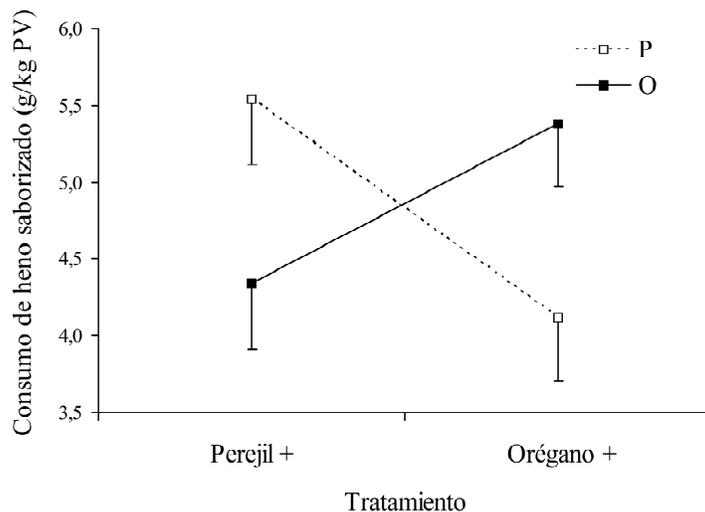


Figura 4.3. Consumo promedio (últimos dos ciclos) de heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que luego del ofrecimiento del heno con uno de los sabores recibían harina de soja (“Perejil +” u “Orégano +”) a un nivel del 0,4% del peso vivo. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan -1 E.E.M.

El ensayo de preferencia entre los henos saborizados mostró una marcada preferencia por el sabor que precedía al suplemento durante el condicionamiento ($89,50 \pm 7,06$ % [media \pm EEM]; $P < 0,001$), llegando los corderos en su mayoría a preferir exclusivamente el sabor que había sido asociado con el suplemento (Figura 4.4). En el presente caso los resultados en conjunto confirman que el incremento en el consumo del alimento de baja calidad (heno de avena), experimentado con un suplemento nutricional

suministrado a un nivel de complementación, está relacionado a un proceso de aprendizaje durante el cual el valor de este alimento se ve incrementado.

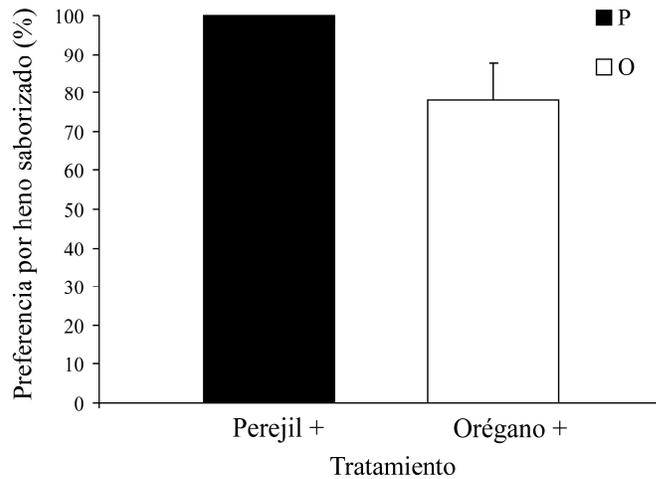


Figura 4.4. Preferencia por heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que habían experimentado el sabor perejil (“Perejil +”) u orégano (“Orégano +”) seguido de harina de soja a un nivel del 0,4% del peso vivo. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.

4. EXPERIMENTO 3

El objetivo fue avanzar en el conocimiento del tipo de aprendizaje asociativo que genera el incremento en la aceptación y preferencia de un alimento de baja calidad, cuando es experimentado en forma cercana a un suplemento nutricional.

Villalba y Provenza (1996, 1997a, 1997b, 1997c, 1999) mostraron que la administración intraruminal de un nutriente (energía o proteína) inmediatamente después del consumo de un alimento de baja calidad genera una preferencia condicionada marcada por el mismo, debido al aprendizaje de la asociación

entre los atributos sensoriales del alimento y la consecuencia postingesta mejorada por la administración intraruminal del nutriente. Un caso un tanto paradójico ocurre cuando los nutrientes no se administran directamente en el tracto digestivo sino que son consumidos en forma posterior al ofrecimiento del alimento de baja calidad (e.g., por medio de un suplemento) y se observa un incremento en la preferencia del último (Sclafani, 1995). En vista de este fenómeno, Delamater et al. (2006) sugirieron que, aparte del aprendizaje de la asociación entre atributos sensoriales del alimento y su consecuencia postingesta, la preferencia podría estar mediada por la asociación entre atributos sensoriales del alimento y del suplemento (lo que se conoce como aprendizaje sabor-sabor; ver Mobini et al., 2007). Este paradigma establece que el incremento en la preferencia observado en el alimento que fue experimentado con el suplemento se produce debido a que al consumir el alimento los animales recuerdan o asocian el mismo con el suplemento en si y no con sus consecuencias digestivas. Una manera de evaluar en que medida el incremento en la preferencia del alimento está relacionado con los atributos sensoriales del suplemento es mediante la devaluación del suplemento (Pérez et al., 1995). La devaluación puede ser generada mediante la saciedad con el mismo suplemento o mediante intoxicación inducida. Siguiendo la línea de pensamiento, si el incremento en la preferencia por el alimento de baja calidad está relacionado con los atributos sensoriales del suplemento, se espera que la devaluación del mismo (i.e., la inducción de una aversión hacia el sabor u olor del suplemento) produzca una reducción de la preferencia por el alimento de baja calidad asociado. Contrariamente, en el caso que los animales asocien el alimento a las consecuencias postingestivas mejoradas debido al suplemento,

el procedimiento de devaluación del suplemento no debería afectar la preferencia desarrollada hacia el alimento. La implicancia directa de avanzar en la obtención de este tipo de información es que en la medida que el incremento en la preferencia por un alimento de baja calidad este asociado a atributos sensoriales del suplemento, también estará ligado a modificaciones en el valor que pueden ocurrir en el último (por saciedad o intoxicación por ejemplo), siendo posiblemente menos estable en el tiempo.

4.1. Materiales y Métodos

El experimento se realizó inmediatamente después de finalizado el Experimento 2 (junio de 2009), utilizando las mismas instalaciones y los mismos animales que en dicho experimento. Los animales se pesaron inmediatamente antes del comienzo del experimento.

4.1.1. Alimentos y diseño experimental

Se utilizaron los mismos alimentos que en el Experimento 2, sumado afrechillo de trigo (energía metabolizable: 2,7 Mcal/kg, proteína bruta: 17,1 %, y fibra detergente neutro: 44,8 %). El afrechillo representó un alimento familiar para los corderos, ya que lo habían consumido antes de empezar con la serie de experimentos descritos en el presente capítulo de la tesis.

Ambos grupos de corderos (condicionados con perejil u orégano, n=12) fueron divididos de manera aleatoria, balanceada por peso, en dos subgrupos. Uno de los subgrupos fue expuesto a una experiencia aversiva con el

suplemento (grupo devaluación, de aquí en mas denominado “D”), mientras que el grupo restante no estuvo expuesto a una experiencia aversiva con el suplemento y actuó como control (de aquí en mas denominado “C”). Durante los primeros cuatro días del experimento, de 0915 h a 0935 h, D se alimentó con harina de soja y C con afrechillo de trigo molido, en cantidades que representaron el 0,4 % del peso vivo en ambos casos. Estos cuatro días representaron un periodo de acostumbramiento, particularmente, al afrechillo antes a la devaluación. Durante todo el periodo los animales recibieron heno de alfalfa peleteado en cantidades sin restricción de 1700 h a 1800 h.

Al cuarto día todos los animales fueron alimentados por la mañana (de 0915 h a 0935 h) con el alimento correspondiente (harina de soja o afrechillo de trigo) e inmediatamente después se les administró mediante sonda gástrica una dosis de 150 mg/kg de peso vivo de Cloruro de Litio (CLi) disuelto en 200 cm³ de agua bi-destilada. El CLi es una toxina no-letal, que utilizada en la dosis especificada anteriormente produce una fuerte aversión condicionada en ovinos (duToit et al., 1991). De esta manera, los subgrupos D recibieron el tratamiento de devaluación con la harina de soja, mientras que los subgrupos C fueron también intoxicados pero la devaluación se dirigió a un alimento diferente (afrechillo de trigo). Durante los tres días posteriores todos los animales fueron alimentados con heno de alfalfa peleteado de 1400 h a 1800 h, para permitir la recuperación al malestar inducido por el CLi.

Al octavo día, de 0915 h a 0935 h todos los corderos fueron alimentados con heno de avena en ambos sabores (perejil u orégano) de manera simultánea, en comederos individuales, y en cantidades sin restricción (más del 5% del peso vivo). En este punto se destaca la importancia del control (C), que

también recibió el CILi, ya que posibles efectos residuales de la droga no pueden explicar un eventual comportamiento diferencial durante el ensayo de preferencia. Inmediatamente después del periodo de alimentación con heno, de 0950 h a 1000 h todos los animales se alimentaron con harina de soja y se midió el consumo, lo cual permitió evaluar el éxito del procedimiento para generar la aversión específica. Se esperaba que los animales intoxicados luego del consumo de harina de soja mostraran un menor consumo de este alimento en comparación con animales cuya aversión condicionada se había generado con el afrechillo de trigo. Durante el procedimiento se determinó el consumo voluntario de harina de soja y de heno saborizado con perejil u orégano, mediante la diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazo.

