



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Departament de Ciència Animal i dels Aliments



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**Estudios sobre identificación, lactación y cría de dromedarios
en la isla de Fuerteventura (Canarias)**

Studies on identification, lactation and rearing of dromedaries
in the island of Fuerteventura (Canary Islands)

*Estudis sobre identificació, lactació i cria de dromedaris
a l'illa de Fuerteventura (Canàries)*

TESIS DOCTORAL

ELENA DÍAZ-MEDINA

Bellaterra (Barcelona)

2017

UNIVERSITAT AUTONOMA DE BARCELONA
DEPARTAMENT DE CIENCIA ANIMAL I DELS ALIMENTS

**Estudios sobre identificación, lactación y cría de dromedarios
en la isla de Fuerteventura (Canarias)**

Studies on identification, lactation and rearing of dromedaries
in the island of Fuerteventura (Canary Islands)

*Estudis sobre identificació, lactació i cria de dromedaris
a l'illa de Fuerteventura (Canàries)*

Tesis presentada por Elena Díaz-Medina y dirigida por el Dr. Gerardo Caja López, del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universidad Autónoma de Barcelona (Bellaterra, España), y la Dra. Maristela Rovai, del Department of Dairy and Food Science of the South Dakota State University (Brookings, EE.UU).

Lo cual firmamos en Bellaterra, a 30 de mayo 2017.

Prof. Dr. Gerardo Caja

Dra. Maristela Rovai

*“¿De dónde saca la tabaiba su acre leche?
De dónde saca su leche la camella que se apacienta en
pedregales, que parece alimentarse lamiendo pedruscos,
que rumia ese esqueleto de planta que es la aulaga, toda
ella espinas”*

Miguel de Unamuno

AGRADECIMIENTOS

Al fin llegó el momento de redactar los agradecimientos y siento que no cambiaría nada de lo vivido en estos últimos años, porque además de aprender sobre camellos, he crecido profesionalmente y como persona. He aprendido que, si te quedas atrapada en la rompiente, tienes que subir rápido, porque nunca sabes que habrá en la siguiente ola, y que, con confianza en uno mismo, trabajo y un poco de fe retos que parecen imposibles pueden hacerse realidad.

*Sin dudarlo, los primeros agradecimientos son para mis directores. En primer lugar, al profesor **Gerardo Caja**, quién mostrándome su calidad profesional y sobre todo su calidad humana ha hecho posible que llegara al final del camino, digestiones en el laboratorio hasta las 6 de la mañana, aprender a sondear a un camellito (Cubano), correr detrás de los camellos en Fuerteventura para ponerles un bolo, enfados, tertulias agradables en el camino y siempre muy buenos consejos. Muchas gracias G.C. También quisiera agradecer a mi codirectora **Maristela Rovai**, a quien, a pesar de la distancia, he sentido cerca. Gracias M.R. por estar a mi lado en las largas jornadas compartidas de laboratorio (skim milk, y más skim milk), challenges y revisiones de papers.*

Quisiera agradecer también la ayuda de la profesora Elena Albanel con el NIR y esa sonrisa que siempre lleva puesta y al profesor Ahmed Salama su ayuda con la estadística y algunos cortados. A todo el personal del Servei de Bioquímica Clínica Veterinaria, especialmente a mi Raquel Pato, por escucharme siempre entre diluciones y ELISA. Al personal técnico Carmen Martínez y Blas Sánchez por su inmensa ayuda y apoyo en todo momento y a la Dra. Anna Zamora por su ayuda con la microscopía. También quiero agradecer a mi compañera Joyceline Duah-Barning, por su gran ayuda en el laboratorio y en la calibración con el NIR. ¡Muchas gracias!

*La segunda parte, que ha hecho posible esta tesis, se llama Oasis Park. No sé cómo expresar mi más profundo agradecimiento a **Casto Martínez, Cirila Cabrera y Lázaro Cabrera** por depositar su confianza en mí porque creo que es el bien máspreciado que te puede dar una persona y por la ayuda que me han dado ya que si no, nada de esto hubiera sido posible. A **Soraya Cabrera**, gracias por transmitirme tu pasión por estos animales porque aprendí de alguien con mucha sensibilidad y eso marca para siempre.*

*La tercera parte, que contribuyó a que hoy esté redactando estos agradecimientos fueron esos bichos peludos y de cuatro patas que tantos momentos de felicidad me dieron y tantas muestras. **Florita, Miguel, Mariposa, Virginia y Coja**...que hacía las veces de mesa con su joroba, los guelfos corriendo por todos lados y no dejaban ordeñar...un verdadero caos que se*

echa de menos. Siento una profunda admiración por estos animales...por la paz que irradian, por la fuerza y el carácter que tienen, por su belleza ...por ellos va esta tesis.

*Otra persona a agradecer por la ayuda que me ha ofrecido es **Menchu Manuelián**, unas gracias muy sinceras por prestarme a tu familia porque ahora es como si fueran parte de la mía y por supuesto a su familia que me ha hecho sentir como en casa.*

*Quisiera agradecer también a los **compañeros doctorandos** de la pecera, porque me han ayudado a terminar esta Tesis, ¿qué grado de felicidad tienes hoy? Ya sé que lo más importante para ustedes es mi mesa, pero me gustaría que supieran que yo les voy a echar de menos. También a todos mis **compañeros del parque**, por ayudarme en la toma de muestras, las risas compartidas, los intercambios de ideas, por los buenos y los malos ratos compartidos. A pesar de que es imposible nombrarlos a todos, cada persona que he conocido ha aportado algo en este camino. ¡Muchas gracias!*

*Y agradecer también a esos familiares con los que no comparto sangre, pero sí el músculo que la bombea, **MIS AMIGOS**, porque saben lo que ha supuesto para mí este camino, por darme ánimo cuando lo necesitaba y porque me permiten definirme como la persona que soy.*

*La mención más especial la reservo para **MI FAMILIA**, mis padres, mi hermana y mis sobrinos por estar ahí siempre apoyándome en todo momento porque sin ellos yo no soy nada. Para mi madre, un gran abrazo por las ausencias que has tenido que soportar y por no poder haberte dedicado más tiempo. Eres la mejor persona que conozco y con el mejor corazón. ¡Muchas gracias Medina!*

*Parte de las analíticas realizadas en esta Tesis Doctoral han sido posibles gracias a una beca del “Strategic Technology Program of the National Science, Technology and Innovation Plan (NPST; project 13-AGR1159-02) of the Kingdom of Saudi Arabia” y a la colaboración de los Dres. **Mohamed A. Alshahik, Riyadh S. Aljumaah y Moez Ayadi**.*

*A todos, **MAŞALLAH***

Bellaterra, 07 de mayo de 2017

Elena Díaz-Medina

PUBLICACIONES

La línea de investigación de esta tesis ha dado origen a las siguientes publicaciones en revistas científicas y actas de simposios nacionales e internacionales:

Publicaciones en revistas internacionales:

Caja G., **Díaz-Medina E.**, Salama A.A.K., Salama O.A.E., El-Shafie M.H., El-Metwaly H.A., Ayadi, M., Aljumaah R.S., Alshaikh M.A., Yahyehou M.H., Seddik M.M., Hammadi, M., Khorchani, T., Amann, O., Cabrera, S. 2016. Comparison of visual and electronic devices for individual identification of dromedary camels under different farming conditions. *J. Anim. Sci.* 94:3561-3571 (doi:10.2527/jas2016-0472).

Díaz-Medina E., Caja G., Salama A.A.K., Ayadi M., Aljumaah R.S., Alshaikh M.A., Cabrera S., Rovai M. 2017. Hyperglycemia and low insulin sensitivity are natural conditions of healthy camel calves that appear at early age during suckling. *PLoS ONE* (Submitted).

Simposios internacionales:

Caja, G., **Díaz-Medina, E.**, Cabrera S., Amann O., Salama O.H., El-Shafei M.H., El-Sayed H., Salama A.A.K., Aljumaah R.S., Ayadi M., Alshaikh M.A. 2013. Comparison of traditional and modern systems for the individual identification of dromedary camels. *ASAS-ADSA Joint Annual Meeting, Indianapolis, Indiana, EEUU.*

Caja G., **Díaz-Medina E.**, Rovai M., Salama A.A.K., Cabrera S., Ayadi M., Aljumaah R.S., Alshaikh M.A. 2015. Sucking camels become low tolerant to glucose and less sensitive to insulin with the age. 8th International Congress on Farm Animal Endocrinology (ICFAE), Billund, Denmark.

Díaz-Medina E., Caja G, Rovai M., Salama A.A.K., Cabrera S., Ayadi M., Aljumaah R.S., Alshaikh M.A. 2016. Changes induced by age in the glucose metabolism of suckling camels before weaning. 4th DairyCare Conference, Lisboa, Portugal.

Isabella A., Contreras-Jodar A., Piras C., Soggiu A., Greco V., Urbani A., Bonizzi L., Ayadi M., Aljumaah Rihyad S., Alshaikh M.A., **Díaz-Medina E.**, Caja G., Roncada P. 2017. 12th Annual Conference of the Italian Proteomics Association, Lecce, Italia.

Simposios nacionales:

Caja G., **Díaz-Medina E.**, Cabrera S., Amann O., Salama O.H., El-Shafei M.H., El-Sayed H., Salama A.A.K., Aljumaah R.S., Ayadi M., Alshaikh M.A. 2013. Identificación de dromedarios mediante marcas al fuego, crotales plásticos y bolos electrónicos. XV Jornadas AIDA (Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario) sobre Producción Animal, Zaragoza, España. Tomo I. pp. 82-84.

Díaz-Medina E., Caja G., Salama A.A.K., Cabrera S., Alshaikh M.A., Ayadi, M., Aljumaah R.S., Rovai M. 2017. Respuesta a ensayos de tolerancia a glucosa y retos de insulina de dromedarios jóvenes durante el periodo de cría. XVII Jornadas AIDA (Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario) sobre Producción Animal, Zaragoza, España.

Lista de Abreviaturas

a.C.	After Christ	Después de Cristo
ADP	Adiponectin	Adiponectina
Ala	Alanine	Alanina
ANP	Atrial natriuretic peptide	Péptido natriurético atrial
ATP	Adenosine triphosphate	Adenosín trifosfato
ARP	Plasmatic renin	Renina plasmática
AUC	Area under the curve	Área bajo la curva
AVP	Arginine-vasopressin	Arginina-vasopresina
B1	Thiamine	Tiamina
B2	Riboflavin	Riboflavina
b.C.	Before Christ	Antes de Cristo
BHB	β -hydroxybutyrate	β -hidroxibutirato
BW	Body weight	Peso vivo
C.	Camelus	Camelus
°C	Centigrade	Centígrado
Ca	Calcium	Calcio
ca.	Circa	Cerca
CE	European Council	Consejo de Europa
Cl	Chlorine	Cloro
CN	Casein	Caseína
CO₂	Carbone dioxide	Dioxido de carbono
CP	Crude protein	Proteína bruta
CR	Carotid Rete	Red carótida
e-ID	Electronic ID	ID electrónica
EEB	Bovine spongiform encephalopathy	Encefalopatía espongiforme bovina
Exp.	Experiment	Experimento
FDX-B	Full-duplex	Duplicidad completa
Fe	Iron	Hierro
g	Gram	Gramo
g	Gravity acceleration	Aceleración de la gravedad
g/d	Gram per day	Gramos por día
GLP-1	Glucagon like peptide 1	Péptido similar al glucagón 1
GLU	Glucose	Glucosa
GLUT	Glucose transporter	Transportador de glucosa
GTT	Glucose tolerance test	Test de tolerancia a la glucosa
h	Hour	Hora
HCl	Hydrochloric acid	Ácido clorhídrico
HDX	Half-duplex	Media duplicidad
HR	Relative humidity	Humedad Relativa
IC	Insulin Challenge	Reto a la insulina
ID	Identification	Identificación
Ig	Immunoglobulin	Immunoglobulina
IGF-1	Insulin-like growth factor 1	Factor de crecimiento-1 similar a la insulina
Ile	Isoleucine	Isoleucina
INS	Insulin	Insulina

IU	International Units	Unidades internacionales
k	Kilo (10 ³)	Kilo (10 ³)
K	Potassium	Potasio
kcal	Kilocalories	Kilocalorias
kg	Kilogram	Kilogramo
km²	Square kilometers	Kilómetros cuadrados
L.	Linneo	Linneo
L	Liters	Litros
Lf	Lactoferrin	Lactoferrina
Lyz	Lysozyme	Lisozima
mM	Mili molar	Mili molar
M	Million	Millones
M	Molar	Molar
Mg	Magnesium	Magnesio
MER	Maintenance energy requeriments	Necesidades energéticas de mantenimiento
MERS	Middle East Respiratory Syndrome	Síndrome Respiratorio de Oriente Medio
CoV	Coronavirus	Coronavirus
min	Minutes	Minutos
mm	Millimeter	Milimetro
mo	Month	Mes
N	North	Norte
N₂	Nitrogen	Nitrógeno
n	Sample size	Tamaño muestral
Na	Sodium	Sodio
NaCl	Sodium chloride	Cloruro sódico
NaOH	Sodium hydroxide	Hidróxido Sódico
NEFA	Non esterified fatty acids	Ácidos grasos no esterificados
ng	Nanogram	Nanogramo
NIR	Near-infrared spectroscopy	Espectroscopía del infrarrojo cercano
nm	Nanometer	Nanómetro
NO₂	Nitrogen oxides	Dióxido de nitrógeno
Mt	Million tons	Millones de toneladas
O₂	Oxygen	Oxígeno
OV	Ophthalmic veins rete	Red oftálmica venosa
P	Phosphorus	Fósforo
P	Probability	Probabilidad
PV	Body weight	Peso Vivo
R	Readability	Capacidad de lectura
R	Reflectance	Reflectancia
RAS	Renin-angiotensin system	Sistema renina-angiotensina
RAT 1	Angiotensin II receptor 1	Receptor de la angiotensina II 1
RAT 2	Angiotensin II receptor 2	Receptor de la angiotensina II 2
RER	Range of error ratio	Relación del rango de error
Resp	Breaths	Respiraciones
RFID	Radio frequency ID	ID por radiofrecuencia
RPD	Ratio of performance deviation	Relación de desviación de los resultados

Rpm	Revolution per minute	Revoluciones por minuto
RIA	Radio-immuno assay	Radioinmunoensayo
S	South	Sur
SG	Specific gravity	Gravedad específica
SGLT1	Sodium dependent glucose transporter	Transportador de glucosa dependiente de sodio
SE	Standard error of the mean	Error estándar de la media
SEcv	Standar error cross validation	Error estándar de la validación cruzada
SEV	Standar error of validation	Error estándar de validación
SEP	Standar error of prediction	Error estándar de predicción
spp	Species	Especies
Thr	Threonine	Treonina
UE	European Union	Unión Europea
Val	Valine	Valina
vol	Volume	Volume
v-ID	Visual identification	Identificación visual
wk	Week	Semana
yr	Year	Año
Zn	Zinc	Zinc

RESUMEN

Estudios sobre identificación, lactación y cría de dromedarios en la isla de Fuerteventura (Islas Canarias)

El objetivo de esta Tesis es dar respuesta a una serie de preguntas fundamentales planteadas al intentar poner en marcha una granja de camellas lecheras de raza Canaria en la isla Fuerteventura. Para ello se realizaron 3 experimentos, destinados a: proponer la adecuada identificación (ID) individual de los camellos (Exp. 1), cuantificar la producción y analizar los principales componentes de la leche, así como los niveles de insulina (INS) durante la lactación (Exp. 2), y finalmente estudiar el metabolismo de la glucosa (GLU) e INS en camellos lactantes (guelfos) con vistas a mejorar su crecimiento y supervivencia (Exp. 3).

En el Exp. 1, se evaluaron distintos sistemas de ID para camellos de tipo tradicional (i.e., hierros y crotales) y modernos (i.e., microchips inyectables, crotales y bolos ruminales electrónicos), con el fin de proponer la ID más adecuada según el sistema de explotación. Se utilizaron un total de 528 dromedarios en 4 localizaciones (Arabia Saudí, Egipto, España y Túnez) durante 3 años. Teniendo en cuenta la esperanza de vida de los camellos (25 años), se observó una baja eficiencia de ID (0 a 27%) para los hierros, microchips y crotales (visuales y electrónicos), desaconsejándose su uso como único sistema de ID. Los mayores valores de eficiencia de lectura de ID (96 a 100%) se obtuvieron con bolos electrónicos de alta densidad (>3), lo que aconseja su uso como sistema de ID de referencia en camellos.

En el Exp. 2, se utilizaron 60 camellas paridas que se sometieron a cría natural (0-6 meses) y ordeño a máquina (1 o 2 veces/d) durante las lactaciones de 3 años. Se valoró la producción y composición de leche (i.e., sólidos totales, grasa, proteína, caseína, lactosa, cenizas e INS) para 4 estados de lactación: calostro (0-2 d), inicio (3-103 d), mitad (104-244 d) y final (245-365 d) de lactación. En total se tomaron 316 muestras (calostro, $n = 41$; leche, $n = 275$). La producción media de leche fue de $5,5 \pm 0,3$ kg/d (2.155 kg/año) mostrando un pico a mitad de lactación. El análisis de las muestras se realizó por métodos de referencia y mediante kits ELISA para INS-bovina. Parte de las muestras recogidas se usaron para crear una calibración con espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR). La composición del calostro y la INS en leche no pudieron ser predichas satisfactoriamente por NIR. Al contrario, los modelos de predicción en las muestras de leche fueron plenamente satisfactorios para grasa, proteína y sólidos totales, y aceptables para el resto de componentes. Los valores de grasa y proteína (medias de $4,45 \pm 0,10\%$ y $2,90 \pm 0,05\%$, respectivamente) evolucionaron inversamente a la producción, con valores mínimos a mitad de la lactación ($P < 0,05$). Los sólidos totales disminuyeron durante la lactación ($12,2 \pm 0,1\%$; $P < 0,05$). La leche de camella se caracterizó por sus pequeños glóbulos de grasa inferiores a $5 \mu\text{m}$. Los niveles de INS (media, $1,63 \pm 0,29$ ng/mL) variaron de manera cuadrática ($P < 0,05$), con valores mínimos a mitad de lactación y sin relación con los valores en sangre.

En el Exp. 3 se estudió el metabolismo de GLU e INS en dos grupos de dromedarios lactantes de distintas edades (A, 15 d, $n = 5$; B, 132 d, $n = 5$) que se sometieron a ensayos de tolerancia a la GLU ($0,25$ g GLU/kg PV) y retos de INS ($4,6 \mu\text{g}$ INS/kg PV) en ayunas. Los resultados obtenidos mostraron que los dromedarios lactantes adquieren un estado natural de hiperglucemia e insulino-resistencia, similar a una “pseudo-diabetes”, después del nacimiento y que éste aumenta con la edad, con disminución de su tolerancia a la GLU y de la secreción de INS. Los resultados obtenidos evidencian la utilización de transportadores de GLU independientes de la INS y una baja utilización de los ácidos grasos libres procedentes de la movilización de reservas de grasa. Estos mecanismos parecen estar relacionados con la conservación de agua y energía en condiciones de subnutrición y estrés por calor con la finalidad de garantizar la supervivencia de las crías.

ABSTRACT

Studies on identification, lactation and rearing of dromedaries in the island of Fuerteventura (Canary Islands)

The aim of this Thesis is to answer several key questions raised when trying to set up a dairy farm of Canarian camels in the island of Fuerteventura. For this purpose, 3 experiments were carried out to: set up the adequate individual identification (ID) of the camels (Exp. 1), to quantify the milk yield and to analyze the main milk components, including insulin (INS) levels, during lactation (Exp. 2), and finally, to study the glucose (GLU) and INS metabolism in suckling camels (guelfos) to improve their growth and survival (Exp. 3).

In Exp. 1, different ID systems for camels, consisting of traditional (i.e., branding and ear tags) and modern (microchips, electronic ear tags and rumen boluses) devices, were evaluated in order to propose the most appropriate ID system according to exploitation conditions. A total of 558 dromedaries in 4 locations (Egypt, Saudi Arabia, Spain and Tunisia) were used during 3 yr. According to the camel life-span expectancy (25 yr), a low ID efficiency (0 to 27%) was observed for branding, injectable microchips and ear tags (visual and electronic), and their use as a single ID system was discouraged. The greatest reading ID performances (96 to 100%) were obtained with high-density (>3) electronic boluses, which advises on its use as a reference ID system in camels.

In Exp. 2, 60 lactating she-camels were submitted to suckling (mo 0 to 6) and machine milking ($\times 1$ or $\times 2$ daily) during 3 yr. Milk yield and composition (i.e., total solids, fat, protein, casein, lactose, ashes and INS) were measured in 4 stages of lactation: colostrum (d 0 to 2), early (d 3 to 103), mid- (d 104 to 244) and late- (d 245 to 365 d) lactation. A total of 316 samples (colostrum, $n = 41$; milk, $n = 275$) were collected. Average milk yield was 5.5 ± 0.3 kg/d (2.155 kg/yr) showing a peak in mid-lactation. Sample analysis was done by reference methods and by ELISA kits for bovine INS. Sample subsets were used to build up a calibration by near infrared spectroscopy (NIR). Colostrum composition and milk INS were unsatisfactorily predicted by NIR. On the contrary, prediction models were fully satisfactory for fat, protein and total solids in milk samples, and acceptable for the rest of components. Fat and protein milk contents ($4.45 \pm 0.10\%$ and $2.90 \pm 0.05\%$, on average, respectively) progressed inversely to milk yield, with minimum values in mid lactation ($P < 0.05$). Total milk solids decreased throughout lactation ($12.2 \pm 0.1\%$; $P < 0.05$). Camel milk was characterized by small fat globules smaller than $5 \mu\text{m}$. The levels of INS in milk varied in a quadratic manner ($P < 0.05$) as lactation progressed (1.63 ± 0.29 ng/mL, on average) with a minimum in mid-lactation and did not correlate with blood values.

In Exp. 3 GLU and INS metabolism were studied in 2 groups of suckling camels of different ages (A, 15 d, $n = 5$; B, 132 d, $n = 5$) submitted to GLU tolerance tests (0.25 g GLU/kg BW) and INS challenges ($4.6 \mu\text{g INS} / \text{kg BW}$) under fasting. Obtained results showed that suckling camels reach a natural stage of hyperglycemia and INS-resistance after birth, likely a “pseudo diabetes mellitus”, which increases with age and decreased GLU tolerance and INS secretion. Obtained results proved the evidence of GLUT independent of INS, together with a low utilization of free fatty acids from the mobilization of reserves of fat. These mechanisms seem to be related with savings of water and energy under subnutrition and heat stress conditions to warrant the survival of young camels.

RESUM

Estudis sobre identificació, lactació i cria de dromedaris a l'illa de Fuerteventura (Canàries)

L'objectiu d'aquesta Tesi és el de donar resposta a una sèrie de preguntes fonamentals plantejades a l'intentar posar en marxa una granja de camelles lleteres de raça Canària a l'illa de Fuerteventura. Amb aquesta finalitat, es van realitzar 3 experiments encaminats a: proposar el sistema de identificació (ID) individual més adequat pels camells (Exp. 1), quantificar la producció i analitzar els components majoritaris de la llet, incloent els nivells d'insulina (INS), durant la lactació (Exp. 2), i finalment, estudiar el metabolisme de la glucosa (GLU) i INS en camells lactants (guelfos) per a millorar el seu creixement i supervivència (Exp. 3).

En l'Exp. 1, es van avaluar diferents sistemes de ID utilitzats en camells de tipus tradicional (i.e., ferros i crotals visuals) i modern (microxips injectables, crotals electrònics i bolus ruminals), per tal de proposar el sistema d'ID més adequat en funció de les condicions d'explotació. Es va fer servir un total de 558 dromedaris en 4 localitzacions (Aràbia Saudí, Egipte, Espanya i Tunísia) durant 3 anys. D'acord amb la seva esperança de vida (25 anys), es va observar una baixa eficiència de ID (0 to 27%) pels ferros, microxips injectables i crotals (visuals i electrònics), desaconsellant el seu ús com a sistema únic de ID en camells. Els valors més alts d'eficàcia de lectura de ID (96 to 100%) van ser obtinguts amb els bolus electrònics d'alta densitat (>3), el que fa recomanable el seu ús com a sistema de ID de referència en camells.

En l'Exp. 2, es van utilitzar 60 camelles en lactació sotmeses a amamentament (0 to 6 mesos) i munyida a màquina ($\times 1$ o $\times 2$ al dia) durant 3 anys. Es varen determinar la quantitat i composició de llet (i.e., sòlids totals, greix, proteïna, caseïna i INS) en 4 momnets de la lactació: calostre (0 a 2 d), inici (3 a 103 d), meitat (104 a 244 d) i final (245 a 365 d) de lactació. Es varen recollir un total de 316 mostres (calostre, $n = 41$; llet, $n = 275$). La producció mitjana de llet fou de $5,5 \pm 0,3$ kg/d (2.155 kg/any) amb un pic a meitat de lactació. L'anàlisi de mostres es va fer per mètodes de referència i kits ELISA de INS bovina. Subgrups de mostres van ser utilitzats per realitzar un calibratge amb espectroscopia d'infraroig proper (NIR). El NIR va predir de forma insatisfactòria la composició del calostre i l'INS en llet. Al contrari, les prediccions van ser satisfactòries pel greix, proteïna i sòlids totals en llet, i acceptable per a la resta de components. Els valors de greix i proteïna ($4,45 \pm 0,10\%$ i $2,90 \pm 0,05\%$, de mitjana, respectivament) van evolucionar inversament a la quantitat de llet, observant-se els valors més petits a la meitat de la lactació ($P < 0.05$). Els sòlids totals en llet van disminuir ($12.2 \pm 0.1\%$; $P < 0.05$) durant la lactació. La llet de camella es va caracteritzar per petits glòbuls de greix, inferiors a $5 \mu\text{m}$. Els nivells d'INS en llet (1.63 ± 0.29 ng/mL, de mitjana) van variar de manera quadràtica a mesura que va avançar la lactació ($P < 0.05$), corresponent-se els valors mínims en meitat de lactació, i sense correlació amb el valor en sang.

L'Exp. 3 va estudiar el metabolisme de GLU i INS en 2 grups de dromedaris joves lactants de diferents edats (A, 15 d, $n = 5$; B, 132 d, $n = 5$) que es van sotmetre a un assaig de tolerància a la GLU ($0,25$ g GLU/kg PV) i reptes d'INS (4.6 mg INS/kg PV) en dejú. Els resultats obtinguts van mostrar que els dromedaris lactants adquireixen un estat natural d'hiperglucèmia i insulino-resistència, similar a una "pseudo-diabetis" després del naixement, que augmenta amb l'edat. Es confirma la disminució de la seva tolerància a la GLU i de la capacitat de secreció d'INS amb l'edat, el que evidencia l'ús de transportadors de GLU independents de la INS, juntament amb una baixa utilització dels àcids grassos lliures procedents de la mobilització de les reserves de greix. Aquests mecanismes semblen estar relacionats amb la conservació d'aigua i energia en condicions de subnutrició i estrès per calor, per garantir la supervivència de les cries.

Índice

Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Consideraciones Generales	1
1.2 Contexto y justificación de la tesis	2
1.2.1 El camello como especie ganadera.....	2
1.2.2 Fuerteventura Oasis Park.....	3
1.2.3 Proyecto de una granja de camellos	3
1.2.4 Estructura de la Tesis.....	5
Capítulo 2. Revisión Bibliográfica	7
2.1 Generalidades de los camellos	9
2.1.1 Taxonomía y distribución.....	9
2.1.2 Dromedarios	11
2.1.3 Usos de los dromedarios.....	13
2.2 El camello Canario.....	13
2.3 Principales adaptaciones de los camellos a los ambientes desérticos	15
2.3.1 Adaptaciones morfológicas	15
2.3.2 Adaptaciones fisiológicas generales	17
2.3.3 Comportamiento térmico	18
2.3.4 Metabolismo de la sal	18
2.3.5 Porcentaje de agua corporal y deshidratación	19
2.3.6 Temperatura corporal	25
2.3.7 Sistema respiratorio	27
2.3.9 Metabolismo energético de los camélidos	35
2.4 Leche de camella	38
2.4.1 Generalidades sobre la leche	39
2.4.2 Producción de leche en camélidos.....	40
2.4.3 Calostro.....	42
2.5.4 Composición de la leche de camella.....	45
2.4.5 Interés del consumo humano de leche de camella.....	52
2.5 Identificación de los camellos.....	58
2.5.1 Necesidad de la identificación individual y trazabilidad.....	58
2.5.2 Estandarización de la identificación	60
2.5.4 Sistemas de ID electrónica (e-ID)	63
2.5.5 Criterios de elección de un sistema de ID adecuado para camellos	66
Capítulo 3: Objetivos	69

Capítulo 4: Comparison of visual and electronic devices for individual identification of dromedary camels under different farming conditions	73
4.1 Introduction	77
4.2 Materials and Methods	77
4.2.1 Animals and Management	78
4.2.2 Identification Devices	79
4.2.3 Reading of ID devices	82
4.2.4 Statistical Analyses	83
4.3 Results	84
4.3.1 Previously Applied Identification	84
4.3.2 Newly Applied Identifications	84
4.4 Discussion	89
4.4.1 Previously Applied Identification	89
4.4.2 Newly Applied Identifications	91
4.5 Conclusions	93
Capítulo 5: Changes in major milk components and levels of insulin of Canarian dromedary camels (<i>Camelus dromedarius</i> L.) throughout lactation	95
5.1 Introduction	99
5.2 Materials and Methods	100
5.2.1 Milk Recording and Sampling Procedure	101
5.2.2 Insulin Spiked Milk Samples	101
5.2.3 Analyses	102
5.2.3 Statistical Analyses	104
5.3 Results and Discussion	104
5.3.1 NIR spectroscopy versus laboratory composition	104
5.3.2 Analysis of INS in Spiked Milk Samples by NIR	108
5.3.3 Evaluation of Milk Yield of Canarian Camels	109
5.3.5 Colostrum production of Canarian camel breed	110
5.3.6 Milk Composition of the Canarian Camel	112
5.3.7 Confocal Laser Scanning Microscopy of Camel Milk	115
5.4 Conclusions	¡Error! Marcador no definido.
Capítulo 6: Hyperglycemia and low insulin sensitivity are natural conditions of healthy camel calves that appear at early age during suckling	119
6.1 Introduction	123
6.2 Materials and Methods	125
6.2.1 Animal and Management Conditions	125
6.2.2 Experimental Treatments and Procedures	125

6.2.3 GTT	126
6.2.4 IC	126
6.2.5 Biochemical Analyses	127
6.2.6 GLU and INS Indices	127
6.2.7 Statistical Analyses.....	128
6.3 Results.....	128
6.3.1 GTT	128
6.3.2 IC	131
6.3.3 GLU and INS Indices	134
6.4 Discussion.....	134
6.4.1 GTT	134
6.4.2 IC	137
6.4.3 GLU and INS Indices	140
6.5 Conclusions.....	141
Capítulo 7: Conclusiones	143
Capítulo 8: Bibliografía	149

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 CONSIDERACIONES GENERALES

A lo largo de este documento se usa el término “camello”, para referirse a la especie dromedario (*Camelus dromedarius* L.) debido a que es el utilizado en Canarias y en los países árabes (جمال = jamel). A nivel mundial, la producción de leche de vaca es muy elevada y se estima en 665 Mt al año, de las cuales entorno al 24% se produce en la Unión Europea (INLAC, 2016). Por el contrario, la producción mundial de leche de camella es baja (2,91 Mt) y supone sólo un 0.39% del total de leche producida en el mundo (FAOstat, 2016), tal como se observa en la **Figura 1**.

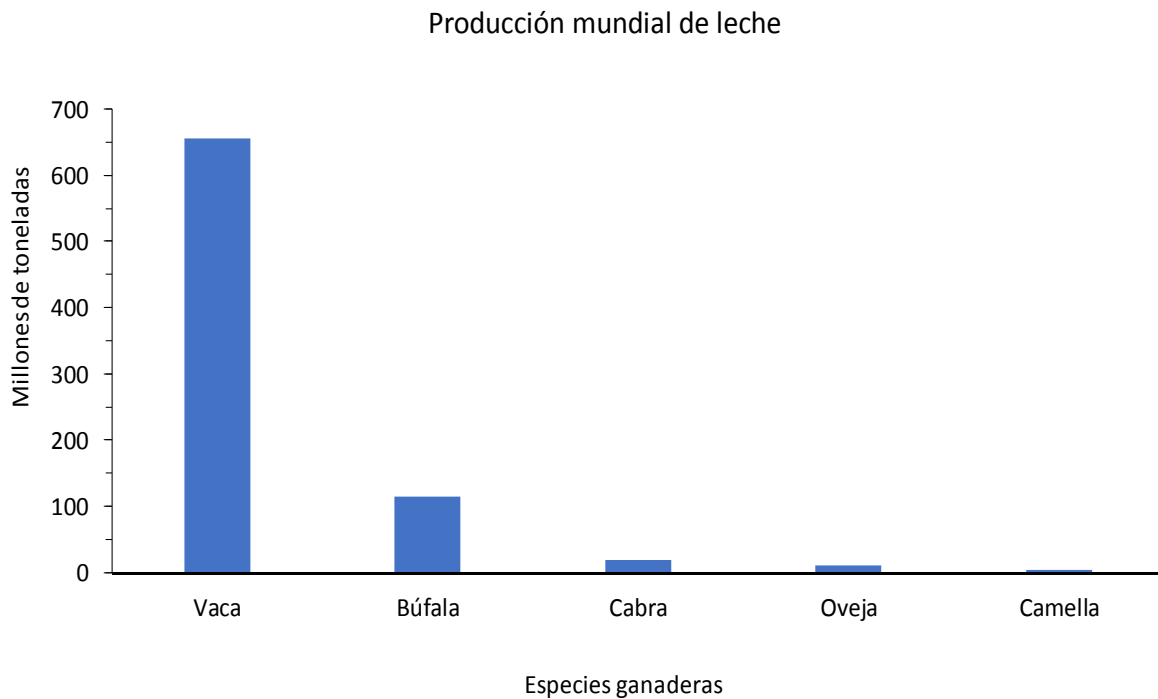


Figura 1.1. Producción mundial de leche por especies en el año 2014. *World’s milk production by species in 2014* (FAOstat, 2016).

El principal país productor de leche de camella es Somalia, que produjo aproximadamente 1,1 Mt en 2014 (FAOstat, 2016), seguido a mucha diferencia en cuanto a nivel de producción por Mali, Etiopía, Arabia Saudí y Níger, con cantidades inferiores a 0,3 Mt por país. La

producción de leche de camella en Europa es prácticamente inexistente, concentrándose en pequeñas cantidades en Canarias y Holanda, según estimaciones personales.

A pesar de que el sector lácteo español es un sector maduro, que cuenta con una cadena de valor bien estructurada y definida, actualmente se encuentra en crisis. Las principales causas responsables han sido, por un lado, la disminución de las exportaciones a China y Rusia, junto con la supresión de las cuotas lácteas a partir de abril de 2015, lo que ha provocado una reducción en los precios de la leche, así como, por otro, la tendencia nacional decreciente en el consumo de leche y productos lácteos (INLAC, 2016).

A nivel europeo, España ocupa el séptimo lugar en producción de leche de vaca (4.2% del total de vaca), el cuarto en la de leche de oveja (21% del total) y el segundo en leche de cabra (22% del total). Sin embargo, no se produce oficialmente leche de camella, aunque podría ser una alternativa innovadora dentro del sector lácteo español.

Por otro lado, el sector cárnico mundial, muestra un interés creciente en la carne de camello. En la actualidad, existe abundante bibliografía disponible al respecto y aumenta el número de mataderos adaptados para la producción de carne de camello, principalmente en Oriente Medio. La producción mundial de carne de camello se estimó en 0,703 Mt en 2014 (FAO, 2016), siendo el principal país productor Sudán (0,16 Mt), seguido por Sudán del Sur, Kenia y Arabia Saudí (FAOstat, 2016).

En 2004 se editó el libro “Milk and Meat from the Camel” (Farah y Fischer, 2004), donde se muestra la aplicación de tecnología moderna en la obtención de productos de esta especie. Otros productos que se obtienen del camello y que actualmente se comercializan son la grasa (joroba), la piel y lana del camello.