4.1.2. Análisis estadístico

El consumo diario de heno de avena saborizada y de harina de soja se expresó en gramos de materia seca por kilogramo de peso vivo (de aquí en mas denominado “g/kg PV”).

Para analizar la modificación de la preferencia por el heno de avena saborizada en función del tratamiento de devaluación de la harina de soja, los datos se compararon con los datos de preferencia del Experimento 2 mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas. El tratamiento (harina de soja devaluada con CILi o no) fue el factor principal del modelo.

El análisis del consumo de harina de soja se realizó considerando un diseño completamente aleatorizado. El modelo estadístico incluyó el tratamiento (aversión condicionada o no) como factor fijo, y se evaluó utilizando

la herramienta estadística PROC GLM de SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.).

4.2. Resultados y discusión

El consumo de harina de soja fue significativamente menor en los animales que tuvieron la experiencia aversiva con este alimento, que en los animales que la tuvieron con el afrechillo de trigo (5,53 vs 12,54 g/kg PV, respectivamente; $P= 0,0003$; EEM= 1,05). De esta manera quedó confirmado el éxito del tratamiento de devaluación de la harina de soja, condición necesaria para la interpretación de los resultados de preferencia por el heno de avena saborizada.

El ensayo de preferencia entre los henos de avena saborizada con una u otra especia (perejil u orégano), luego de la devaluación de la harina de soja, no mostró una modificación en la preferencia por el sabor asociado al suplemento ($P> 0,99$). Estos resultados no sustentan la hipótesis de que parte del incremento en el valor asignado al heno de baja calidad proviene de la asociación de este alimento con aspectos oro-sensoriales de la harina de soja. Quedó en evidencia nuevamente una marcada preferencia por el sabor que precedía al suplemento durante el condicionamiento ($98,31 \pm 3,46$ % [media \pm EEM]; $P< 0,001$; Figura 4.5). Los animales pueden llegar a asociar el sabor de un alimento con las consecuencias postingesta de otro consumido en contigüidad temporal (Yearsley 2006). Elizalde y Sclafani (1990) observaron que ratas a las que se les ofrecía un líquido con un sabor e inmediatamente después una emulsión de aceite de maíz, posteriormente mostraban hasta un

80% de preferencia por sobre un sabor que no había sido apareado con ningún alimento. Este fenómeno comúnmente denominado “condicionamiento de preferencia” ha sido ampliamente estudiado (Perez et al., 1995; Delemater et al., 2006), y si bien se asemeja al paradigma convencional de aprendizaje por consecuencias postingestivas (Provenza, 1995) difiere en que el condicionamiento se produce por la intervención de más de un tipo de alimento en el fenómeno (i.e., es de carácter contextual).

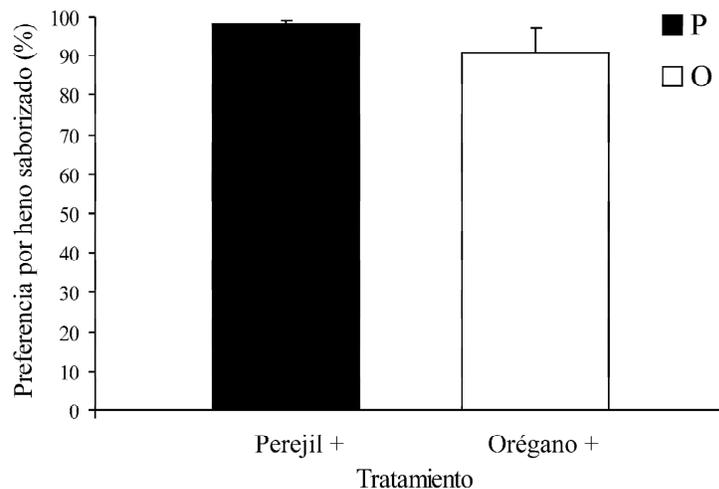


Figura 4.5. Preferencia por heno de avena saborizada con perejil (P) u orégano (O) de corderos que habían experimentado el sabor perejil (“Perejil +”) u orégano (“Orégano +”) seguido de harina de soja a un nivel del 0,4% del peso vivo, luego de que los animales recibieran un tratamiento aversivo con CILi. Los valores son medias de 12 animales. Las barras de error denotan +1 E.E.M.

5. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados en conjunto corroboraron la hipótesis central de esta parte de la tesis, la cual establecía que un alimento de baja calidad experimentado con un suplemento nutricional suministrado a un nivel de complementación es más valorado por el animal en comparación con el mismo alimento en ausencia de suplemento. La utilización de una cantidad restringida de suplemento proteico o energético (0,4 % del PV en el presente estudio), provisto luego del suministro de un heno de baja calidad, mejoró la aceptación y la preferencia de los animales por el alimento de baja calidad. Se avanzó sobre estos resultados mostrando que el aprendizaje estaba mediado por información principalmente postingestiva. En un estudio reciente, se suministró un alimento de baja calidad (BC) y otro alimento de alta calidad (AC) en dos arreglos temporales diferentes (Villalba et al., 2006). En un caso los corderos se alimentaron primero con AC por 12 días, seguido de BC por otros 12 días, de forma tal que los efectos sinérgicos estuvieran disociados en el tiempo. Otro grupo de corderos se alimentó con BC y AC en cercana asociación temporal (un alimento inmediatamente seguido del otro) por 12 días, de tal forma que los efectos de los dos alimentos estuvieran asociados temporalmente en la misma comida. En concordancia con nuestros resultados, frente a una situación de elección, los corderos que habían experimentado BC y AC en cercana asociación temporal consumieron más BC siempre, incluso cuando AC estuvo disponible *ad libitum*. A medida que AC disminuyó en abundancia, los corderos que habían experimentado BC y AC asociados en la misma dieta continuaron consumiendo más BC.

De acuerdo a los resultados descritos en el Capítulo 2, el aporte de suplementos en cantidades elevadas en forma simultánea con el suministro de un alimento de baja calidad no produciría el mismo tipo de experiencia positiva. Esta valoración diferencial se desarrollaría a lo largo de un continuo de disponibilidad del alimento de mayor calidad (suplemento), de manera semejante a la ocurrencia del fenómeno de adición con estímulo (i.e., complementación) y el de sustitución que ocurren con un mismo forraje pero a diferentes niveles de suplementación (ver Dove, 2002). Freer et al. (1985) observaron que a niveles bajos de un suplemento energético-proteico se producía un aumento en el consumo de un forraje maduro por corderos (fenómeno de complementación [Dove, 2002]), pero a mayores niveles (más de 446 g MS/animal/día en su experimento) el consumo de forraje empezaba a disminuir hasta producirse un nivel significativo de sustitución.

En síntesis, la calidad de la experiencia obtenida con un alimento de baja calidad está claramente influenciada por las características del contexto alimentario en la que ocurre. Esto sugiere que los modelos de aprendizaje temprano que utilizamos actualmente (Provenza y Balph, 1987) para generar hipótesis son insuficientes, requiriéndose generar un nuevo marco teórico donde se incluyan las nuevas variables que quedaron de manifiesto en este trabajo (e.g., tipo y disponibilidad de suplemento, temporalidad del suministro, etc.) y que afectan los procesos de aprendizaje con alimentos de baja calidad nutricional.

CAPÍTULO 5

Modelo funcional de aprendizaje del valor de los alimentos

1. INTRODUCCIÓN

El resultado del aprendizaje con un alimento de baja calidad en relación al contexto alimentario podría estar relacionado a los fenómenos de complementación y sustitución alimentaria. Analizando la respuesta a la suplementación a lo largo de un continuo de disponibilidad de suplemento, particularmente en condiciones de alimentación con un forraje base de baja calidad, es común observar desde un incremento en el consumo del forraje (el suplemento actuaría como complemento nutricional), hasta una reducción drástica (el suplemento actuaría como sustituto). Esto sugiere que la complementación y la sustitución son parte de un mismo proceso de regulación del consumo (Dove, 2002), siendo posiblemente la causa última la optimización del consumo de nutrientes en cada situación puntual de suplementación (Figura 5.1).

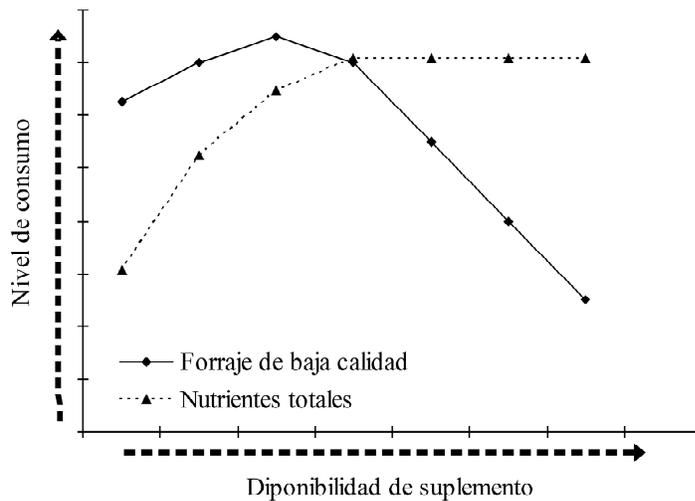


Figura 5.1. Evolución del consumo de un forraje de baja calidad y nutrientes totales (e.g., energía metabolizable) a niveles incrementales de un suplemento nutricional de base proteica. La figura fue elaborada con información obtenida de trabajos con ovinos que cubrieron una gran amplitud de niveles de suplementación (Freer, 1985, 1988; Doyle et al., 1988; Matejovsky y Sanson, 1995; Orskov, 1999), y representa de manera objetiva la tendencia natural observada para la variable en consideración (Moore et al., 1999).

Los antecedentes presentados en la Tabla 5.1 sugieren la existencia de dos fuerzas independientes y de efecto opuesto sobre la valoración de alimentos: condicionamiento de preferencia (ver Delamater et al., 2006) y contraste (ver Flaherty, 1996). Dichas fuerzas estarían relacionadas con los fenómenos de complementación y sustitución, respectivamente, y afectarían no solo la decisión del animal al momento de enfrentarse a un alimento sino también la experiencia adquirida. Si bien durante el desarrollo de la presente tesis el planteo surgió de un análisis de la dinámica de consumo de un alimento de baja calidad observado en rumiantes expuestos a diferentes niveles de suplementación, autores de otras disciplinas comparten la misma visión del

problema (Capaldi et al., 1989; Williams, 1990). “La preferencia final por un sabor estaría establecida por el resultado de la suma algebraica de las asociaciones positivas basadas en el condicionamiento y las evaluaciones negativas basadas en el contraste” (en palabras de Lucas y Timberlake, 1992).

	Fenómeno		Referencias
	Sustitución	Complementación	
Disponibilidad de suplemento	alta	baja	Moore et al., 1999
Efecto sobre consumo de forraje	depresión	incremento	Dove, 2002
Causales del fenómeno	efecto digestivo negativo	efecto digestivo positivo	Matejovsky y Sanson, 1995
	disponibilidad de mejores opciones	escasez de mejores opciones	Charnov, 1973 Lucas et al., 1990
Procesos cognitivos de valoración asociados	contraste	condicionamiento de preferencia	Flaherty, 1996 Sclafani, 1997
Posible efecto sobre la valoración del forraje	reducción	aumento	Weatherly et al., 2004

Tabla 5.1. Síntesis de la relación entre los fenómenos de sustitución y complementación, observados en rumiantes a pastoreo en condición de suplementación, y fenómenos desarrollados en la psicología experimental ligados a la valoración de alimentos.

Con el objetivo de desarrollar estas ideas, fundadas en evidencia empírica y teórica, presento a continuación un modelo funcional que permitiría predecir en forma cualitativa el tipo de experiencia que el animal obtiene en función de parámetros relevantes del contexto alimentario.

2. MODELO DE APRENDIZAJE CONTEXTO-DEPENDIENTE

Durante el proceso de pastoreo los herbívoros encuentran en su recorrido una variedad de especies vegetales, debiendo decidir la aceptación o rechazo de las mismas (“comer o buscar” *sensu* Stephens y Krebs, 1986). Existe una amplia variedad de modelos, englobados en diferentes marcos teóricos, que intentan predecir que alimentos el animal decidirá consumir y el orden de prioridad (Newman et al., 1995; Belovsky, 1984; Illius et al., 2002; Van Gils y Piersma, 2006). Los diversos modelos coinciden en el supuesto que la decisión requiere de información previa de cada alimento y del contexto alimentario. Entre otras se destacan la tasa de encuentro (relacionada en gran medida al grado de participación de la especie en la composición botánica de la comunidad) y el beneficio neto o valor de cada alimento (generalmente reducido a la tasa de provisión de energía). Una predicción común es que la probabilidad de que un animal incluya un alimento de baja calidad en la dieta no depende de su propia tasa de encuentro (número de unidades de alimento halladas por unidad de tiempo), sino del tiempo de búsqueda ($t_i = 1 / \text{tasa de encuentro de } A$) que el animal debe invertir para encontrar el alimento de mayor calidad (A). Con respecto al valor asignado a los alimentos (i.e., beneficio esperado), los modelos tradicionales de selección secuencial asumen que los alimentos tienen un valor que es absoluto (por lo tanto independiente de la cantidad y calidad de las demás opciones), y que el animal lo conoce antes de comenzar el periodo de pastoreo (Stephens y Krebs, 1986). En base a lo expuesto en esta tesis, el valor de los alimentos sería aprendido durante el pastoreo y afectado por las características particulares del contexto alimentario,

siendo por lo tanto de naturaleza relativa (Flaherty, 1996). Por esto, la inclusión de un submodelo (Figura 5.2) que explique concretamente qué tipo de información procesa el animal durante la exposición, adquiere relevancia al plantear como se formaría el valor de un alimento de baja calidad.

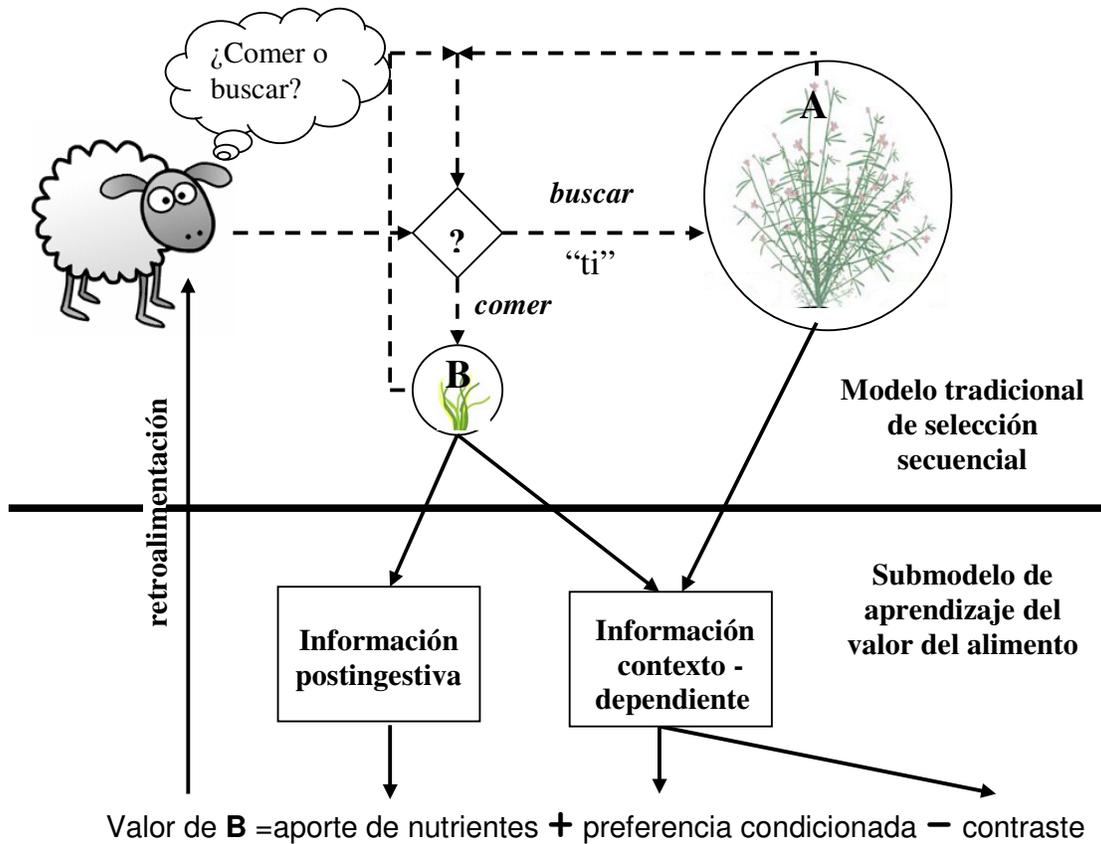


Figura 5.2. Esquema representativo del modelo funcional de aprendizaje contexto-dependiente. Los círculos denotan alimentos, siendo B el de menor calidad y A el de mayor calidad. El rombo representa el punto de decisión en el cual el animal determina si consume B o desea esperar (i.e., buscar) por un tiempo "ti" el alimento A. Las flechas discontinuas representan la causalidad de las acciones del animal (e.g., si decido consumir B me dirijo hasta este alimento). Las flechas continuas indican flujos de información. Debido a que el estudio se focaliza sobre los alimentos de menor calidad solamente se incluye en el esquema la

información que se refiere a los procesos de aprendizaje que involucran a este alimento (e.g., se excluye la información postingestiva propia de A).

2.1. Aprendizaje del valor de un alimento de baja calidad

En un comienzo, un alimento representa para un animal no más que un arreglo visual de formas y colores, y no tiene ninguna capacidad de controlar el comportamiento (i.e., no tiene valor reforzante) hasta tanto no ocurre la experiencia crucial de su ingesta (Berridge, 1996). Una vez que el animal obtiene suficiente experiencia con el alimento, las propiedades sensoriales que lo caracterizan (sabor, olor, textura, etc.) adquieren saliencia, y el alimento es ahora capaz de manipular los comportamientos apetitivos y de servir como incentivo para el desarrollo de acciones (i.e., adquiere “valor” de refuerzo [Schultz, 1997]).

La información obtenida se retroalimentaría modificando el comportamiento a pastoreo y por lo tanto, nuevamente, el valor atribuido al alimento (Figura 5.2.; “el comportamiento es función de sus consecuencias”, Provenza et al. [2003]). Esto explicaría por qué los animales aumentaron gradualmente el consumo del heno de baja calidad durante la exposición con niveles restringidos de suplemento (0,4% del peso vivo), hasta diferenciarse de los animales que no lo recibían, ya que posiblemente en la medida que el valor del heno se incrementaba por el condicionamiento los animales respondían incrementando el consumo del mismo (Capítulo 4).