1.2 CONTEXTO Y JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

1.2.1 El camello como especie ganadera

La Comisión Nacional de Coordinación para la Conservación, Mejora y Fomento de razas Ganaderas española acordó, el 24 de marzo de 2011, el reconocimiento del Camello Canario como raza y su inclusión en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España. Los camellos son una especie ganadera desconocida en España para la producción de leche y otras producciones (e.g., carne, lana, trabajo). Debido a esto, no existe información y legislación específica para la implantación y regulación de granjas de camellos.

La leche de camella es un producto diferente con particularidades que no se ajustan totalmente a los principales indicadores del sector lácteo. En sí misma, presenta atributos

asociados a lo natural y étnico, en definitiva, una leche diferente, independientemente de las propiedades saludables que le han sido atribuidas y podrían permitir clasificarla como un alimento funcional. Su consumo es una alternativa para personas con alergia a diversas proteínas de la leche de vaca (e.g., β -lactoglobulina), y que a diferencia de otras leches que se comercializan actualmente (vaca, cabra, yegua), la leche de camella no contiene. Debido a sus características particulares y a la falta de abastecimiento internacional, su producción podría tener ventajas diferenciales para el sector lácteo europeo, español y canario en particular.

1.2.2 Fuerteventura Oasis Park

Desde su introducción en las Islas Canarias, ha existido un continuo intercambio de camellos con el continente africano en ambas direcciones. Tras la integración de España en la Unión Europea y la adopción de la normativa sanitaria europea pertinente, las importaciones de camellos disminuyeron, hasta su interrupción total en el año 1996, lo que llevó a un aislamiento de la población canaria de camellos. La prohibición de la importación de camellos de África, por las barreras sanitarias existentes, ha contribuido a que Canarias, y en especial las islas de Fuerteventura y Lanzarote, se conviertan en la principal región exportadora de camellos para el resto del continente europeo (Fabelo, 2008).

El trabajo de esta Tesis ha sido desarrollado, casi en su totalidad, con material obtenido en el Oasis Park de Fuerteventura, un núcleo zoológico ubicado en la isla de Fuerteventura (Erbani), que con 370 ejemplares cuenta con el rebaño de camellos más grande de Europa.

En 2010, el Oasis Park inició una serie de actividades y proyectos de I+D+i (Programa INNCORPORA del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España) para llevar a cabo la primera granja de camellos de España destinada a la producción y comercialización de leche.

Entre las actividades desarrolladas, en 2012 se firmó un primer convenio de colaboración con la Universitat Autònoma de Barcelona, que se amplió en 2016 con la incorporación de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria y la King Saud University de Arabia Saudí.

1.2.3 Proyecto de una granja de camellos

Esta Tesis Doctoral surge para dar respuesta a una serie de preguntas fundamentales planteadas al intentar poner en marcha una granja de camellas lecheras en Fuerteventura.

Como prioridades se detectaron: 1) identificar a los animales, 2) conocer el potencial de producción y la composición de la leche de camella, y 3) estudiar las propiedades funcionales de la leche de camella obtenida.

La primera dificultad encontrada fue disponer de una metodología de realización de un censo ganadero y de categorización de los animales de acuerdo a sus características y necesidades, tanto productivas y de manejo, como nutritivas. La situación de partida fue la gran diversidad y deficiencias de los sistemas de identificación (ID) empleados hasta la fecha (e.g., microchips inyectados y crotales visuales de diversos tipos), así como las pérdidas y re-identificaciones anuales llevadas a cabo en las campañas de saneamiento oficial, lo que impedía la trazabilidad individual de los animales y disponer de sus filiaciones e historias productivas.

La ausencia de legislación específica para la ID de camellos, tanto a nivel nacional como europeo, obligó a la búsqueda de un sistema adecuado para los camellos. En este sentido, la legislación europea referente a la ID de bóvidos (i.e., *Bovis* spp. y *Bubalus* spp.), Reglamentos (CE) 1760/2000 y (UE) 653/2014, y ovicaprinos (i.e., *Ovis* spp. y *Capra* spp.), Reglamento (CE) 21/2004 y (CE) 1782/2003, considera la necesidad de una doble identificación, indicando que uno de los dispositivos debe ser de tipo electrónico (recomendación en bóvidos, obligación en ovicaprinos). Teniendo en cuenta estos reglamentos como referencia, y conocidos los distintos sistemas de ID disponibles en ganadería (tanto tradicionales como modernos) se diseñó el primer experimento de esta Tesis (Capítulo 4).

La raza de camello Canaria se ha destinado tradicionalmente al trabajo en labores agrícolas (e.g., arado y acarreo de tierras para bancales y gavias, transporte de cosechas y material para caleras) y nunca se seleccionó por su aptitud lechera. Son camellos bajos y anchos, con gran desarrollo muscular del tercio anterior debido a su utilización como animal de trabajo. Por ello, el desarrollo de rutinas y equipos para el ordeño manual y mecánico, la estimación de la producción media de leche y total durante toda la curva de lactación, así como la composición de la leche (i.e., componentes nutritivos y funcionales) y los principales efectos de la alimentación (i.e., cantidad y calidad de la ración), son aspectos desconocidos en esta raza. A pesar de la existencia de bibliografía científica sobre estos aspectos en camellos de otras partes del mundo, los datos no son directamente aplicables debido a las diferencias morfológicas y productivas de las distintas razas de camellos (i.e., peso vivo 300 a 700 kg, condiciones ambientales extremas y nivel de producción).

Por todo ello, y con la finalidad de estudiar la producción y composición de la leche producida por las camellas de raza Canaria, tanto en componentes nutritivos como funcionales, se realizó su seguimiento durante toda la lactación (Capítulo 5).

Por último, durante el primer año de trabajo de esta Tesis, se constató una elevada tasa de mortalidad perinatal de los camellos jóvenes (guelfos), próxima al 20%. Las principales causas de mortalidad correspondieron a hipotermia (con hipoglucemia clínica) y diarreas. En

comparación, los niveles de glucemia de los camellos sanos, eran elevados y mostraban valores entre 100-223 mg/dL durante el periodo de cría (0-3 meses de edad), en el que se produce la mayor mortalidad en todas las especies. Con el fin de entender estas variaciones, aparentemente normales de los niveles de glucemia y papel desempeñado por el metabolismo de la glucosa durante el periodo de amamantamiento de las crías, se diseñó el tercer experimento de la Tesis (Capítulo 6).

1.2.4 Estructura de la Tesis

El trabajo experimental de la presente Tesis está así constituido por 3 experimentos que se presentan en formato de capítulos independientes, escritos en inglés, para su publicación en revistas internacionales.

El primero de ellos, iniciado mediante un proyecto AECID de cooperación internacional (Agencia Española de Cooperación Internacional y Desarrollo, proyecto PCI A/025331/09), compara los resultados de diferentes sistemas de identificación, visuales y electrónicos, a medio plazo en diferentes razas de camellos y localizaciones geográficas (Canarias, Egipto, Túnez y Arabia Saudí), así como bajo diferentes condiciones de manejo en granja.

El segundo experimento consistió en la evaluación de la composición química de la leche de una muestra de camellas de raza Canaria en Fuerteventura, el establecimiento de su curva de lactación y de variación de la composición de la leche, incluyendo la medida de la insulina como componente bio-activo presente en la leche.

En el tercer experimento, realizado con la colaboración de la King Saud University de Arabia Saudí (Strategic Technology Program of the National Science, Technology and Innovation Plan, NPST project 13-AGR1159-02), dos grupos de camellos lactantes (principio y final del periodo de cría) se sometieron a un ensayo de tolerancia a la glucosa y reto de insulina, con la finalidad de comprender las particularidades de su metabolismo glucídico y la relación con la insulina aportada por la leche.

Con los resultados obtenidos en la Tesis, se espera mejorar la información disponible a nivel nacional e internacional sobre el camello Canario, una especie y raza ganadera actualmente poco conocida y escasamente explotada en España y Europa. Por otro lado, se espera que también sirva como referente para que las autoridades administrativas y legislativas nacionales, puedan elaborar las normativas específicas correspondientes para la identificación de los animales y la producción y comercialización de la leche camella, así como de otros productos derivados en España y en la UE.

CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 2

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 GENERALIDADES DE LOS CAMELLOS

2.1.1 Taxonomía y distribución

El nombre del camello procede del latín (*camelus*) y éste del griego (κάμηλος) y se usa comúnmente para designar al animal doméstico característico de los desiertos de Asia, con 2 jorobas. A nivel taxonómico, todos los animales semejantes a los camellos se agrupan bajo el nombre de camélidos y pertenecen al orden *Artiodáctila* (dedos articulados). A pesar de rumiar, presentan marcadas diferencias con los verdaderos rumiantes (suborden *Ruminantia*), por lo que se consideran como pseudorumiantes y se clasifican en el suborden *Tylopoda* (pies con almohadillas y sólo 2 dedos). Este suborden tiene una única familia, la *Camelidae*, compuesta por 2 subfamilias, 3 géneros y 7 especies:

- **Lamini**: camélidos americanos sin joroba o del Nuevo Mundo (*Lama* spp., llama y guanaco; *Vicugna* spp., alpaca y vicuña).
- **Camelini**: camélidos euroasiáticos con joroba o verdaderos camellos del Viejo Mundo (*Camelus* spp., dromedarios con 1 joroba, y bactrianos y ferus con 2 jorobas).

Aunque todos los camélidos son originarios de Norte América, en donde se encuentran fósiles de inicios de la Era Terciaria (Eoceno tardío, -40 M años), los camélidos actuales proceden de los *Paracamelus* (camellos gigantes sin joroba), que tenían todavía 4 dedos y que los perdieron durante el final de la Era Terciaria (Mioceno, -20 M años). Al unirse Eurasia y ambas Américas, los *Paracamelus* emigraron (-3 M años) para evitar la llegada de los nuevos predadores y se dispersaron por los desiertos de Asia central y del norte de África (**Figura 2.1**), dando origen a las 3 subespecies de *Camelus* spp. que sobreviven en la actualidad. Se han encontrado fósiles de *Paracamelus* de inicios de la Era Cuaternaria (Pleistoceno, -3 k años) en Europa y España. Los fósiles actuales parecen indicar que la separación entre dromedarios y bactrianos ocurrió antes de la migración a Eurasia.

Ambas subfamilias *Lamini* y *Camelini* tienen el mismo número cromosómico ($n = 74$) y se hibridan fácilmente entre sus respectivas especies intra-subfamilia, con descendencia fértil (Gray, 1972). La hibridación de especies inter-subfamilia se ha llevado a cabo con guanacos y dromedarios de ambos sexos por medio de inseminación artificial. Las gestaciones obtenidas,

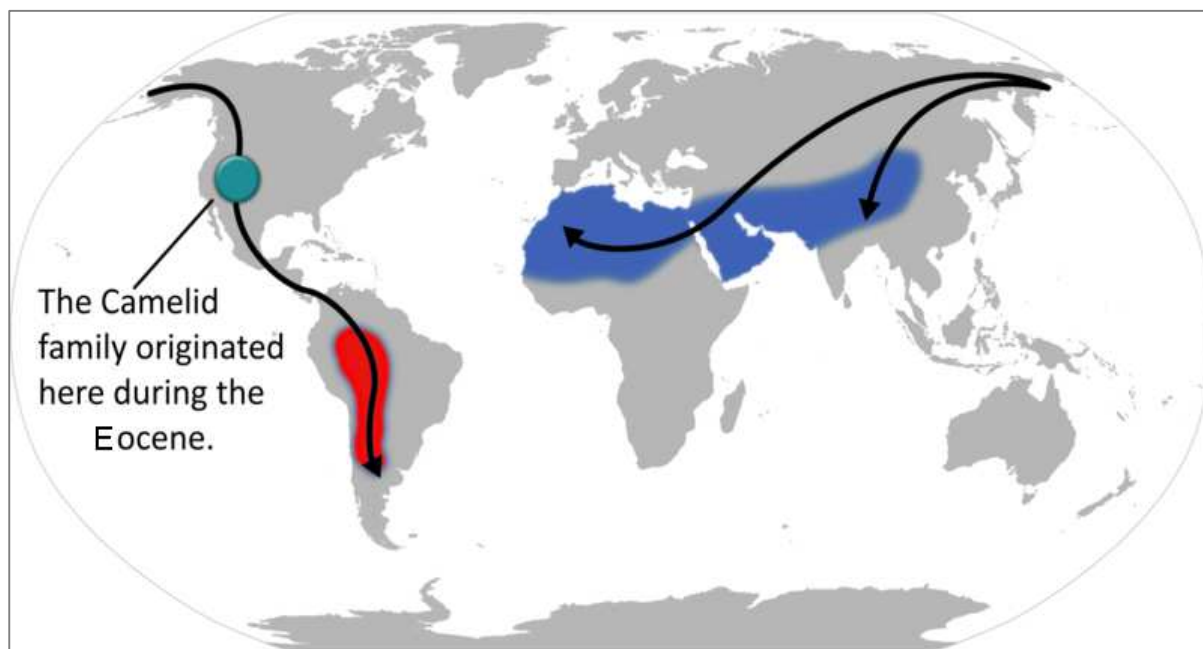


Figura 2.1 Origen y migración de los camélidos en el mundo. *Origin and migration of the camelids in the world* (Wikipedia.org).

con preponderancia de fetos hembras, sólo produjeron 1 macho viable (*C. dromedarius* × *L. guanacus* = Cama), sin joroba y estéril (Skidmore et al., 1999). Al contrario, los híbridos resultantes entre *C. bactrianus* × *C. dromedarius* dan en todos los casos descendencia viable y fértil, aunque con sólo una joroba.

Los estudios de genómica comparativa (Wu et al., 2014) han demostrado que el genoma de la familia *Camelidae*, presenta una alta sintenia con el genoma humano y el del bovino (grado de coincidencia >83%). La evolución divergente sufrida por la familia *Camelidae* muestra mutaciones de un solo gen (Wu et al., 2014) o reordenamientos cromosómicos menores (Taylor et al., 1968).

Es difícil estimar el número de camellos a nivel mundial, ya que es un animal de pueblos nómadas y pastores de gran movilidad geográfica, y también porque no suelen estar sujetos a control y vacunación. Por tanto, tener un censo exhaustivo de camellos es complicado (Faye, 2015). Del total de herbívoros domésticos, los grandes camélidos o del Viejo Mundo (dromedarios y bactrianos) representan un 0,4% en total (Faye, 2015).

Oficialmente, existen 27 millones de camellos (*Camelini*) en el mundo (FAO, 2015), de los que aproximadamente el 90% son dromedarios o camellos Árabigos. Están presentes en todas las tierras del viejo mundo (excepto África meridional), distribuyéndose en más de 35 millones de km² (Faye, 2015). De una forma general, los camélidos se caracterizan por habitar zonas

remotas, tierras áridas o de montaña, debido a la buena adaptación de las distintas especies a cada uno de estos ecosistemas.

La distribución actual de los *Camelus* spp. se extiende a los terrenos áridos y planos entre el Ecuador y el paralelo 40°N (desde las islas Canarias hasta Rajasthan) y entre los paralelos 20 y 30°S (desiertos australianos), tal como muestra la **Figura 2.2**.

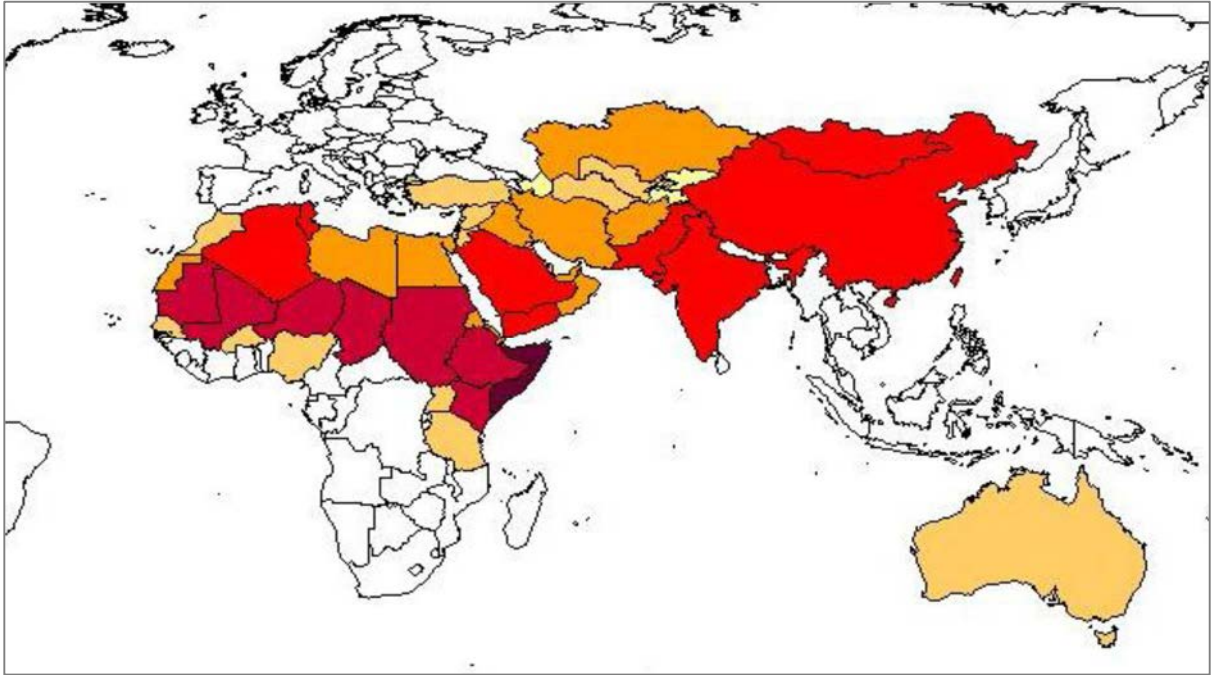


Figura 2.2 Distribución y cantidad de camellos (dromedarios y bactrianos) en el mundo.

Distribution and amount of camels (dromedaries and Bactrians) in the world (Faye, 2015).

2.1.2 Dromedarios

El dromedario tuvo una domesticación muy tardía, en relación a otras especies ganaderas, que se realizó en la Península Arábiga (Quajd y Kamel, 2009), hace aproximadamente 5.000 años (–3 k a.C.). La evolución de estos animales ha sido con una baja presión de selección, subrayando la selección antropogénica sufrida para fines específicos (carga, carreras o producción lechera), y que a su vez ha dado lugar a diversos fenotipos y razas (Burger y Palmieri, 2013).

El nombre dromedario deriva del griego δρόμος = *dromos* (carretera) y hace referencia a su primer uso como animal de transporte en caravanas (**Figura 2.3**). El dromedario (*Camelus dromedarius* L.) o camello Árabe es todavía hoy una importante fuente de trabajo (transporte y deporte), materiales (lana y cuero) y alimentos (carne y leche) en muchas partes del mundo, especialmente en países en vías de desarrollo de África y Asia.

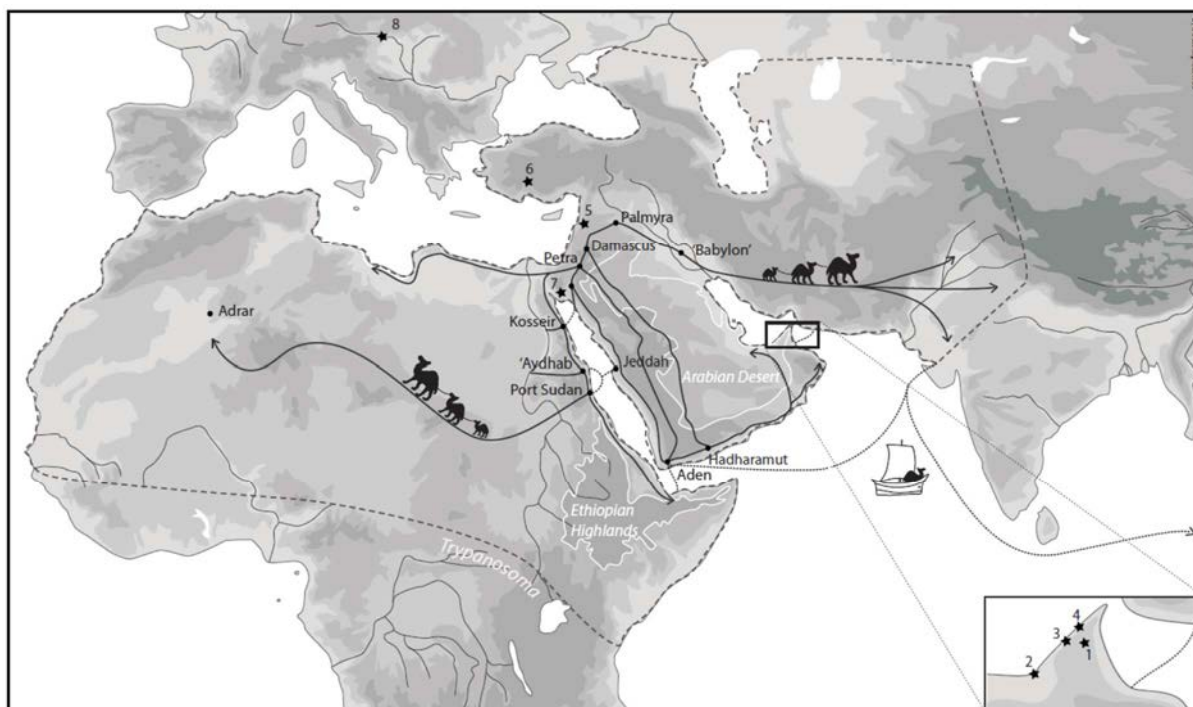


Figura 2.3 Representación esquemática de las rutas de las caravanas del Incienso y de la Seda y principales restos arqueológicos de dromedarios (estrellas). *Schematic representation of the Incense and Silk caravan routes and main dromedary archeological remains (stars)* (Almathen et al., 2016).

Los dromedarios destacan por su potencial productivo en ambientes desérticos y contribución en el desarrollo económico y social de las regiones donde se encuentra presente. Además, tienen un papel importante en el mantenimiento del equilibrio del agro-ecosistema de las zonas áridas, lo que es especialmente importante teniendo en cuenta los cambios climáticos actuales. Los dromedarios son especialmente conocidos por sus peculiaridades fisiológicas, que ligadas a su capacidad de adaptación a las duras condiciones del desierto, hacen de esta especie un interesante modelo biológico de estudio (Faye, 2015).

Existe una alta variabilidad fenotípica entre dromedarios de diferentes partes del mundo y también un alto grado de confusión en cuanto a su denominación, ya que incluso se denominan como razas a diferentes tipos del mismo de animal (Faye, 2015). Esto se debe a que en ocasiones estas denominaciones hacen referencia al color de la capa o al nombre de la tribu de sus dueños. Por otro lado, los resultados que aporta la genética molecular corroboran esta alta confusión en la biodiversidad de los camellos (Faye, 2015). A modo de ejemplo, en Arabia Saudí, han sido descritos 9 fenotipos de camellos, pero mediante la genética molecular sólo fue posible la identificación de 3 subtipos (Faye et al., 2011).

2.1.3 Usos de los dromedarios

Unas de las razones actuales de interés por los camélidos se debe a que permiten el mantenimiento de las actividades rurales en lugares inhóspitos del planeta (Faye, 2015). A nivel mundial, los usos productivos que se le dan a los camellos son los siguientes (Schulz, 2008):

- **Transporte y carga:** Agrícola (tracción de carros y arados, giro de norias y molinos) y militar (monta y carga en los ejércitos). Su capacidad de carga es próxima a su propio peso (300-865 kg).
- **Especie de abasto:** proporciona leche, carne, lana, cuero, grasa (joroba), patas (sandalias y suelas de calzado), excrementos (se utilizan como combustible y como abono en el campo) y orina (se le atribuyen propiedades medicinales y se usa también como fertilizante).
- **Actividades de ocio:** Turismo (paseos y excursiones), carreras (pueden alcanzar velocidades de 45 km/h), otros deportes (polo y peleas de machos) y exhibiciones (belleza y danza).

2.2 EL CAMELLO CANARIO

Los camellos Canarios, constituyen la población autóctona más importante de camellos europeos. A primera vista, resultan evidentes las diferencias fenotípicas del camello Canario con los de otras partes del mundo.

Para entender mejor esto, compararemos los camellos de Pakistán, que se caracterizan por ser muy altos y tener un peso superior a los 500 kg, pudiendo llegar a los 780 kg (Schulz, 2008), con los camellos Canarios que son más pequeños y con un peso medio estimado de 484 kg en las hembras y de 503 kg en los machos (MAPAMA, 2016).

En un estudio genético realizado por Schulz et al. (2010), donde se analizaron 9 poblaciones de camellos de diferentes países (Somalí, Rendille, Turkana, Gabbra, Pakistani, Arabia Saudí, Emiratos Árabes Unidos, Tindouf y Canaria) usando 13 microsatélites como marcadores, se demostró que la mayor cercanía genética de la raza Canaria era con la población de camellos del Norte de África (Tindouf, Argelia), observándose además un cierto grado de sub-división con diferencias genéticas entre criadores. Los niveles de diferenciación genética encontrados entre las distintas poblaciones analizadas tuvieron un valor global F_{ST} (Fixation index) de 0,116.

Actualmente la Raza Canaria se encuentra en el catálogo oficial de razas del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) estando considerada como raza autóctona en peligro de extinción.

A nivel genérico mencionaremos que la raza Canaria debe su nombre a su principal área de expansión, las islas Canarias. La llegada de estos animales a las Islas Canarias se estima en el siglo XV (año 1405), sin evidencia prehispánica de la presencia de la especie entre los antiguos guanches. Los camellos vinieron de África y llegaron a las islas junto con los moriscos capturados (utilizados como esclavos) y se supone que lo hicieron amarrados a las embarcaciones (la distancia entre África y Fuerteventura es de aproximadamente 95 km) (Schulz, 2008). Tal fue la adaptación de estos animales a las islas que, tan sólo dos siglos después de su primera introducción, había miles de animales en las diferentes islas (Schulz et al., 2010). En el siglo XVII, José Ruiz Cermeño censó 2.052 camellos sólo en la isla de Fuerteventura (Fabelo, 2008). En un censo elaborado en los años posteriores a la guerra civil (entre los años 40 y 50), estimaron unos 3.000 animales aproximadamente (Fabelo, 2008), mientras que en la actualidad la ACCC (Asociación de Criadores del Camello Canario) estima la presencia de 1.030 cabezas en toda Canarias (F. Fabelo, comunicación personal). Esta reducción se debe principalmente al abandono de la agricultura tradicional como principal fuente de sustento económico (Schulz et al., 2010).

El camello tuvo un papel muy importante en la ganadería de la isla de Fuerteventura a principios del siglo XX, época en la que se implantaron los primeros cultivos de legumbres y cereales de secano, así como de cebollas. En aquella época, tener un camello en casa era símbolo de prosperidad económica y elevado nivel social. Sin embargo, en la década de los 60, debido a las condiciones de sequía y hambruna en la isla de Fuerteventura, una parte importante de la población majorera emigró al Sáhara Occidental. A la vez, comenzó el proceso de transición que haría que la economía de las islas se orientara mayoritariamente hacia el turismo. A título informativo, los primeros hoteles en la isla de Fuerteventura se construyeron en 1972 (L. Cabrera, comunicación personal). En los periodos de hambruna que azotaban la isla, desaparecieron la mayor parte de los camellos de Fuerteventura. Eran vendidos a marchantes árabes que los transportaban a El Aaiún (Sahara Occidental), donde se sacrificaban para obtener su carne. Posteriormente, en la década de los 80, el Cabildo de Fuerteventura realizó importaciones de camellos de Mauritania (20-30 cabezas) para reintroducir de nuevo este animal en la isla de Fuerteventura.

Se debe resaltar que el uso principal de los camellos en las islas Canarias, nunca fue el de producir carne o leche. Se destinaban a labores de carga, transportando cualquier tipo de

mercancía (e.g., piedras, cal, picón y arena), dentro de unos típicos cajones trapezoidales para facilitar su descarga. Cargaban también leña de matorrales (e.g., aulaga, salado, espino) como combustible para quemar la piedra caliza en hornos y obtener cal. También transportaban cereales para moler, fruta, cebollas y otros productos agrícolas. Además, se usaban como animales de tracción, arrastrando palas para nivelar y hacer los trastones (paredes) de las tradicionales gavias (parcelas destinadas a recoger el agua de escorrentía y permitir el cultivo de estación). Actualmente, los camellos se usan para actividades turísticas (e.g., paseos) y a la reproducción y cría para venta. A modo de ejemplo, únicamente en la isla de Lanzarote durante 2016, se estima que se vendieron unos 200 animales (F. Fabelo, comunicación personal) con destino a granjas de producción de leche de camella en Francia, Holanda y Alemania.

El rebaño actual de Oasis Park Fuerteventura, se inició en el año 1986 con 3 camellos de exposición utilizados como atractivo turístico en las instalaciones de la Lajita (Fuerteventura). Con la idea de aumentar el rebaño, los propietarios del parque compraron camellos en Dakhla, Tan Tan y la zona de El Aaiún (Sahara Occidental). Con la finalidad de recuperar animales de tipo Canario, se contactó con un marchante capaz de localizar las granjas donde fueron a parar los camellos importados de Fuerteventura. Las hembras se seleccionaron por su producción de leche, siendo la media de producción de estos animales en el momento de su compra de aproximadamente 3 L/d. En total se importaron 102 camellos, con la autorización sanitaria pertinente. Desde entonces, el número de camellos del rebaño de Oasis Park Fuerteventura ha ido en aumento, convirtiéndose en un centro de cría referente en Canarias. Sin embargo, pese a ser un centro de referencia para la cría de este animal, la creación de granjas para producir leche de camella en Canarias no ha merecido mucha atención hasta el momento.

2.3 PRINCIPALES ADAPTACIONES DE LOS CAMELLOS A LOS AMBIENTES DESÉRTICOS

Los camellos son capaces de sobrevivir en ambientes desérticos extremos, en condiciones de altas o bajas temperaturas, suelos arenosos o pedregosos, con viento y polvo en el ambiente, escasez de agua o de elevado contenido en sal, así como en condiciones de escasez y baja calidad de alimento. Este es posible gracias a las importantes adaptaciones morfológicas y fisiológicas que han incorporado evolutivamente.

2.3.1 Adaptaciones morfológicas

Al ver un camello llama la atención su característica morfología, que es resultado de las modificaciones introducidas por selección para adaptarse a los ambientes extremos en los que

vive. Entre las principales adaptaciones morfológicas destacan, tal como indica Schulz (2008) y que se discuten a continuación:

- **Conformación del animal:** La forma estrecha del cuerpo del camello es una ventaja frente al calor y al viento, ya que permite cambiar la orientación para conseguir una menor o mayor superficie de exposición según las condiciones ambientales (**Figura 2.4**).

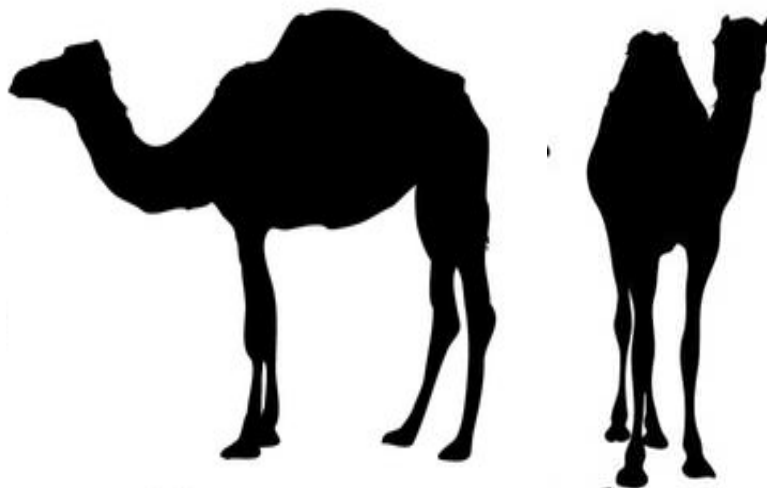


Figura 2.4 Siluetas y superficie de exposición de dromedarios. *Silhouettes and surface of exposition of dromedaries.*

- **Orejas:** Pequeñas y cubiertas de pelo para evitar la entrada de polvo y arena.
- **Boca:** Con una mayor apertura que la de otros herbívoros domésticos, debido a la forma cruzada de los músculos laterales de la boca y a la hendidura central del labio superior.
- **Ojos:** Provistos de dos tipos de pestañas, unas cortas y densas que actúan como barrera protectora frente al polvo y la radiación ultravioleta, y otras largas que poseen sensibilidad táctil y permiten cerrar a tiempo el ojo cuando hay objetos que puedan dañarlo (e.g., pastoreo de arbustos espinosos). Sus lágrimas se excretan directamente a través del párpado y no por conductos lagrimales internos, lo que permite una mejor función de limpieza e hidratación. Además, poseen un cordón de grasa en la parte superior de la órbita del ojo que, a modo de ceja, protege el ojo del sol.
- **Nariz:** De fosas nasales alargadas y estrechas, provistas de unos músculos que permiten su cierre inmediato, impidiendo la entrada de polvo y arena.
- **Cuello:** Aunque tiene 7 vértebras como otros mamíferos (e.g., humanos o jirafas), éstas son más alargadas, lo que le sirve para poder comer plantas altas o, dada la longitud de sus patas, para poder beber o comer en el suelo.

- **Callosidades de las patas y del pecho:** Permiten que el camello pueda echarse sobre el suelo caliente o frío del desierto, sin sufrir quemaduras o congelación.
- **Pezuñas:** Los camellos son artiodáctilos de pezuña hendida (2 dedos) con sus correspondientes uñas. Carece de dedos posteriores y tiene soldados los huesos del carpo y metacarpo. Su principal característica es que la suela es grande, entera y blanda porque en su interior contiene un gran depósito de grasa. Esto le permite andar en terrenos arenosos sin hundirse (**Figura 2.5**).

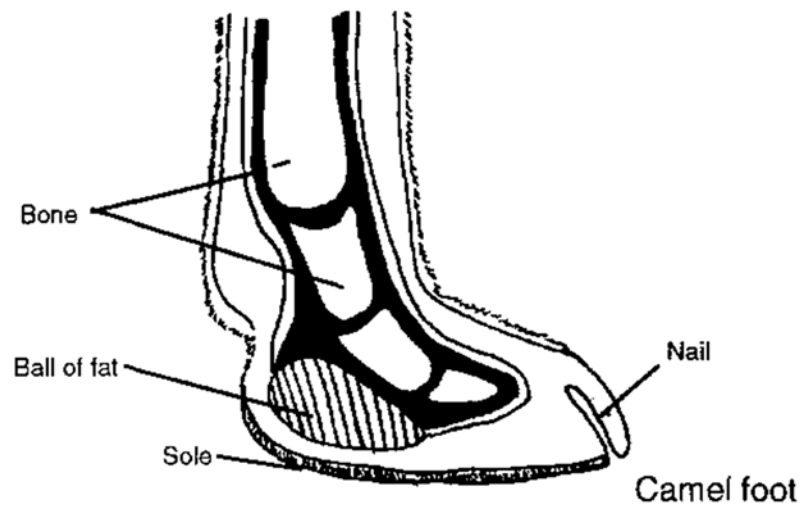


Figura 2.5 Estructura del pie del camello. *Structure of the camel foot* (PAHCW FAO, 2017).

- **Longitud de las patas:** Especialmente largas, permiten que el cuerpo se mantenga a una mayor distancia del suelo para disminuir el calor radiante y permitir una mayor ventilación.
- **Joroba:** Es donde se almacena la mayor parte de la grasa corporal, lo que ayuda a que se disipe mejor el calor por el resto del cuerpo. Lo normal es que contenga entre 10-30 kg de grasa, aunque puede alcanzar los 90 kg. En los primeros estudios sobre el metabolismo de los camellos, se concluyó que a partir de la grasa de la joroba se generaba agua en condiciones de deshidratación. Sin embargo, actualmente se ha confirmado que el gasto energético para esta transformación metabólica es demasiado alto para que la proporción de agua obtenida sea significativa.

2.3.2 Adaptaciones fisiológicas generales

Las funciones fisiológicas del cuerpo de los camellos se han adaptado para sobrevivir en condiciones de desierto, tal como se ha demostrado por medio de estudios genéticos. Wu et al.

(2014) identificaron, mediante estudios de ontología génica comparada de genes ortólogos (presentes en 23 especies animales y con cambios en un único aminoácido) la alteración de 343 genes de un total de 74 cromosomas, en el caso del dromedario. La mayor parte de los genes que han sufrido expansión a lo largo de su proceso evolutivo, pertenecen a categorías que actúan sobre el metabolismo celular (i.e., actividad catalítica, unión de pequeñas moléculas y de ATP), actividad de receptores olfativos, metabolismo del sodio, hierro e inmunidad.