2.1.1. Información postingestiva propia del alimento de baja calidad

Uno de los componentes principales que define el valor atribuido a un alimento es el contenido nutricional del mismo (Simpson et al., 2004), siendo el mecanismo subyacente el “aprendizaje de las consecuencias postingestivas” Provenza (1995). No obstante, y más allá de este tipo de aprendizaje, el objetivo de la presente tesis fue explorar la experiencia obtenida con un alimento de baja calidad en relación a fuentes alternativas de nutrientes, y no a las características nutricionales propias del alimento de baja calidad (e.g., Lesoing et al., 1980; Kerley et al., 1985).

2.1.2. Información contexto-dependiente

La presencia de otros alimentos dentro del contexto donde el animal experimenta un alimento de baja calidad (en el caso de la Figura 5.2; A en el contexto de B) influye en el valor final adjudicado al mismo. En base a los resultados de trabajos sobre el tema (Capaldi et al., 1989; Lucas et al., 1990; Lucas y Timberlake, 1992) se propuso la existencia de dos tipos de “fuerzas” de dirección opuesta (de efecto positivo o negativo sobre la experiencia), las que conformarían la componente contextual del valor atribuido a un alimento (Figura 5.2).

La fuerza que afecta de manera positiva la experiencia se deriva de la posibilidad que nutrientes aportados por un alimento de alta calidad resulten asociados a la consecuencia postingestiva de un alimento de menor calidad, consumido previamente y en cercana asociación temporal (Yearsley et al.,

2006). Este fenómeno fue introducido inicialmente por Capaldi et al. (1989) como una forma de preferencia condicionada producida por el aporte oral y retardado de un nutriente específico. Elizalde y Sclafani (1990), trabajando con ratas, permitieron el acceso a una solución neutra saborizada por 10 minutos y luego, transcurrido un intervalo de 10 minutos, los animales tuvieron acceso a una emulsión de aceite de maíz por 30 minutos. En días alternados los animales también experimentaron una solución neutra saborizada (con una clave diferente), pero en este caso seguida por agua sin nutrientes. En un ensayo de preferencia posterior las ratas mostraron un 80% de preferencia por el sabor que precedía la emulsión de aceite. En concordancia con estos resultados, en la presente tesis se demostró la existencia de este tipo de condicionamiento en ovinos al verse incrementada la preferencia por un heno de avena saborizado que había precedido un suplemento de soja durante la exposición (Capítulo 4)

En el caso de rumiantes cabría esperar que parte del valor asignado a un alimento de baja calidad, que antecede a uno de mayor calidad, esté relacionado con la mejora digestiva que se produce a nivel ruminal. De ser así, deberíamos esperar que el incremento en el valor siga una dinámica semejante al beneficio adicional que genera el aporte de cantidades incrementales de nutrientes a nivel ruminal. Dicha dinámica mantendría un comportamiento creciente desacelerado, debido a que en la medida que se incrementa la cantidad o disponibilidad de un alimento de alta calidad (e.g., suplemento nutricional) los beneficios marginales sobre la digestión se reducirían (Figura 5.3).

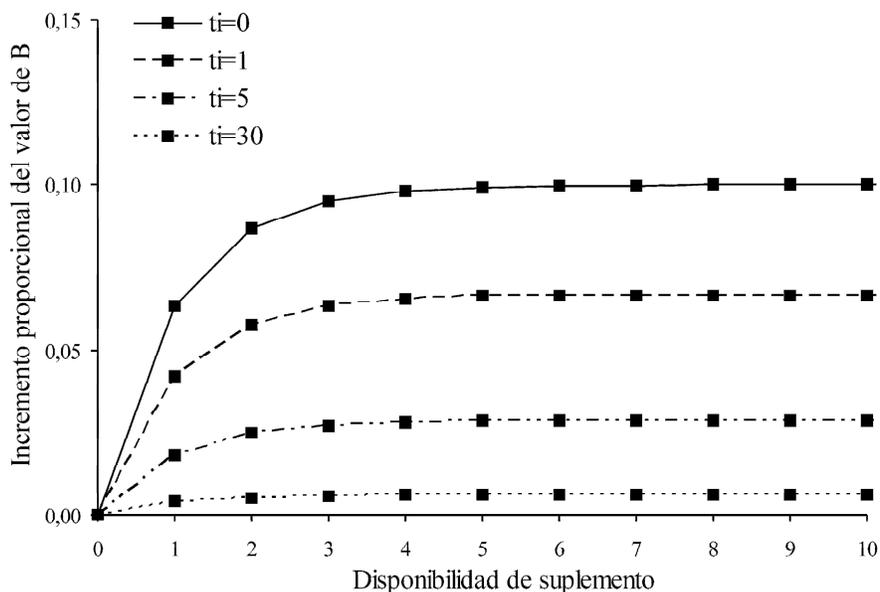


Figura 5.3. Asumiendo que el incremento en el valor de un alimento de baja calidad (B) determinado por el consumo de niveles crecientes de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2) se debe principalmente a la mejora a nivel digestivo, se modeló el efecto (i.e., variación proporcional en el valor de B) utilizando la ecuación: $f(x) = v * [1 - \exp(-u * x)]$, donde v y u son constantes (0,1 y 0,5; respectivamente para el ejemplo) y x representa la disponibilidad del suplemento. Esta función ha sido utilizada para explicar el comportamiento de la performance ruminal (producción de AGV, proteína microbiana, etc.) cuando un rumiante consume un alimento de baja calidad, y nutrientes limitantes para el desarrollo microbiano son incorporados al ambiente ruminal (Hoover, 1986; Leng, 1990; Russell et al., 1992). En la ecuación se incluyó la influencia del retraso en el aporte de los nutrientes del suplemento a nivel digestivo luego de que B fuese consumido. El retraso del efecto postingestivo de un nutriente afecta el desarrollo adecuado de una preferencia condicionada por la clave apareada (Ackroff, 2008); siguiendo una de las principales reglas del condicionamiento: cuanto más corto el intervalo entre estímulo condicionado e incondicionado, mejor el condicionamiento (Lieberman, 1993 pp. 81-83). Yearsley et al. (2006) utilizando un modelo teórico mostraron que a medida que el retraso en la aparición de las consecuencias postingesta se incrementa se produciría una reducción monotónica en la precisión de la asociación. Para estimar el valor de B luego de incluir el efecto

del retraso se utilizó una función que se comporta de manera similar a las predicciones expuestas por Yearsley et al.: $f(x_0, t) = f(x_0) / (1 + (\exp (t * k) - \exp (- t * z)))$, donde t es el retraso unidades de tiempo entre el consumo de B y el suplemento, $f(x_0)$ define el incremento potencial en el valor de B a un nivel de suplemento x que ocurre cuando el retraso entre el consumo de ambos alimentos es mínimo (t es igual a 0), y k y z son parámetros fijos que definen la forma de la hipérbola (para el ejemplo toman valores de 0,15 y 0,5; respectivamente). En la figura se observa que a medida que el consumo de B y el del suplemento se distancian en el tiempo se reduce el beneficio de la preferencia condicionada hasta lograr independencia entre eventos.

Un efecto de similar importancia, pero que generaría una reducción del valor del alimento de baja calidad, es aquel relacionado a comparaciones o contrastes que se producen con alimentos de mayor calidad presentes en el contexto (Flaherty, 1996). Los animales son capaces de comparar entre atributos similares o diferentes que caracterizan a los alimentos, y que están relacionados con la utilidad neta que proveería su consumo (e.g., largo de la corola y volumen de néctar de una flor o distancia y disponibilidad de alimento [Shafir et al., 2002]; volumen y concentración de néctar de una flor [Bateson et al., 2002; 2003]). Esto sostiene la posibilidad que al momento de encuentro con un alimento de calidad limitada el animal realice la comparación no solo con la calidad de la mejor opción sino también con su disponibilidad. La intensidad del contraste se incrementaría a medida que aumenta la disponibilidad de estos últimos (e.g., Flaherty et al., 1996).

Papini y Pellegrini (2006) demostraron que la intensidad con que se produce el contraste es mejor explicada por la relación proporcional entre el valor nutricional de dos alimentos, que por la diferencia absoluta entre los mismos. Un par de soluciones con concentraciones de sacarosa al 8% y 32%

presenta la misma relación proporcional [0.25] que otro par con concentraciones de sacarosa al 2% y 8%, pero no la misma diferencia absoluta [24% y 6%, respectivamente]). Los mismos autores observaron que si la relación proporcional entre los dos tipos de alimento (baja y alta calidad, respectivamente) disminuía, la intensidad del contraste se acentuaba (ver Pellegrini y Papini, 2007). Adicionalmente, Flaherty y Stepanak (1978) observaron que cuando exponían ratas a una serie de dos soluciones de sacarosa que presentaban diferente concentración (2%, 4%, 8%, o 16% versus 32%), la intensidad de respuesta (reducción en el consumo de la alternativa de menor calidad) se relacionaba a la relación proporcional entre la concentración de ambas soluciones (0,063; 0,125; 0,25; 0,5; respectivamente) mediante la función potencial de Stevens (Stevens, 1969). Según esta relación funcional, en la medida que un alimento es proporcionalmente menor en calidad a otro la intensidad marginal del contraste (i.e., reducción del consumo y, consecuentemente, del valor del alimento de menor calidad) se incrementaría a tasas crecientes (Figura 5.4), lo cual fue observado por Flaherty y Kaplan (1979) y es posible inferir del trabajo (Experimento 1) de Papini y Pellegrini (2006).

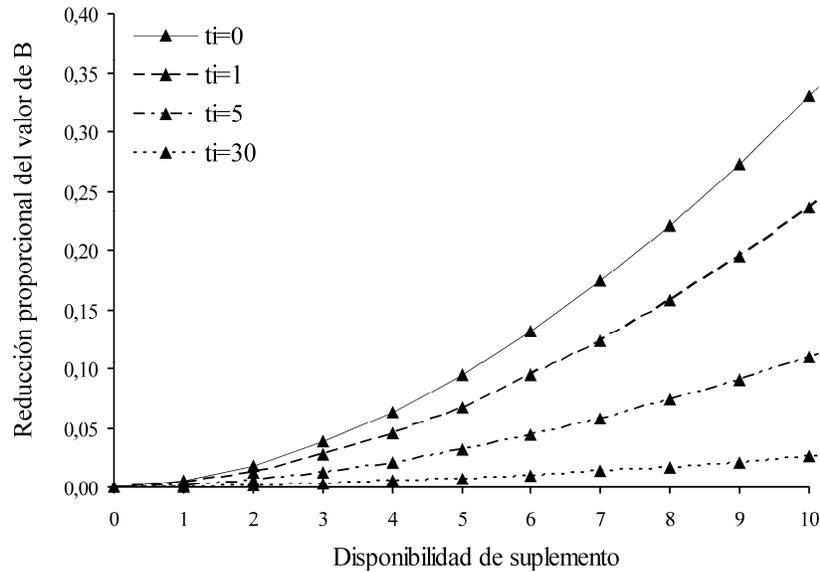


Figura 5.4. Reducción proporcional del valor atribuido a un alimento de baja calidad (B) generado por la comparación con niveles incrementales de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2). La función de devaluación está representada por la ecuación de Stevens (1969), donde la intensidad percibida de la diferencia entre estímulos es igual a una constante k multiplicada por la magnitud real de la diferencia entre estímulos (x) elevada a un exponente n : $f(x) = k * x^n$. Para el ejemplo el valor de los parámetros k y $n = 0,0015$ y $1,18$; respectivamente. Para el ejemplo, x toma el valor de la disponibilidad del suplemento luego de aplicarle el factor de corrección mencionado abajo. Se incluyó en la función el efecto del retraso temporal entre el consumo de ambos alimentos, que en el caso del modelo (Figura 5.2) representa t_i . Es bien conocido que los animales restan valor a aquellas opciones cuya ocurrencia se produce en momentos distantes en el tiempo (“descuento temporal” ver Kalenscher y Pennartz, 2008). Alimentos que son ofrecidos con retrasos pequeños sufren descuentos marginales mayores en su valor que aquellos que son ofrecidos en eventos más distantes, lo cual es comúnmente descrito por una función de descuento hiperbólica (Richards et al., 1997; Frederick et al., 2002; Green et al, 2007). Por esto, que el suplemento nutricional este inmediatamente disponible o sea provisto con determinada frecuencia (i.e., con mayor o menor retardo en el tiempo) tendría un efecto diferente sobre el proceso de devaluación de B. Para analizar el efecto de esta variable (t_i) en la intensidad con la que el suplemento afecta el valor de B se introdujo la ecuación modificada

de Mazur (1987), la cual representa el valor descontado del suplemento al ser provisto con un retraso t_i desde el consumo de B; $f(x_0, t_i) = x_0 / (1 + m * t_i)$. x_0 representa el valor real del suplemento cuando ocurre de manera inmediata al consumo de B (t_i es igual a 0), y m una constante que determina el grado de curvatura de la función hiperbólica resultante (para el ejemplo el valor del parámetro $m = 0,2$). Es posible observar en la gráfica que a medida que la ocurrencia de ambos alimentos se distancia en el tiempo la fuerza del contraste disminuye hasta llegar a afectar mínimamente la valoración del alimento de baja calidad (e.g., Lucas et al., 1988; Flaherty et al., 1991).

2.2. Implicancia de la información contexto-dependiente en la valoración de un alimento de baja calidad

Analizando el resultado neto de la influencia de ambas fuerzas contexto-dependientes (preferencia condicionada y contraste) sobre la valoración de un alimento de baja calidad, es posible deducir una serie de predicciones que resultan interesantes y ajustan a información empírica hallada en la literatura.

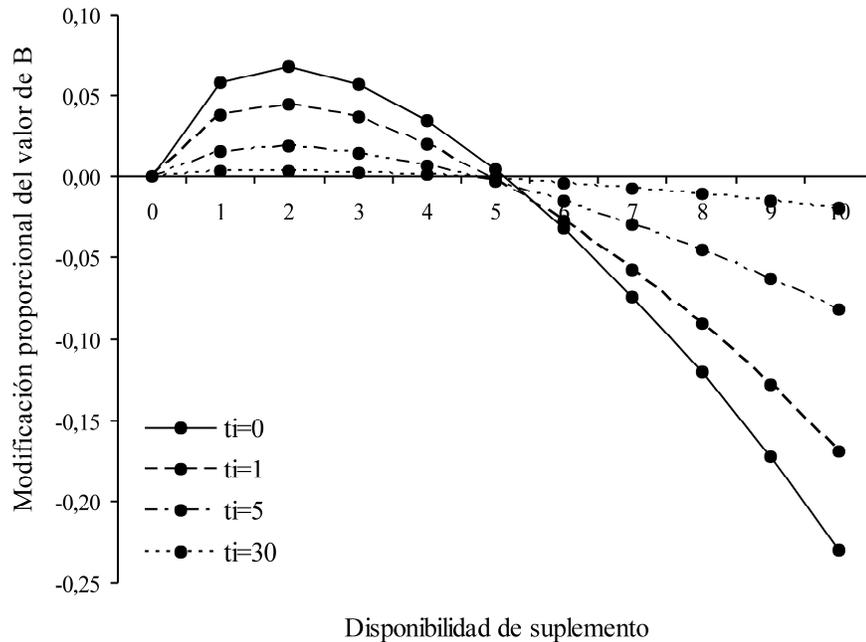


Figura 5.5. Efecto neto de la acción de ambas fuerzas contexto-dependientes (preferencia condicionada y contraste) sobre la valoración de un alimento de baja calidad (B) a diferentes niveles de disponibilidad de un alimento de alta calidad (un suplemento nutricional para el ejemplo, o A para el modelo; Figura 5.2). El efecto del tiempo transcurrido entre la oferta de ambos alimentos (t_i) sobre la valoración también fue incluido.

En la Figura 5.5 es posible observar el incremento o la reducción del valor asignado a B en función del nivel de disponibilidad de suplemento. Bajos niveles de disponibilidad del suplemento favorecerían un resultado neto positivo, mientras que niveles altos un resultado negativo. Estudios sobre el tema han sugerido la ocurrencia simultánea de estos procesos (preferencia condicionada y contraste), así como también su posible influencia en la valoración (Lucas y Timberlake, 1992). Trabajos con ratas muestran que estas suprimen el consumo de una solución azucarada de baja concentración (e.g., 2%) cuando es seguida de una solución de alta concentración (e.g., 16 o 32%)

(Flaherty y Mitchell, 1999), mientras que lo contrario (aumento en el consumo de la solución de menor calidad) se observa cuando la discrepancia entre soluciones es pequeña (e.g., 2% vs 8% de sacarosa, Flaherty, et al. [1991]). Esto también ajusta a la observación general que los rumiantes en condiciones de libre disponibilidad de alimentos no llegan a desarrollar preferencia por aquellas especies con limitaciones nutricionales (aunque en estos estudios no se avanza sobre en que medida la experiencia podría ser incluso negativa), mientras que animales limitados en la disponibilidad de alternativas de alta calidad (e.g., por medio del aumento de la carga animal; Shaw et al., 2006) aprenden a utilizarlos más eficientemente y a preferirlos (Provenza et al., 2003).

Otra predicción de interés se deriva del efecto del tiempo que transcurre entre el consumo de ambos alimentos (“ti” en el modelo) en el valor aprendido de B. Una primera observación es que a medida que el intervalo entre alimentos se incrementa, el valor que se adjudica a B se hace independiente de la presencia en cantidad y calidad del suplemento. Lucas et al. (1990) ofrecieron a ratas una solución azucarada al 0,15% seguida de una solución al 32%, separadas a diferentes intervalos de tiempo (4, 16, y 32 minutos). Los autores observaron que se producía una fuerte reducción del consumo de la primera solución con respecto al control (0,15 % seguido de 0,15%) cuando el intervalo era pequeño (4 minutos), pero el efecto se redujo hasta desaparecer cuando el intervalo era de 32 minutos. Del mismo modo, Flaherty et al. (1991) observaron una reducción importante del consumo de una solución azucarada al 4% cuando era seguida por una al 32% luego de un intervalo de 15

segundos, pero esta reducción desapareció cuando el intervalo era de 10 minutos.

En síntesis, tanto diferentes niveles de suplementación como las estrategias de provisión del suplemento (e.g., frecuencia de suplementación, momento del día, etc.) ejercerían una influencia determinante en la experiencia que los animales adquieren durante el consumo de alimentos de baja calidad. Dependiendo de los valores que toman las variables mencionadas los efectos sobre la futura aceptación y preferencia por alimentos de baja calidad pueden llegar a ser opuestos.