Por otro lado, el camello muestra importantes adaptaciones fisiológicas con papel relevante en condiciones de escasez de agua y comida.

2.3.3 Comportamiento térmico

Siempre que le sea posible, el camello evita tumbarse al sol y cuando lo hace, se coloca de frente, de forma que presente una baja superficie de exposición del cuerpo. Además, al tumbarse en el suelo, sobresale marcadamente su esternón, que actúa como un escalón para evitar el contacto del abdomen con el suelo y permite la circulación de aire bajo el cuerpo (Faye, 1997).

Además, los camellos, aunque homeotermos, son capaces de modificar su temperatura corporal en un amplio rango de temperaturas según la temperatura ambiente, lo que les permite reducir la necesidad de utilizar mecanismos de evaporación (i.e., respiración y sudoración) para controlar la temperatura del cuerpo y así contener las necesidades y reducir el gasto de agua (Schmidt-Nielsen et al., 1956).

2.3.4 Metabolismo de la sal

El camello soporta una concentración de sal muy alta en la ración y puede sobrevivir perfectamente alimentándose de plantas saladas y bebiendo agua salobre (Schulz, 2008). La sal ingerida, que puede suponer más de 1 kg de NaCl a la semana (PAHCW FAO, 2017), influye principalmente en el balance hídrico de los camellos. Las necesidades de NaCl en los camellos son superiores a 100 g/d (Wilson, 1984), por lo que se recomienda un suministro permanente a libre disposición.

Respecto a la reabsorción de Na, resulta fundamental la bomba de Na-K que es una enzima integral de la membrana celular ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa o $\text{Na}^+\text{-K}^+$ adenosin tri-fosfatasa), cuya función es el transporte de los iones Na^+ y K^+ entre el medio extracelular y el citoplasma (citosol), tal como se representa en la **Figura 2.6**. La bomba expulsa cada vez 3 Na^+ a la vez que ingresa 2 K^+ por transporte activo con gasto de energía (ATP), a partir de glucosa, y es fundamental para el mantenimiento del gradiente de solutos y la polaridad eléctrica de la membrana celular.

Los avances recientes en biología molecular han contribuido de una manera especial a la identificación de los canales y transportadores específicos de Na y agua en el riñón, lo que ayuda en la comprensión de la regulación de su equilibrio en el cuerpo.

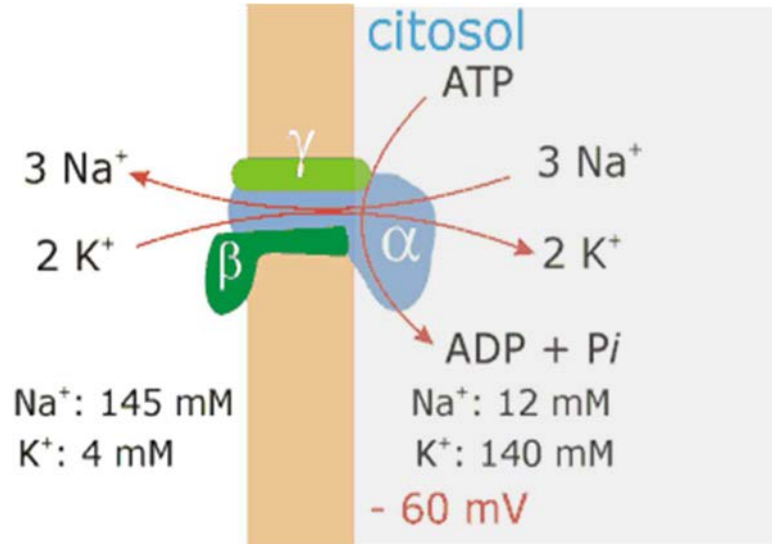


Figura 2.6 Modelo de actuación de la Na⁺-K⁺ ATPasa que bombea Na⁺ hacia fuera de la célula mientras bombea K⁺ hacia dentro, ambos contra gradiente de concentraciones, y controla el potencial electroquímico celular (la cara interior de la membrana se vuelve negativa respecto a la exterior). *Functioning model of the Na⁺-K⁺ ATPase that pumps sodium out of cells while pumping potassium into cells, both against concentration gradients, and controls the electrochemical potential of the cell (the internal face of the membrane becomes negative with regard to the external face).*

Los genes que codifican la Na⁺-K⁺ ATPasa y el canal epitelial de sodio (ENaC), que reabsorbe sodio en el riñón, sufrieron evolutivamente un aumento en su expresión en la corteza y médula renales por selección natural en condiciones de deshidratación (Wu et al., 2014). Además, la transcripción de las subunidades de ENaC en diferentes tejidos y bajo diferentes condiciones de hidratación-deshidratación, sugieren que el camello es capaz de regular la actividad de estos canales para reabsorber Na⁺ en diferentes estados, con el objetivo de asegurar su supervivencia en ambientes escasos de agua (Wu et al., 2014).

2.3.5 Porcentaje de agua corporal y deshidratación

- **Balance hídrico corporal:** El agua, es una molécula fundamental en el metabolismo, ya que la mayor parte de las reacciones químicas necesarias para el mantenimiento de la vida

tienen lugar en un medio acuoso (agua corporal). De hecho, un animal muere más rápido al no poder tener acceso al agua que por inanición. Las funciones atribuidas al agua son, entre otras, las de transporte y suministro a nivel tisular, regulación de la temperatura corporal y mantenimiento de la presión sanguínea para el adecuado funcionamiento cardiovascular (Shimamoto y Komiya, 2000). Aunque a priori pensemos lo contrario, el porcentaje de agua corporal presente en el camello, a pesar de habitar ambientes desérticos, es muy superior al de otras especies de mamíferos, tal como indicaron McFarlane et al. (1963) y se muestra en la **Tabla 2.1**.

Tabla 2.1 Renovación del agua corporal en distintas especies. *Body water turnover of different species* (MacFarlane et al., 1963).

Especie	Renovación diaria agua (mL/kg)	Días para 50% agua
Bovino (Shorthorn)	148	3.8
Ovino (Merino)	110	4.5
Dromedario (lactante)	93	5.5
Canguro rojo	88	6.5
Dromedario (no lactante)	61	7.8

El balance hídrico corporal es fundamental para el mantenimiento de la vida. Es importante mencionar la tasa de renovación de agua, que corresponde a la cantidad de agua reemplazada del total de agua corporal perdida en un periodo de tiempo dado. Las adaptaciones fisiológicas de los camellos a condiciones de deshidratación están en relación con su baja tasa de renovación corporal de agua (Tabla 2.1), para lo cual reducen al mínimo la evapotranspiración, y producción de orina, a la vez que aumentan la extracción de agua de los residuos de comida no digeridos (Schmidt-Nielsen et al., 1956).

Los camellos son capaces de tolerar pérdidas de agua corporal superiores al 25-30% PV (Schmidt-Nielsen, 1959) sin presentar ninguna alteración de sus funciones normales. Sin embargo, otros mamíferos no adaptados a estas condiciones, mueren por fallo circulatorio cuando las pérdidas de agua son superiores al 12% PV (Ingram y Mount, 1975). Los camellos pueden sobrevivir pastando forrajes frescos sin necesidad de beber agua durante largos periodos de tiempo, sin presentar signos de enfermedad (MacFarlane et al., 1963). En el estudio de MacFarlane et al. (1963) evaluaron la tasa de reposición de agua corporal y distribución del agua en camellos, ovejas, bovino y canguros. En los camellos no lactantes, sin suministro de agua durante 9 d en condiciones de temperatura

máxima diurna de 41°C, la tasa de renovación de agua fue aproximadamente 2/3 de la del canguro, 1/2 de la del ovino (raza Merina) y 1/3 de la observada en bovino.

- **Principales efectos de la deshidratación:** El acto de beber (hidratación), está controlado por diversos factores, entre los que se encuentran la osmolalidad de los tejidos y, más importante que ésta, la osmolalidad sanguínea.

Ben Goumi et al. (1993), tras 3 d iniciales bajo condiciones control, estudiaron el efecto de la deshidratación (14 d) y rehidratación (7 d) en dromedarios (n = 8) sometidos a altas temperaturas durante 24 d. Los principales efectos de la deshidratación fueron (**Tabla 2.2**):

- Disminución de la ingestión de alimento, con total supresión al d 14.
 - Disminución del peso vivo (35%).
 - Disminución de la frecuencia respiratoria respecto al control (13 ± 2 vs. 8 ± 1 resp./min).
 - Empeoramiento de la regulación de la temperatura rectal durante el día (mañana: 36.5 ± 0.5 vs. $35.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$; tarde: 37.8 ± 0.2 vs. $40.1 \pm 0.2^\circ\text{C}$).
 - Reducción del volumen de plasma (42%) y aumento de la concentración de hemoglobina (96%), hematocrito (27%) y concentración de Na (154 ± 2 vs. 191 ± 3 mM/L).
 - Reducción progresiva del volumen de orina (d 1, 48%; d 14, 80%) y aumento de la osmolaridad gracias a la mayor longitud de las asas de Henle de su riñón (Yagil, 1985).
- **Cambios hormonales durante la deshidratación:** Los efectos sanguíneos y urinarios observados durante la deshidratación están asociados a cambios hormonales y activación del sistema renina-angiotensina (RAS). El RAS es fundamental en la retención de Na y agua, vasoconstricción y liberación de la hormona antidiurética arginina-vasopresina (AVP) y la aldosterona, a fin de mantener el balance de electrolitos y la homeostasis circulatoria. La renina es una enzima secretada por el riñón en respuesta a la hipotensión o hiponatremia y que convierte el angiotensinógeno plasmático en angiotensina I, para ser posteriormente convertida en angiotensina II por la acción de la enzima conversión de la angiotensina (ECA), con la finalidad de aumentar la tensión arterial (Morales-Olivas y Estañ, 2011). La acción de la angiotensina II está mediada por los receptores RAT1 y RAT2, y tiene retroalimentación negativa sobre la renina.

Tabla 2.2 Efectos de los días de deshidratación en la sangre y la orina de dromedarios. *Effects of the dehydration days in the blood and the urine of dromedaries* (Ben Goumi et al., 1993).

Item	Deshidratación (d)						
	0	1	4	7	10	13	14
Sangre:							
Hemoglobina (g/L)	130	140	154*	169*	185**	204**	256**
Hematocrito (%)	29	29	32	31	31	35*	38*
Volumen plasma (%)	0	-7	-12*	-21*	-27**	-31**	-42**
Na (g/L)	154	162*	164*	172**	178**	185**	191**
K (g/L)	4.7	4.7	4.7	4.8	4.4	4.4	4.8
Osmolalidad (Osm/kg)	304	316*	333*	349**	366**	385**	406**
Orina:							
Volumen (L/d)	4.57	2.48*	1.40**	0.87**		0.82**	
Na (mM)	20	47	408**	355**		299*	
Excreción (μmol/min y kg)	0.17	0.21	1.48**	0.81*		0.61*	
K (mM)	245	421*	422*	259		235	
Excreción (μmol/min y kg)	1.95	2.14	1.60	0.69*		0.41*	
Osmolalidad (Osm/kg)	942	1779*	2591**	2560**		1963**	

Comparación con los valores basales del d 0: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

El RAS está limitado por actividad de la renina plasmática (ARP; referencia en humanos 0.51-2.3 ng/mL y h), que es limitante, y de la ECA. Una deshidratación severa en camellos induce hipovolemia, hipernatremia e hiperosmolalidad en plasma, tal como se muestra en la Tabla 2.2 (Ben Goumi et al., 1993). Paralelamente, los camellos deshidratados mostraron un aumento en los niveles plasmáticos de AVP (0.2 ± 0.1 vs. 5.3 ± 2.2 pg/mL), como respuesta a los cambios en el volumen sanguíneo y/o de la presión arterial, junto con un dramático aumento de la ARP (1.2 ± 0.2 vs. 20.0 ± 5.2 ng/mL y h) y de la osmolalidad de la orina durante la deshidratación (Tabla 2.2). Sin embargo, los valores de renina y aldosterona permanecieron constantes, lo que sugiere que, en el camello, el vínculo entre el RAS y aldosterona es bajo, y una relativa insensibilidad de las células adrenales a la angiotensina II (Aguilera et al., 1978) cuando las concentraciones de Na son altas y en condiciones de deshidratación. Igualmente, los niveles de péptido natriurético atrial (ANP), de potente efecto vasodilatador y secretado por el músculo cardíaco en respuesta al aumento de la presión arterial, también se

mantuvieron constantes (Ben Goumi et al., 1993). La constancia de los valores de ANP puede deberse a que los cambios en el volumen de plasma fueron muy progresivos, tanto en la des- como durante la re-hidratación, lo que hace poco probable un incremento de la presión arterial o expansión auricular. Además, el ANP se relaciona con el control homeostático del agua corporal, Na, K y tejido adiposo.

Durante la re-hidratación, tal como indicó Ben Goumi et al. (1993), los camellos fueron capaces de beber 75 ± 5 L de agua en un corto tiempo (5 ± 1 min) sin observarse cambios en los parámetros plasmáticos durante los primeros 15 min. A las 2 h, se observó un incremento en el volumen de plasma, retornando al valor basal previo al día siguiente. Durante las primeras 24 h de re-hidratación los camellos fueron capaces de retener aproximadamente 98 L de agua, distribuidos entre los distintos compartimentos extracelulares e intracelulares (Ben Goumi et al., 1993).

Los efectos de la deshidratación en los niveles de electrolitos, función renal y hormonas circulantes, han sido también estudiados en camellos por Ali et al. (2012). Al igual que en el estudio de Ben Goumi et al. (1993), la deshidratación produjo descensos de peso y aumentos en los niveles de Na, creatinina, urea y AVP en plasma (**Tabla 2.3**).

Tabla 2.3 Indicadores plasmáticos del balance hídrico de camellos control o privados de agua durante 20 d. *Plasmatic indicators of water balance in control or water restricted camels during 20 d* (Ali et al., 2012).

Indicador	Tratamiento	d 0	d 20
Sodio (mM/L)	Control	141.3 ± 1.2	145.2 ± 1.0
	Deshidratados	144.6 ± 0.7	175.3 ± 2.2
Urea (mg/dL)	Control	15.7 ± 1.3	11.2 ± 1.3
	Deshidratados	13.3 ± 1.4	34.9 ± 3.1
Creatinina (mg/dL)	Control	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1
	Deshidratados	1.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1

- **Efectos de la deshidratación en camellas lactantes:** Los efectos de la deshidratación han sido también estudiados en el caso de dromedarias durante el periodo de amamantamiento, en las que el consumo de agua es aún más crítico (Bekele et al., 2011).

Las camellas (n = 8) y sus crías se alojaron por parejas y se les permitió el acceso al agua una vez cada 1, 4, 8 o 16 d. Los resultados obtenidos indicaron que las camellas lactantes son capaces de almacenar la mayor parte de sus necesidades y reducir las

pérdidas de agua durante más de una semana mediante la modificación de su comportamiento.

Para ello buscaron sombras, liberaron AVP y manuvieron baja su temperatura corporal. Las camellas que abrevaron cada 4-8 d fueron capaces de satisfacer sus necesidades y no perdieron peso vivo una vez rehidratadas. Este no fue el caso de las privadas de agua durante 16 d, que perdieron peso tras la rehidratación y presentaron niveles más altos de aldosterona, lo que fue consecuencia de una deficiencia de Na. Como cambios importantes de la deshidratación destacaron: a partir del d 4, aumentó la osmolalidad plasmática y la concentración de Na en plasma; a partir del d 8, aumentó la concentración de proteína y de AVP en plasma; finalmente, sólo después de 16 d sin beber, disminuyó la producción de leche (Bekele et al., 2011).

- ***El sistema de osmoregulación de los camellos:*** Para la adaptación a condiciones extremas de escasez de agua, algunos organismos han evolucionado aumentando o disminuyendo los niveles celulares de proteínas de pequeño tamaño llamadas osmolitos (Yancey et al., 1982). Se han identificado 5 tipos de proteínas que actúan como osmolitos (Hochachka y Somero, 2002). La acumulación de osmolitos ayuda a las células de la médula renal a equilibrar la presión osmótica entre el medio intracelular y extracelular (Burg et al., 2007), lo que es fundamental para el balance hídrico y la reabsorción renal. La presencia de mezclas de osmolitos dentro de las células plantea una serie de preguntas sobre su papel individual y/o combinado frente al estrés ambiental.

Los análisis transcriptómicos de Wu et al. (2014) en camellos bactrianos, han revelado la existencia de un sistema único de osmoregulación, que incluye mecanismos de osmoprotección y compensación para mantener las reservas de agua, relacionado con la concentración de glucosa (GLU) en sangre.

Los patrones de expresión génica del camello (Wu et al., 2014) indican que utiliza 2 tipos principales de osmolitos (en vez de 5 en otras especies) en respuesta a la hipertonicidad. Estos osmolitos del camello son el sorbitol y la glicerofosfocolina, que se acumulan en las células durante la deshidratación y que son producidos por las células de la médula renal. El sorbitol sirve como fuente de energía y ayuda al equilibrio de la osmolalidad producida por la alta concentración de Na⁺ extracelular. Por otro lado, el coste energético de la acumulación de glicerofosfocolina, en respuesta al alto contenido en NaCl o urea en la médula renal, es menor que el de transportar betaína a las células en contra del gradiente de concentración.

De esta manera el camello disminuye su consumo de energía para sobrevivir en un ambiente con escasez de alimentos. Se debe destacar además que, según Wu et al. (2014), los niveles de expresión del transportador de glucosa GLUT1 a nivel de la médula renal, aumentan en condiciones de deshidratación. Barnes et al. (2002) indicaron que el nivel de expresión de GLUT1 es inducido por factores osmóticos y de estrés metabólico, y concluyeron que, un aumento de la ingestión de GLU, no sólo sirve para asegurar una concentración suficiente para la síntesis de sorbitol, sino que también aporta la energía necesaria para la Na⁺-K⁺ ATPasa a fin de mantener el gradiente iónico de adaptación a la hipertonicidad (**Figura 2.7**).

A partir de todo lo anterior, Wu et al. (2004) propusieron que los altos niveles de GLU observados en camélidos, en relación con otras especies de mamíferos, son una adaptación evolutiva para la osmoregulación y reabsorción de agua de las células de la médula renal durante la antidiuresis producida por la deshidratación.

2.3.6 Temperatura corporal

La temperatura corporal del camello varía entre 34-42°C. Su transpiración es muy limitada y se produce únicamente cuando su temperatura corporal se eleva a 42°C (Schmidt-Nielsen et al., 1981). Como mecanismo especial de sudoración, el camello tiene unas glándulas sudoríparas en la nuca que ayudan a refrigerar el cerebro. La secreción es muy salina, lo que permite un mayor calor de evaporación y economía del agua.

En condiciones de correcta hidratación, las variaciones de la temperatura corporal del camello son de 2°C, pero en situaciones de deshidratación esta variación llega a alcanzar los 7°C. Tefera (2004) indica variaciones de las constantes fisiológicas en dromedarios en condiciones de campo durante el día, tal como muestra la **Tabla 2.4**, que son netamente inferiores a las de otras especies.

Tabla 2.4 Tríadas fisiológicas de dromedarios en condiciones de campo. *Physiological triads of dromedaries under on-field conditions* (Tefera, 2004).

Indicador	Mañana (8-10 am)	Tarde (1-3 pm)
n	17	16
Temperatura rectal, °C	36.5 (35.7-37.4)	38.9 (37.5-38.9)
Frecuencia respiratoria, resp/min	11 (9-16)	11 (9-16)
Frecuencia cardíaca, puls/min	45 (35-40)	45 (40-50)

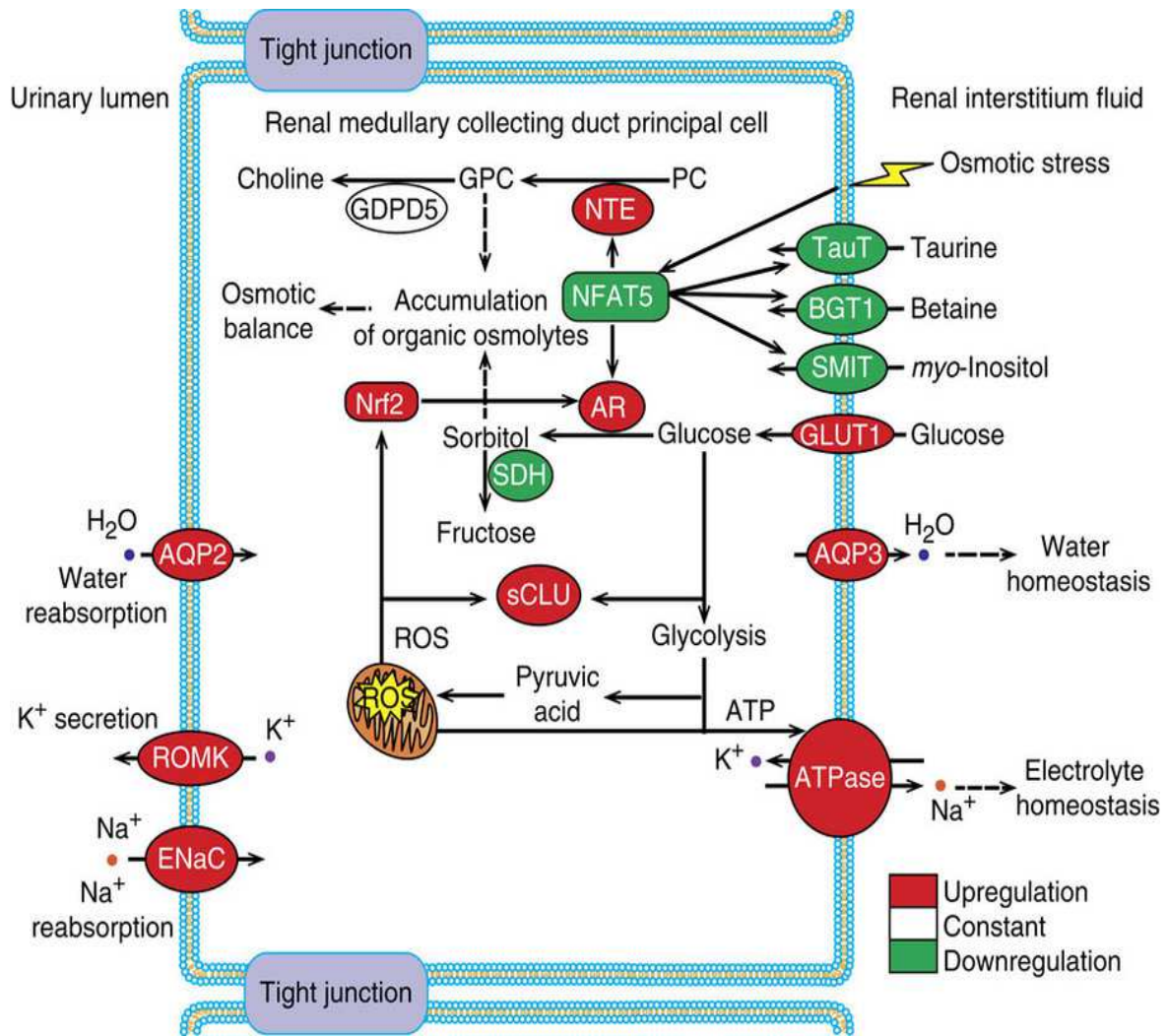


Figura 2.7 Modelo de ósmosis medular renal y reabsorción de agua en camellos bactrianos en condiciones de deshidratación. Los colores indican un aumento (rojo) o disminución (verde) de la expresión de genes en la médula renal. *Model of the kidney medullar osmosis and water reabsorption in Bactrian camels under dehydration conditions. Colors indicated up- (red) and down- (green) regulation of the gene expression in the kidney medulla* (Wu et al., 2014).

El mayor problema que tiene los camélidos en condiciones de elevada exposición al calor y al sol, es reducir la temperatura del cerebro. Para ello cuentan con un mecanismo especial de enfriamiento selectivo del cerebro gracias al gran desarrollo de la red carótida (CR), como en otros mamíferos de desierto (O'Brien, 2017; **Figura 2.8**).

El mecanismo de enfriamiento selectivo por el que el camello puede soportar altas temperaturas, sin que se produzca daño cerebral, ha sido revisado por Elkhawad (1992), tal como se ilustra en la **Figura 2.9**. El mecanismo, permite que la temperatura del cerebro de los

camellos sea varios grados inferiores a la temperatura corporal. Esto es debido a que la sangre arterial pasa, antes de llegar al cerebro, por la red carotidea donde es refrigerada por la sangre venosa que viene de la cavidad nasal y donde es enfriada por la gran superficie de evaporación de los cornetes nasales.

Las fosas nasales del camello son muy largas y tienen una amplia superficie de contacto del aire con los capilares sanguíneos, lo que permite absorber la humedad del aire expirado antes de que salga de las fosas nasales. En el caso de temperatura normal (Figura 2.9, esquema superior), la sangre venosa, después de haber pasado por la cavidad nasal, pasa a la vena facial y a la yugular en dirección a la circulación general. En el caso de un aumento de la temperatura corporal y aparición de signos de estrés por calor, la vena nasal y la angular del ojo se dilatan (1 y 2), mientras la vena facial (3) se contrae. Esto hace que la sangre venosa aumente el riego de la red oftálmica (OV) y del seno cavernoso (CS), que enfrían la sangre arterial por medio del intercambio de calor en la red carótida arterial (CR).

2.3.7 Sistema respiratorio

La respiración del camello es marcadamente abdominal, con una frecuencia media de 11 por min (Tefera, 2004) que varía muy poco a lo largo del día por efecto de la temperatura. Cuando el camello sufre estrés por calor, no jadea como otros mamíferos, sino que eleva su temperatura corporal. Sin embargo, la respiración interviene de forma especial en los mecanismos de conservación de agua.

Cuando existe deshidratación, se produce un aumento de la presión parcial de CO₂ en la sangre al mismo tiempo que se reduce la presión parcial de O₂ (Yagil, 1985; Wilson, 1989). En el estudio realizado por Schmidt-Nielsen et al. (1981), en camellos mantenidos en condiciones desérticas y privados de agua, observaron que los cambios en la temperatura corporal (que llegaron a alcanzar 7°C), eran acompañados por cambios en la cantidad de agua perdida a través de la respiración (de 0,06 a 1,2 g/min). Para explicar los bajos valores de pérdida de agua respiratoria, observaron que los camellos pueden reducir las pérdidas de agua debidas a la evaporación en el tracto respiratorio de dos maneras: 1) disminuyendo la temperatura del aire exhalado, y 2) eliminando el vapor de agua. La temperatura del aire exhalado durante el día era similar a la corporal y estaba saturado de humedad, mientras que, por la noche, la temperatura del aire exhalado era similar a la del ambiente y su humedad se reducía hasta el 75% HR.

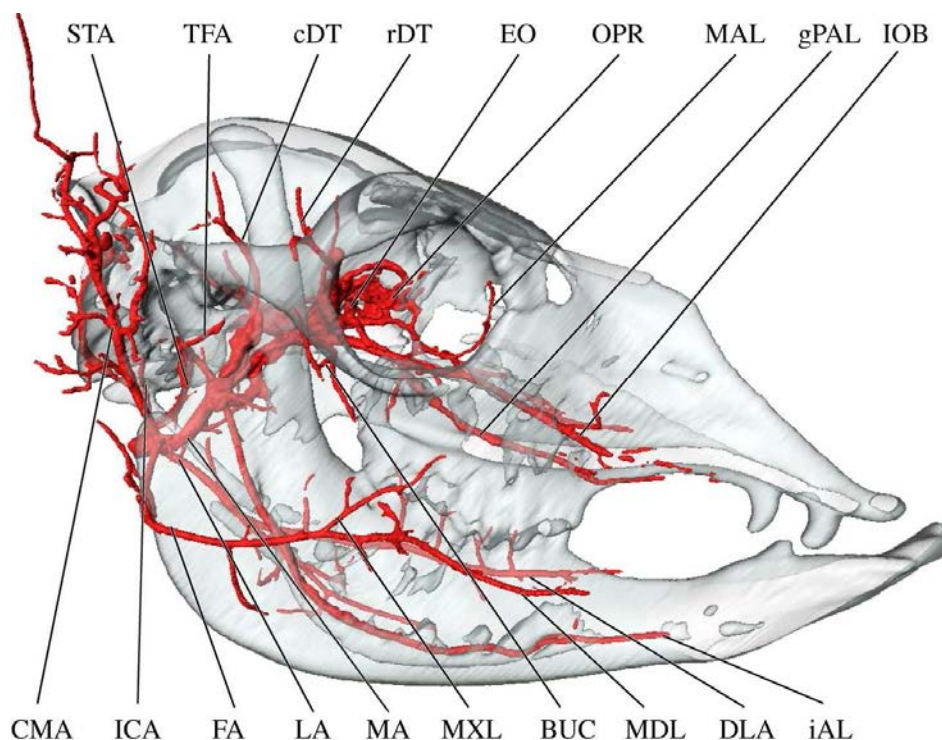


Figura 2.8 Arterias de la cabeza de la alpaca y red oftálmica: BUC, arteria bucal; cDT, arteria temporal caudal profunda; CMA, arteria auricular común; DLA, arteria lingual profunda; EO, arteria oftálmica externa; FA, arteria facial; gPAL, arteria palatina mayor; iAL, arteria alveolar inferior; ICA, arteria carótida interna; IOB, arteria infraorbital; LA, arteria lingual; MA, arteria maxilar; MAL, arteria malar; MDL, arteria mandibular labial; MXL, arteria maxilar labial; OPR, red oftálmica; rDT, arteria temporal rostral profunda; STA, arteria temporal superficial. *Arteries of the head of the alpaca and ophthalmic rete: BUC, buccal artery; cDT, caudal deep temporal artery; CMA, common auricular artery; DLA, deep lingual artery; EO, external ophthalmic artery; FA, facial artery; gPAL, greater palatine artery; iAL, inferior alveolar artery; ICA, internal carotid artery; IOB, infraorbital artery; LA, lingual artery; MA, maxillary artery; MAL, malar artery; MDL, mandibular labial artery; MXL, maxillary labial artery; OPR, ophthalmic rete; rDT, rostral deep temporal artery; STA, superficial temporal artery (O'Brien, 2017).*

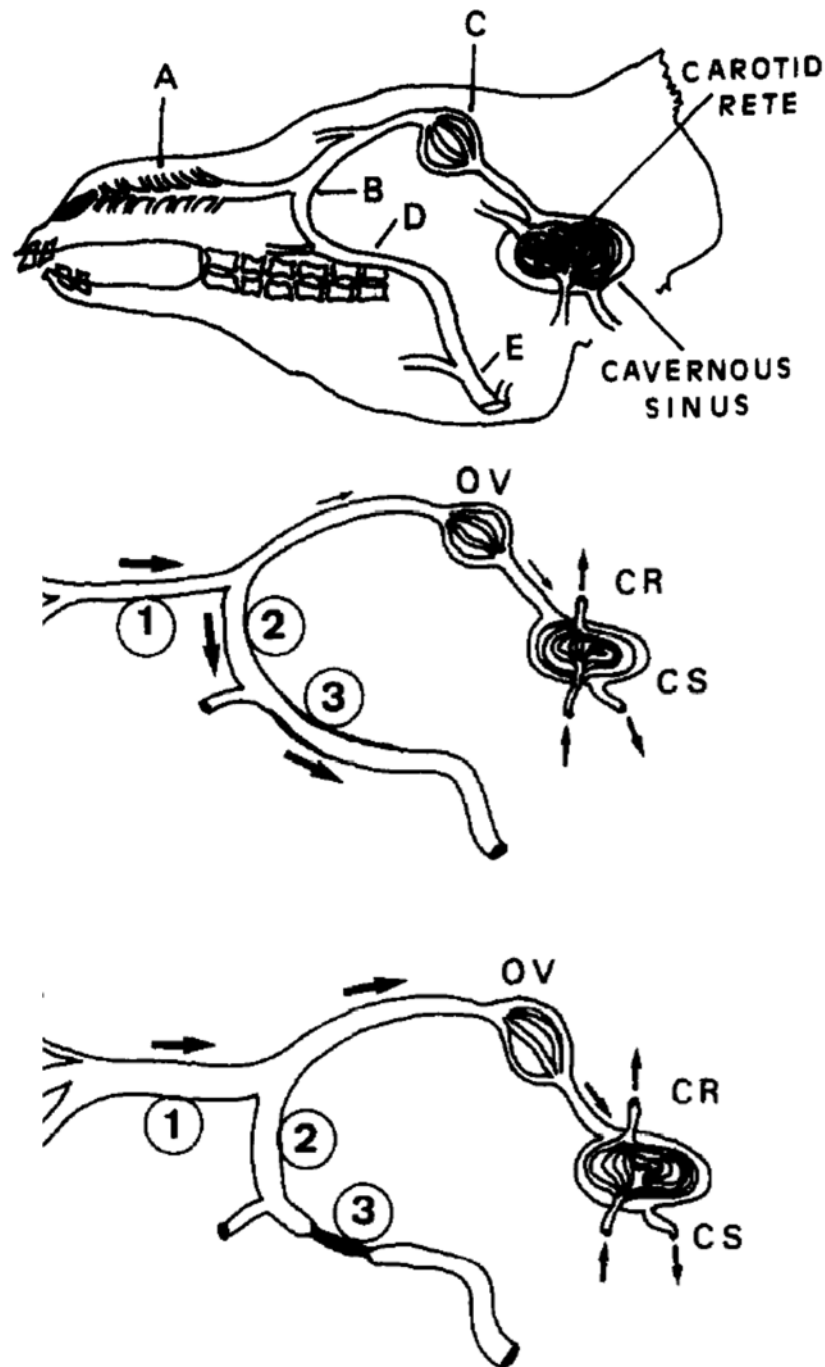


Figura 2.9 Sistema de refrigeración selectiva del cerebro de los camellos: Representación del riego venoso superficial de la cabeza (A, vena nasal; B, vena angular del ojo; C, red oftálmica; D, vena facial; E, vena yugular) y sus conexiones con el seno cavernoso (CS) y la red carótida (CR) arterial en condiciones normales (arriba) o de estrés térmico (abajo). *Selective cooling system of the camel brain: Illustration of the superficial veins of the head (A, nasal vein; B, angular oculi vein; C, ophthalmic rete; D, facial vein; E, jugular vein) and their connections with the cavernous sinus (CS) and the carotid rete (CR) under normal (above) or heat stress conditions (down)* (Elkhawad, 1992).

Esta combinación de enfriamiento y desaturación, puede llegar a proporcionar un ahorro de agua de hasta el 60%, en comparación con la exhalación de aire saturado a temperatura corporal como sucede en la mayoría de mamíferos. El mecanismo para explicar este fenómeno se debe al intercambio de calor que se produce entre el aire respirado y la gran superficie de los cornetes nasales de los camellos. Así, durante la inhalación, la superficie de los conductos nasales se enfría por el aire que pasa sobre ellas, y en la exhalación, la temperatura del aire exhalado disminuye al entrar en contacto con estas superficies que presentan una temperatura más baja. El mecanismo para explicar la desaturación del aire, parece depender de las propiedades higroscópicas de la superficie nasal cuando el animal se encuentra deshidratado. Así, liberan vapor de agua durante la inhalación y absorbe la humedad del aire exhalado. Este mecanismo de enfriamiento permite al camello ahorrar aproximadamente 2,9 kcal/d (Schmidt-Nielsen, 1997), que equivalen a un ahorro de casi 5 L/d de agua (calor latente del agua = 540 kcal/kg). El calor que almacena durante el día en el cuerpo, principal causa del aumento de temperatura corporal, lo disipa por la noche.

2.3.8 Metabolismo de la glucosa en camellos

El especial metabolismo de la GLU del camello es otra adaptación evolutiva clave para poder vivir en las condiciones de los desiertos (i.e., temperaturas extremas de frío y de calor).

Wu et al. (2014), utilizando métodos de ontología genética en el caso del camello bactriano, identificaron los principales cambios del genoma que permiten explicar la adaptación específica del metabolismo de la GLU al estrés térmico. Según estos autores, las 3 especies de camélidos analizados (dromedarios, bactrianos y alpacas), a diferencia del ganado bovino, han sufrido un desarrollo común y muy rápido de las categorías de genes que condicionan la respuesta celular a la insulina (INS) y de la ruta de señalización de los receptores de INS.

Además, identificaron 13 genes únicos en dromedarios y bactrianos que presentaban cambios en los residuos de aminoácidos y que están implicados en el funcionamiento de las mitocondrias para la β -oxidación de los ácidos grasos y producir Acetil-CoA (con formación de ceto-ácidos), así como en la síntesis y transporte de colesterol.