CAPÍTULO 6

Síntesis y proyecciones

Los resultados de la tesis corroboraron la hipótesis que la experiencia dietaria en edades tempranas tiene un efecto persistente en la conducta ingestiva de ovinos en edades adultas. Corderos expuestos en edades tempranas a un alimento de baja calidad nutricional (heno de avena cortada en estado maduro) en forma simultánea con suplementos ricos en energía y proteína, posteriormente mostraron una menor preferencia por el alimento de baja calidad, en comparación con corderos carentes de la experiencia mencionada (Capítulo 2). Esta menor preferencia y aceptación por el alimento de baja calidad estuvo relacionada a la devaluación del mismo durante la exposición (Capítulo 3). Luego de un análisis exhaustivo de la bibliografía referente a procesos de aprendizaje, valoración de alimentos, y comportamiento ingestivo de rumiantes bajo suplementación, se sugirió una estrecha relación entre los procesos de valoración y la respuesta de los rumiantes a la suplementación. Altos niveles de suplementación, que generalmente producen la sustitución del alimento de baja calidad por el suplemento, generarían una experiencia negativa con el alimento de baja calidad; mientras que bajos niveles de suplementación, que generalmente producen un incremento en el consumo del alimento de baja calidad, generarían una experiencia positiva con el alimento de baja calidad. En el caso particular de los resultados obtenidos en los Capítulos 2 y 3, se sugirió que la devaluación del heno (i.e., reducción de la preferencia) de avena pudo haber

ocurrido debido al uso de altos niveles de suplemento (los cuales representaron aproximadamente el 50% de la dieta total) en el contexto en el que los corderos experimentaron el heno de avena. Corderos expuestos al mismo alimento de baja calidad y seguidamente suplementados con un concentrado proteico o energético a niveles inferiores (0,4% del peso vivo) que los utilizados en el primer experimento (Capítulo 2), mostraron una mayor aceptación y preferencia por el mismo en comparación con animales que no habían sido suplementados (Capítulo 4).

Los resultados obtenidos sugieren la existencia de mecanismos de valoración más allá de aquellos estrictamente relacionados al alimento en cuestión. Esta situación motivó el desarrollo de un modelo novedoso en el área del comportamiento ingestivo en rumiantes, el cual incorpora variables que influyen en la experiencia que los animales obtienen con un alimento de baja calidad (Capítulo 5). Una de las predicciones más interesantes del modelo es que diferentes niveles de suplementación (e.g., bajo y alto) pueden generar efectos opuestos sobre la experiencia que el animal obtiene con alimentos de baja calidad. Niveles excesivamente altos de suplemento podrían generar una experiencia aversiva hacia el alimento de baja calidad, mientras que niveles menores (posiblemente aquellos utilizados en condiciones de complementación) generarían una experiencia positiva. La segunda predicción de interés es que el momento (relativo al consumo del alimento de baja calidad) en el cual se ofrece el suplemento influye en la intensidad con la cual ambos alimentos (el de baja y alta calidad) interaccionan entre si afectando la experiencia. A medida que ambos eventos se distancian los efectos contexto-dependientes se reducen. La provisión de un suplemento en cantidades

restrictas, e inmediatamente posterior al consumo del alimento de baja calidad, generaría efectos positivos más intensos sobre la experiencia que una suplementación retrasada. Ambas predicciones tienen implicancia práctica importante en el manejo de la dieta de los rumiantes, en procura de incrementar la aceptación y preferencia por forrajes de baja calidad, y de mejorar así el aprovechamiento de los recursos forrajeros y contribuir a sistemas pastoriles sostenibles.

Del trabajo realizado surgen nuevas preguntas, cuyo estudio permitiría continuar avanzando en la línea de investigación que enmarca el tema de la tesis. Entre las más sobresalientes se podrían citar en orden:

- 1) En qué medida los rumiantes son capaces de ejecutar una conducta anticipatoria (en especial la reducción anticipada del consumo de alimentos de baja calidad, no explorada en el presente estudio) y, de ser así, cuales son las variables primarias que modulan el comportamiento (e.g., estado de saciedad, disponibilidad y calidad de otros alimentos presentes, tiempo de espera al alimento de mayor calidad, etc.). Esto podría generar información de interés acerca de los umbrales en los cuales la suplementación pasa de ser beneficiosa (aumento del consumo del alimento de menor calidad) a perjudicial (reducción del consumo del alimento de menor calidad).
- 2) En qué medida el aprendizaje que los animales realizan en diversas situaciones contextuales afecta el valor asignado a alimentos de baja

calidad (i.e., modifican su preferencia), y como ajustan los resultados a las predicciones derivadas del modelo.

- 3) Debido a que los animales aprenden continuamente las nuevas características de los alimentos que se les presentan (Provenza, 1995), en qué medida el valor asignado a un alimento en edades tempranas resulta más persistente que cuando es adquirido en edades adultas.
- 4) Contando con un conocimiento más acabado de la calidad del aprendizaje con alimentos de baja calidad nutricional, qué tipo de manejo dietario debería planificarse en condiciones de pastoreo para mejorar el consumo momentáneo y futuro (por medio de un aprendizaje positivo) de las especies de menor calidad que integran las comunidades vegetales.

Bibliografía

Ackroff K. 2008. Learned flavor preferences. The variable potency of post-oral nutrient reinforcers. *Appetite* 51, 743-746.

Allden W. 1981. Energy and protein supplements for grazing livestock. En: *Grazing Ruminants*, Morley F. H. W. (Ed.). Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, Holland pp. 289-307.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.

Atwood S. B., Provenza F. D., Wiedmeier R. D., y Banner R. E. 2001. Influence of free-choice vs mixed-ration diets on food intake and performance of fattening calves. *J. Anim. Sci.* 79, 3034-3040.

Baraza E., Villalba J. J., y Provenza F. D. 2005. Nutritional context influences preferences of lambs for foods with plant secondary metabolites. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 92, 293-305.

Bartmann R. M., Alldredge A. W., y Neil P. H. 1982. Evaluation of winter food choices by tame mule deer. *J. Wildl. Manage.* 46, 807- 812.

Bateson, M. 2004. Mechanisms of decision-making and the interpretation of choice tests. *Anim. Welfare* 13, 115-120.

Bateson M., Healy S. D., y Hurly T. A. 2002. Irrational choices in hummingbird foraging behaviour *Anim. Behav.* 63, 587-596.

Bateson M., Healy S. D., y Hurly T. A. 2003. Context-dependent foraging decisions in rufous hummingbirds. *Proc. R. Soc. Lond. Series B, Biological sciences* 270, 1271-1276.

Baum W. M. 1973. The correlation-based law of effect. *J. Exp. Anal. Behav.* 20, 137-153.

Belovsky G. E. 1984. Herbivore optimal foraging: a comparative test of three models. *Am. Nat.* 124, 97-115.

Berardi N., Pizzorusso T., y Maffei L. 2000. Critical periods during sensory development. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10, 138-145.

Bergvall U. A., y Balogh A. C. V. 2009. Consummatory simultaneous positive and negative contrast in fallow deer: Implications for selectivity. *Mamm. Biol.* 74, 236-239.

Bergvall U. A., Rautio P., Tuomas L., y Leimar O. 2007. A test of simultaneous and successive negative contrast in fallow deer foraging behaviour. *Anim. Behav.* 74, 395-402.

Berridge K. C. 1996. Food reward: brain substrates of wanting and liking, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 20, 1-25.

Birch L. L. 1998. Development of food acceptance patterns in the first years of life. *Proc. Nutr. Soc.* 4, 617-624.

Bronson G. 1966. Evidence of the lack of influence of early diet on adult food preferences in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 62, 162-164.

Burritt E. A., y Provenza F. D. 1992. Lambs form preferences for nonnutritive flavors paired with glucose. *J. Anim. Sci.* 70, 1133-1136.

Burritt E. A., y Provenza F. D. 1996. Amount of experience and prior illness affect the acquisition and persistence of conditioned food aversions in lambs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 48, 73-80.

Burritt E. A., Banner R. E., y Provenza F. D. 2000. Sagebrush Ingestion by Lambs: Effects of Experience and Macronutrients. *J. Range. Manage.* 53, 91-96.

Capaldi E. D., Shelter J. D., y Pulley R. J. 1989. Contrast effects in flavour preference learning. *Q. J. Exp. Psychol. B* 41, 307-323.

Caton J. S., y Dhuyvetter D. V. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *J. Anim. Sci.* 75, 533-542.

Chaneton E. J., Perelman S. B., Omacini M., y León R. J. C. 2002. Grazing, environmental heterogeneity, and alien plant invasions in temperate Pampa grasslands. *Biol. Invasions* 4, 7-24.

Charnov E. L. 1973. Optimal foraging: some theoretical explorations. Ph. D. thesis. University of Washington, USA.

Clement T. S., y Zentall T. R. 2000. Determinants of value transfer and contrast in simultaneous discriminations by pigeons. *Anim. Learn. Behav.* 28, 195-200.

Crawford M. L., Harwerth R. S., Smith E. L., y von Noorden G. K. 1996. Loss of stereopsis in monkeys following prismatic binocular dissociation during infancy. *Behav. Brain Res.* 79, 207-218.

Davey G. 1989. *Ecological Learning Theory*. Routledge Inc., London, UK.

Delamater A. R., Campese V., LoLordo V. M., Sclafani A. 2006. Unconditioned stimulus devaluation effects in nutrient-conditioned flavor preferences. *J. Exp. Psychol. Anim. B* 32, 295-306.

Distel R. A., y Bóo R. M. 1996. Vegetation states and transitions in temperate semiarid rangelands of Argentina. *Proceedings of the Fifth International Rangeland Congress (Vol. 1)*, Salt Lake City, Utah, USA, pp. 117-118.

Distel R. A., y Provenza F. D. 1991. Experience early in life affects voluntary intake of blackbrush by goats. *J. Chem. Ecol.* 17, 431-450.

Distel R. A., Villalba J. J., y Laborde H. E. 1994. Effects of early experience on voluntary intake of low-quality roughage by sheep. *J. Anim. Sci.* 72, 1191-1195.