Transportadores de glucosa (GLUT)

La GLU es un sustrato energético obligatorio para algunas células de vital importancia en los mamíferos (e.g., eritrocitos, cerebro, riñón, fetales y glándula mamaria). Su concentración en sangre (glucemia) varía por efecto de distintos factores a lo largo del día (e.g., hiperglucemia por la ingesta de carbohidratos, hipoglucemia y gluconeogénesis durante el ayuno), pero debe

mantenerse dentro de unos estrechos márgenes. Esto se consigue mediante regulación hormonal, que a su vez está íntimamente relacionada con la captación periférica de GLU y la producción de GLU hepática (Shepherd y Kahn, 1999).

En condiciones de ayuno, la mayor parte de la GLU en la sangre la aporta el hígado y la utiliza el cerebro, independientemente de la INS. Sin embargo, tras la ingestión de alimento, el aumento de los niveles de GLU en sangre estimula rápidamente la secreción de INS, lo que a su vez produce un aumento en el transporte de GLU, metabolismo y almacenamiento por el músculo y los adipocitos. Por otro lado, la liberación de INS inhibe la secreción de glucagón y disminuye las concentraciones séricas de ácidos grasos libres (NEFA), contribuyendo así a una fuerte disminución en la producción de GLU hepática (gluconeogénesis). Debido a que la doble capa lipídica que forma la membrana celular de las células es impermeable a los carbohidratos, es necesario un sistema de transporte activo de la GLU hacia el interior celular, lo que se realiza con la ayuda de transportadores (Shepherd y Kahn, 1999).

Se han identificado dos familias moleculares de transportadores de GLU (GLUT) que, además de la GLU, también contribuyen al transporte de otros glúcidos (e.g., fructosa y lactosa). Estas son:

- ***GLUT dependientes de sodio:*** Realizan el transporte activo de GLU en contra del gradiente de concentración, usando como fuente de energía el co-transporte de Na. Están localizados en hígado y riñón.
- ***GLUT de difusión-facilitada:*** Realizan el transporte de GLU por difusión-facilitada mediante un transportador y en contra del gradiente de concentración. El grupo está constituido por 5 proteínas de transmembrana homólogas que están codificadas por genes distintos. Cada GLUT presenta diferencias de especificidad por los substratos, propiedades cinéticas y de distribución tisular, tal como se muestra en la **Tabla 2.5**.

Mecanismos moleculares de la absorción de GLU estimulada por la INS

El músculo, y en menor medida el tejido adiposo, son los principales sitios donde se realiza la absorción (uptake) de GLU por medio de la acción de la insulina (INS) y el transportador GLUT-4 (DeFronzo, 1997). Todo parece indicar que el transporte de GLU a través de la membrana plasmática del músculo es el paso que limita el metabolismo de la GLU, lo que significa que cuanto más rápido sea el paso a través de la membrana plasmática, más rápido se metabolizará la GLU (Yki-Järvinen et al., 1987; Fink et al., 1992). El GLUT-4 tiene una función importante en la homeostasis y, tanto en las células musculares como en los adipocitos,

este transportador se recicla entre la membrana plasmática y sus depósitos de almacenamiento intracelular tal como se muestra en las **Figuras 2.10 y 2.11**.

Tabla 2.5 Características de los transportadores de glucosa (GLUT) de difusión-facilitada. *Characteristics of the facilitated-diffusion glucose transporters* (Shepherd y Kahn, 1999).

Transportador	K_M^1	Distribución tisular	Características
GLUT-1	20	Ampliamente expresado; muy abundante en cerebro, eritrocitos y células endoteliales	Transportador típico de GLU
GLUT-2	42	Riñón, epitelio del intestino delgado, hígado y páncreas (células β)	Transportador de baja afinidad por la GLU; participa en la detección de las concentraciones de GLU en los islotes pancreáticos
GLUT-3	10	Neuronas, placenta	Transportador de alta afinidad por la GLU
GLUT-4	2-10	Uso generalizado en músculos esquelético y cardíaco, así como en células adiposas	Transportador típico de GLU y dependiente de insulina
GLUT-5	No ²	Intestino delgado, esperma, riñón, cerebro, y en menor medida por músculo y células adiposas	Transportador típico de fructosa; muy baja afinidad por la GLU

¹Constante de Michaelis-Menten para el transporte de glucosa; ²No aplicable.

Principales diferencias entre los rumiantes y camélidos

Tanto en rumiantes como en camélidos, la mayoría de los carbohidratos son fermentados y absorbidos en los compartimentos de los pre-estómagos como ácidos grasos volátiles (i.e., acetato, propionato, butirato y valeriato). En consecuencia, las necesidades de GLU tienen que ser atendidas recurriendo a la gluconeogénesis, principalmente a partir de propionato, lactato y aminoácidos que obtienen a través de la alimentación (Aschenbach et al., 2010).

Así, en los verdaderos rumiantes, las necesidades energéticas se cubren a partir de los ácidos grasos volátiles, presentando bajos niveles de GLU plasmática (40 a 60 mg/100 mL) y una baja sensibilidad a la INS (Aschenbach et al., 2010). En el caso de los camélidos, aunque también realizan la fermentación de los carbohidratos, resulta llamativo que sus niveles plasmáticos de GLU (70 a 129 mg/100 mL) sean aproximadamente el doble que los de verdaderos rumiantes (Wernery et al., 1999; Mohri et al., 2008; Cebra et al., 2014) y similares a los monogástricos.

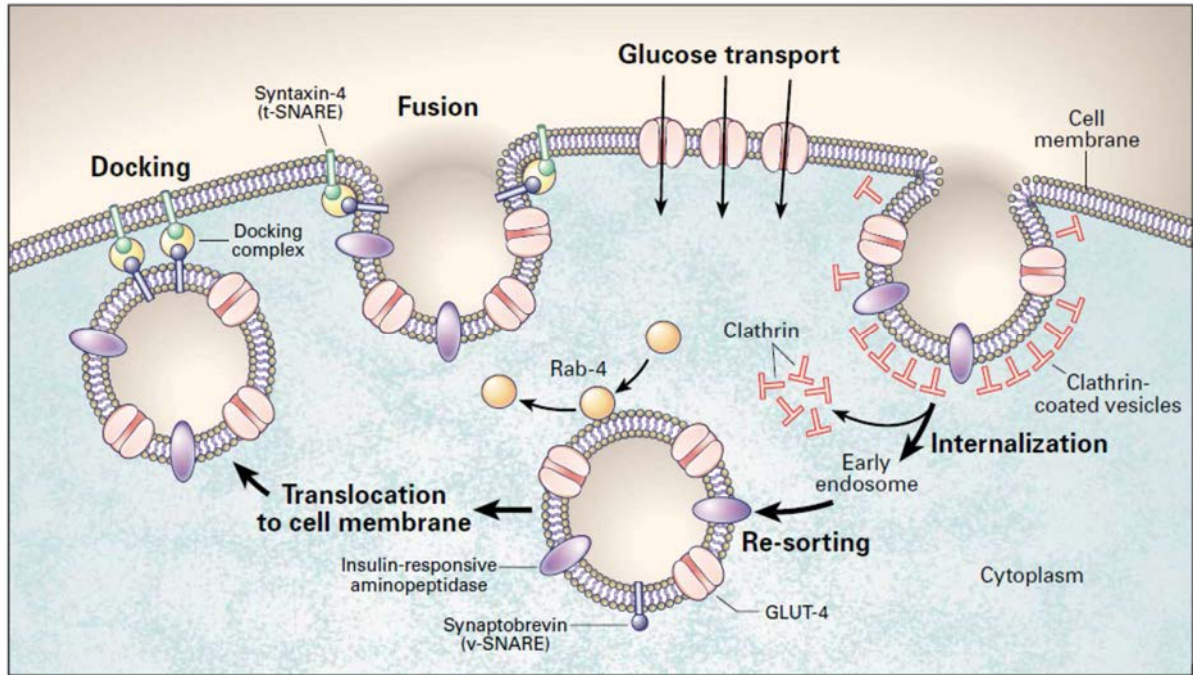


Figura 2.10 Translocación de los transportadores GLUT-4 en células musculares y adipocitos. *Translocation of GLUT-4 transporters in muscle cells and adipocytes* (Shepherd y Kahn, 1999).

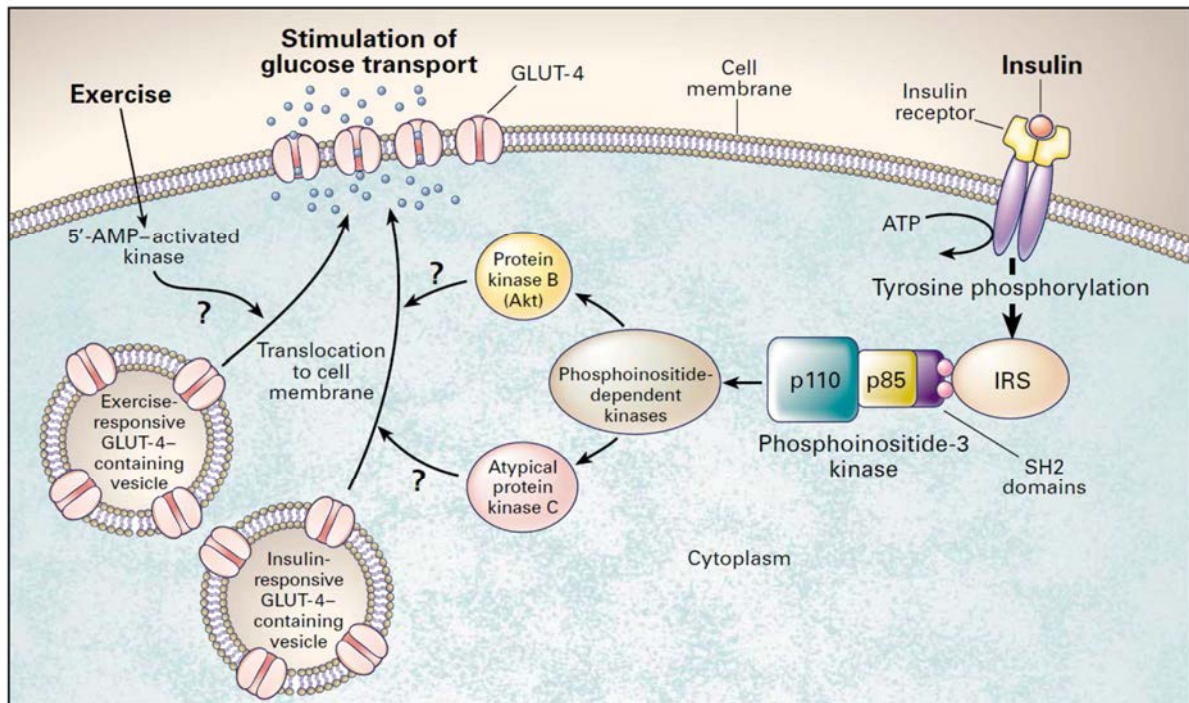


Figura 2.11 Vías de señalización de la insulina en la regulación del metabolismo de la glucosa en las células musculares y adipocitos. *Insulin signaling pathways that regulate glucose metabolism in muscle cells and adipocytes* (Shepherd y Kahn, 1999).

Existe poca información que explique estas diferencias del metabolismo de la GLU en los camélidos. Entre las hipótesis que se han dado para explicar los altos niveles de GLU plasmática observados en camélidos se encuentran el uso de una vía alternativa para la absorción de GLU en el intestino, una gluconeogénesis mejorada y/o la deficiente absorción de GLU por los tejidos de los camellos (Cebra et al., 2001a,b).

Por otro lado, las concentraciones plasmáticas de INS en camélidos en ayunas son aproximadamente la mitad a un tercio de las observadas en otros mamíferos (Cebra et al., 2014) y los dromedarios son reconocidos por su baja sensibilidad a la INS (Kaske et al., 2001). Otros autores, han puesto de manifiesto estas características de los camélidos. Según (Smith y Cebra, 2009), si comparamos los camélidos adultos normales con bovinos, caballos, perros, cerdos o humanos, éstos se caracterizan por presentar, en condiciones óptimas de salud, las siguientes características:

- Baja INS circulante,
- Resistencia parcial a la INS
- Respuesta débil de INS en el test de tolerancia a la GLU.

La débil respuesta de INS puede llegar a ocasionar casos de camélidos con hiperglucemia como resultado de procesos de estrés (Garry, 1989), así como también tras la administración de agentes hiperglucemiantes (Cebra et al., 2001b; Cebra y Tornquist, 2005; Smith y Cebra, 2009). Smith y Cebra (2009) establecieron semejanzas entre el metabolismo de los camélidos sanos con el de personas que sufren de diabetes mellitus por resistencia a la INS (Tipo 2), indicando además que estas similitudes aumentan considerablemente en camélidos que padecen enfermedades del metabolismo energético.

La bibliografía actualmente disponible no explica si, las diferencias en el metabolismo de la glucosa entre rumiantes y camélidos, son una característica innata o adquirida.

En el caso de los camélidos, el uso del transportador GLUT4 (dependiente de INS) en el músculo esquelético y en los adipocitos, está alterado por los altos niveles de GLU plasmática y los bajos niveles de INS, o situaciones de INS-resistencia. Esto les obliga a tener que usar otro tipo de transportadores de GLU, independientes de la INS (Duehlmeier et al., 2007).

Estudios realizados en ratas y humanos en estados de INS-resistencia han puesto de manifiesto que, la expresión del gen del GLUT-4, es diferente en el músculo y en el tejido adiposo (Shepherd y Kahn, 1999). A pesar de no haber encontrado estudios realizados en camellos en este aspecto, su condición habitual de INS-resistencia hace a pensar que ésta podría ser una de las razones del uso alterado del GLUT-4 en los camellos.

2.3.9 Metabolismo energético de los camélidos

En el camello, las grasas se almacenan principalmente en el tejido adiposo perirrenal y de la joroba (Faye et al., 2002). Sin embargo, los mecanismos a través de los cuales se producen las variaciones en las reservas de tejido adiposo, no se conocen claramente. El metabolismo lipídico está relacionado con la actividad de la leptina, una hormona secretada por el tejido adiposo que está directamente relacionada con las reservas corporales de grasa, y que desempeña una función clave en la regulación del metabolismo energético (Chilliard et al., 2005). Las variaciones del balance energético se traducen en cambios en las concentraciones de NEFA o libres en sangre, que aumentan al movilizarse las reservas (lipólisis) y disminuyen al aumentar las reservas grasas (lipogénesis).

Al igual que en otros animales, la desnutrición produce en camellos la movilización de lípidos corporales, la disminución del tamaño de los adipocitos y del peso y contenido en lípidos del tejido graso y, en especial, de la joroba. Al contrario, en los camellos sobrealimentados se produce una reconstitución de los depósitos de lípidos corporales (Bengoumi et al., 2005).

Los cambios experimentados por la leptina y los NEFA, durante los procesos de subalimentación y realimentación, fueron puestos de manifiesto en un experimento realizado por Delavaud et al. (2013) en 3 grupos de dromedarios adultos sometidos a cambios en el nivel de alimentación durante 112 d (**Figura 2.12**).

El nivel de leptina sólo bajó en los camellos del grupo sobre-alimentado a partir del d 42, muy probablemente por su extrema delgadez anterior (Delavaud et al., 2013). Chilliard et al. (2005) indicaron que la regulación de la leptina sólo es efectiva en rumiantes cuando la adiposidad corporal supera el 20% de lípidos corporales.

Las respuestas de la concentración plasmática de GLU fueron diferentes entre grupos, con una rápida disminución, seguida de una disminución progresiva y continua durante la subalimentación, mientras que se observó un aumento con la sobre-alimentación durante los primeros 14 da y un retorno a los valores basales a partir de entonces.

En relación a los NEFA, se observó un marcado aumento al principio de cada periodo de sub-alimentación, retornando a valores muy bajos e inferiores a los camellos control, durante los periodos de sobre-alimentación. Por otro lado, llama la atención el aumento transitorio y la caída de los NEFA a mitad de cada periodo de sub-alimentación, lo que debió ser consecuencia de la adaptación a la subnutrición de los camellos y a la puesta en marcha de mecanismos de disminución de las necesidades de mantenimiento por efecto de la lipólisis, tal como se ha observado previamente en ovino (Chilliard et al., 2000).

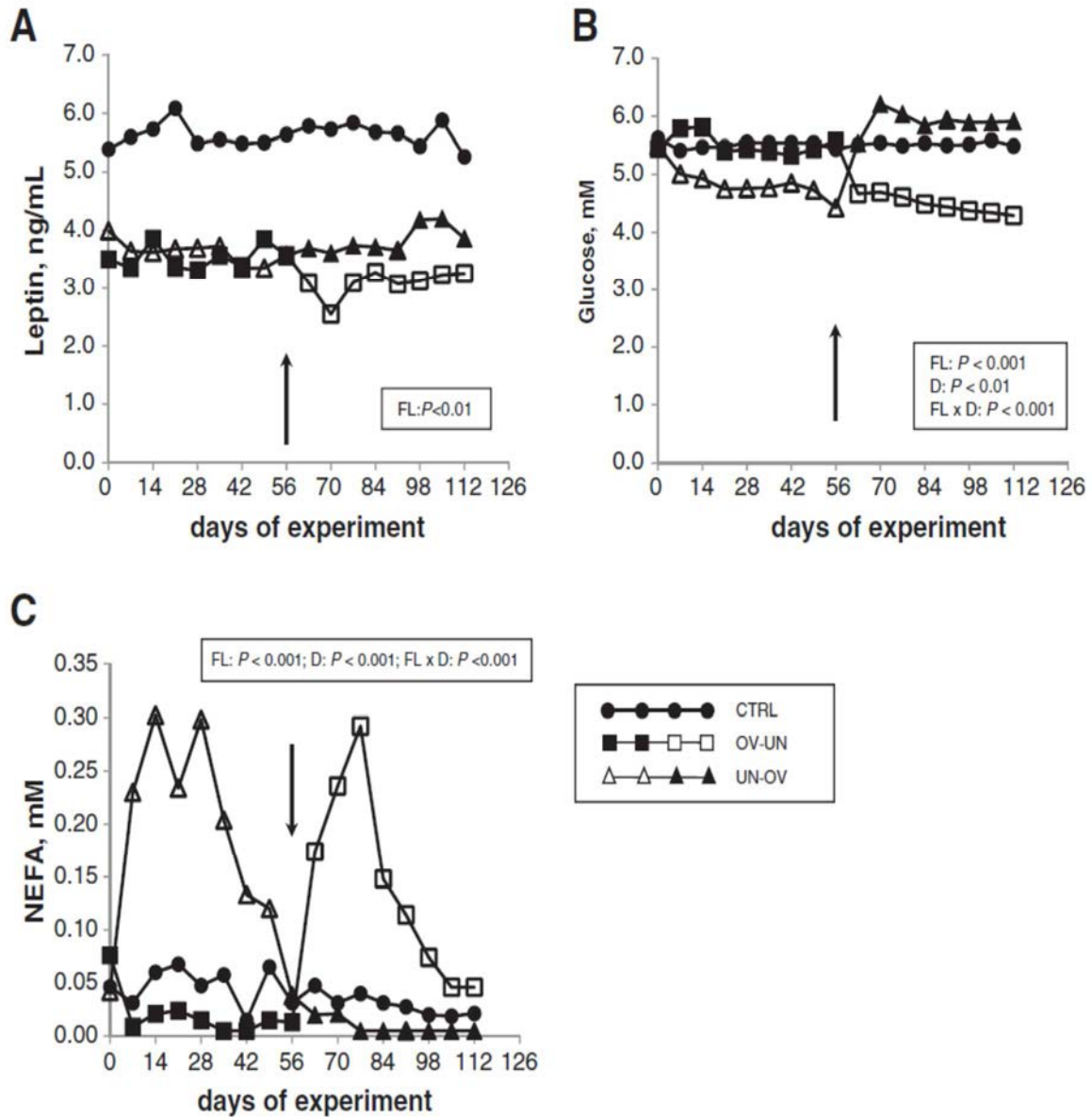


Figura 2.12 Variación de las concentraciones plasmáticas de leptina (A), glucosa (B) y ácidos grasos no esterificados (C) en dromedarios sometidos a distintos niveles de alimentación según un diseño cruzado (MER = necesidades energéticas de mantenimiento): Control 68% MER (CTRL: ●, n = 4), sobrealimentados 134% MER (OV: ■ y ▲, n = 5) y subalimentados 17% MER (UN: □ y △, n = 5). La flecha indica el cambio de nivel de alimentación para los grupos OV-UN y UN-OV. Variation of plasma leptin (A), glucose (B) and non-esterified fatty acid (C) in dromedaries submitted to different levels of alimentation according to a cross-over design (MER = maintenance energy requirements): Control a 68% MER (CTRL: ●, n = 4), overfed 134% MER (OV: ■ y ▲, n = 5) and underfed 17% MER (UN: □ y △, n = 5). The arrow indicates the changes in feeding level for the OV-UN and UN-OV groups. (Delavaud et al., 2013).

En rumiantes que se encuentran en balance energético negativo, también aumentan los niveles de NEFA en plasma como consecuencia del aumento de lipólisis de los triglicéridos del tejido adiposo por efecto de una lipasa hormono sensible y por la disminución de la re-esterificación los NEFA, lo que está relacionado a su vez con estados de hipoglucemia y/o hipoinsulinemia (Lalla y Drommer, 1997; Chilliard et al., 1998).

Los camellos tienen concentraciones relativamente altas de triglicéridos en el hígado, en comparación con otras especies de rumiantes, lo que puede estar relacionado con el hecho de que el hígado es un lugar de actividad lipogénica *de novo* en esta especie (Chilliard, 1989; Lalla y Drommer, 1997).

Una de las conclusiones obtenidas en el estudio de Delavaud et al. (2013) es que las respuestas de las hormonas y metabolitos implicados en la regulación del metabolismo energético varían a lo largo del tiempo, en función de que los animales hayan sido sometidos a condiciones previas de sobre- o sub-alimentación. Esto sugiere la existencia de una regulación dinámica, particularmente en relación con los niveles plasmáticos de NEFA, que podrían desempeñar un papel importante en la supervivencia del camello en condiciones donde la ingesta energética varíe mucho.

En un segundo experimento realizado por Delavaud et al. (2013), se estudió el efecto de la deshidratación (23 d), seguida de rehidratación durante 4 d, sobre los niveles plasmáticos de leptina, GLU, NEFA, hematocrito, proteínas totales y albúmina. En los camellos deshidratados, se observó un aumento en los niveles plasmáticos de NEFA y una reducción del 45% PV, sin variar el tamaño de la joroba, volumen de los adipocitos de la joroba o el contenido en lípidos de la joroba. Estos resultados indican que la movilización de lípidos procede fundamentalmente de otra fuente distinta de la joroba (Delavaud et al., 2013). Los mecanismos implicados en esta movilización de lípidos en condiciones de deshidratación no se conocen, al igual que tampoco está clara su función fisiológica (Yagil, 1985). Los niveles plasmáticos de GLU se vieron específicamente regulados por la deshidratación, lo que podría explicarse en parte por una disminución en la eliminación renal de GLU, concomitante con una supuesta disminución de la concentración plasmática de INS (Delavaud et al., 2013).

Durante la deshidratación severa, los camellos disminuyen su metabolismo basal, mostrando hipoinsulinemia (lo que conduce a una menor utilización de la GLU y elevar la glucemia), a la vez que mantienen la producción de GLU por medio de gluconeogénesis (Bengoumi y Faye, 2002). Por otro lado, la leptina plasmática disminuyó un 17% en los camellos deshidratados. Esta disminución podría contribuir al aumento de la eficiencia metabólica, independientemente

del balance energético y del tejido adiposo existente, tal como se ha observado en rumiantes durante la lactación (Chilliard et al., 2005).

Delavaud et al. (2013) sostienen que el origen hepático de una parte de la leptina plasmática en camellos, podría explicar la débil relación que se observa entre el volumen de los adipocitos de la joroba y los niveles de leptina, si se compara con la alta correlación descrita entre el volumen de los adipocitos subcutáneos y los niveles de leptina en bovinos.

Se ha demostrado que, en los camellos, la leptina y sus receptores se expresan en las células grasas blancas del tejido adiposo de la joroba y alrededor de las vacuolas grasas presentes en el hígado (Sayed-Ahmed et al., 2005), lo cual es una particularidad de ellos. Al contrario, la leptina no se expresa en el hígado en otras especies de rumiantes (Chelikani et al., 2003).

En consecuencia, cuanto más gordos estén los camellos, mayor será su contenido en lípidos hepáticos y presuntamente también su secreción de leptina hepática, lo que debe disminuir la correlación entre la leptina plasmática y el volumen de adipocitos de la joroba.

Lo expuesto anteriormente sugiere la existencia de regulaciones dinámicas en los niveles plasmáticos de NEFA, GLU y leptina cuando se producen variaciones en los niveles de hidratación y consumo de energía, que podrían desempeñar un papel importante en la adaptación del camello a su medio ambiente caracterizado por extremas variaciones en los recursos alimentarios e hídricos (Delavaud et al., 2013).

2.4 LECHE DE CAMELLA

Aunque la leche de camella es un producto de consumo tradicional y muy apreciado en los países árabes (e.g., se incluye en el protocolo de bienvenida a los jefes de estado), en los últimos años ha aumentado su interés en el mundo occidental. Esto es debido, no sólo a sus propiedades nutricionales, sino también a que se le atribuyen propiedades funcionales con numerosos beneficios para la salud humana (La Vanguardia, 2017).

La leche de camella está disponible en el mercado de la UE en pequeños envases y a precios elevados (Desert Farms, 2017): fresca (500 mL, 11-13 €), congelada (500 mL, 13-14 €) o en polvo (200 g, 35-36 €).

El consumo de leche de camella ha sido esencial a lo largo de la historia para las poblaciones nómadas y rurales que viven en las regiones áridas de África y Oriente Medio, para las que supone una fuente importante de proteína y energía en su alimentación (FAO, 2008). Un 93% de la producción mundial de leche de camella se sitúa en África (2,7 Mt en 2014; FAO, 2016), producida fundamentalmente por dromedarias localizadas en los países del Sahel, destacando Somalia (1,11 Mt), Kenia (0,82 Mt), Mali (0,26 Mt), Etiopía (0,23 Mt) y Niger (0,10 Mt).

2.4.1 Generalidades sobre la leche

La leche es el producto resultante de la actividad de la glándula mamaria de todas las hembras mamíferas con la finalidad de alimentar a sus crías.

Hace aproximadamente 9.000 años se domesticaron las primeras especies lecheras, entre las que se encuentran la oveja, cabra, vaca, yegua y búfala, y más tardíamente la camella (ca. 2000 a.C.; Almathen et al., 2016). La leche no sólo se utiliza como fuente directa de alimento, en especial por la calidad de su proteína, sino también para la producción de productos lácteos derivados (e.g., queso, yogur, leche fermentadas). Como alimento, posee una proporción adecuada de los elementos necesarios para la construcción y mantenimiento del cuerpo de los mamíferos desde su nacimiento.

Desde un punto de vista físico-químico y biológico, la leche se define como una secreción exocrina acuosa cuyos componentes están en solución, suspensión o emulsión. Esto es:

- Las materias grasas (fundamentalmente triglicéridos de ácidos grasos saturados o insaturados) se encuentran en emulsión, formando glóbulos;
- Las proteínas (e.g., caseínas) y minerales orgánicos (e.g., Ca y P orgánico) se encuentran en suspensión coloidal, formando micelas; y,
- Los azúcares (e.g., lactosa) y minerales inorgánicos (e.g., Ca, P, Fe, Zn...), se encuentran en disolución verdadera.
- También contiene vitaminas (A, B, C, D y E) y otros componentes minoritarios (e.g., células, gases, urea, aminoácidos, etc...).

La composición de la leche es característica de cada especie y varía en función de una amplia serie de factores, entre los que destacan el estado de lactación y la alimentación.

La leche producida inmediatamente después del parto, recibe el nombre de calostro y, a partir de los 2-5 d, la secreción se considera leche regular. La composición química del calostro es más elevada en grasa y proteína que la leche, pero en especial destaca por su riqueza en inmunoglobulinas y péptidos activos para la protección postnatal del neonato. Esto es debido a que la placenta de los rumiantes y pseudo-rumiantes es de tipo epiteliocorial, lo que impide el paso de las inmunoglobulinas (i.e., IgG) y otras proteínas defensivas (e.g., lactoferrina, lisozima) al feto durante la gestación (El-Hatmi et al., 2006).

Además de los componentes mayoritarios (grasa, proteína, lactosa y minerales), la leche contiene también diversas hormonas, factores de crecimiento y componentes bioactivos o sus precursores, que reciben hoy especial atención por sus propiedades funcionales (Clare y Swaisgood, 2000; Park, 2009).

2.4.2 Producción de leche en camélidos

La reproducción de los camélidos es estacional (i.e., con luz decreciente) y la ovulación se induce por efecto de la cubrición. La duración de la gestación es característica en cada especie de camélidos, tal como se muestra en la **Tabla 2.6**. La gestación es más larga en bactrianos y dromedarios, que, en los camélidos americanos, y se acerca a los 13 meses. Consecuentemente, lo normal es que paran cada 2 años y que la lactación se produzca en años alternativos.

Tabla 2.6 Duración de la gestación en diversas especies de camélidos. *Pregnancy length in different species of camelids.*

Especie	Media (d)	Rango (min-max)	Autor (año)
Alpaca	350	335–365	Sumar (1983)
Vicuña	351	346–356	Urquieta y Rojas (1990)
Llama	353	346–359	Leon et al. (1990)
Dromedario	378	384–409	Mehta et al. (1962), Ram et al. (1977), Barhat et al. (1979)
Bactriano	390	360–419	Tibary y Anouassi (1997)

La duración de la lactación y la cantidad de leche producida son muy variables, con valores generales entre 8-18 meses y 1.000-5.300 L (Alhadrami, 2004) y una producción media de leche de 3-10 kg/d (Farah et al., 2007). Faye et al. (2011) publicaron un inventario de razas de camellos en Arabia Saudí en el que destacan como razas lecheras de dromedarios las Majaheem, Waddah y Homor. Mehaia et al. (1994) señala también la raza Hamra en Arabia Saudí. Por otro lado, destacan las siguientes: Maghrebi (Norte de Africa), Sirtawi y Fakhreya (Libia), Marecha (Pakistán) y Arvana (Turkmenistan, Uzbekistan, Kazakhstan, Afghanistan e Iraq) (Alhadrami, 2003).

En la práctica se consideran 3 categorías productivas de camellas lecheras, según el rendimiento lechero (Alhadrami, 2004): bajo (menos de 1.500 L/año), medio (1.500 a 3.000 L/año) y alto (más de 3.000 L/año). Sólo se consideran adecuadas para la producción de leche las camellas de alto y medio rendimiento lechero. Wardeh et al. (1990) han señalado que, para considerar a una camella de aptitud para la producción lechera, en condiciones naturales de pastoreo, su producción por lactación debe ser superior a 2.500 kg y debe presentar la ubre y venas de la leche (epigástrica craneal) muy desarrolladas, una joroba pequeña, cuerpo estilizado y abdomen relativamente grande.

Musaad et al. (2013) clasificó las curvas de lactación de un rebaño de camellas, produciendo 1.970 ± 790 L en 12.5 meses y en condiciones intensivas, según su producción en 5 categorías, tal como recoge la **Tabla 2.7**.

El destete se realiza tradicionalmente a los 12 meses (sistemas extensivos), normalmente debido a que se utiliza la cría para facilitar el ordeño, pero es posible realizarlo a partir de los 3 meses o más comúnmente a los 6 meses (sistemas intensivos) cuando se realiza ordeño mecánico.

Tabla 2.7 Categorías de producción de leche en un rebaño de dromedarios en Arabia Saudi. *Milk production categories in a herd of Saudi Arabian dromedaries* (Musaad et al., 2013).

Leche (L)	n	Partos	Producción (L)	Pico de lactación		Persistencia (%)
				L	semana	
372-1.300	14 (19%)	2.9	1.037 ± 263	34	29	85.9
1.301-2.500	33 (47%)	4.5	1.999 ± 293	48	28	93.2
2.501-3.000	14 (19%)	3.1	2.722 ± 96	59	17	94.4
3.001-3.600	8 (11%)	5.1	3.385 ± 149	77	25	90.6
>3600	3 (4%)	5.7	4.968 ± 265	94	35	95.4

La gestación produce en la camella, una importante inhibición de la lactación, al igual que en la cabra (Salama et al., 2005), aunque en la camella los efectos se aprecian a partir de la misma cubrición (**Figura 2.14**).

Como puede observarse en la Figura 2.14, las camellas vacías pudieron mantener la lactación durante más de 2 años (4,856 L; 100%), en condiciones intensivas de manejo y alimentación, mientras que las que se preñaron alrededor de los 9 meses del parto, se secaron hacia los 6 meses después de la cubrición (mitad de gestación), siendo su producción aproximadamente la mitad (2,705 L; 56%).

Este comportamiento respecto a la relación gestación-lactación debe ser consecuencia de su adaptación a condiciones extremas de alimentación.

En el caso de la raza Canaria, no existen estudios donde se estime su rendimiento lechero, así como tampoco la duración de la lactación. Es importante destacar que los camellos sólo se usaron en Canarias para la producción de leche marginalmente (i.e., consumo familiar). Pese a ello, dromedarios exportados desde Canarias están siendo utilizados en otros países europeos

(e.g., Holanda) para ordeño, lo que indica sus posibilidades de utilización y el interés de realizar una selección por aptitud lechera.

Por todo ello, existe la necesidad de estudiar la producción lechera de la raza Canaria de forma que se disponga de información de su potencial productivo a la hora de diseñar nuevas granjas para producir leche de camella.

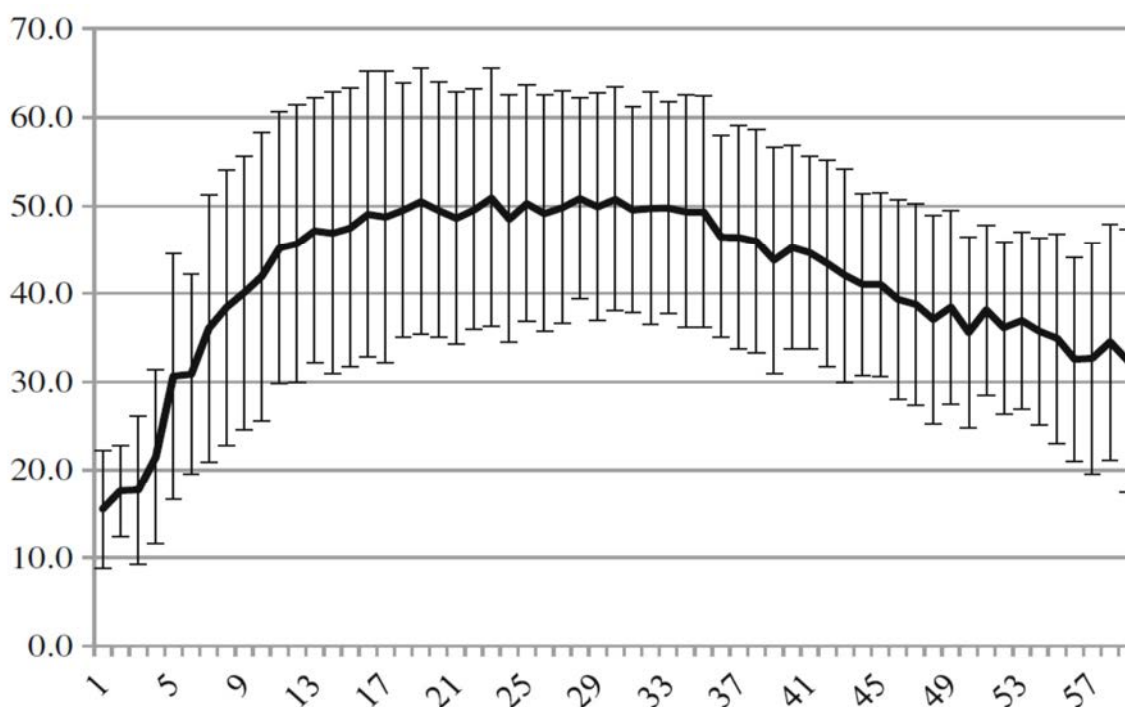


Figura 2.13 Curva de lactación (producción de leche semanal) con desviaciones estándar de dromedarios en condiciones intensivas en Arabia Saudí. *Lactation curve (milk yield per week) with standard deviations in intensive conditions in Saudi Arabia* (Musaad et al., 2013).

2.4.3 Calostro

Konuspayeva et al. (2010) estudiaron los cambios en la composición química de la transición calostro-leche de dromedarias durante la primera semana de lactación, observando una marcada variación en el contenido de grasa (25.9 a 3.1%) y proteína (17.2 a 4.2%) en los 2 primeros días de lactación, de forma similar a lo observado en otras especies (**Figura 2.15**).

La secreción posterior al d 2 presentó ya una composición similar a la leche. La composición media de calostro, según Konuspayeva et al. (2010) se ha resumido en la **Tabla 2.8** en la que llama la atención la gran variación de valores, así como la baja concentración de lactosa y de la relación $\text{Ca/P} = 1.5$.

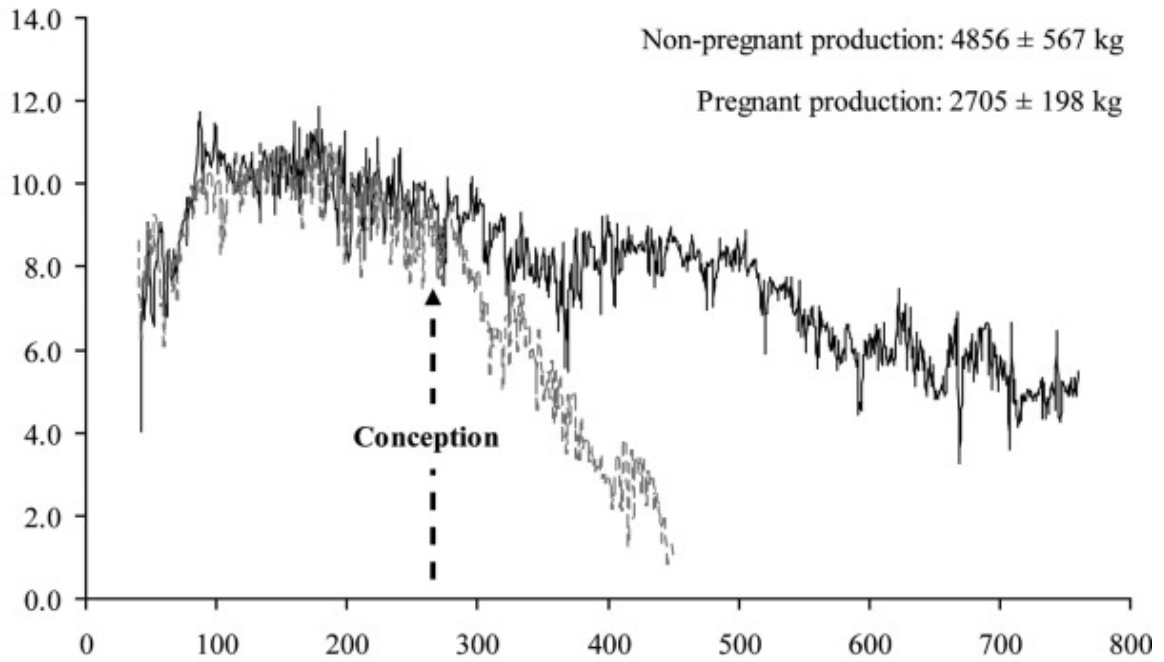


Figura 2.14 Efecto de la preñez en la producción de leche (L/d) de dromedarios en condiciones intensivas en Dubai (—, vacías; ---, preñadas). *Effect of conception on milk yield (L/d) of dromedaries under intensive conditions in Dubai (—, open; ---, pregnant) (Nagy et al., 2015).*

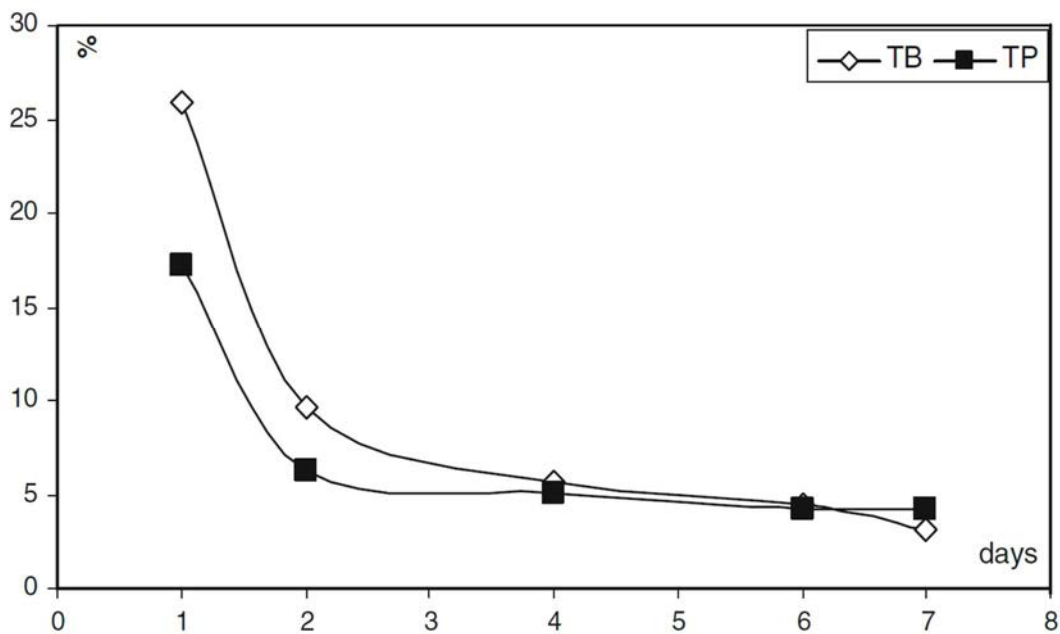


Figura 2.15 Cambios en los contenidos de grasa (TB) y proteína (TP) en la transición de calostro a leche en dromedarios Arvana en condiciones de pastoreo. *Changes in the fat (TB) and protein (TP) contents during the transition from colostrum to milk of Arvana dromedaries under grazing conditions (Konuspayeva et al., 2010).*

Los niveles de vitamina C, inicialmente bajos, aumentaron durante la primera semana de lactación, así como también el contenido en minerales (Konuspayeva et al., 2010). Desafortunadamente el trabajo de Konuspayeva et al. (2010) no incluye información sobre los valores de inmunoglobulinas o de otros componentes bioactivos.

Tabla 2.8 Composición del calostro de dromedarios en condiciones de pastoreo. *Colostrum composition of dromedaries under grazing conditions* (Konuspayeva et al., 2010).

Componente	Media \pm ES ¹	Mínimo	Máximo
Grasa (%)	7.88 \pm 2.48	1.56	25.94
Proteína total (%)	6.03 \pm 1.42	3.19	17.20
Lactosa (%)	3.63	–	–
Sólidos totales (%)	15.6 \pm 3.4	9.8	41.1
Índice de Iodo (g/100 g grasa)	16.1 \pm 2.8	7.6	27.3
Ca (g/L)	0.59 \pm 0.21	0.10	1.88
P (g/L)	0.40 \pm 0.13	0.08	1.03
Fe (mg/L)	2.50 \pm 0.29	1.20	3.70
Vitamina C (mg/L)	79 \pm 24	19	207
Urea (mg/L)	74 \pm 43	0	120
Densidad (g/mL)	1.038 \pm 0.002	1.032	1.046
pH	6.52 \pm 0.04	5.80	6.96
Acidez (°Dornic)	27.8 \pm 1.2	22.5	35.6

¹Error estándar estimado para n = 11.

El-Hatmi et al. (2006) estudió la evolución de IgG y de otras proteínas lácteas en la transición de calostro a leche, en dromedarios del Maghreb, según el número de ordeños practicados. Tal como muestra la **Figura 2.16**, el contenido en IgG disminuyó drásticamente después del segundo ordeño (día 1) y fue ya muy bajo, y similar al valor de la leche, a partir del 4° ordeño (d 3° y siguientes). Los valores iniciales de IgG en el calostro de dromedarios (100 mg IgG/mL; El-Hatmi et al., 2006) fueron superiores a los indicados como satisfactorios en caprino (60-80 mg/mL; Rodríguez et al., 2009) y vacuno (50-60 mg/mL; Robinson et al., 2009) y suficientes para conseguir una adecuada inmunidad.

Por otro lado, a diferencia del calostro de vaca en el que la proteína sérica mayoritaria después de la IgG es la β -lactoglobulina, en el calostro de camella la β -lactoglobulina está ausente y su lugar lo ocupa la seroalbúmina (Ibrahim, 1989; El-Hatmi et al., 2006). A partir del

5° d, la seroalbúmina decrece y la α -lactoalbúmina aumenta, llegando a superar a la seroalbúmina a partir del 5° d de lactación (El-Hatmi et al., 2006), lo que es indicativo del cierre de las uniones *tight* (estancas) en los alveolos mamarios de la camella.

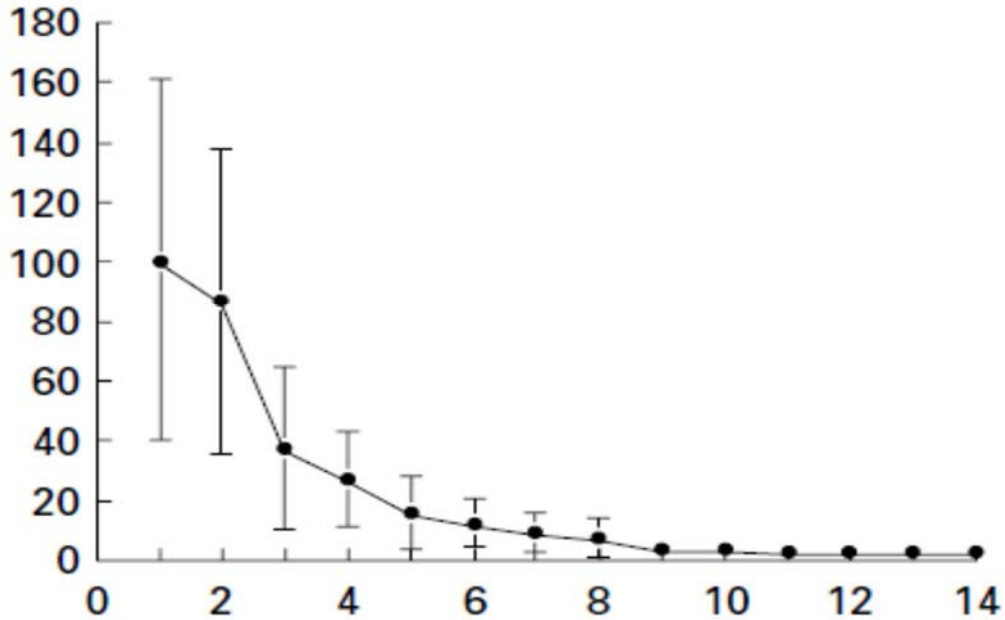


Figura 2.16 Cambios en el contenido de IgG (mg/mL) según el número de ordeños en la transición de calostro a leche en dromedarias en pastoreo. *Changes in IgG content (mg/mL) according to number of milking during the transition from colostrum to milk of grazing dromedaries* (El-Hatmi et al., 2006).

2.5.4 Composición de la leche de camella

La leche de camella es de color blanco uniforme, debido a la baja cantidad de carotenos que presenta (Ibrahem y Zubeir, 2016) y no tiene ningún olor especial. Recién ordeñada tiene una gran cantidad de espuma y su sabor es ligeramente dulce, aunque puede variar según la alimentación. Mientras que la leche de camellas alimentadas con alimentos verdes o conservados es dulce, cuando tienen acceso a plantas de regiones salobres, la leche es salada (Rao et al., 1970). Existen numerosas referencias científicas sobre la composición química de la leche de los camélidos en diferentes partes del mundo (Elamin y Wilcox., 1992; Haddadin et al., 2008; Omer y Eltinay, 2009). Sin embargo, se observa una amplia variación entre datos, incluso para la misma especie en diferentes partes del mundo (Mehaia et al., 1995).

Entre los principales factores de variación de la composición de la leche de camella se encuentran: la edad, número de partos, estación del año, origen geográfico, condiciones ambientales, alimentación y acceso al agua, estado de lactación y características individuales

(Barlowska et al., 2011; Abdalla et al., 2015). El efecto de la restricción de agua es pequeño durante la primera semana de privación, tal como se ha comentado anteriormente, dado el papel clave que desempeña en la supervivencia de la cría. La composición de la leche también se ve afectada por el número de ordeños y el intervalo entre ordeños (Abdalla et al., 2015).

Si la comparamos con la leche de vaca o cabra en condiciones de alimentación similares, la leche de camella presenta una composición en elementos mayores relativamente semejante, aunque algo menos grasa, tal como se muestra en la **Tabla 2.9**, en la que debe señalarse la anormalidad del valor de lactosa en la cabra (i.e., posible mamitis subclínica). En la **Tabla 2.10**, la comparamos con otras especies de camélidos.

Tabla 2.9 Comparación de los componentes mayoritarios de la leche de diversas especies ganaderas. *Comparison of the major components of the milk of different farm species* (Kamal et al., 2007).

Especie	Componente (%)				
	Grasa	Proteína	Lactosa	Cenizas	Sólidos totales
Camella	3.78	3.3	5.85	0.70	15.06
Vaca	4.01	3.2	5.05	0.68	11.95
Cabra	4.30	3.5	3.50	0.75	8.90

Tabla 2.10 Composición de la leche de distintas especies de camélidos. *Milk composition in different species of camelids.*

Componente (%)	Especie		
	Bactriano ¹	Dromedario ¹	Llama ²
Grasa	6.67 ± 2.93	5.94 ± 2.26	4.70 ± 0.05
Proteína	5.23 ± 1.17	4.76 ± 1.13	4.23 ± 0.02
Lactosa	2.77 ± 0.96	3.12 ± 0.92	5.93 ± 0.02
Sólidos totales	10.6 ± 3.1	10.9 ± 3.2	15.6 ± 0.1
Cenizas	1.00	1.00	0.76

¹Faye et al. (2008); ²Riek y Gerken (2006).

Por otro lado, en comparación con la de vaca, la leche de camella presenta una mayor fracción de proteínas del suero, minerales y ácidos grasos insaturados, lo cual contribuye a considerarla como un alimento saludable para humanos (Karray et al., 2005; Konuspayeva et al., 2008). Al compararla con otras especies de camélidos, el dromedario es la más especie mas productiva y su composición es intermedia respecto al camello bactriano o la llama (Tabla

2.10). El camello bactriano se caracteriza por una baja producción láctea (Konuspayeva et al., 2010), lo que explica los mayores valores de composición.

- **Materias grasas:** La grasa de la leche de camella varía ampliamente entre 1.2 y 6.4% (Konuspayeva et al., 2009), siendo su valor medio de $3.5 \pm 1.0\%$. Se ha demostrado que el contenido graso de la leche disminuye al someter a las camellas a condiciones de deshidratación de valores, reduciéndose desde valores de 4.3 hasta 1.1% (Yagil, 1980). Si se compara con la leche de vaca, contiene menos ácidos grasos de cadena corta (C4-C12) (Abu-Lehia, 1989), pero mayores cantidades de ácidos grasos de cadena larga (>C16), tales como los ácidos esteárico y palmítico (Farah et al., 1989; Konuspayeva et al., 2008).

Aunque aproximadamente el 50-65% de sus ácidos grasos son saturados, su contenido es inferior al de la leche de vaca; destacan en especial C16:0 (35%), C14:0 (15%) y C18:0 (10%). Contiene aproximadamente un 35-50% de ácidos grasos insaturados (C18:1, C18:2 y C18:3) (Nagy et al., 2013), que resultan superiores a los de la leche de otras especies (Ereifej et al., 2011). Se han encontrado diferencias en la composición de ácidos grasos de leche de camella entre países, lo que se atribuye a las diferentes condiciones ambientales y de manejo (Konuspayeva et al., 2008).

Una característica importante de la leche de camella es que sus glóbulos de grasa son de pequeño tamaño, inferior al resto de especies ganderas (**Figura 2.17**), pudiendo ser esta una de las razones por la que la leche de camella presenta una mayor digestibilidad (Meena et al., 2014). Además, los niveles medios de colesterol en la leche de camella son de 34.5 mg/100 g, superiores a los de leche de vaca (Gorban y Izzeldin, 1999; Konuspayeva et al., 2008), lo que estabiliza los glóbulos de grasa. Otro aspecto a tener en cuenta, son las diferencias existentes entre los valores de colesterol en plasma en vacas y camellos, lo que sugiere la existencia de marcadas diferencias, entre ambas especies, en el metabolismo de los lípidos.

- **Proteínas:** La leche de camella es una fuente importante de proteínas, variando su contenido ampliamente en camellas de la misma raza (2.5-5.5%) en función de la estación (Zhao et al., 2015). Los valores mínimos se observan en verano (agosto) y los máximos en invierno (diciembre) según Al haj y Al Kanhal (2010). El estado de lactación tiene un efecto pequeño sobre el contenido en proteína de la leche (Konuspayeva et al., 2010).

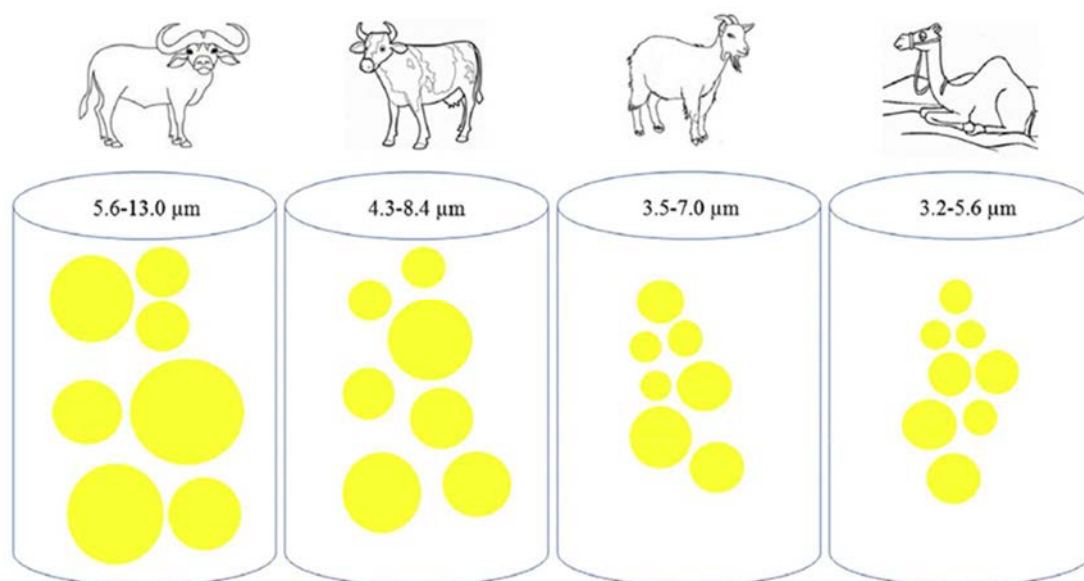


Figura 2.17 Diámetro de los glóbulos de grasa en la leche de búfala, vaca, cabra y camella. *Diameter of fat globules in buffalo, cow, goat and camel milks* (Meena et al., 2014).

La caseína es la proteína mayoritaria de la leche de camella, con contenidos que varían entre 1.63-2.76% (52-87% del total de proteína). Del total de caseína, aproximadamente el 65% corresponde a β -caseína, el 22% a α_{S1} -caseína, y el 9.5% a α_{S2} -caseína (Shuiet et al., 2013). Este elevado contenido de β -caseína también se encuentra en la leche humana y podría ser un reflejo de su alta tasa de digestibilidad y baja incidencia de alergias en niños, ya que la β -caseína es más sensible a la hidrólisis péptica (estomacal) que la α S-caseína. Es interesante destacar, que algunas proteínas de la leche, en especial las caseínas, tienen la capacidad de modificar su configuración ya que contienen regiones de fosforilación que cambian sus propiedades (Motasem, 2013).

Las proteínas del suero de la leche de camella varían entre 0.63-0.80% y representan entre el 20-25% del total de proteína en la leche. A diferencia de la leche de vaca, en la que la β -lactoglobulina supone el 50% del total y la α -lactoalbúmina el 25%, la leche de camella no contiene β -lactoglobulina (como la leche de mujer), siendo la α -lactoalbúmina el componente mayoritario del suero. Otras proteínas del suero importantes en la leche de camella son la seralbúmina, lactoferrina, inmunoglobulinas termoestables y proteína de reconocimiento de peptidoglicano.

- **Péptidos activos:** La fracción proteica de la leche de camella contiene componentes de alto valor nutritivo y sustancias biológicamente activas. Además, muchas de las proteínas

de la leche son precursoras de diferentes péptidos bioactivos que son liberados por proteólisis enzimática (e.g., enzimas presentes en la leche, enzimas de bacterias ácido lácticas o fuentes exógenas) durante la digestión gastrointestinal o en el procesado de alimentos (e.g., maduración de productos lácteos), tal como indicaron Clare y Swaisgood (2000) y Meisel y FitzGerald (2003). La leche de camella es especialmente valorada por su contenido en péptidos activos, aunque la mayoría presentes en su forma inactiva. La hidrólisis digestiva produce la liberación de los péptidos activos y la activación de sus propiedades fisiológicas, nutricionales o protectoras (e.g., antimicrobiana, inmunomoduladora, antihipertensiva). La **Tabla 2.11** resume los principales componentes bioactivos y sus propiedades en la leche de camella.

Tabla 2.11 Función biológica de algunas proteínas presentes en la leche de camello. *Biological function of some proteins present in camel milk* (Khalesi et al., 2017).

Proteína	Función	Referencia
α S ₁ -Caseína	Actividad chaperón	Badraghi et al. (2009)
β -Caseína	ACE-inhibitoria y actividad antioxidante, inhibición de la α -glucosidasa, transportador de compuestos hidrofóbicos	Esmaili et al. (2011), Moslehishad et al. (2013)
α -Lactoalbúmina	Actividad antioxidante, mejora de la digestibilidad	Jrad et al. (2014), Salami et al. (2009)
Lactoferrina	Antioxidante, antiinflamatoria, actividad antibacteriana, prevención del crecimiento de células tumorales en el colon	Arab et al. (2014)
Lactoperoxidasa	Enzima indicador de la eficiencia de pasteurización	Tayefi-Nasrabadi et al. (2011)
IgG e IgM	Inmunológica	Alhaidar et al. (2014), Raei et al. (2015)
Lisozima	Actividad antibacteriana y antiviral	Shori (2015)
β -Lactoglobulina	Ausente	Shori (2015)

Algunos péptidos derivados, tales como fosfopéptidos de caseína, tienen actividad multifuncional, pudiendo formar sales de organofosfatos solubles y funcionar como portadores de minerales, especialmente calcio. Además, se han mostrado que pueden ejercer efectos citomoduladores e inhibir el crecimiento de células cancerosas, así como estimular la actividad de células inmunocompetentes y células intestinales neonatales, respectivamente (Meisel y FitzGerald, 2003).

Los principales péptidos activos destacables en la leche de distintas especies se han resumido en la **Tabla 2.12** y son:

- **Immunoglobulinas (Ig):** De especial importancia en el calostro, tal como ya se ha comentado, es responsable de la inmunidad pasiva que la madre transmite a las crías durante la lactancia. Inhibe el metabolismo bacteriano, aumenta la fagocitosis de los leucocitos y neutraliza toxinas y virus (Campanella et al., 2009).
- **Lisozima (Lyz):** es uno de los péptidos activos más estudiados en la leche, aunque su concentración en la leche de camella es baja. Descubierta por A. Flemming (muramidasa), funciona conjuntamente con la lactoferrina, destruyendo las bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas. La Lyz destruye la capa de peptidoglicanos de la membrana de las bacterias y produce la muerte del patógeno (Lonnerdal, 2013). Es resistente a la acidez y al calor (e.g., pasteurización), por lo que se utiliza ampliamente en la industria alimentaria (e.g., quesos, vinos) como aditivo con el nombre de E-1105. Los niveles de Lyz en la leche de camella son del orden 2.88 mg/L (Shori, 2015).
- **Lactoferrina (Lf):** es una glicoproteína perteneciente a la familia de las transferrinas, y que posee una alta afinidad con los iones hierro. Se encuentra presente en altas cantidades en el calostro y leche. Posee varias funciones biológicas, entre las que se encuentra su actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Actúa contra las infecciones gastrointestinales y también promoviendo el crecimiento de las células intestinales. Se ha demostrado, además, que activa el sistema inmunológico y su actividad se ve incrementada por las inmunoglobulinas debido a procesos de sinergia (Vorland, 1999). Los niveles de citados en leche de camella varían entre 200-1000 mg/L, suponiendo aproximadamente un 0.5% del total de la proteína (Raei et al., 2015).
- **Vitaminas:** La leche de camella contiene altas cantidades de vitaminas, particularmente tiamina (B1), riboflavina (B2) y ácido ascórbico (Vitamina C) (Mohamed et al., 2005; Ereifej et al., 2011). La presencia de altas concentraciones de vitamina C en la leche de camella (24-52 mg/kg), es decir de 3 a 5 veces superior a las encontradas en la leche de vaca, es importante para las crías en las regiones áridas con dificultad de acceso a forrajes verde (Zhao et al., 2015; Kamal y Karoui, 2016; Ziane et al., 2016), así como también para los humanos.
- **Minerales:** El contenido mineral en la leche de camella es inferior al 1% (Yaqoob and Nawaz, 2007), al igual que la mayor parte de leches. El contenido en Fe de la leche camella, es 10 veces superior al de la leche de vaca (Ziane et al., 2016).

Tabla 2.12 Concentraciones de péptidos bioactivos en la leche de diferentes especies. *Concentration of bioactive peptides in the milk of different species.*

Especie	Insulina (ng/mL)		Adiponectina (ng/mL)		IGF-1 (ng/mL)		Lactoferrina (mg/L)		Lisozima (mg/L)		IgG (mg/L)	
	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media	Rango
Humana	2.0	(0.9 ^a -2.7 ^b)	16.5	(13.9 ^c -19.0 ^a)	15.1	(7.1 ^d -19.1 ^e)	1167	(600 ^f -2000 ^g)	448	(100 ^h -890 ^h)	4.5	(40 ^g -54 ⁱ)
Vaca	1.4	(0.5 ⁱ -5.5 ^k)	5.6	(4.6 ^j - 6.2 ^j)	17.5	(5.0 ^l -30.0 ^m)	145	(20 ⁿ -500 ^h)	0.2	(0.0 ⁱ -0.6 ^h)	565	(475 ⁱ -670 ^o)
Oveja	-	-	-	-	-	-	140 ^h	-	1.2	(0.2 ^p - 4.0 ^h)	525	(500 ^h -550 ^o)
Cabra	1.7 ^q	-	-	-	9.6	(4.7 ^r -14.5 ^r)	126	(98 ^s -149 ^s)	0.3	(0.3 ^h -0.5 ^l)	400	(100 ^h -700 ^o)
Camella	1.8	(0.8 ^u -2.7 ^v)	-	-	-	-	228	(140 ^w -340 ^x)	2.7	(0.2 ^y -5.0 ^l)	1193	(650 ^w -2,000 ^h)

^aLey et al. (2011); ^bShehadeh et al. (2006); ^cNewburg et al., 2012; ^dBaxter et al.,1984; ^eCorps et al.,1988; ^fHennart et al.,1991; ^gVan Neervan et al., 2012; ^hKrol et al., 2010a; ⁱKrol et al., 2010b; ^jCaja et al., 2014; ^kMalven et al.,1987; ^lVega et al.,1991; ^mOutwater et al.,1997; ⁿBrock 1980; ^oEl-Agamy and Nawar, 2000; ^pBarbour et al., 1984; ^qMagistrelli et al., 2008; ^rClaey et al., 2014; ^sDrackova et al., 2009b; ^tEl-Agamy et al., 1998; ^uRoyatvand et al., 2013; ^vHamad et al., 2011; ^wEl-Hatmi et al., 2006; ^xEl-Gawad et al., 1996; ^yEl-Agamy et al., 1996.

Los niveles de K y Cu son también más elevados que en la leche de vaca (Zhao et al., 2015).

2.4.5 Interés del consumo humano de leche de camella

La leche de camella, es un alimento que, fresca o fermentada, se ha usado tradicionalmente en diferentes partes del mundo en el tratamiento de enfermedades tales como: edemas por retención de líquidos, ictericia por colestasis (bloqueo biliar), diabetes, tuberculosis, asma y leishmaniasis (Shalash, 1984; Abdelgadir et al., 1998). Se recomienda además el consumo de leche de camella en niños alérgicos a la leche de vaca (El-Agamy et al., 2009).

Sin embargo, muchas publicaciones sobre el empleo de la leche de camella reflejan la necesidad estudios en personas y animales con un adecuado diseño experimental para demostrar las propiedades terapéuticas atribuidas a la leche de camella. Además, los resultados sobre eficacia y seguridad alimenticia están incompletos, por lo que el valor terapéutico de la leche de camella no está claro en la actualidad (Mihic et al., 2016).

Los principales efectos beneficioso atribuidos a la leche de camella y que han podido ser contrastados en la bibliografía científica consultada, son los siguientes:

- **Alimento hipoalergénico:** A diferencia de la leche de vaca, la leche de camella no contiene β -lactoglobulina, ausente también en la leche humana y debido a lo cual se le atribuye efecto hipoalergénico (Cardoso y Cardoso, 2010), y podría ser una alternativa para la población alérgica a esta proteína de la leche de vaca.

Por otro lado, Khalesi et al. (2017) han indicado que no se han reportado casos de alergia relacionada con la leche de camella. Por ello, se puede considerar un producto seguro para el consumo por personas con una respuesta débil del sistema inmunológico. La lactosa de la leche de camella es metabolizada mejor que la de vaca por personas intolerantes a lactosa, probablemente porque su lactosa está más expuesta a la acción de la enzima lactasa (Shori, 2015).

La ausencia de β -lactoglobulina, unida a la presencia en su composición de proteínas protectoras, hacen que se asemeje mas a la leche humana que la de vaca (Arab et al., 2014), lo que la convierte en una fuente alternativa, especialmente para la fabricación de leches maternizadas para niños lactantes (Salami et al., 2009).

- **Alimento funcional:** La proteína láctea es una excelente fuente de péptidos bioactivos con efectos saludables en el organismo. Entre estos efectos se encuentran el aumento de la absorción mineral, factores de crecimiento, actividad antioxidante, reducción de la

presión sanguínea, actividad anticancerígena y acciones protectoras contra diferentes bacterias y virus (Salami et al., 2010).

Las razones que justifican su uso radican en su acción antioxidante, inmunomoduladora, antiinflamatoria, antihipertensiva (Quan, et al., 2008), insulínica, antiapoptótica (Konuspayeva et al., 2009; Korashy et al., 2012) y anticancerígena (Magjeed, 2005). Según Mihic et al. (2016), en muchos casos, estas propiedades han sido determinadas en estudios invitro o en animales, por lo que se cuestionan sus efectos en humanos.

Salami et al. (2008) ha indicado que, mediante tratamiento enzimático de las proteínas del suero de la leche de camella, podrían producirse péptidos con actividad ACE-inhibitoria (bloquea la conversión de angiotensina I a angiotensina II), de especial interés por su efecto reductor de la hipertensión y mejorador de la insuficiencia cardiaca congestiva, así como también en las complicaciones microvasculares de la diabetes.

Recientemente, Homayouni-Tabrizi et al. (2016) han identificado dos péptidos derivados de la leche de camella, uno con peso molecular de 1.3 kDa [Asn-Glu-Asp-Asn-His-Pro-Gly-Ala-Leu-Gly-Glu-Pro-Val] y otro de 1.8 kDa [Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln-Gln-Met-Val-Pro-Tyr-Pro-Arg-Gln], como potenciales antioxidantes.

- **Efecto antidiabético de la leche de camella:** Desde la antigüedad ha existido una conexión entre la leche de camella y la diabetes (Zagorski et al., 1998). Agrawal et al. (2007) detectó la ausencia de diabetes en la comunidad Raica (pastores del noroeste del Rajastán en India) que consumen habitualmente leche de camella. La prevalencia de diabetes en los habitantes de la zona que consumían leche de camella fue del 0%, mientras que en los no consumidores de leche de camella de la misma comunidad se elevaba al 0.7%. Según el mencionado estudio, la prevalencia de diabetes se eleva al 0.4% en personas que no pertenecen a la comunidad Raica y consumen leche de camella, y al 5.5% cuando no pertenecen a la comunidad Raica y no consumen leche de camella.

A priori, la idea de que el consumo de leche de camella con INS produce un efecto hipoglucemiante es poco aceptable, ya que la INS es una proteína que debe destruirse durante el proceso de digestión en el estómago (Vander et al., 1994). Por esto, en la práctica médica, la administración de INS oral a pacientes con diabetes no es efectiva.

Pero la pregunta clave es si la INS de la leche de camella podría ser una excepción y pasar sin degradarse en el estómago.

La INS presente en la leche de camella es una pequeña proteína de 51 aminoácidos estructurada en 2 cadenas: A y B (**Figura 2.18**). Difiere únicamente de la INS humana

en cuatro aminoácidos (posiciones: Val26Ala, Thr54Ala, Thr97Ala y Ile99Val) y presenta un patrón de digestión similar al de la INS de otras especies. Esto hace pensar que no debe poder atravesar la barrera de la mucosa intestinal y llegar a la sangre antes de ser degradada en el estómago (Malik et al., 2012).

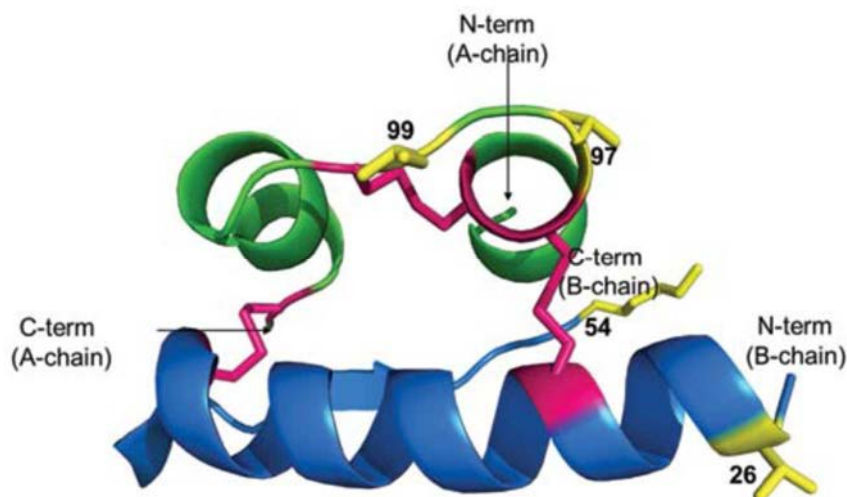


Figura 2.18. Estructura tridimensional de la INS humana. La cadena A (arriba) se une covalentemente a través de puentes disulfuro a la cadena B (abajo). *Tridimensional structure of human INS. The A chain (up) is covalently linked through disulfide bonds to the B (down)* (Malik et al., 2012).

La INS se une al receptor de la tirosina quinasa transmembrana (receptor de INS) presente en el hígado, el músculo y las células en los tejidos grasos, y facilita la captación de GLU de la sangre, para convertirla en glucógeno en el hígado y los músculos. La INS regula el metabolismo de carbohidratos y grasas en el cuerpo. La falta de control del nivel de INS conduce a la diabetes en humanos.

Se ha demostrado que la leche de camella contiene elevadas cantidades de INS (Yagil et al., 1994). Sin embargo, la presencia de INS en la leche, no es exclusiva de los camellos. De hecho, se ha comprobado su presencia en otras especies de mamíferos, registrándose grandes diferencias con respecto a su concentración entre la leche y el calostro, siendo superiores en el calostro (Zargorski et al. 1998), tal como se muestra en la **Figura 2.19**. En general, la concentración de INS en el calostro de rumiantes es muy superior a sus respectivos valores en la leche, al igual que ocurre en camellos. En el caso de los humanos, los niveles de INS en el calostro son similares a los niveles de INS en la leche de rumiantes. Estos bajos niveles de INS en la leche humana, se asocian a la capacidad que tienen de transferir anticuerpos y hormonas a través de la circulación de

la placenta (Lawrence, 1980). Por otro lado, la leche de vaca es una de las que presenta niveles de INS más bajos.