Distel R. A., Villalba J. J., Laborde H. E., y Burgos M. A. 1996. Persistence of the effects of early experience on consumption of low-quality roughage by sheep. *J. Anim. Sci.* 74, 965-968.

Dixon R. M., y Stockdale C. R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50, 757-774.

Dove H. 2002. Principles of supplementary feeding in sheep-grazing systems. En: *Sheep nutrition*. Freer M., H. Dove (eds.) CSIRO Plant Industry, Canberra, Australia.

Doyle P. T., Dove H., Freer M., Hart F. J., Dixon R. M., y Egan A. R. 1988. Effects of a concentrate supplement on the intake and digestion of a low-quality forage by lambs. *J. Agr. Sci.* 111, 503-511.

du Toit J. T., Provenza F. D., y Nastis A. 1991. Conditioned taste aversions: how sick must a ruminant get before it learns about toxicity in foods? *Appl. Anim. Behav. Sci.* 30, 35-46.

Dufty A. M., Clobert J., y Moller A. P. 2002. Hormones, developmental plasticity and adaptation. *Trends Ecol. Evol.* 17, 190-196

Elizalde G. y Sclafani A. 1990. Fat appetite in rats: Flavor preferences conditioned by nutritive and non-nutritive oil emulsions. *Appetite* 15, 189-197.

Farnsworth K. D., y Illius A. W. 1998. Optimal diet choice for large herbivores: an extended contingency model. *Funct. Ecol.* 12, 74-81.

Ferrell F. 1984. Effects of restricted dietary flavor experience before weaning on postweaning food preference in puppies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8, 191-198.

Flaherty C. F. 1982. Incentive contrast: A review of behavioral changes following shifts in reward. *Anim. Learn. Behav.* 4, 409-440.

Flaherty C. F. 1996. Incentive relativity. Cambridge University Press, New York, USA.

Flaherty C. F., Blitzer R., y Collier G. H. 1978. Open field behaviors elicited by reward reduction. *Am. J. Psychol.* 91, 429-443.

Flaherty C. F., Coppotelli C., Grigson P. S., Mitchell C., y Flaherty J. E. 1995. Investigation of the devaluation interpretation of anticipatory negative contrast. *Anim. Behav. Process.* 21, 229-247.

Flaherty C. F., Grigson P. S., Checke S., y Hnat K. C. 1991. Deprivation state and temporal horizons in anticipatory contrast. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 17, 503-518.

Flaherty C. F., Grigson P. S., Coppotelli C., y Mitchell C. 1996. Anticipatory contrast as a function of access time and spatial location. *Anim. Learn. Behav.* 24, 68-81.

Flaherty C. F., y Kaplan P. S. 1979. Gustatory contrast in rats. *Chem. Senses Flav.* 4, 63-72

Flaherty C. F., y Largen J. 1975. Within-subjects positive and negative contrast effects. *J. Comp. Psychol. Psych.* 88, 653-664.

Flaherty C. F., y Mitchell C. 1999. Absolute and relative rewarding properties of fructose, glucose, and saccharin mixtures as reflected in anticipatory contrast. *Physiol. Behav.* 66, 841-853.

Flaherty C. F., y Sepanak S. J. 1978. Bidirectional contrast, matching, and power functions obtained in sucrose consumption by rats. *Anim. Learn. Behav.* 6, 313-319.

Flaherty C. F., Troncoso B., y Deschu N. 1979. Open field behaviors correlated with reward availability and reward shift in three rat strains. *Am. J. Psychol.* 92, 385-400.

Flaherty C. F., Turovsky J., y Krauss K. L. 1994. Relative hedonic value modulates anticipatory contrast. *Physiol. Behav.* 55, 1047-1054.

Forbes J. M., Lawrence T. L. J., Rodway R. G., y Varley M. A. 1997. Animal choices. British society of animal science, Edingburgh, UK.

Frederick S., Loewenstein G. F., y O'Donoghue T. 2002. Time discounting and time preference: a critical review. *J. Econ. Lit.* 40, 351-401.

Freer M., Dove H., Axelsen A., y Donnelly J. R. 1988. Responses to supplements by weaned lambs when grazing mature pasture or eating hay cut from the same pasture. *J. Agr. Sci.* 110, 661-667.

Freer M., Dove H., Axelsen A., Donnelly J. R., y McKinney G. T. 1985. Responses to supplements by weaned lambs grazing mature pasture or eating hay in yards. *Aust. J. Exp. Agr.* 25, 289-297.

Gilbert P. E., y Kesner R. P. 2002. The Amygdala but Not the Hippocampus Is Involved in Pattern Separation Based on Reward Value *Neurobiol. Learn. Mem.* 77, 338-353.

Goering H. K., y Van Soest P. J. 1970. Forage Fiber Analyses, *Agricultural Handbook 379*. USDA, Washington, D.C., USA.

Green L., Myerson J., Shah A. K., Estle S. J., Holt D. D. 2007. Do adjusting-amount and adjusting-delay procedures produce equivalent estimates of subjective value in pigeons? *J. Exp. Anal. Behav.* 87, 337-347.

Hoover W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69, 2755-2766.

Illius A. W., Duncan P., Richard C., y Mesochina P. 2002. Mechanisms of Functional Response and Resource Exploitation in Browsing Roe Deer. *J. Anim. Ecol.* 71, 723-734.

Immelmann, K. 1972. Sexual imprinting in birds. *Adv. Stud. Behav.* 4, 147-174.

Kalenscher T., y Pennartz C. M. A. 2008. Is a bird in the hand worth two in the future? The neuroeconomics of intertemporal decision-making. *Progr. Neurobiol.* 84, 284-315.

Kerley M. S., Fahey G. C., Berger L. L., Gould J. M., y Baker F. L. 1985. Alkaline hydrogen peroxide treatment unlocks energy in agricultural byproducts. *Science* 239, 820-822.

Knudsen E. I. 2004. Sensitive periods in the development of the brain and behavior. *J. Cognitive Neurosci.* 16, 1412-1425.

Leng R. A. 1990. Factors affecting the utilization of 'poor quality' forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* 3, 277-303.

Lesoing G., Klopfenstein T., Rush I., y Ward J. 1980. Chemical Treatment of Wheat Straw. *J. Anim. Sci.* 51, 263-269.

Lieberman D. A. 1993. Learning: behavior and cognition. Brooks/Cole Publishing Company, Pacific Groove, California, USA.

Littell R. C., Henry P. R., y Ammerman C. B. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76, 1216-1231.

Lucas G. A., Gawley D. J., y Timberlake W. 1988. Anticipatory contrast as a measure of time horizons in the rat: Some methodological determinants. *Anim. Learn. Behav.* 16, 377-382.

Lucas G. A., y Timberlake W. 1992. Negative Anticipatory Contrast and Preference Conditioning: Flavor Cues Support Preference Conditioning, and Environmental Cues Support Contrast. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 18, 34-40.

Lucas G. A., Timberlake W., Gawley D. J., y Drew J. 1990. Anticipation of Future Food: Suppression and Facilitation of Saccharin Intake Depending on the Delay and Type of Future Food. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process.* 16, 169-177.

Matejovsky K. M., y Sanson D. W. 1995. Intake and digestion of low-, medium-, and high-quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 73, 2156-2163.

Mazur J. E. 1987. An adjusting procedure for studying delayed reinforcement. En: *Quantitative Analyses of Behavior*, vol. 5. The Effect of Delay and of Intervening Events on Reinforcement Value. Commons M. L., Mazur J. E., Nevin J. A., Rachlin H. (Eds.), Erlbaum, Hillsdale, New Jersey, USA pp. 55-73.

McEachern M. B., Eagles-Sith C. A., Efferson C. M., y Van Vuren D. H. 2006. Evidence for local specialization in a generalist mammalian herbivore, *Neotoma fuscipes*. *Oikos* 113, 440-448.

Milchunas D. G., Sala O. E., y Lauenroth W. K. 1988. A generalized model of the effects of grazing by large herbivores on grassland community structure. *Am. Nat.* 132, 87-106.

Milne J. A., Macrae J. C., Spence A. M., y Wilson S. 1978. A comparison of the voluntary intake and digestion of a range of forages at different times of the year by the sheep and the red deer (*Cervus elaphus*). *Brit. J. Nutr.* 40, 347-357.

Mobini S., Chambers L. C., y Yeomans M. R. 2007. Effects of hunger state on flavour pleasantness conditioning at home: Flavour–nutrient learning vs. flavour–flavour learning. *Appetite* 48, 20-28.

Moore J. E., Brant M. H., Kunkle W. E., y Hopkins D. I. 1999. Performance Effects of Supplementation on Voluntary Forage Intake, Diet Digestibility, and Animal. *J. Anim. Sci.* 77, 122-135.

Mould F., Ørskov E. R., y Mann S. O. 1983. Associative effects of mixed feeds. 2. The effect of dietary additions of bicarbonate salts on the voluntary

intake and digestibility of diets containing various proportions of hay and barley. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 10, 31-47.

Mustaca A. E., Bentosela M., y Papini M. R. 2000. Consummatory Successive Negative Contrast in Mice *Learn. Motiv.* 31, 272-282.

Newman J. A., Parsons A. J., Thornley J. H. M., Penning P. D., Krebs J. R. 1995. Optimal Diet Selection by a Generalist Grazing Herbivore *Functional Ecology* 9, 255-268.

Newman J. A., Penning P. D., Parsons A. J., Harvey A., y Orr R. J. 1994. Fasting affects intake behavior and diet preference of sheep. *Anim. Behav.* 47, 185-193.

Niell C. M., y Smith S. J. 2004. Live optical imaging of nervous system development. *Annu. Rev. Physiol.* 66, 771-798.