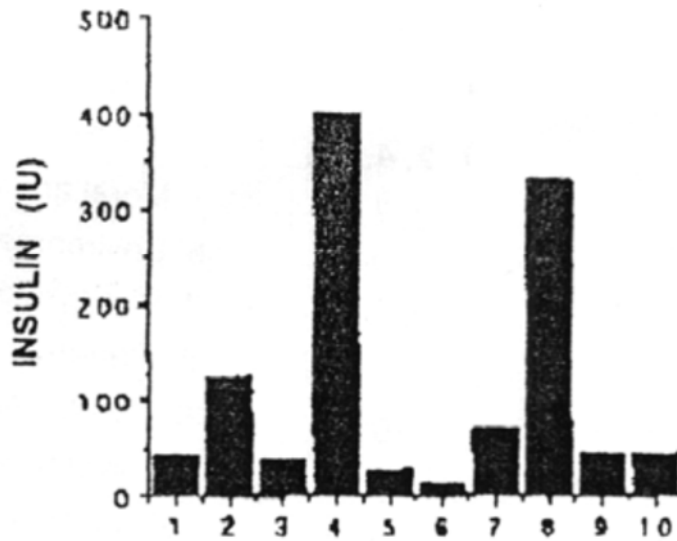


Figura 2.19 Contenidos de insulina en el calostro y la leche de diferentes especies: 1, calostro humano; 2, calostro de camella; 3, leche de camella; 4, calostro de vaca; 5, leche de vaca; 6, leche de vaca comercial; 7, calostro de cabra; 8, calostro de oveja; 9, leche de oveja, 10, helado de leche de camella. *Insulin contents in milk colostrum and milk of different species: human colostrum; 2, camel colostrum; 3, camel milk; 4, cow colostrum; 5, cow milk; 6, commercial cow milk; 7, goat colostrum; 8, sheep colostrum; 9, sheep milk; 10, camel ice cream* (Zargorski et al., 1998).

En un estudio posterior de 2 años de duración con pacientes diabéticos Tipo 1 (n = 24) Agrawaal et al. (2014) compararon los efectos de consumir 0.5 L/d de leche de camella, en la dosis de INS que era necesario inyectar a diario para conseguir valores euglucémicos en la sangre (**Figura 2.20**). Como puede observarse en la Figura 2.20, los diabéticos que consumieron leche de camella, necesitaron aproximadamente la mitad de la dosis de INS de los del control.

La INS en el calostro y la leche debe tener un papel fundamental en la supervivencia del neonato. En el caso de los camellos, su época de partos es en invierno y en ambientes extremos con temperaturas nocturnas muy bajas. En estas condiciones, la GLU celular resulta vital en la producción de calor metabólico para las crías (Vander et al., 1994) y la INS sería necesaria para lograr una pronta utilización de la lactosa de la leche. En las crías recién nacidas, las funciones endocrinas no están completamente desarrolladas como en el animal adulto y por lo tanto el calostro debe aportar los nutrientes necesarios

para el mantenimiento del metabolismo y la temperatura corporal durante los primeros días de vida y hasta que la cría desarrolle su sistema endocrino.

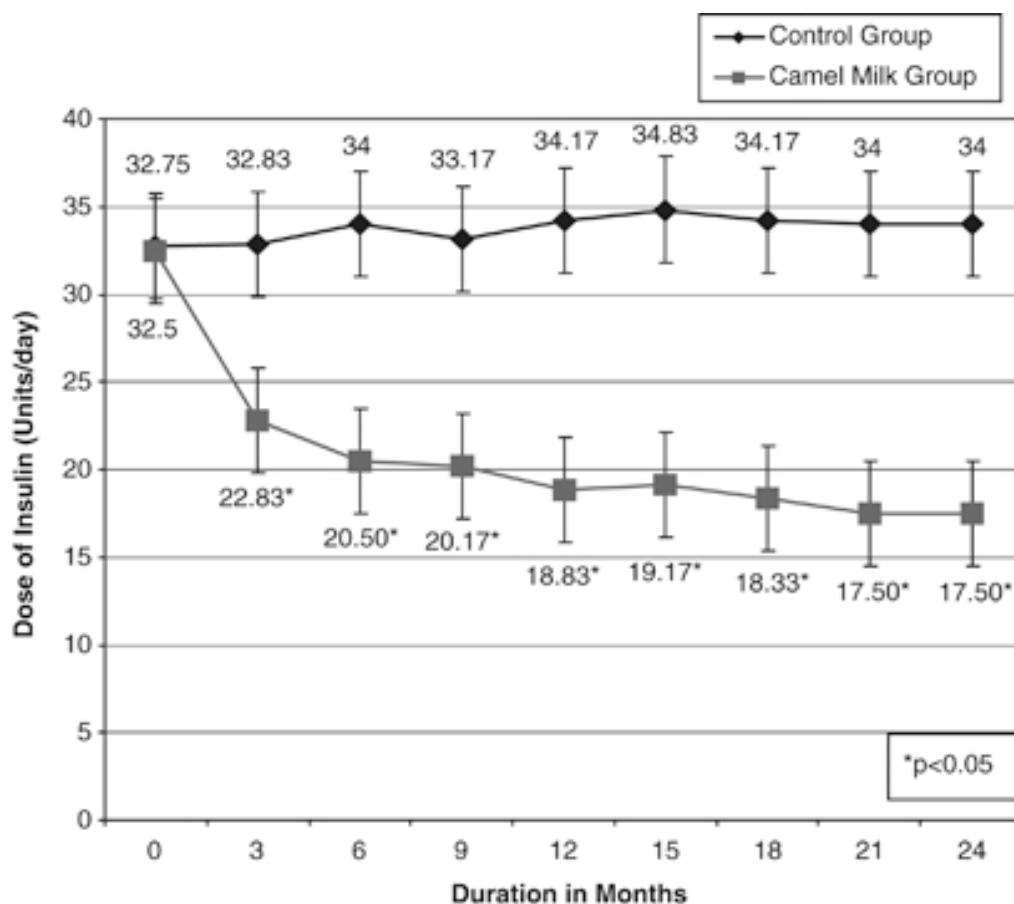


Figura 2.20 Efecto del consumo de leche de camella (0.5 L/d) en la dosis de insulina (UI/d) que fue necesario inyectar a pacientes con diabetes 1, para mantener valores euglicémicos en sangre. *Effect of camel milk consumption (0.5 L/d) on the insulin dose (IU/d) required to inject to patients suffering diabetes 1 for maintaining euglycemic values in blood* (Agrawal et al., 2011).

La absorción intestinal de las proteínas de alto peso molecular, así como de la INS, sólo es posible durante esos primeros días de vida (Lawrence, 1980).

En los rumiantes, la leche llegar al abomaso (cuajar) tras evitar el retículo-rumen mediante la gotera esofágica, Allí, las proteínas de la leche precipitan por la acción del pH ácido y de la pepsina, formándose un coágulo. Sin embargo, en el caso de las crías de camella no se forma este coágulo sino un gel que pasa al intestino donde se produciría la absorción de la INS (Abu-Lehia, 1989). Así, en el caso de ratas alimentadas con leche de camella, Zargorski et al. (1998) observaron una disminución inicial en los niveles de GLU

en sangre, seguido de un aumento posterior. La disminución inicial de GLU valida la teoría de que la leche de camella actúa sobre la regulación de la GLU celular en ausencia de INS endógena (Zargorski et al., 1998).

Las explicaciones que se dan en las referencias bibliográficas consultadas para poder explicar los efectos antidiabéticos anteriormente citados, son las siguientes (Malik et al., 2012):

- La presencia de INS o de un componente de efectos similares en la leche de camella.
- Que la INS o dicho componente posean propiedades especiales, que permitan que su absorción sea más fácil, o bien que sea resistente a la proteólisis gástrica.
- La INS de la leche de camella esté encapsulada en nanopartículas (vesículas lipídicas), que permitan su paso a través del estómago y su entrada en el sistema circulatorio.
- La existencia de algún otro componente en la leche, que sea el encargado de producir este efecto antidiabético (e.g., pequeñas moléculas parecidas a la INS, que imiten su interacción o actividad con el receptor de INS). Con respecto a esta hipótesis, debe resaltarse la observación realizada por Zargorski et al. (1998) en su estudio. Si los receptores de la INS reaccionan de la misma manera que los del RIA (Radioinmunoensayo), el compuesto similar a la INS que se encuentre en la leche, dará lugar a la respuesta específica del segundo mensajero en las células (i.e., respuesta a la INS).
- Se ha considerado también el efecto de las inmunoglobulinas de pequeño tamaño presentes en la leche de camella sobre las células β (Agrawal et al., 2007ab), así como el hecho de que la leche de camella no coagule en el estómago humano (Agrawal et al., 2003), como factores que contribuyen a este efecto hipoglucemiante.

Sin embargo, no se conoce el mecanismo celular y molecular del efecto hipoglucemiante. Según Abdulrahman et al. (2016), el fraccionamiento preliminar de la leche de camella sugiere que la naturaleza del componente activo que produce dicho efecto es un péptido o proteína que induce un cambio alostérico en la conformación y activación del receptor de INS (**Figura 2.21**) con efectos diferenciales sobre su señalización intracelular.

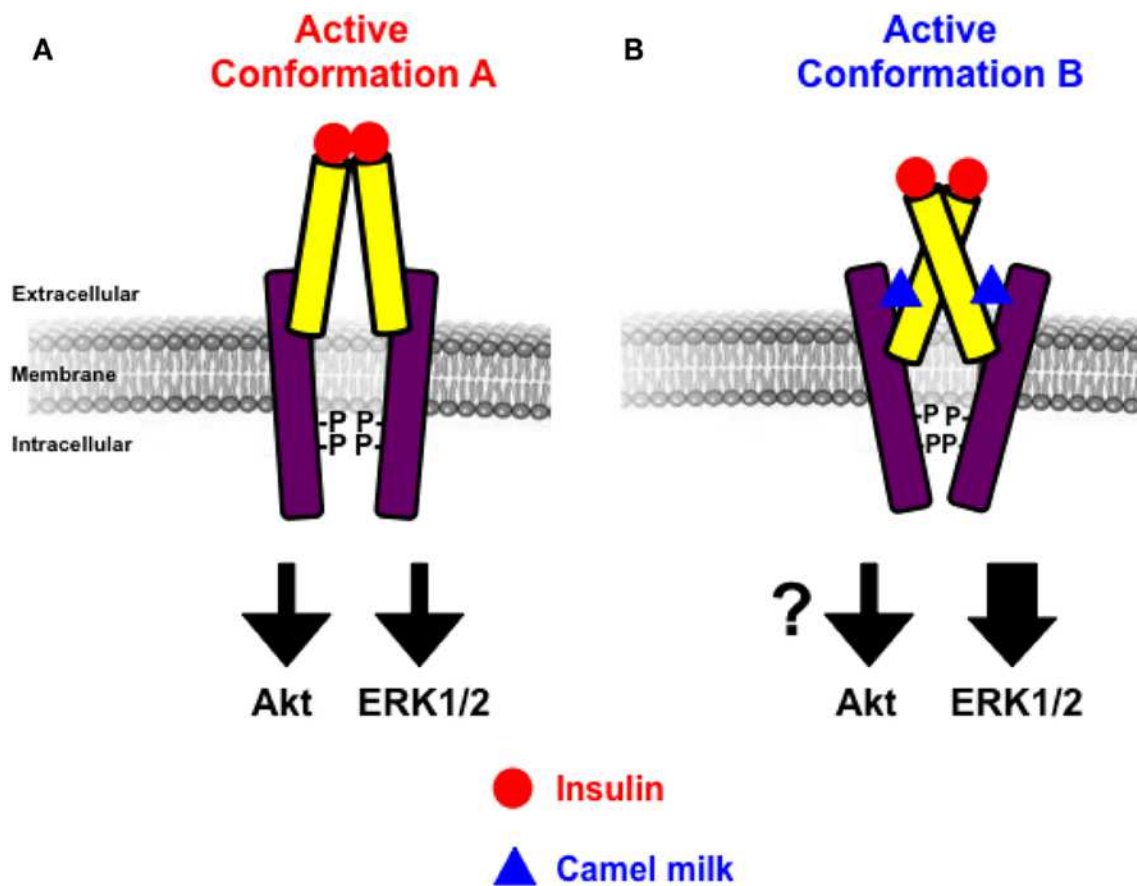


Figure 2.21. Acción alostérica de la leche de camella en el receptor de la INS a nivel de la membrana celular con estabilización de su conformación específica (B vs. A) y aumento de la señalización de activación de ERK1/2, pero probablemente no para Akt. *Allosteric action of camel milk on the INS receptor at the level of the cellular membrane with stabilization of its specific conformation (B vs. A) and increase of the activation signaling of ERK1/2, but probably not Akt*, (Abdulrahman et al., 2016).

2.5 IDENTIFICACIÓN DE LOS CAMELLOS

2.5.1 Necesidad de la identificación individual y trazabilidad

El reconocimiento o identificación (ID) individual de los camellos es un problema complejo debido a que poseen pocas características morfológicas que permitan diferenciar entre individuos. Entre las características utilizadas para su diferenciación figuran el color (e.g., castaño oscuro o claro, blanco, negro) y las particularidades de la capa (e.g., manchado), junto a otros detalles anatómicos (e.g., forma de la cabeza, longitud del labio inferior) y marcas naturales (e.g., ojos azules). Sin embargo, su empleo es poco efectivo cuando el número de

animales es elevado. Además, dependiendo de la estación del año, los camellos cambian su apariencia; en invierno, tienen abundante pelo largo (lana) que dificulta aún más su reconocimiento, mientras que en verano pierden mucho pelo y es corto y uniforme. Esto ha hecho que, en la práctica, se haya tenido que recurrir al uso de distintas marcas artificiales para la ID individual de animales (e.g., marcas a fuego, muescas en orejas, tatuajes, crotales), en especial para demostrar la propiedad de animales en condiciones de pastoreo libre.

La ID individual es además un elemento imprescindible para la aplicación de programas de control de producciones y mejora genética de rendimientos en ganadería, así como de aplicación de programas de vacunación y control de enfermedades en ganadería (Caja et al., 2004).

La necesidad de los sistemas de ID en ganadería se vio reforzada a partir de las crisis alimentarias de la década de los 80 y, en particular, desde la aparición de la encefalopatía espongiiforme bovina (EEB) en 1996. Como consecuencia, la Comisión Europea publicó el llamado “Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria” en el año 2000. Desde entonces, la seguridad alimentaria se ha convertido en una prioridad, estableciendo un programa de acción legislativa basado en el concepto “de la granja a la mesa” (*from farm to fork*). El concepto de trazabilidad se vio expresado en el Reglamento EC 178/2002, de obligado cumplimiento en todas las etapas de la cadena alimentaria (producción, procesado y distribución), y en vigor en la UE desde inicios de 2005.

En el caso de los camellos, las alarmas sanitarias para los humanos están relacionadas con zoonosis transmisibles. Entre ellas, destaca la repercusión mediática producida por la enfermedad emergente conocida como MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus; Chu et al., 2014), que infectó recientemente a más de 1600 pacientes en 26 países, principalmente en Oriente Medio (Shapiro et al., 2016). La presencia del virus se relaciona con un reservorio animal, probablemente murciélagos o dromedarios, que posteriormente infectaron a los humanos. Se han detectado anticuerpos MERS-CoV y MERS-CoV-like similares en dromedarios y humanos, comprobándose además que el virus se encuentra en cantidades elevadas en las secreciones de las vías respiratorias superiores de los dromedarios (Shapiro et al., 2016). Asimismo, los camellos pueden ser portadores de diversas enfermedades endémicas en sus regiones de origen (Fassi-Fehri, 1987). Entre ellas destacan en particular la surra (*Trypanosoma evansi*; Röttcher et al. 1987; Desquesnes et al., 2013), tuberculosis (*Mycobacterium bovis*; Mamo et al., 2011) y brucelosis (*Brucella melitensis* y *B. abortus*; Gwida et al., 2012), de gran importancia en salud pública. Estas enfermedades endémicas son la principal causa de la necesidad de cuarentenas sanitarias y prohibición de importaciones a Europa de animales procedentes de África y Asia.

Todo ello ha supuesto la necesidad de disponer de una normativa reglamentaria específica para la comercialización de animales o de sus productos, a fin de responder a la demanda de productos seguros y de calidad por parte de los consumidores. Surge así la necesidad de disponer de sistemas fiables de ID y seguimiento individual de animales, en las que se apliquen tecnologías emergentes, teniendo en cuenta la globalización de los intercambios comerciales actuales (Felmer et al., 2006).

2.5.2 Estandarización de la identificación

La primera referencia en la que se manifiesta la necesidad de disponer de un método de ID permanente en camellos, así como la evaluación de los distintos dispositivos visuales de ID (v-ID) empleados a lo largo del tiempo, corresponde a Wensvoort et al. (2004). En dicho estudio, se menciona el empleo de las marcas al fuego, como sistema tradicional y cuya principal desventaja es que no respetan los principios básicos de bienestar animal. Citan también el tatuaje del labio interno, realizado bajo condiciones de anestesia, y el uso de crotales plásticos y metálicos, sin abordar su eficacia. Por otro lado, señalan el interés de la ID electrónica (e-ID) mediante el empleo de microchips inyectables en camellos, cuyo uso estaba en proceso de evaluación en los Emiratos Árabes Unidos en el momento de redacción de la publicación. La ID de camellos mediante microchips inyectables fue aprobada oficialmente en el Emirato de Abu Dhabi (ADFCA, 2010).

En la actualidad, a pesar de la sedentarización de muchos rebaños de camellos y la creación de granjas intensivas especializadas en la producción de leche (Faye et al., 2012), no se dispone de un sistema de ID y trazabilidad de los camellos.

En este sentido, no existe una normativa específica para la ID de camellos a nivel mundial y los camellos no se encuentran citados como especie ganadera ni en el código de salud de animales terrestres de la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE, 2015), el Códex Alimentarius (WHO-FAO, 2015) o las directrices del Comité Internacional de Registro de Animales (ICAR, 2016).

No se dispone de ningún estudio que evalúe el rendimiento de diferentes sistemas de ID usados en camellos, tanto a corto como a medio plazo, pero debe tenerse en cuenta la larga vida productiva de estos animales, en se sitúa en torno a los 30-40 años.

En las últimas décadas, la e-ID se ha convertido en un tema de especial interés desde que la UE generalizó su uso en distintas especies ganaderas (e.g., bovino, ovino y caprino, equino) y publicó una amplia legislación (EC 1760/2000, EC 21/2004; EC 933/2008; EC 759/2009). El principio básico de esta legislación es la obligatoriedad del uso de 2 dispositivos de ID en cada

animal para prevenir las pérdidas y garantizar su identificación individual. Se recomienda que uno de ellos sea de tipo v-ID y el otro de tipo e-ID, lo que es obligatorio en el caso del ovino y caprino.

2.5.3 Sistemas de ID visual (v-ID)

- **Marcas al fuego:** Las marcas al fuego son una práctica antigua en los camellos árabes, en los que se aplicaban en distintas zonas visibles del cuerpo del animal (e.g., mejilla, cuello, muslos) con el objetivo de diferenciarlos. Los beduinos libios se refieren a ellas como “nar” (fuego), pues se realizan con un hierro candente. Estas marcas tenían como propósito la ID de animales perdidos o robados, de manera que pudieran ser reclamada la propiedad por sus dueños. Se basan en el uso de símbolos (“wasm” o “lealama”) que hacen referencia al clan, tribu o familia del propietario. Se usaban también en tejidos y para documentos oficiales, pasando de generación en generación. Actualmente las marcas al fuego se rechazan por razones de protección y bienestar animal, además de observarse con mucha frecuencia la formación de queloides en los camellos, lo que imposibilita en ocasiones su lectura. En España, la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio, se cita literalmente (Título 1, artículo 4) que “Las Administraciones Públicas adoptarán las medidas necesarias para asegurar que, en las explotaciones, los animales no padezcan dolores, sufrimientos o daños inútiles”. Sin embargo, tanto en los países árabes como las islas Canarias se pueden ver todavía animales con marcas al fuego, aunque en su mayoría se corresponden con animales adultos (**Figura 2.22**).
- **Crotales visuales:** En las últimas décadas, los crotales plásticos circulares (**Figura 2.23**), han sido el principal sistema de ID utilizado en Canarias para la ID de camellos, aunque todavía hoy es posible ver algún animal con crotales de placa metálica. A nivel anatómico, la oreja del camello es pequeña, inhiesta, en posición lateral y se caracteriza por estar cubierta de pelo largo en la zona de la aurícula (Figura 2.23.). Al igual que sucede en otras especies ganaderas, las características (e.g., forma, peso, dimensiones, longitud del vástago de la pieza macho) y materiales de elaboración (e.g., elasticidad, resistencia, biocompatibilidad) del crotal, el comportamiento del animal (e.g., mordiscos) y las condiciones de explotación (e.g., vallados, comederos) tienen un gran impacto en la retención de los crotales (Caja et al., 2014). De especial importancia resulta el proceso de cicatrización de la herida de crotalización, que en ocasiones se infecta y da origen a la pérdida del crotal o la rotura de la oreja.

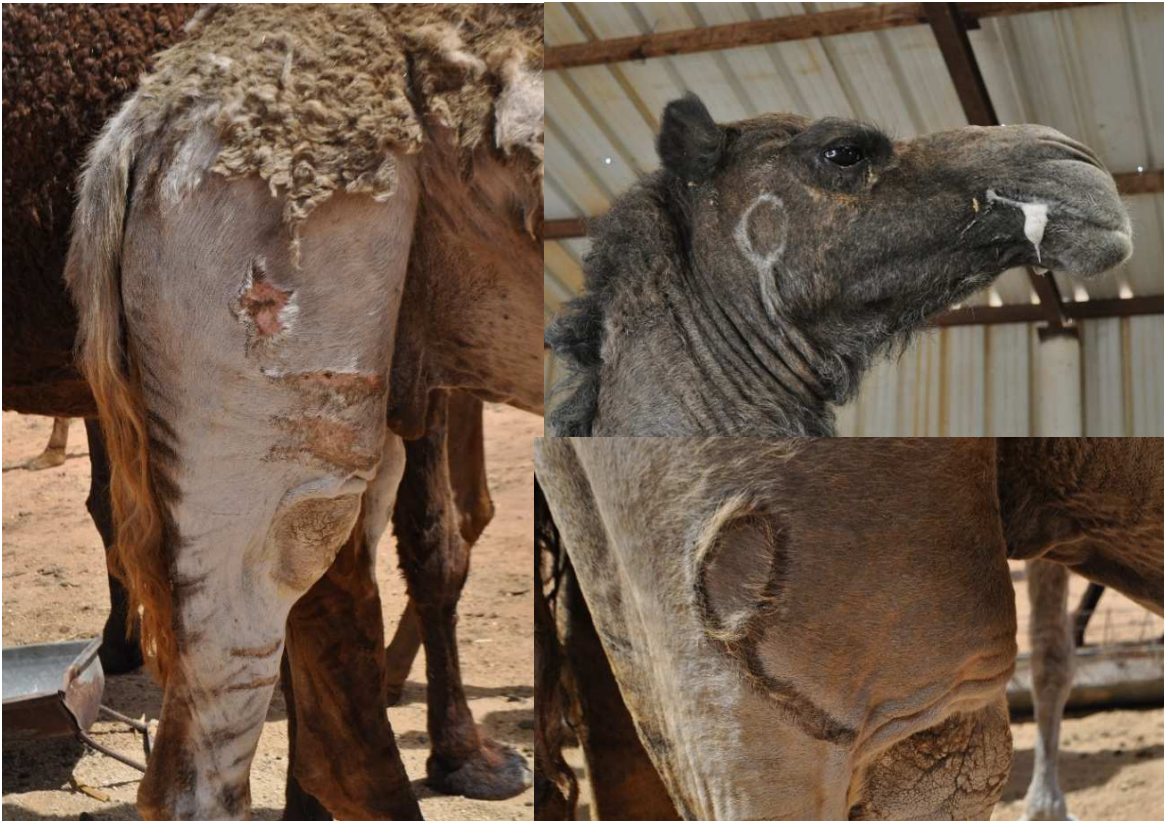


Figura 2.22 Marcas al fuego en el muslo y mejilla de dromedarios. *Iron brands on the thigh and cheek of dromedaries.*



Figura 2.23 Crotal utilizado en las campañas de saneamiento de camellos en las Islas Canarias. *Ear tag used in the camel health campaigns in the Canary Islands.*

Además, la aplicación incorrecta (e.g., fuera de la zona media de la aurícula) puede modificar el resultado de la v-ID en camellos, aumentando notablemente las pérdidas de crotales y la rotura de orejas. Por esta razón, los crotales de banda metálica, fabricados con metales no biocompatibles (i.e., latón) y que no pueden colocarse en el centro de la oreja, que fueron comunes en los años 60, han sido desechados actualmente y reemplazadas por crotales plásticos (e.g., poliuretano).

En la práctica, se ha constatado que uno de los principales problemas de la v-ID mediante crotales en camellos, son las roturas de orejas y problemas de cicatrización. Dado el pequeño tamaño de la oreja en los camellos, esto supone en muchos casos la pérdida de una parte importante de la aurícula y la imposibilidad de volver a colocar otro crotal. Por otro lado, es muy importante, elegir correctamente el lado de la aurícula hacia el que se coloca el código identificativo y evitar colocarlo en la zona cubierta por pelo (parte interior). Las dificultades de lectura de los v-ID se ven agravadas en los camellos por la altura de la cabeza y movilidad del cuello, así como también por el carácter agresivo que pueden tener, lo que origina situaciones peligrosas (e.g., patadas y mordiscos) en las lecturas de v-ID.

No existen datos publicados en camellos sobre el rendimiento a corto o largo plazo de los distintos dispositivos v-ID (crotales circulares, rectangulares o de placas metálicas). En general, diversos de estudios han demostrado que los crotales redondos presentan menos pérdidas y roturas que los crotales trapezoidales o rectangulares de tipo bandera (Carné et al., 2009). En consecuencia, se hace necesaria una evaluación del rendimiento de identificación de la v-ID en camellos, para así poder aconsejar el tipo o tipos de dispositivos más adecuados en la práctica.

- **Marcas en las patas:** Las marcas en las patas (e.g., pulseras, brazaletes o bandas) se usan como método de ID en distintas especies ganaderas, en ocasiones para marcar a los animales de manera individual o como soporte de sensores (e.g., podómetros). En el caso de los camellos no se dispone de referencias del uso de este tipo de ID.

2.5.4 Sistemas de ID electrónica (e-ID)

La e-ID se conoce también como RFID o ID por radiofrecuencia. Su funcionamiento se basa en el uso de transpondedores (transmisor-respondedor) pasivos (sin batería) que se activan por la onda de radio emitida por un lector o transceptor (transmisor-receptor), a la que responden emitiendo un código de ID (telegrama de información) propio.

La e-ID oficial en animales usa una banda especial de baja radiofrecuencia (134.2 kHz), estando regulado tanto la estructura del código de ID (64 bits) como la señal de intercambio de la interfaz aérea (HDX, half-duplex; FDX-B, full-duplex) por la Organización Internacional de Normalización (ISO, 1996a,b, 2006). A pesar de que existe una cierta controversia, la comparación de la eficiencia de lectura de distintos dispositivos e-ID en condiciones de granja ha demostrado mayores valores en el caso de los HDX en ovino y caprino (Ait-Saidi et al., 2013; Nieddu y Caja, 2017).

Existen distintos tipos de dispositivos de e-ID aprobados para su uso oficial en (e.g., inyectables, crotales, bolos ruminales y pulseras). La decisión del dispositivo a utilizar en la práctica depende en la UE de cada uno de los estados. Las principales características de cada uno de los sistemas de e-ID, en comparación con la v-ID basada en crotales de plástico, son:

- **Microchips inyectables:** Son transpondedores de pequeño tamaño (8-15 mm), normalmente encapsulados en vidrio, y diseñados para ser inyectados subcutánea, intramuscular o intraperitonealmente a través de una aguja o trocar. Sus pequeñas dimensiones los hacen ideales para la e-ID de animales de laboratorio, zoo y de compañía. Las cápsulas de vidrio biocompatible (Gruys et al., 1993) son resistentes al agua y fluidos fisiológicos, aunque pueden romperse, lo que ocasiona fallos de lectura del microchip. La longitud del transpondedor (i.e., su antena) es también un aspecto importante a tener en cuenta en la práctica, ya que condiciona directamente la distancia de lectura y las roturas.

Aunque también existen microchips con cápsulas fabricadas con polímeros biocompatibles, su reciente introducción hace que no se disponga todavía de información en especies ganaderas (Caja et al., 2014). La aplicación de los microchips inyectables, requiere de operadores entrenados y prestar especial atención a la migración fuera del área donde fueron inyectados para así garantizar su recuperación en las especies ganaderas en el matadero. El uso de productos llamados “anti-migratorios” (i.e., polipropileno, parilene) es de dudosa eficacia y existen evidencias de que producen tumores (Vascellari et al., 2006; Schutt y Turner, 2010) por lo que su uso está cuestionado. La migración de los microchips se debe a su pequeño tamaño y a que el tejido no reacciona frente al vidrio biocompatible. En condiciones ideales, el proceso de cicatrización debería producir una cápsula de tejido conjuntivo alrededor del microchip, lo que lo fijaría y protegería en la zona de inyección (Caja et al., 2014).

Los microchips inyectables fueron usados para la ID de los camellos en Canarias en los años 90, aunque no existen datos que permitan evaluar su rendimiento de ID a corto y medio plazo. La inyección se realiza en la zona media del cuello (U. Schultz,

comunicación personal), de acuerdo con las indicaciones de la World Small Animal Veterinary Association (2016) para caballos y camélidos americanos.

- **Crotales electrónicos:** Los crotales electrónicos consisten en transpondedores incorporados en la pieza hembra de crotales de plástico similares a los de v-ID. Normalmente tienen forma de botón, con una antena redonda y con el conjunto de componentes electrónicos embebidos o recubiertos de poliuretano. Dado que todos los plásticos presentan una cierta porosidad, lo que es origen de fallos de lectura en condiciones ambientales adversas, también se han utilizado transpondedores encapsulados en vidrio que son introducidos en pequeños contenedores rectangulares fabricados en poliuretano (Caja et al., 2014), tal como se muestra en la **Figura 2.24**.

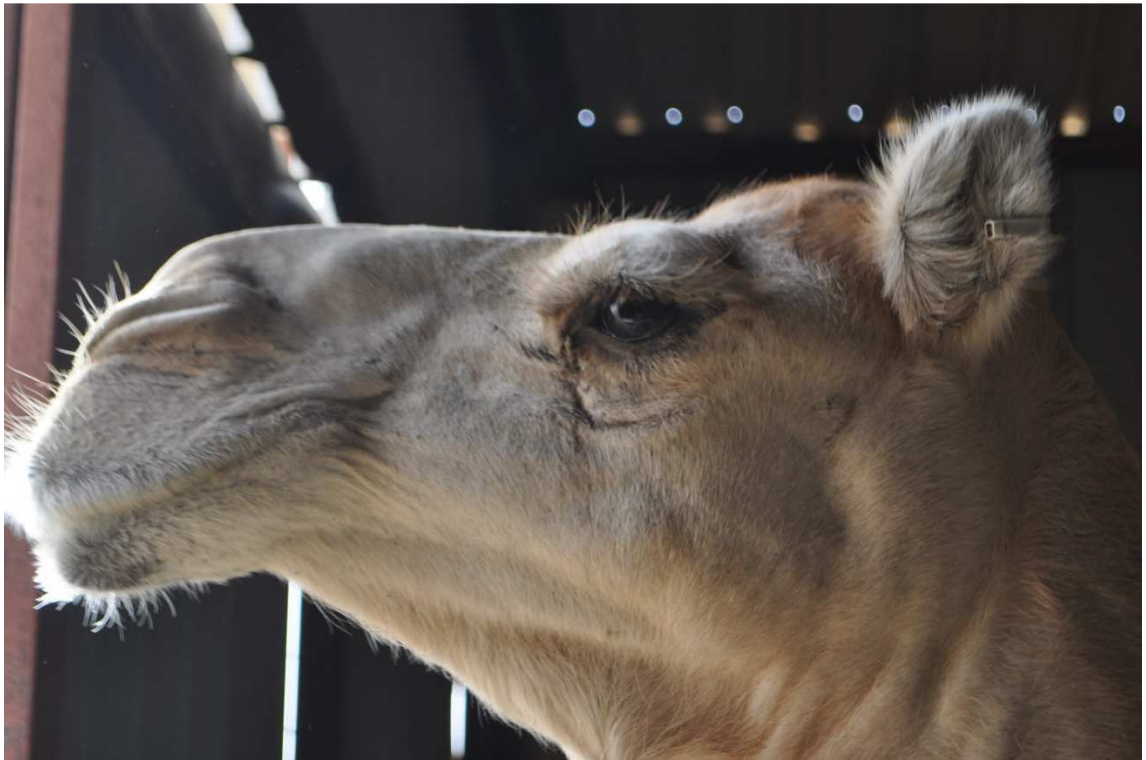


Figura 2.23 Camella mostrando un crotal de plástico conteniendo un transpondedor encapsulado en vidrio de 21 mm. *She-camel showing a plastic ear tag containing a glass encapsulated transponder of 21 mm.*

De forma similar a los crotales de v-ID, se debe tener en cuenta el proceso de cicatrización de las heridas de crotalización ya que, normalmente, los crotales de e-ID son más pesados y presentan menor distancia entre las piezas macho-hembra una vez

cerrados, lo que presiona la oreja y no permite una aireación adecuada durante la cicatrización (Bauer et al., 2009).

En otras especies ganaderas, como en las cabras, se ha evaluado la cicatrización de las heridas de crotalación y su relación con la retención de los e-ID (Carné et al., 2009). En el caso de los camellos, no existen estudios sobre la retención de crotales e-ID, a pesar de ser dispositivos usados en la actualidad en granjas de Arabia Saudí (G. Caja, comunicación personal).

- **Bolos ruminales (e-ID):** El uso de dispositivos (bolos) que se retienen en los estómagos de rumiantes, fue inicialmente propuesto por Hanton y Leach (1974) para el uso de transpondedores activos (con batería) en ganado vacuno. La idea se recuperó en los 90, incorporando transpondedores pasivos encapsulados en vidrio e introducidos en bolos cerámicos de alta densidad (Caja et al., 1994, 1999). Estudios realizados por Garín et al. (2003, 2005), Ghirardi et al. (2006ab) y Carné et al. (2011), han demostrado que la gravedad específica de los bolos es crítica para asegurar una retención eficiente en el retículo-rumen de las distintas especies de rumiantes. Por otro lado, los bolos ruminales han demostrado ser inocuos para la salud de los animales a medio y largo plazo (Antonini et al., 2006), pudiendo ser aplicados a animales lactantes sin afectar su crecimiento y al desarrollo del digestivo (Castro et al., 2010), así como tampoco a los procesos de digestión (Martín et al., 2006). Sin embargo, para que la aplicación de bolos sea segura, debe ser realizada por operadores entrenados. Tal y como se indica en un estudio realizado por Macrae et al., (2003) en ovino, la importancia de la posición del cuello es de vital importancia para poder prevenir incidencias con efectos negativos durante su aplicación. Si el cuello está flexionado, ésto dificulta la deglución del bolo y reduce el espacio disponible para él, aumentando así el riesgo de dañar la pared faríngea.

En el caso de los camellos, no se dispone de información sobre las características de los bolos ruminales a emplear, ni sobre su idoneidad en condiciones prácticas.

2.5.5 Criterios de elección de un sistema de ID adecuado para camellos

De una forma general se puede afirmar que no existen estudios en los que se evalúe el rendimiento de distintos sistemas de e-ID en camellos. A lo hora de decidir cuál debería ser el sistema de ID más apropiado, se deberán tener en cuenta una serie de criterios (Caja et al., 1996; Commission of the European Communities, 1997), destacando entre ellos:

- **Conveniencia y facilidad de uso:** la relación entre número de animales a identificar y aplicación del sistema de ID, supone un problema de logística y de coste que es necesario tener en cuenta y que deberá ser adecuado en la práctica.
- **Facilidad de lectura:** se deberá tener en cuenta la fisiología y características físicas del animal. Las nuevas tecnologías han permitido que sistemas de caracteres alfanuméricos y códigos de barras se combinen en un único elemento, reduciendo considerablemente los errores de lectura, registro y transmisión de la información.
- **Duración:** se deberá garantizar que los caracteres identificativos no se alteren o borren durante la vida útil de la especie considerada (30-40 años en los camellos). Por ello los materiales de los dispositivos utilizados deberán ser lo suficientemente resistentes e indelebles a secreciones fisiológicas (e.g., sangre, sudoración) y condiciones climáticas (e.g., temperatura, radiación solar).
- **Inocuidad:** los dispositivos utilizados en la ID, no deberán producir efectos adversos en la salud del animal, al mismo tiempo que tampoco deberán suponer un riesgo para la salud pública, a través del contacto o contaminación de sus producciones.
- **Adquisición y procesado de la información:** en la actualidad se requiere además de sistemas de ID que permitan la adquisición de datos y la gestión de la información de forma rápida y segura., más rápidos y efectivos que los clásicos crotales con registros manuales.
- **Seguridad:** finalmente, el sistema de ID ideal debe ser seguro frente a fraudes y manipulaciones.

CAPÍTULO 3: OBJETIVOS

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

La presente tesis tiene por objeto obtener resultados prácticos e información específica sobre aspectos necesarios en el establecimiento una granja camellar para producir leche en la isla de Fuerteventura.

Los objetivos específicos fueron:

1. Evaluar el uso de los diferentes sistemas de identificación (ID) tanto tradicionales (i. e., marcas al fuego y crotales visuales) como modernos (microchips, crotales electrónicos y bolos ruminales), con el fin de proponer el sistema de ID más adecuado en función de las condiciones de manejo y de explotación en granja.
2. Estudio la composición química, así como los niveles de insulina (INS) del calostro y la leche de camella a lo largo de la curva de lactación en camellas de raza Canaria.
 - Análisis de los componentes mayoritarios de muestras de calostro y leche recogidas en diferentes estados de lactación (Inicio, mitad y final de lactación/*early-, mid- and late-lactation*).
 - Estudio de los niveles de INS en leche y plasma de las camellas lactantes en diferentes estados de lactación.
 - Obtención de los resultados por las técnicas analíticas convencionales y mediante el uso de espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIR).
3. Estudio del metabolismo de la glucosa (GLU) y la INS en 2 grupos de camellos lactantes de 0 a 3 meses de edad, mediante valoración de su respuesta a:
 - Ensayo de tolerancia a la GLU (GTT, 0.25 g GLU/kg PV)
 - Reto de INS (4.6 µg INS/kg PV)

CAPÍTULO 4: COMPARISON OF VISUAL AND ELECTRONIC DEVICES
FOR INDIVIDUAL IDENTIFICATION OF DROMEDARY CAMELS
UNDER DIFFERENT FARMING CONDITIONS

Journal of Animal Science 2016, 94:3561-3571. doi:10.2527/jas2016-0472

CAPÍTULO 4

COMPARISON OF VISUAL AND ELECTRONIC DEVICES FOR INDIVIDUAL IDENTIFICATION OF DROMEDARY CAMELS UNDER DIFFERENT FARMING CONDITIONS (Comparación de dispositivos visuales y electrónicos para la identificación individual de dromedarios bajo diferentes condiciones de manejo en granja)

Resumen

En camellos se usan sistemas de ID tradicionales (i.e., marcas al fuego y crotales) y modernos (i.e., microchips) sin tener resultados de referencia sobre su eficiencia. Camellos identificados previamente con marcas al fuego ($n = 45$; 1 año) y con microchips inyectables ($n = 59$; 7 años) mostraron problemas de cicatrización (8,6% de las marcas al fuego) y lectura (sólo el 42,9% de las marcas al fuego y el 69,5% de los microchips fueron legibles), por lo que se desaconsejó su uso. Con la finalidad de proponer cual es el sistema de ID más adecuado, en función de las condiciones de manejo y explotación en granja, se realizó un estudio de campo usando un total de 528 dromedarios en 4 localizaciones diferentes (Egipto, $n = 83$; España, $n = 304$; Arabia Saudí, $n = 90$; y Túnez, $n = 51$). Los sistemas de ID estudiados fueron de tipo visual (crotales de botón, 28,5 mm diámetro, $n = 178$; crotales de bandera doble, 50×15 mm, $n = 83$; ambos de poliuretano) y electrónicos (crotales, $n = 90$, y bolos ruminales, $n = 555$). Los crotales electrónicos eran de tipo bucle de poliuretano- (75×9 mm) con un contenedor que albergaba un transpondedor de 22-mm de sistema full-dúplex. Se administraron 7 tipos de bolos electrónicos al principio del experimento a los dromedarios, que variaban dimensiones (50 a 76 mm de largo, 11 a 21 mm de ancho, y 12,7 a 82,1 g de peso) y gravedad específica (SG; 1,49 a 3,86) albergando cada uno de ellos un transpondedor de 31-mm de sistema half-duplex. Cuando un bolo de SG baja se perdía, se readministraba un bolo de SG alta. La capacidad de lectura de cada sistema de ID se evaluó entre 1 y 3 años, según tipo de dispositivo y localización, y anualmente se estimaron los valores de lectura para su comparación. La lectura anual de los crotales visuales no fué plenamente satisfactoria, siendo más baja para los crotales rectangulares (66,3%) que para los redondos (80,9%). La lectura anual de los crotales electrónicos fue del 93,7%. La lectura de los bolos varió radicalmente de acuerdo con su SG; los bolos con $SG < 2.0$ se perdieron en su totalidad después de los 8 meses. Por el contrario, los bolos con $SG > 3.0$ fueron retenidos eficientemente (99,6 to 100%) en todas las localizaciones. En conclusión, de acuerdo a la esperanza de vida media de los camellos, se observó una baja eficiencia de ID para las marcas al fuego, microchips inyectables y crotales (visuales y electrónicos),

desaconsejándose su uso como sistema único de ID para camellos. La alta capacidad de lectura de los bolos electrónicos de alta densidad, hace recomendable su uso como sistema de ID permanente de referencia en camellos.

Abstract

The camel industry uses traditional (i.e., iron brands and ear tags) and modern (i.e., microchips) ID systems without having performance results of reference. Previously ironbranded (n = 45; 1 yr) and microchipped (n = 59; 7 yr) camels showed problems of healing (8.6% of brands) and reading (only 42.9% of brands and 69.5% of microchips were readable), which made their use inadvisable. With the aim of proposing suitable ID systems for different farming conditions, an on-field study was performed using a total of 528 dromedaries at 4 different locations (Egypt, n = 83; Spain, n = 304; Saudi Arabia, n = 90; and Tunisia, n = 51). The ID devices tested were visual (button ear tags, 28.5 mm diameter, n = 178; double flag ear tags, 50 by 15 mm, n = 83; both made of polyurethane) and electronic (ear tags, n = 90, and rumen boluses, n = 555). Electronic ear tags were polyurethane-loop type (75 by 9 mm) with a container in which a 22-mm transponder of full-duplex technology was lodged. Electronic boluses of 7 types, varying in dimensions (50 to 76 mm length, 11 to 21 mm width, and 12.7 to 82.1 g weight) and specific gravity (SG; 1.49 to 3.86) and each of them containing a 31-mm transponder of half-duplex technology, were all administered to the dromedaries at the beginning of the study. When a low-SG bolus was lost, a high-SG bolus was readministered. Readability rates of each ID system were evaluated during 1 to 3 yr, according to device and location, and yearly values were estimated for comparison. On a yearly basis, visual ear tag readability was not fully satisfactory; it was lower for rectangular ear tags (66.3%) than for button ear tags (80.9%). Yearly readability of electronic ear tags was 93.7%. Bolus readability dramatically varied according to their SG; the $SG < 2.0$ boluses were fully lost after 8 mo. In contrast, the $SG > 3.0$ boluses were efficiently retained (99.6 to 100%) at all locations. In conclusion, according to the expected long lifespan of camels, low ID performances were observed for iron brands, injectable microchips, and ear tags (visual and electronic), making their use inadvisable as unique ID systems in camels. The high readability of dense electronic boluses recommended their use as a permanent ID device of reference in camels.

4.1 Introduction

Worldwide, there are 27 million of the Old-World camels (FAO, 2015), where near 90% of them are dromedaries (*Camelus dromedarius* L.) or Arabian camels, spreading all over the arid flat lands between the 0 and 40°N (from the Canary Islands to Rajasthan) and the 20 and 30°S (Australian deserts) parallels. Camels are culturally revered and economically appreciated by their strategic values (i.e., milk, meat, draft, manure, hair, and hides), but there are also some concerns related to their overgrazing (El-Keblawy et al., 2009) and feral herds (Dennis et al., 2010) and to endemic (Fassi-Fehri, 1987) and emergent diseases (e.g., Middle East respiratory syndrome coronavirus; Chu et al., 2014). Dromedaries show a long lifespan (approximately 30 yr) and few distinctive coat traits, making a necessity to use the artificial marks for individual identification (ID). Traditional camel ID is based on the use of clan or family symbols (“wasm” or “lealama” in Arabic) engraved by red iron brands on visible body sites (e.g., cheek, neck, thigh). However, branding is questioned today for welfare reasons and is inadequate for modern ID and traceability standards. Modernization of livestock farms led to the adoption of ID devices (Caja et al., 2004) such as visual (e.g., brands, tattoos, ear tags, and collars) and electronic (e.g., injectables, ear tags, and boluses). Despite the sedentarization of herds and the creation of intensive dairy farms (Faye et al., 2012), little attention has been paid to camel ID and traceability. Camels are absent from the terrestrial animal health code of the World Organization for Animal Health (OIE, 2016), the Codex Alimentarius (WHO-FAO, 2016), or the guidelines of ICAR (2016). Camel ID is only regulated in the Emirate of Abu Dhabi based on the use of radio-frequency identification (RFID) injectable transponders or microchips (ADFCA, 2010). To our knowledge, however, there are no studies evaluating the performance of different ID devices in camels. Therefore, the aim of this research was to compare the performances of using visual vs. electronic camel ID systems in a wide range of geographical locations and different farming conditions.

4.2 Materials and Methods

Animal care and experimental procedures used in this study were approved by the Ethical Committee on Animal and Human Experimentation (reference 3189) of the University Autònoma of Barcelona and followed the guidelines for animal performance recording of the Spanish Committee of Animal Electronic Identification (MAPA, 2007) and of ICAR (2016).

4.2.1 Animals and Management

Evaluation of the ID systems was conducted under a randomized incomplete block design performed at 4 locations using a total of 528 dromedaries of different breeds, ages, and farming conditions (stabled or grazing). These locations were 1) Egypt (Maghrebi breed, n = 83), 2), Spain (Canarian breed, n = 304), 3) Saudi Arabia (Maghatir breed, n = 37, and Majaheem breed, n = 53), and 4) Tunisia (Maghrebi breed, n = 51). All farms were located between the 28 and 34°N parallels, where the camel is habitual, and followed similar production cycles with natural mating and calving during the winter season.

Location Number 1 (Egypt). The camel farm was located at the Camel Experimental Station of the Animal Production Research Institute in Marsa Matrouh (Matrouh Governorate, Egypt) where 83 Maghrebi female dairy camels averaging 5.7 ± 0.5 yr (range 1.1 to 13.8 yr) and 461 ± 13 kg BW (range 248 to 691 kg BW) and in different physiological stages (open, pregnant, and lactating) were used. They were stabled in loose stalls on sand-bedded pens and fed berseem clover hay (1 to 2.5 kg/d), rice straw (1 to 2.0 kg/d), saltbush (1 to 2.0 kg/d), and concentrate (0.5 to 3.5 kg/d) according to their requirements (Wilson, 1989). Water was freely available in water troughs. Lactating camels were milked twice a day by hand after camel-calf stimulation.

Location Number 2 (Spain). The camel farm was located at the Oasis Park-Museo del Campo Majorero (La Lajita, Fuerteventura, Canary Islands, Spain) where 296 Canarian dromedaries of different ages (newborn, suckling, growing, and adult), physiological stages (open, pregnant, and lactating), gender (males, females, and castrates), and uses (camel rides and dairy camels) were used. All camels were stabled in loose stalls on sand-bedded pens and fed alfalfa hay (1 to 2.5 kg/d), palm fronds (1 to 1.5 kg/d), thornless acacia branches (*Acacia salicina* Lindl.; 1 to 2.0 kg/d), and concentrate (0.5 to 3.5 kg/d) according to their requirements (Wilson, 1989). Water and mineral blocks were freely available. Lactating camels suckled their calves for 1 yr and were machine milked once a day using a 2-stall tunnel milking parlor with a portable bucket machine.

Location Number 3 (Saudi Arabia). A total of 90 dairy camels aged 1 to 15 yr, located at the Al-Watania Agri farm (Al Jouf, Saudi Arabia; n = 50) and the Camel and Rangeland Research Center (Al Jouf, Saudi Arabia; n = 40), of 2 breeds (Maghatir or bright, n = 37, and Majaheem or dark, n = 53) and in different physiological stages (open, pregnant, and lactating) were used. Milking and growing camels were in loose stalls on sand-bedded pens, and dry and pregnant camels were under free-rangeland grazing conditions. Yearling camels were fed alfalfa hay (1 to 2 kg/d), concentrate (1.0 kg/d), and barley straw ad libitum. Lactating camels

were fed alfalfa hay (2 to 5 kg/d), barley straw and corn stalks (2 to 7 kg/d), and concentrate (0.5 to 2 kg/d) according to their requirements (Wilson, 1989). Water and mineral blocks were freely available inside the pens. Lactating camels suckled their calves for 6 mo and were machine milked twice a day using a 10-stall tunnel and low milk pipeline (Al-Watania Agri farm) and a 2-stall tunnel with a portable bucket machine (Camel and Rangeland Research Center) milking parlors.

Location Number 4 (Tunisia). The camel farm was located at the Laboratory of Animal Husbandry and Wildlife of the Arid Regions Institute in Medénine (Tunisia) where a total of 51 Maghrebi dairy dromedaries (adult females 7 to 15 yr, n = 50, and yearling, n = 1) were used. Adult camels grazed during the day on saline rangelands and were sheltered during the night on sand-bedded pens and fed barley straw. Lactating camels suckled their calves for 6 mo and were fed concentrate at a flat rate of 4 kg/d (as fed) during the lactation period and were machine milked twice a day using a single milking stall and a portable bucket machine. The yearling camel was fattened with concentrate (1.5 kg/d) and barley straw ad libitum and was slaughtered 8 mo after identification. Water and mineral blocks were freely available in the shelter.

4.2.2 Identification Devices

Previous Identification. Forty-five adult Maghrebi camels (age > 7 yr) from location number 1 (Egypt) showed red iron brands (1 to 3 digits, 20 cm high) on the left thigh, which had been made by the technical personnel of the Camel Experimental Station of the Animal Production Research Institute 1 yr before the beginning of the study. These camels were used to assess the readability of the brand under on-farm conditions. On the other hand, 59 adult castrated male Canarian camels (age 10 to 15 yr) from location number 2 (Spain), daily used for camel rides and previously injected (i.e., 7 yr before the beginning of the study) with glass-encapsulated RFID microchips, 12.0 by 2.1 mm, of full-duplex B technology according to ISO 11784:1996 (Radio frequency identification of animals – Code structure; ISO, 1996a) and ISO 11785:1996 (Radio frequency identification of animals – Technical concept; ISO, 1996b), were also used to assess the readability of the microchips. The injections were performed subcutaneously in the left side of the neck (at the halfway point between the ears and the withers) by the veterinarian of the Oasis Park-Museo del Campo Majorero according to the guidelines of the World Small Animal Veterinary Association (2016) for horses and camelids. Serial numbers of

the injected microchips ranged from 982 009100063248 to 982 009100969093 (Azasa-Allflex, Madrid, Spain).

Visual Ear Tags. Two types of visual ear tags (vET) inserted in the left ear were used for camel visual ID: one was at location number 1 (vET1; n = 83; Egypt) and the other was at location number 2 (vET2; n = 304; Spain). The vET1 consisted of 2 rectangular flags of polyurethane (50 by 15 mm, 3 g; Hasco Tag Co., Dayton, KY), which were laser recorded with 3 digit numbers. The vET2 consisted of polyurethane double button ear tags (28.5 mm button diameter, 20.5 by 5.5 mm pin length by diameter, and 3.5 g total weight; Azasa-Allflex) and were laser recorded with an alphanumeric code consisted of 2 letters of the Spanish province (i.e., GC for Gran Canaria) followed by a serial code of 4 numbers and 2 letters (e.g., GC 3854 AB).

Electronic Ear Tags. Plastic-loop type electronic ear tags (eET) were applied in the left ear of 90 dromedaries at the Al-Watania Agri farm at the beginning of the study at location number 3 (Saudi Arabia). They consisted of white polyurethane (75.0 by 9.0 mm, length by width) with a pin-lock closing system (17.0 mm pin and 10.0 by 9.0 mm lock) and a container (31.0 by 9.0 mm) intended to lodge a glass encapsulated transponder of 22 by 4 mm and full-duplex B technology (Set-Tag; Shearwell Data Ltd., Minehead, Somerset, UK). The total weight of the eET was 2.5 g. Serial numbers of the microchips ranged from 940 000002204916 to 940 000002363335 (Shearwell Data Ltd.).

Electronic Rumen Boluses. Seven types of electronic rumen boluses (eRB; n = 555) varying in features were applied to all camels at all location sites. The eRB consisted of cylindrical capsules of different dimensions, made of several nontoxic and nonporous materials to reach different specific gravities (SG). Features of bolus types (eRB1 to eRB7) are shown in **Table 4.1**, where different ranges of capsule dimensions (50.0 to 76.4 mm length, 11.2 to 21.1 mm width, and 12.7 to 82.1 g weight) and SG (1.49 to 3.86) can be identified. Similar sizes and SG ranges of rumen boluses were previously used by Caja et al. (1999), Ghirardi et al. (2006a,b), and Carné et al. (2011) for assessing their readability in small and large domestic ruminants. It is worthwhile mentioning that when a low-SG bolus was lost, a high-SG bolus was readministered.

A random sample of 10 boluses of each type was collected to measure their physical features under laboratory conditions using a precision weighing scale (accuracy, 0.01 g; BP 3100 P, Sartorius AG, Göttingen, Germany) and a digital caliper (accuracy, 0.03 mm; Shaodong Feiyue Hardware Tools Factory, Yiwu, China).

Table 4.1 Features of the electronic rumen boluses used for the permanent identification of dromedary camels

Bolus code	Material	Electronic rumen bolus ¹ features				Locations (Country)				Total, n
		Length × o.d., mm	Weight, g	Volume, mL	Specific gravity	1 (Egypt)	2 (Spain)	3 (S. Arabia)	4 (Tunisia)	
eRB1	Plastic ²	50.0 × 15.0	12.7 ± 0.1	8.5 ± 0.1	1.49 ± 0.01	20	—	—	—	20
eRB2	Ceramic ³	56.4 × 11.2	20.1 ± 0.2	5.2 ± 0.1	3.86 ± 0.01	17	138	—	—	155
eRB3	Plastic ²	76.4 × 20.2	33.3 ± 0.3	22.1 ± 0.1	1.51 ± 0.01	15	—	—	—	15
eRB4	Ceramic ⁴	67.7 × 16.9	51.6 ± 0.1	11.4 ± 0.1	3.59 ± 0.01	16	—	—	—	16
eRB5	Ceramic ⁵	66.0 × 20.5	65.2 ± 0.1	21.0 ± 0.1	3.10 ± 0.03	—	20	—	51	71
eRB6	Ceramic ⁵	68.0 × 21.0	75.1 ± 0.3	22.4 ± 0.1	3.35 ± 0.01	50	114	90	—	254
eRB7	Ceramic ⁶	68.0 × 21.1	82.1 ± 0.2	22.8 ± 0.1	3.60 ± 0.01	—	24	—	—	24
—	Total, No.	—	—	—	—	118	296	90	51	555

¹Each bolus contained a half-duplex glass encapsulated transponder (31 × 3.8 mm; Datamars, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain).

²Hand made prototype consisting of a plastic tube filled with concrete.

³Prototypes made of alumina (Rumitag, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain).

⁴Standard commercial bolus of alumina (Innoceramics, Teramo, Italy).

⁵Standard commercial bolus of alumina (Datamars).

⁶Standard commercial bolus of zirconia (Rumitag) .

The SG of each bolus was measured according to the Archimedes principle by contrasting the weight of the bolus with the weight of its volume of distilled water, similarly to Ghirardi et al. (2006a). Boluses were applied by trained operators according to the procedure described by Caja et al. (1999) and Carné et al. (2009), using livestock balling guns (Datamars) adapted to each bolus type. The full set of boluses (eRB1 to eRB7) was tested at location no. 1 and 2 in camels of all ages (new born to adult) under intensive conditions, to assess the administration easiness and the bolus readability at the mid-term (3 yr) duration. At location no. 3 and 4 only boluses of type eRB6 and eRB5, respectively, were administered to adult camels to confirm their retention at the mid-term (3 yr) in adult camels under grazing conditions. Low-SG boluses were designed to be lost with the aim of determining the threshold of bolus features to be retained in camels. All boluses contained a 32×3.8 mm glass encapsulated transponder of half-duplex technology (Ri-Trp-RR2B-06, Tiris, Almelo, the Netherlands) worked at a low frequency (134.2 kHz) in agreement with the current standards of the International Organization for Standardization (ISO) on animal electronic ID (ISO, 1996ab, 2009).

4.2.3 Reading of ID devices

Visual Devices. Readability of each digit of the previous iron brands was made by sight at the beginning of the study at location no. 1 (Egypt) and the results were recorded manually. Readability of the alphanumeric code of visual ear tags (vET1 and vET2) at location no. 1 (Egypt) and 2 (Spain) was also assessed by sight and the ID codes were manually recorded after 1 yr of insertion. When retained, the readable ear tags were not broken or seriously damaged. Any official ear tag lost at location no. 2 (Spain) was only replaced by veterinary officers at the annual blood sampling campaign for camel tuberculosis. No replacement was done at other location sites.

Electronic Devices. Readability of all RFID or electronic ID devices (i.e., microchips, eET and eRB) was performed using full-ISO handheld transceivers, connected to a 70-cm-long stick antenna (GasISO, Datamars) that is able to read ISO RFID transponders of half-duplex and full-duplex B technologies at a minimum distance of 12 and 20 cm for ear tags and boluses, respectively, as established by European regulations EC 21/2004 and EC 933/2008 on this issue. Gesreader 2S (Rumitag) handheld readers were used in at location no. 1 (Egypt), 3 (S. Arabia) and 4 (Tunisia), whereas the Gesreader 3 (Datamars) was used at location no. 2 (Spain). Microchips previously injected at location no. 2 were individually read at the beginning of the study, while the camels were restrained in a sitting-down position. Readability of eET and eRB

was evaluated under static conditions using the above indicated handheld transceivers and stick antennas while the camels were in a standing position and restrained in a race-way (location no. 1, 2 and 4) or inside the milking parlor (location no. 3). The time required for reading each ID device type was recorded at location no. 2 and 3 using an electronic chronometer (Geonaut Trt'L 100, Decathlon, Alcobendas, Spain).

Periodical readings of RFID devices were performed at different time-intervals according to the location sites, being d 0, 1, 2, 7, 14, 21, 30, 60, 120, 150, 180 and 210, and at 2-mo interval until yr 1.5, and finally at 3 yr at location no. 1. Similar time intervals were used at location no. 2, 3 and 4, from 0 to 180 d, and later every 6 mo until yr 3. Each device was read immediately before and after administration to check for breakages or electronic failures that might happen during administration, as well as in the case of eRB to ensure the proper location of the bolus in the forestomachs (C1 compartment of camel) before releasing the animal.

4.2.4 Statistical Analyses

Readability rate of ID devices was assessed by the ability of each type of device to be read under static conditions at each time-point and at the end of the study, being the actual readability expressed as $R (\%) = (\text{number of readable devices} / \text{number of applied devices}) \times 100$. Obtained R values were compared on a yearly basis (Seroussi et al., 2011), while estimating the yearly readability rate ($R_Y, \%$) by the expression $R_Y = (R/100)^{1/Y} \times 100$, with Y being the duration of the study in years (e.g. from Table 2: $R_Y = 94.935\%$ for $R = 69.5\%$ after 7 yr). No aging effects or re-identification are considered in this expression, so the actual values of readability in the long-term would be lower in practice than those estimated.

The losses, electronic failures and readability of ID devices were analyzed with the CATMOD procedure of SAS (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC) on the basis of the categorical nature of these variables. A Logit model with an estimation method of maximum likelihood (Cox, 1970) was used to evaluate the effects of each type of ID device. A log-rank test of equality across strata (i.e., type of ear tags or ID rumen boluses) was performed with the LIFETEST procedure of SAS.

For the analysis of data acquired by the eRB, the procedure PHREG (proportional hazard regression) for survival data of SAS was considered preferable to the Logit model to avoid the possible bias produced by the different number of animals monitored until the end of the study, in addition to introduce the effects of the location sites and bolus features (i.e., size and SG). Such analysis permitted the comparison of the longitudinal readability and the estimates of readability of the eRB throughout the entire period of study, without excluding right censored

data (data from animals that left the study before a device failed), as previously performed by Carné et al. (2009a). Furthermore, the readability data were compared on a yearly basis. The differences between means were declared significant at $P < 0.05$, unless otherwise indicated.

4.3 Results

A total of 528 camels were finally identified in the 4 locations, using 5 different ID systems (i.e., iron brands, injectable microchips, visual and electronic ear tags, and electronic rumen boluses). Total number of ID devices applied and their long-term performance at all locations are summarized in Table 4.1.

4.3.1 Previously Applied Identification

Hot-Iron Brands. The previously iron-branded camels at location no. 1 (Egypt) showed signs of healing problems in 8.6% of brands on the thigh, where most of them formed some kind of keloid (aberrant epidermal hyperplasia developed during the healing process) at the brand site, which consequently result in only 42.9% of brand digits being fully readable (**Table 4.2**).

Injected Microchips. The camels identified with RFID microchips at location no. 2 (Spain), already injected 7 yr before the beginning of our study, showed a low readability (69.5%; Table 4.2), but equivalent to 94.9% of yearly readability. Moreover, they showed some difficulties for locating the injection site and reading with the Gesreader 3 transceiver (Datamars) used. No detailed information was available on the precise injection site of the microchips in the neck of our camels and we needed 26 ± 4 s, on average, to locate and read them. No relevant migration was estimated from the injection site, being all the microchips located in the middle of the neck.

4.3.2 Newly Applied Identifications

Visual Ear Tags. Readabilities of vET devices measured at location no. 1 (Egypt) and 2 (Spain) after 1 yr, were lower in vET1 (rectangular) than vET2 (button) ear tags (66.3 vs. 80.9%, respectively; $P = 0.011$; Table 2), being the annual losses very high (33.7 and 19.1%, respectively). Both vET1 and vET2 were hard to read in camels because of the height of the camels and their biting and kicking behavior. Moreover, most ear tag losses were associated with breakages of the ear tissue (occasionally of the whole ear) or the ear tag, usually as a consequence of their fighting behavior for dominance.

Table 4.2 Actual performances of different identification systems in dairy camels and estimated readability in the long-term

Identification system	Identification devices, n		Years of study	Readability rate ⁷ , %	Yearly losses ⁸ , %	Estimated readability after, ⁸	
	Applied	Readable				10 yr, %	25 yr, %
Iron branding ¹	45	19	1	42.2	57.8	0	0
Injectable microchips ²	59	41	7	69.5	5.1	59.5	27.3
Visual ear tags			1				
Rectangular flags ³	83	55	1	66.3 ^b	33.7	1.6	0
Button ⁴	178	144	1	80.9 ^a	19.1	12.0	0.5
Electronic ear tags ⁵	90	74	3	82.2 ^a	6.3	52.1	19.6
Total ear tags	351	–	–	–	–	–	–
Electronic rumen boluses ⁶							
eRB1	20	0	3	0 ^c	100	0	0
eRB2	155	152	3	98.1 ^b	0.4	95.8	89.7
eRB3	15	0	3	0 ^c	100	0	0
eRB4	16	16	3	100 ^a	0	100	100
eRB5	71	71	3	100 ^a	0	100	100
eRB6	254	253	3	99.6 ^b	0.1	98.7	96.8
eRB7	24	24	3	100 ^a	0	100	100
Total rumen boluses	555	516	–	–	–	–	–

^{a–b}Within the same identification system (i.e., ear tag or rumen bolus) values of readability with different superscripts differ ($P < 0.05$).

¹Red iron brands (1 to 3 digits, 20 cm high).

²Glass encapsulated microchips of 12.0 × 2.1 mm of full-duplex B technology (Allflex-Azasa, Madrid, Spain).

³Two rectangular flags of polyurethane (50 × 15 mm; Hasco Tag Co., Dayton, KY).

⁴Double button of polyurethane (diameter, 28.5 mm; Azasa-Allflex, Madrid, Spain).

⁵Plastic band made of white polyurethane (length × width, 75.0 × 9.0 mm) with a container intended to lodge a full-duplex B glass encapsulated transponder of 22 × 4 mm (Set-Tag, Shearwell Data, Minehead, Somerset, UK).

⁶Electronic rumen bolus containing a half-duplex glass encapsulated transponder (31 × 3.8 mm; Datamars, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain). Bolus details are shown in Table 1.

⁷Actual readability rate calculated as $R = (\text{number of readable devices} / \text{number of applied devices}) \times 100$.

⁸Estimated as $100 - R_Y$, being: $R_Y = (100 \cdot R)^{1/Y}$; R, actual readability rate; Y, years of study without re-identification; R_Y , yearly retention (Seroussi et al., 2011).

Electronic Ear Tags. Readability of plastic-loop eET applied at location no. 3 (Saudi Arabia), measured in our study after 3 yr was 82.2% (Table 4.2), which on the yearly basis is equivalent to 93.7%. This value was similar to the readability of vET2 (button; $P = 0.793$) and greater than vET1 (rectangular; $P = 0.018$) in our camels and in fact supported the convenience of using small and light ear tags in camels.

The estimated eET yearly losses at location no. 3 (Saudi Arabia) were 6.3% (Table 4.2), which were lower than the above reported mean values of vET but within the range of losses previously observed for injected RFID microchips. On the other hand, with regard to reading time, the eET at location no. 3 (Saudi Arabia) were read 65% faster (9 ± 1 s) than the injected RFID microchips at location no. 2 (Spain).

Electronic Rumen Boluses. Administration of eRB boluses was done easily and safely (i.e., no injuries or casualties) when performed by trained operators in yearling and adult camels using balling guns adapted to the size of the bolus and the age of the camels. Best restraining positions for bolus administration were standing-up and sited-down, for young and adult camels, respectively, and assistance was required in all cases. Boluses were mostly swallowed at the first attempt (95%) after being gently released at the end of the tongue (*Torus linguae*) and when the mouth was maintained firmly closed until the involuntary deglutition reflex took place. Although not measured, we noted that eRB were swallowed faster if previously warmed at body temperature. Nevertheless, 2 eRB at location no. 2 (Spain, 0.7%) were blocked in the neck of young suckling camels during administration (eRB2, 1 wk of age and 24 kg BW; eRB6, 3 mo of age and 70 kg BW) by few-experienced operators. Although the eRB6 (large) was easily unblocked by gently pushing with an esophageal probe in the 3 mo-old camel calf, we were unable to remove the eRB2 (small) with veterinary assistance in the case of a 1 wk-old calf, where the bolus being located in the trachea and causing asphyxia.

Necropsy reports of culled adult camels at location no. 2 (Spain) and the yearling fattened camel slaughtered at location no. 4 (Tunisia), revealed that the eRB were properly located in the C1 compartment of the camel forestomachs, without causing damages or signs of alteration of the mucosa. In 3 cases, however, the eRB were located at the water sacs of the C1 compartment. No relevant changes in health or apparent intake and behavior were observed in our camels as a consequence of the administration of the different eRB types used at different location sites and under different feeding and farming conditions.

As shown in Table 4.2, readability of eRB varied widely according to bolus type (0 to 100%), the eRB1 (small) and eRB3 (large) not being retained at all (regurgitated) in the camel

forestomachs, whereas the rest of the eRB showed a high final retention (98.1 to 100%), in all cases agreeing the ICAR (2015) recommendation (> 98%). According to bolus features (Table 1), the lost bolus types were those with the lowest weights and SG values which were regurgitated.

Results of the predicted yearly readability of eRB at all location sites by using the Cox’s proportional-hazards regression model for survival data (Table 4.3 and Figure 4.1), revealed that SG was the most critical factor (Chi-square = 562.9; $P < 0.001$) for the retention of eRB in the camel forestomach and its mid- and long-term readability. As shown in Figure 1, the estimated readability values were > 98% for SG > 3.0 boluses (eRB2, eRB4, eRB5, eRB6 and eRB7), while it dramatically dropped early after administration (approximately: d 7, 70%; d 30, 40%; d 365, 0%) for SG < 1.5 boluses (eRB1 and eRB3). Bolus size (Chi-square = 188.9; $P < 0.001$) and location site (Chi-square = 61.1; $P < 0.001$), were also significant factors for eRB readability, but their inclusion in the model explained less than 25% of the effects.

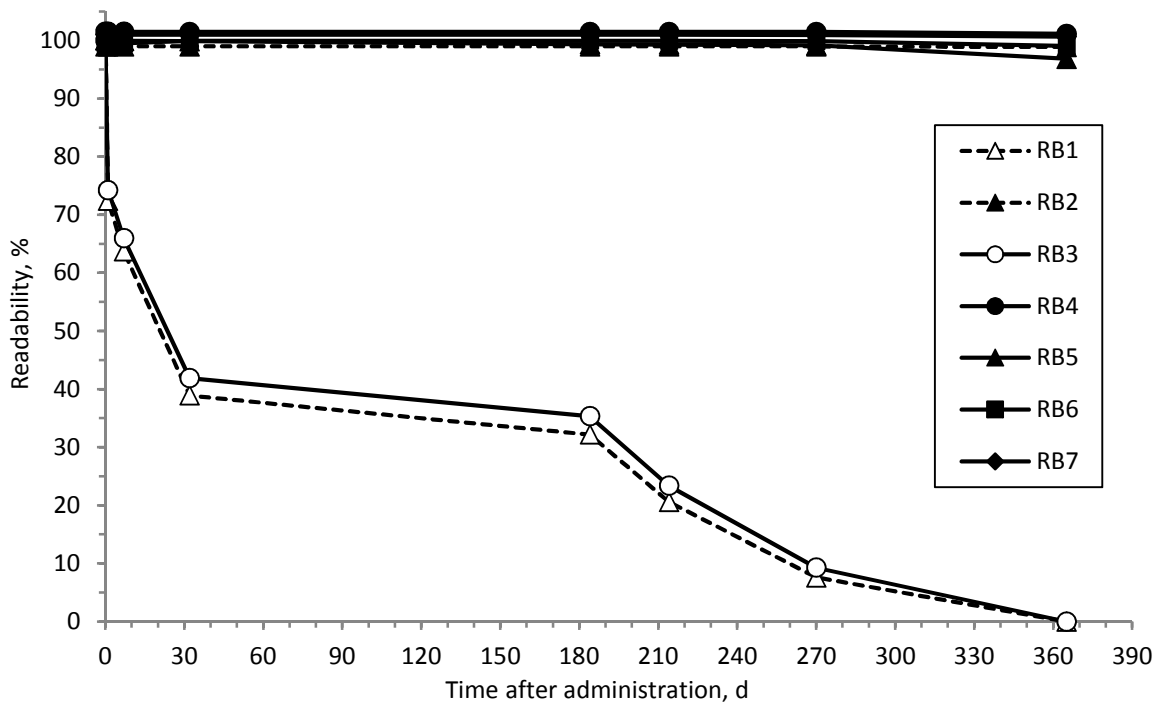


Figura 4.1 Predicted yearly readability of electronic rumen boluses from all the experiments by using the Cox proportional-hazards regression model for survival data taking into account their size (dashed line, small-sized < 60 mm; solid line, large-sized > 60 mm) and specific gravity (open symbols: Δ \circ , SG < 2.0; closed symbols; \blacktriangle \bullet \blacksquare \blacklozenge , SG > 3.0). Bolus features are shown in Table 4.1.

Table 4.3 Predicted yearly readability of electronic rumen boluses by the Cox proportional-hazards regression for survival data from all the experiments and taking into account the specific gravity and size of the boluses

Item	Electronic rumen bolus type ¹							Total, n
	eRB1	eRB2	eRB3	eRB4	eRB5	eRB6	eRB7	
Specific gravity	1.49	3.86	1.51	3.59	3.10	3.35	3.60	–
Size ²	Small	Small	Large	Large	Large	Large	Large	–
Administered, n	20	155	15	16	71	254	24	555
Censored, ³ n	0	152	0	16	71	253	24	516
Lost, n	20	3	15	0	0	1	0	39
Readability estimates, %	0 ± 0 ^c	99.9 ± 0.1 ^a	0 ± 0 ^c	99.6 ± 0.2 ^a	97.4 ± 1.1 ^b	99.1 ± 0.5 ^a	99.7 ± 0.2 ^a	–

^{a-c}Within a row, values with different superscripts differ ($P < 0.05$).