Nolte D. L., Provenza F. D., y Balph D. F. 1990. The establishment and persistence of food preferences in lambs exposed to selected foods. *J. Anim. Sci.* 68, 998-1002.

National Research Council. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep*, 6th edition National Academy of Sciences- National Research Council, Washington, D.C., USA.

O'Connor T. G. 1991. Local extinction in perennial grasslands: a life-history approach. *Am. Nat.* 137, 753-773.

Olson B. E., Wallander R. T., Thomas V. M., y Kott R. W. 1996. Effect of previous experience on sheep grazing leafy spurge *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50, 161-176

O'Reagain P. J., y Schwartz J. 1995. Dietary selection and foraging strategies of animals on rangelands. Coping with spatial and temporal variability. En: *Recent Developments in the Nutrition of Herbivores*. Journet M., Grenet E., Farce M. H., Thériéz M. y Demarquilly C. (Eds) INRA Editions, Paris, pp. 407-423.

Orskov E. R. 1999. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. *Prev. Vet. Med.* 38, 179-185.

Papachristou T. G., Dziba L. E., Villalba J. J., y Provenza F. D. 2007. Patterns of diet mixing by sheep offered foods varying in nutrients and plant secondary compounds. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 108, 68-80.

Papini M. R., y Pellegrini S. 2006. Scaling relative incentive value in consummatory behavior. *Learn. Motiv.*, 37, 357-378.

Pellegrini S., y Mustaca A. 2000. Consummatory successive negative contrast with solid food. *Learn. Motiv.* 31, 200-209.

Pellegrini S., y Papini M. R. 2007. Scaling relative incentive value in anticipatory behavior. *Learn. Motiv.* 38, 128-154

Perelman S. B., León R. J. C., y Bussacca J. P. 1997. Floristic changes related to grazing intensity in a Patagonian shrub steppe. *Ecography* 20, 400-406.

Perez C., Lucas F., y Sclafani A. 1995. Carbohydrate, Fat, and Protein Condition Similar Flavor Preferences in Rats Using an Oral-Delay Procedure *Physiol. Behav.* 57, 549-554.

Pliner P., 1982. The effects of mere exposure on liking for edible substances. *Appetite* 3, 283-290.

Provenza F. D., 1995. Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. *J. Range Manage.* 48, 2-17.

Provenza F. D., y Balph D. F. 1987. Diet Learning by Domestic Ruminants: Theory, Evidence and Practical Implications. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 18, 211-232.

Provenza F. D., y Balph D. F. 1988. The development of dietary choice in livestock on rangelands and its implications for management. *J. Anim. Sci.* 66, 2356-2368.

Provenza F. D., Balph, D. F. 1990. Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounters. En: Hughes, R.N. (Ed.), *Behavioural Mechanisms of Food Selection*. NATO ASI Series G: Ecological Sciences, vol. 20. Springer, Berlin, pp. 423–459.

Provenza F. D., Lynch J. J., y Cheney C. D. 1995. Effects of a flavor and food restriction on the intake of novel foods by sheep. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 43, 83-93.

Provenza F. D., Lynch J. J., Burrit E. A., y Scott C. B. 1994. How goats learn to distinguish between novel foods that differ in postingestive consequences. *J. Chem. Ecol.* 20, 609-624.

Provenza F. D., Villalba J. J., Dziba L. E., Atwood S. B., y Banner R. E. 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Res.* 49, 257-274.

Richards J. B., Mitchell S. H., de Wit H., y Seiden L. S. 1997. Determination of discount functions in rats with an adjusting-amount procedure. *J. Exp. Anal. Behav.* 67, 353-366.

Rosati A. G., y Stevens J. R. 2009. Rational decisions: The adaptive nature of context-dependent choice. En: Rational animals, irrational humans. Watanabe S., Blaisdell A. P., Huber L., y Young A. (Eds.), Keio University Press, Tokyo, Japan.

Russel A. 1991. Body condition scoring of sheep. En: Sheep and Goat Practice. Ed. E Boden, Bailliere Tindall, London, UK pp. 3-10.

Russell J. B., O'Connor J. D., Fox D. G., Van Soest P. J., y Sniffen C. J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. J. Anim Sci. 70, 3551-3561.

Ruxton G. D., y Beauchamp G. 2008. Time for some a priori thinking about post hoc testing. Behav. Ecol. 19, 690-693.

Schultz, W. 1997. Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. Cur. Opin. Neurobio. 7, 191-197.

Sclafani A. 1995. How food preferences are learned: Laboratory animal models. Proc. Nutr. Soc. 54, 419-427.

Scott J. P. 1962. Critical periods in behavioral development. Science 138, 949-958.

Shafir S., Waite T. A., y Smith B. H. 2002. Context-dependent violations of rational choice in honeybees (*Apis mellifera*) and gray jays (*Perisoreus canadensis*). Behav. Ecol. Sociobiol. 51, 180-187.

Shaw R. A., Villalba J. J., Provenza F. D. 2006. Influence of stock density and rate and temporal patterns of forage allocation on the diet mixing behavior of sheep grazing sagebrush steppe. Appl. Anim. Behav. Sci. 100, 207-218.

Siegel S., y Castellan N. J. 1988. Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences (second edition). McGraw-Hill, New York, USA.

Simpson S. J., Sibly R. M., Lee K. P., Behmer S. T., Raubenheimer D. 2004. Optimal foraging when regulating intake of multiple nutrients. Anim. Behav. 68, 1299-1311.

Squibb R. C., Provenza F. D., y Balph D. F. 1990. Effect of age of exposure on consumption of a shrub by sheep. J. Anim. Sci. 68, 987-997.

Stafford S., Cochran R., Vanzant E., y Fritz J. 1996. Evaluation of the potential of supplements to substitute for low-quality, tallgrass-prairie forage. J. Anim. Sci. 74: 639-647.

Stasiak, M. 2001. The effect of early specific feeding on food conditioning in cats. Dev. Psychobiol. 39, 205-215.

Stephens D. W., y Krebs J. R. 1986. Foraging theory. Princeton University Press, Princeton, USA.

Stephens D. W., y Dunlap A. S. 2009. Why do animals make better choices in patch-leaving problems? *Behav. Process.* 80, 252-260.

Stevens S. S. 1969. Sensory scales of taste intensity. *Percep. Psychophys.* 6, 302-307.

Tversky A., y Griffin D. 1991. Endowment and contrast in judgments of well-being, En: *Strategy and Choice*, Zeckhauser R. J. (Ed.), MIT Press, Cambridge, Massachusetts, USA pp. 297-319.

Tversky A., y Simonson I. 1993. Context-dependent preferences. *Manage. Sci.* 39, 1179-1189.

Van Gils J. A., y Piersma T. 2004. Digestively constrained predators evade the cost of interference competition. *J. Anim. Ecol.* 73, 386-398.

Villalba J. J., y Provenza F. D. 1996. Preference for flavored wheat straw by lambs conditioned with intraruminal administrations of sodium propionate. *J. Anim. Sci.* 74, 2362-2368.

Villalba J. J., y Provenza F. D. 1997a. Preference for wheat straw by lambs conditioned with intraruminal infusions of starch. *Br. J. Nutr.* 77, 287-297.

Villalba J. J., y Provenza F. D. 1997b. Preference for flavored foods by lambs conditioned with intraruminal administrations of nitrogen. *Br. J. Nutr.* 78, 545-561.

Villalba J. J., y Provenza F. D. 1997c. Preference for flavored wheat straw by lambs conditioned with intraruminal infusions of acetate and propionate. *J. Anim. Sci.* 75, 2905-2914.

Villalba J. J., y Provenza F. D. 1999. Nutrient-specific preferences by lambs conditioned with intraruminal infusions of starch, casein, and water. *J. Anim. Sci.* 77, 378-387.

Villalba J. J., Provenza F. D., y Banner R. E. 2002. Influence of macronutrients and activated charcoal on intake of sagebrush by sheep. *J. Anim. Sci.* 80, 2099-2109.

Villalba J. J., Provenza F. D., y Shaw R. 2006. Initial conditions and temporal delays influence preference for foods high in tannins and for foraging locations with and without foods high in tannins by sheep. *Appl. Anim. Behav.* 97, 190-205.

Walker J. W., Hemenway K. G., Hatfield P. G., y Glimp H. A. 1992. Training lambs to be weed eaters: Studies with leafy spurge. *J. Range Manage.* 45, 245-249.

Weatherly J. N., Arthur E. I. L., Palbicki J., y Nurnberger, J. T. 2004. Induction produced by upcoming foodpellet reinforcement: Efects on subsequent operant responding. *Learn. Motiv.* 35, 189-207.

Weatherly J. N., Nurnberger J. T., Austin D. P., y Wright C. L. 2006. Making the sour sweet? Upcoming food-pellet reinforcement produces positive induction when rats press a lever for unsweetened lemon juice. *Learn. Motiv.* 37, 379-390.

Williams B. A. 1990. Pavlovian contingencies and anticipatory contrast. *Anim. Learn. Behav.* 18, 44-50.

Yearsley J. M., Villaba J. J., Gordon I. J., Kyriazakis I., Speakman J. R., Tolkamp B. J., Illius A. W., Duncan A. J. 2006. A theory of associating food types with their postingestive consequences. *Am. Nat.* 167, 705-716.

Zellner D. A. 2007. Short communication: Contextual influences on liking and preference. *Appetite* 49, 679-682.

Zentall T. R., y Clement T. S. 2001. Simultaneous discrimination learning: stimulus interactions. *Anim. Learn. Behav.* 29, 311-325.