¹Bolus details are shown in Table 1. Rumen bolus contained a half-duplex glass encapsulated transponder (31.0 × 3.8 mm; Datamars, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain).

²Small < 60 mm long, large > 60 mm long.

³Devices present at the end of the study transceiver in pregnant camels at the end of pregnancy at location no. 1 (Egypt, n = 1) and 3 (S. Arabia, n = 5). All boluses were again readable after parturition.

Differences between actual (Table 4.2) and estimated (Table 4.3) values of yearly readability for eRB were moderate, ranging from -2.6 to 0.3% . These observations were mainly due to the high number of eRB being monitored until the end of the study (positively censored). The estimated values of readability for low-SG (i.e., eRB1 and eRB3; SG from 1.49 to 1.51) and high-SG (eRB2, eRB4, eRB5, eRB6 and eRB7; SG from 3.10 to 3.86) boluses markedly differed ($P < 0.001$). Similarly to the observed case of the actual data, no differences within $SG < 2.0$ or $SG > 3.0$ bolus groups were detected ($P = 0.895$).

On average, the time required for reading the camels identified with eRB at location no. 2 (Spain) was 12 ± 5 s, which was 14 s (54%) shorter and 3 s (33%) longer, respectively, than the above indicated reading times for injected RFID microchips and eET using similar reading procedures. Nevertheless, reading difficulties were observed using the Gesreader 2S (Rumitag).

4.4 Discussion

The paper is based on observational and experimental data obtained from commercial camel herds. The main limitation of our experiment in extracting causal relationships is because all treatments were not possible at all locations due to differences in farm conditions and in available facilities. This is the case of iron brands which were applied before starting the experiment in Egypt and are not currently allowed in some countries due to welfare regulations. On the other hand, having the concern of residues in camel meat for human consumption, we considered a unique opportunity to report the mid-term performances of microchips already injected by a veterinarian in a group of riding dromedaries in Spain. Moreover, the unsatisfactory readability results observed for both iron brands and microchips, motivated the interest for testing alternative ID systems. Time differences between types of ID devices were standardized on yearly basis for comparison and, differences between means, separated by using a Logit model with an estimation method of maximum likelihood. A more detailed analysis of the relation between treatments and ID performances was therefore not possible, but the explanation of the results was completed with relevant literature data and local expert's knowledge about dromedary husbandry.

4.4.1 Previously Applied Identification

Hot-Iron Brands. Similar low readability results to ours (Table 4.2) were reported by Aurich et al. (2013) in horses, where breed-specific symbols of iron brands were readable in 84% of the horses, whereas the double-digit individual branding number was only readable in

less than 39% of the horses. The risk of skin lesions by branding, which is equivalent to the third degree thermal injuries (Aurich et al., 2013) and the associated pain, as reported in iron-branded steers (Schwartzkopf-Genswein et al., 1997), jointly with the low readability values makes the generalized use of iron branding inadvisable for camel ID. Although iron-branding is a traditional method for the permanent ID of livestock, the use of this method is currently banned in many countries (e.g., Denmark, Germany, Netherland, Scotland), due to animal welfare concerns (Erber et al., 2012). Whatever the case, no iron branding should be applied without the appropriate analgesia.

Injected Microchips. Finding the microchips in the middle of the neck in our results, agreed with that reported by Stein et al. (2003) in equids injected before 4 to 5 yr. Beside, small-sized microchips (11.4×2.2 mm), similar to those injected in our camels, were applied in the neck of horses (between poll and withers into the nuchal ligament or into musculature according to the regulation EC504/2008) by Konermann (1991) and Wulf et al. (2013), who reported 89.5 to 100% readability during short-term studies (9- and 6-mo, respectively).

No long-term studies have been made in camels or horses using microchips in the neck, but Løken et al. (2011) injected small-sized microchips (13.5×2.2 and 13.9×2.2 mm; glass- or polymer-encapsulated) in the ear (ear base or ear lobe) of testing bulls in an 8- to 30-mo study, and reported, on average 92.3% of readability, on average. No differences between glass- and polymer-encapsulated microchips were detected by Løken et al. (2011). The use of longer glass encapsulated transponders (23 or 32×3.8 mm) in suitable body sites (ear scutulum and armpit) of fattening calves slaughtered at 8 to 12 mo by Conill et al. (2000), showed 93.0 to 98.5% of readability differed according to body site and transponder size. When comparing our results of microchip readability of the long-term (7 yr) in camels with short- and mid-term (0.5 to 2.1 yr) in horses and cattle, it is clear that the values of estimated yearly losses by using the Seroussi et al. (2011) expression in our camels (5.1%; Table 4.2) were consistent and within the range of those previously calculated in horses (0 to 13.7%) and cattle (1.8 to 8.4%).

A main concern related to the injection of RFID microchips in the neck of camels is the difficulties of recovery at slaughter and their possible presence in the meat as a residue and hazard object (i.e., glass capsule and electronic components). WSAVA (2016) strongly recommended that any microchipped food producing animal should carry an external ID to indicate that a microchip is present (i.e., to be recognized and recovered at slaughter) and in some cases their use may not be permitted. Conill et al. (2000) reported recovery times of approximately 1 min at slaughterhouse, when 23 and 32 mm transponders were injected in the ear base and armpit of fattening calves. The smaller size of RFID microchips used in camels

(i.e., 12 to 15 mm, as in horses and pets), the uncertainty of their presence (i.e., high losses) and location difficulties (i.e., short reading distance) will compromise the safety of camel meat (i.e., neck) for consumers, making it not fully recommendable in the camel industry.

4.4.2 Newly Applied Identifications

Visual Ear Tags. There are few researches reporting vET readability in livestock and their performances vary dramatically according to the species and the exploitation conditions. Edwards et al. (2001) studied the inflammatory reaction after the insertion of different ear tag types in sheep (i.e., metal-loop, plastic-loop, single or double plastic flags, etc...) and reported that metal-loop tags produced more severe lesions which persisted longer than other ear tag types and thus making their use inadvisable. Fosgate et al. (2005) reported 87.6% of annual losses of plastic vET in a study on domestic water buffalo lasted 3 yr under extensive conditions, the overall median ear-tag retention being 272 d and the final retention null and they concluded that ear tags were inadequate for the long-term ID of buffaloes under extensive conditions. In the case of goats, Carné et al. (2009a) reported vET losses varying between 6.0 and 17.1%, for official and no-official (i.e., tip-tag ear tags) plastic vET in a 3-yr study. Moreover, Carné et al. (2009b) reported that goat breed is also a key for vET retention (i.e., ear length differences), where the annual losses varied between 1.4 and 17.1% in 4 US goat breeds under semi-intensive farming conditions. Losses of official vET in sheep (Ghirardi et al., 2006b) and in fattening calves (Conill et al., 2000) ranged from 3.3 to 11.4%, respectively. Mean annual losses of 3 different plastic official vET, measured in a study lasted 3.2 yr in dairy cattle under intensive conditions (Seroussi et al., 2011), varied between 11 and 20%, which makes it also greater than expected according to the ICAR (2015) requirements (losses < 2%).

When data from buffaloes was not taken into account, the overall annual losses for vET ranged between 2.0 and 20.0% (i.e., cattle and goat) which are lower than the values observed in our camels (19.1 to 33.7%; Table 4.2). Unlike the regulations above indicated for cattle, sheep or goat, there are no specific regulations for official camel ear tag design. However, despite not expecting high retention rates for vET, our results suggest that button ear tags should be preferable to flag ear tags for camel ID in practice.

Electronic Ear Tags. There is controversy in the literature on comparing the performances between eET and vET, as reported by Babot et al. (2006) in pigs and Carné et al. (2009a, 2010) in goats. Nevertheless, eET are considered less damaging for the ear than vET due to their optimized design (Edwards et al., 2001). It should be stressed that ear tag weight must be

limited when applied in young animals (Caja et al., 1997), due to the low strength of the thin ear tissue, which as a consequence is reducing the reading distance (i.e., smaller antenna) and dynamic reading efficiency of the eET.

There are few data reporting eET readability in livestock. Caja et al. (2014) reviewed the state-of-the-art of different ID devices in goats, and reported 92.9% of readability (range between 79.8 to 100%) for eET in goats under different conditions. On the other hand, the fast readability of eET in our results was mainly a consequence to the easy location by sight, as well as to the fact that camels were not afraid of the stick antenna when approached gently from the back of the head.

Electronic Rumen Boluses. We did not expect side effects of eRB administration as we followed the procedures described by Caja et al. (1999) and Carné et al. (2009) in large and small ruminants. Nevertheless, previous complete training and administration skills were considered a key for implementing eRB in the camel industry. Antonini et al. (2006) reported that bolus administration did not affect at the mid-term the productive performance or produce specific lesions in the reticulo-rumen mucosa of cattle of different ages. Moreover, Martin et al. (2006) and Castro et al. (2010) reported that bolus administration did not affect the intake and digestive performances of adult goats, as well as the growth and the forestomach development of milk fed kids, respectively.

The positive relationship between eRB readability in the forestomachs of camels and the bolus SG was expected. In fact, other authors previously stressed the key role of the SG (i.e., > 3.0) for the retention of boluses in the reticulo-rumen of cattle (Ghirardi et al., 2006a), sheep (Ghirardi et al., 2006b; Hentz et al., 2014) and goats (Carné et al., 2011). The reading difficulties of eRB observed when using the Gesreader 2S (Rumitag) transceiver in pregnant camels at the end of pregnancy at location no. 1 (Egypt) and 3 (S. Arabia) was explained by the limited reading distance of the transceiver. This lead we to recommend the use of the Gesreader 3 (Datamars) or other available transceivers with a greater reading distance in camels.

According to our results, for a camel productive life of 25 yr, the estimated readability of the studied ID systems would vary between 0 and 100%, the adequately designed eRB (i.e., $SG > 3.0$) being the only system agreeing with the ICAR (2015) requirement (yearly losses $< 2\%$). The highest values of predicted yearly readability by the Cox's proportional hazards survival analysis, warranting the permanent ID of dromedaries in the long-term, were obtained with the eRB2, eRB4, eRB6 and eRB7 (99.1 to 99.9%). The greater number of camels used in the case of eRB2 and eRB6 made the decision of choice more robust with regard to their use

in the practice. Comparatively, less than 60% of ear tagged or microchipped camels would be identifiable after 10 yr, and less than 30% after 25 yr, clearly showing the advantages of using eRB.

Agreeing with our conclusion, Moreki et al. (2012) reported that boluses were the most tamperproof and highly retained ID device in a study comparing different methods for cattle ID (i.e., visual ear tags, electronic ear tags and electronic boluses) under range extensive conditions in Botswana. Additionally, Hentz et al. (2014) stated that boluses have advantages over ear tags in warm and hot climates (e.g., Brazil), as the internal devices (i.e., forestomach) reduce the risks of ear tag losses, tissue damage, and lesions on the ear.

Nevertheless, the above mentioned eRB4 to eRB7 had large dimensions (length, 66.0 to 68.0 mm; diameter, 16.9 to 21.1 mm) which made their use inadvisable in young suckling camels. Therefore, these types of boluses should be used in camel calves older than 3 mo and heavier than 90 kg BW. The age is important for safe bolus administration, which depends on the anatomical development of the pharynx and esophagus and on the dimensions (length and diameter) of the eRB used (Carné et al., 2009a). Despite the administration of eRB being possible during wk 1 of life, our advice for ID young suckling camels is to administer small sized boluses, like the eRB2, when the calves have passed the perinatal period and look vigorous (e.g., after 1 to 2 wk of age and > 50 kg BW). For weaners and adult camels, any of the eRB4 to eRB7 are recommended for the long-term ID under extensive and intensive conditions.

4.5 Conclusions

For the first time, the performances of visual and electronic ID devices have been studied in dromedary camels under a wide range of locations and different farming conditions. Results and conclusions would be useful in order to assess farmers and administration bodies which are the most suitable devices for camel ID in practice.

No iron branding or injected microchips are recommended for the ID of camels due to readability, welfare and meat safety concerns, respectively. Additionally, the low ID performances reported for the long-term makes their use inadvisable as a reference system for the camel industry. The use of visual ear tags as a single ID device is also not recommended for the permanent ID of camels due to the high losses and elevated risk of ear breakages. Whatever the case, small sized ear tags (e.g., button shape) or plastic-loop (e.g., electronic ear tags) would be preferable to ear tags with large flags. The high readability of dense and adequately designed electronic rumen boluses in the long-term and under different farming

conditions, makes their use the most recommendable as the ID device of reference for the permanent identification of camels. Nevertheless, like required by international regulations in other livestock species, the use of a second visual ID device might be suggested for an easy management in large farms of dairy dromedaries, although further studies are needed to confirm this recommendation.

CAPÍTULO 5: CHANGES IN MAJOR MILK COMPONENTS AND LEVELS
OF INSULIN OF CANARIAN DROMEDARY CAMELS (*Camelus
dromedarius* L.) THROUGHOUT LACTATION

CAPÍTULO 5

CHANGES IN MAJOR MILK COMPONENTS AND LEVELS OF INSULIN OF CANARIAN DROMEDARY CAMELS (*Camelus dromedarius* L.) THROUGHOUT LACTATION (Cambios en los componentes mayoritarios y niveles de insulina en leche de dromedarios canarios durante la lactación).

Resumen

Se utilizaron 60 camellas de raza Canaria pertenecientes al rebaño de Oasis Park-Fuerteventura para estudiar la evolución de la composición del calostro y la leche a lo largo de la lactación, incluyendo la evaluación de la presencia de insulina (INS). Para ello, se recogieron un total de 316 muestras (calostro, $n = 41$; leche, $n = 275$) durante 3 años que fueron congeladas hasta su análisis. Los estados de lactación considerados fueron: calostro (0 to 2 d), inicio (3 a 103 d), mitad (104 a 244 d) y fina de lactación (245 a 365 d). Las camellas se manejaron en condiciones de alimentación intensiva y el ordeño se realizó 1 o 2 veces al día, dependiendo del estado de lactación, utilizando una ordeñadora portátil tras una inyección i.v. de oxitocina (5 UI) para evitar el efecto de la cría en la eyección de leche. Para la composición de leche se analizaron distintos subconjuntos de muestras utilizando métodos de referencia y los resultados se usaron para realizar calibraciones en un equipo de espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR). La energía bruta se calculó a partir de la composición. El contenido en INS se analizó en muestras desengrasadas mediante kits ELISA de INS bovina. Aunque el NIR predijo deficientemente la composición del calostro, las calibraciones NIR ($R^2 = 0.98$ a 0.99) y validaciones cruzadas ($R_{CV}^2 = 0.93$ a 0.97) fueron satisfactorias para la grasa, proteína y sólidos totales en leche, con relaciones del rango de error (RER) y del rendimiento de desviación de los resultados (RPD) mayores que 10 y 2, respectivamente. En el caso de la caseína y la lactosa de la leche, las predicciones fueron moderadas ($R^2 = 0.89$ a 0.98 ; $R_{CV}^2 = 0.76$ a 0.92) y sus relaciones no adecuadas (RER = 6.4 a 6.6; RPD = 1.6 a 1.8). La predicción de INS fue deficiente ($R^2 = 0.78$; $R_{CV}^2 = 0.60$; RER = 5.4; RPD = 1.7) y sólo útil a efectos informativos. En consecuencia, el contenido de INS en las muestras de leche se analizó con kits ELISA. La producción de calostro no se evaluó, pero la producción media de leche fue moderada (5.9 ± 0.3 kg/d; 2,155 kg/año) y aumentó cuadráticamente ($P < 0.01$) al avanzar la lactación. El calostro presentó bajos niveles de grasa, probablemente por una bajada incompleta de la leche, pero altos en proteína y sólidos totales ($7.93 \pm 0.48\%$ y $13.9 \pm 0.6\%$, respectivamente). La proporción de caseína en la proteína del calostro fue baja ($31.3 \pm 3.1\%$), indicando la

importancia de las proteínas séricas. En la leche, los contenidos medios de grasa y proteína ($4.45 \pm 0.10\%$ y $2.90 \pm 0.05\%$, respectivamente) se correlacionaron positivamente ($r = 0.42$) y mostraron una evolución cuadrática ($P < 0.05$) e inversa a la producción de leche con el estado de lactación. La proporción media en caseína fue del $70.0 \pm 0.7\%$ respecto a la proteína. El contenido en sólidos totales ($12.4 \pm 0.1\%$) disminuyó con el estado de lactación, mientras que la lactosa ($4.36 \pm 0.04\%$) y cenizas ($0.79 \pm 0.01\%$) en leche no variaron. El contenido de INS varió de forma cuadrática ($P < 0.05$), con valores mínimos a mitad de lactación. No se encontró relación entre los niveles de INS en leche (1.63 ± 0.29 ng/mL) y en plasma (0.27 ± 0.03 ng/mL), lo que sugiere un efecto de concentración en el lumen alveolar, siendo necesarios más estudios para poder explicarlo.

Abstract

Sixty Canarian she-camels from the Oasis Park-Fuerteventura herd were used to study the major compositional changes of their mammary secretion during lactation, including the assessment of the presence of insulin (INS). In this aim, a total of 316 samples (colostrum, $n = 41$; milk, $n = 275$) were collected during 3 yr and frozen until analysis. Stages of lactation considered were: colostrum (d 0 to 2), early- (d 3 to 103), mid- (d 104 to 244) and late-lactation (d 245 to 365). Camels were under intensive feeding conditions and milking was done once- or twice-daily, depending on the stage of lactation, using a portable milking machine and after an i.v. injection of oxytocin (5 IU) to avoid the effect of the camel-calf in milk letdown. Subsets of samples were analyzed for composition by reference methods and used for the calibration of a near infrared (NIR) spectroscopy apparatus. Gross energy was calculated from composition. The INS content was analyzed from skim samples using bovine ELISA kits. Although NIR inaccurately predicted colostrum composition, NIR calibrations ($R^2 = 0.98$ to 0.99) and cross-validations ($R_{CV}^2 = 0.93$ to 0.97) showed satisfactory predictions for fat, protein and total solids contents in milk samples with range of error ratio (RER) and ratio of performance deviation (RPD) greater than 10 and 2, respectively. The NIR calibrations and cross-validations for milk casein and lactose were moderate ($R^2 = 0.89$ to 0.98 ; $R_{CV}^2 = 0.76$ to 0.92), but their ratios were insufficient (RER = 6.4 to 6.6; RPD = 1.6 to 1.8). The INS prediction was also poor ($R^2 = 0.78$; $R_{CV}^2 = 0.60$; RER = 5.4; RPD = 1.7) and only useful for informative assessment. Consequently, INS content in milk samples was analyzed using ELISA kits. Colostrum yield was not measured but milk yield was moderate (5.9 ± 0.3 kg/d; 2,155 kg/yr) and increased quadratically as lactation advanced ($P < 0.01$). Colostrum was low in fat, most probably due to an incomplete milk letdown, but high in protein and total solid contents (7.93

$\pm 0.48\%$ and $13.9 \pm 0.6\%$, respectively). Casein to protein rate in colostrum was low ($31.3 \pm 3.1\%$) indicating the importance of serum proteins. Milk fat and protein contents ($4.45 \pm 0.10\%$ and $2.90 \pm 0.05\%$, on average, respectively) correlated positively ($r = 0.42$) and showed a quadratic and inverse trend to milk yield ($P < 0.05$) as lactation advanced. Proportion of casein in milk protein was $70.0 \pm 0.7\%$, on average. Total milk solids ($12.4 \pm 0.1\%$) decreased but lactose ($4.36 \pm 0.04\%$) and ashes ($0.79 \pm 0.01\%$) did not vary during lactation. The INS content varied quadratically ($P < 0.05$), with minimum values in mid-lactation. No relationship was found between milk INS (1.63 ± 0.29 ng/mL) and plasma INS (0.27 ± 0.03 ng/mL) values, suggesting a concentration inside the alveolar lumen and which needs further research for explanation.

5.1 Introduction

Camel milk is increasingly appreciated worldwide because the attributed composition and functional properties. Among dairy species, dromedaries stand out by their productive potential in desert environments, significantly contributing to the economic and social development of the regions where they are present (Faye, 2015).

Canarian camels are a traditional livestock species in the Canary Islands, mainly in the desertic Fuerteventura and Lanzarote islands, where its current population is estimated in approximately 1,030 head (Asociación de Criadores del Camello Canario, comunicación personal). Although native from the Occidental Sahara, camels were introduced in the Canary in 1,405 where they evolved basically isolated (i.e., few importations of genetic material from Africa were done) to a draught phenotype (i.e., transportation and agricultural tasks). Due to sanitary measures, importation of camels from Africa is not more possible since 1996 (Schulz et al., 2010).

Despite dromedaries are used for milk production in the countries from which they originate, Canarian camels have not been evaluated for milk traits and their dairy performances are unknown. Currently they are used for caravanning (i.e., tourist riding) and breeding for export to European countries, where a few intensive dairy farms have been recently started.

Camel milk composition is characteristic of the specie and its composition varies according to a wide range of factors, including breed, stage of lactation and environmental conditions. There are no studies about the milk yield and composition of the Canarian camel maintained in intensive or extensive conditions. Konuspáyeva et al. (2010) studied the compositional changes of the colostrum-milk transition in dromedaries during the first week of lactation. Like observed in other species, they reported a dramatic variation in fat (25.9 to 3.1%) and protein

(17.2 to 4.2%) contents during the first 2 d of lactation, but major components did not differ between colostrum and milk after d 3 of lactation (Konuspayeva et al., 2010).

In regard to milk composition of dromedaries, breed and season changes were reported by Mehaia et al. (1995), Mohamed et al. (2005), Konuspayeva et al. (2009) and Aljumaah et al. (2012). Al-haj and Kanhal (2010) widely reviewed dromedary milk composition proposing $3.5 \pm 1.0\%$, $3.1 \pm 0.5\%$, $4.4 \pm 0.7\%$, $0.79 \pm 0.07\%$ and $11.9 \pm 1.5\%$, for fat, protein, lactose, ash and milk solids, on average, as a reference values. A controversial aspect in regard dromedary milk composition is the frequently reported values in which fat content is lower than protein (fat–protein inversion), this may be a consequence of incomplete milk letdown depending on the udder stimulation at milking (i.e., presence or absence of the camel-calf).

On the other hand, the presence of INS in camel milk has been studied by different authors (Hamad et al., 2011; Royatvand et al., 2013), who reported a mean value of 1.8 ng/mL (range, 0.8 to 2.7 ng/mL). No information is available on the effects of the stage of lactation on camel milk INS.

Several reference methods are used for determining the major chemical composition of milk (i.e., FIL/IDF standards) as well as for the presence of bioactive components in milk (i.e., RIA radio-immune assay, ELISA enzyme-linked immune-sorbent assay). All these methods are labor-intensive and sample destructive, making samples unrecoverable for further analyses (Balabin and Smirnov, 2011). Mid- and near-infrared (MIR and NIR, respectively) spectroscopy have been applied in the analysis of raw milk in dairy species (Albanell et al., 1999, 2003; Tsenkova et al., 1999, 2001, 2006; Chen et al., 2002; Kawasaki et al., 2008; Aernouts et al., 2011). The methods differ in the wavelength region used, measurement setup and calibration specifications. Nevertheless, use of NIR spectroscopy in the estimation of major milk composition and INS content in camel milk has not yet explored. This paper deals with the assessment of yield and composition of colostrum and milk of Canarian camels, including the determination of INS levels, throughout lactation and under intensive conditions.

5.2 Materials and Methods

Camels used ($n = 60$) belonged to the breeding herd of the Oasis Park-Museo del Campo Majorero in La Lajita (Fuerteventura, Spain) and were managed under intensive conditions in loose stabulation on sand bedded pens. She-camels were fed alfalfa hay, palm fronds, thornless acacia branches and concentrate (10% CP as fed; Capisa gránulo grueso, Las Torres, Las Palmas de Gran Canaria, Spain) according to their requirements (Wilson, 1989). Camel-calves were creep-fed during suckling with a commercial concentrate (11% CP as fed; Capisa mezcla)

enriched with 20% soybean meal (42% CP, as fed). Water and mineral blocks (Equiblock-10, Nuter, La Coruña, Spain) were freely available in the pens during the experiment. All the camel-cows were identified with electronic rumen boluses, according to Caja et al. (2016).

5.2.1 Milk Recording and Sampling Procedure

A total of 316 samples (colostrum, $n = 41$; milk, $n = 275$) were collected during 3 yr and frozen (-20°C) until analysis. Lactation stages considered were: colostrum (d 0 to 2), early- (d 3 to 103), mid- (d 104 to 244) and late-lactation (d 245 to 365). She-camels were milked once- or twice-daily, depending on stage of lactation (i.e., during suckling and early-lactation or after calf weaning, respectively), using a portable milking machine (Insame mecanizados, Beriain, Navarra, Spain) set at 42 kPa, 90 pulses/min and 50% pulsation. Before milking, an i.v. injection of oxytocin (5 IU; Veterin Lobulor, Laboratorios Andreu, Barcelona, Spain) was injected to each she-camel to avoid the interference of the camel-calf sucking for milk letdown. Teat washing (i.e., warm water with soap) and drying (i.e., paper towels) were also done for stimulation. Large teat liners (22.1 mm internal diameter) and metal cups were used (Reference 7021-2725-110; GEA, Granollers, Barcelona, Spain). Teat dipping in an iodine solution was applied after milking (P3-ioshield, Ecolab Hispano-Portuguesa, Barcelona, Spain).

Milk production during suckling was estimated in 21 Canarian camel-cows isolated from their calves by using the double milking-oxytocin injection method for a 4-h milking interval. Oxytocin (5 IU; Veterin Lobulor) was injected i.v., and milk obtained in the second milking weighed (W) and yield expressed as 24-h milk yield multiplying by 6 time elapsed between milkings.

Milk samples (100 mL) were collected in duplicate and frozen (-20°C) until analyses.

5.2.2 Insulin Spiked Milk Samples

In order to evaluate the effect of milk matrix on the NIR prediction model for INS contents, commercial cow skim milk (Leche Pascual Uperisada, Desnatada, Calidad Pascual SAU, Aranda de Duero, Burgos, Spain) and frozen camel milk previously thawed at room temperature, were added with increasing amounts of INS from bovine pancreas (EC 234-291-2, I6634; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

A total of 40 milk samples of each type of milk were spiked with 0 to 30 ng/mL INS in duplicate and used for calibration of NIR spectroscopy purposes. Sample INS contents were also measured by ELISA immunoassay (Mercodia Diagnostics, Uppsala, Sweden), as later indicated.

5.2.3 Analyses

Crude protein

The crude protein was analyzed by the Dumas combustion method (ISO, 2009) with a LECO FP-528 nitrogen analyzer (LECO Instrument Corporation, St. Joseph, MI, USA) and the results were calculated as percentage of $N \times 6.38$. For the analysis of each sample of camel milk, 0.6 mL of milk were dried in air-oven overnight at 70°C to remove moisture and the dry matter component used for the analysis. This procedure changes all the nitrogen in the milk into nitrogen oxides (NO_2) by complete combustion in an induction furnace at 950°C. The NO_2 is reduced into nitrogen gas (N_2), thus the oxygen is absorbed by hot copper and then finally N_2 is carried by He gas into a thermal conductivity device for quantification. All the determinations were made in duplicate.

Casein

The casein content (CN) was analyzed by Kjeldahl method (AOAC 998.05, 2000) using FOSS Kjeltac 8400 analyser unit (FOSS analytical AB, Höganäs, Sweden). For the analysis of each sample, 5 mL of camel milk, 10 mL of warm distilled water and 0.8 mL of 10% acetic acid were introduced into long test tubes and vortexed for 10 min. Moreover, 0.8 mL of 1 M sodium acetate was added and gently mixed. The volume was topped up to 25 mL by adding 8.4 mL of warm distilled water, covered and gently mixed again and left to stand for 8 h. This precipitates out the CN, leaving the non-CN nitrogen in the supernatant. Then, the sample was filtered using Whatman filter paper. Finally, 15 mL of the supernatant (done in triplicate) was digested with concentrated H_2SO_4 and 2 tablets of titanium (catalyst) for about 2 h at 450°C. The digest was basified with 40% NaOH, steam distilled and collected into 2% boric acid. The distillate was then automatically titrated against 0.1N HCl and the percent of non-CN nitrogen content displayed on the screen. The value of N obtained was multiplied by 6.38 to express it as protein. Casein content was therefore calculated as the difference between the total protein content determined and the non-CN protein. This was done in duplicate.

Fat

The total fat content of samples was analyzed using the Gerber method (AOAC 2000.18). In this aim, 10 mL of 90-91% concentrated Gerber H_2SO_4 was delivered into the butyrometer followed by 11 mL of camel milk carefully added. Then, 1 mL of iso-amyl alcohol was added and the butyrometer was closed with rubber cups before shaking gently to dissolve the curd. Butyrometers were thereafter centrifuged (Lacter 21, Orto alresa, Ajavir Madrid, Spain)

for 10 min at 1100 rpm ($\times 200$ g) at 45°C and the readings taken with the butyrometer standing upright. The measurements were done in duplicate.

Lactose

A portion of the samples ($n = 53$) were analyzed for lactose at the Interprofessional Milk Laboratory of Catalonia (ALLIC, Cabrils, Barcelona, Spain) using a Milkoscan 5000 Fosselectric, Hillerod, Denmark). The content of lactose of the rest of the samples was estimated by difference, according to the expression: Lactose (%) = Total solids – fat – protein – 0.8.

Total solids

The total solids content was determined by the air-oven method (AOAC 990.20, 2000). A total of 3 mL of each camel milk sample was pipetted into weighed crucibles and dried in an air-oven (Universal oven model UFE 600, Memmert, Schwabach, Germany) overnight at $103 \pm 2^\circ\text{C}$. This was made in duplicate. The total solids content was expressed as percentage of the original weight of each sample.

Insulin

The INS concentration of each sample was determined from skim camel milk samples, after centrifugation ($\times 1500$ g) at 4°C, by ELISA kits of immunoassay sandwich type for quantitative determination of bovine INS in plasma (Mercodia Diagnostics, Uppsala, Sweden). Reacted ELISA plates were read for INS in an automatic reader (iEMS Reader MF V.2.9-0, Labsystems España, Barcelona, Spain) at optical density of 450 nm. Before performing ELISA analysis, all camel milk samples were vortexed and centrifuged at 1,500 rpm ($\times 150$ g) for 3 min (Micro centrifuge sigma 112, Bristol, UK).

NIR spectroscopy

A NIR Foss 5000 (Foss Electric, Barcelona Spain), with a scanning range of 1,100 to 2,500 nm was used for predicting the composition in different subsets of samples according to the milk component analyzed. Frozen camel milk samples were thawed at a room temperature and then conditioned in a water bath (40°C). About 30 mL of each milk sample were placed in a quartz glass measurement cup containing a gold reflectant cell (0.5 mm). Milk samples were gently stirred to eliminate additional scattering effect which may arise as a result of fat flocculation and then placed in the cell holder for scanning. Reference data used ($n = 112$) were divided in 2 sample sets: the calibration set and a validation set that contained approximately 20% of the total number of samples. A total of 316 camel milk samples were therefore used in the whole spectra collection. Scanning of samples was done in duplicate. Reflectance (R) data

were collected every 2 nm, transformed to Transflectance ($\log 1/R$) and calibration equations developed by using the software WINISI III (v.1.6).

Confocal Laser Scanning Microscopy

Confocal laser scanning microscopy observations were performed in fluorescence mode essentially as described by Michalski et al. (2002). Proteins in milk were stained by fluorescent dye, fluorescein isothiocyanate (FITC; Fluka, Steinheim, Germany), and the fat globules were stained by Nile red (Sigma, Steinheim, Germany). The FITC and Nile red were dissolved in ethanol at a concentration of 2 and 1 mg/mL, respectively. Milk was dyed with 2 drops of FITC and 3 drops of Nile red. Then, 3 to 4 drops of the labeled milk were transferred to microscope slides with concave cavities, covered with a coverslip, sealed to prevent evaporation. The preparations were kept at 4°C for a maximum of 3 h.

The confocal microscope (Leica TCS SP2 AOBS, Heidelberg, Germany) was equipped with an oil-coupled Leica objective with a 63× augmentation and a numerical aperture of 1.4. Fluorescence from the samples was excited with the 488 nm line of an argon laser. Images were acquired in 2 channels simultaneously (501 to 549 nm and 574 to 626 nm) as 1,024 × 1,024 pixel slices.

5.2.3 Statistical Analyses

Data were analyzed by the MIXED procedure for repeated measures of SAS version 9.1.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). The statistical model included the fixed effects of the year and the interaction year × animal as fixed effects, as well as the animal and the residual error as random effects. Significance was declared at $P < 0.05$ and tendencies at $P < 0.10$.

5.3 Results and Discussion

5.3.1 NIR spectroscopy versus laboratory composition

Comparing the NIR spectrum of non-homogenised camel milk samples with the milk of other dairy species (i.e., ewe, goat and cow milks) few differences were found, as shown in **Figure 5.1**.

The main differences in the spectrum were observed in the region of the O-H bonds, which exhibited strong absorption bands and two marked peaks around the 1,450 and 1,930 nm, reported to represent the water in milk samples (Albanell et al., 2003). Camel milk showed the lower values in this second peak of water. Absorption bands ($1/R$) between 1600 and 1800, as well as between 2100 and 2200 nm are attributed to the straight carbon chain and cis double

bonds of fatty acid moieties in fat molecules (Sato et al., 1991; Albanell et al., 2003) in which no differences were here detected for the milk of different dairy species.

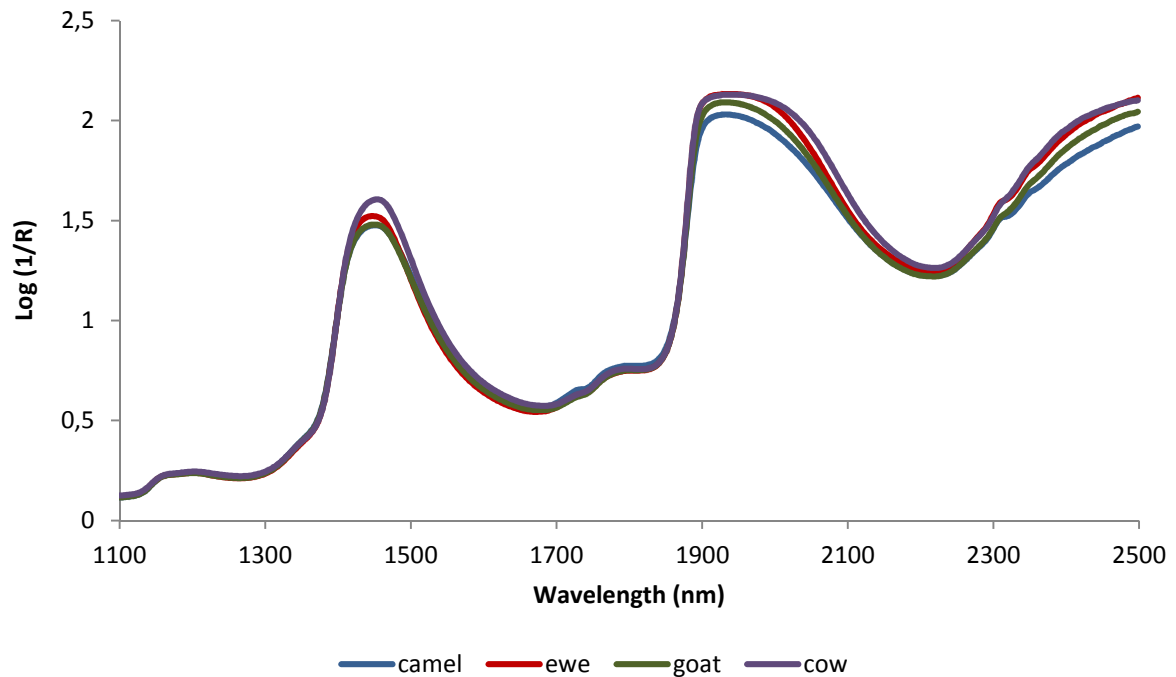


Figure 5.1 Near-infrared spectrum of raw camel milk compared to cow, goat and ewe milk.

Nevertheless, there was an upward shift in the spectrum with increasing fat content after 2,300 nm, the camel milk showing the lowest values.

The absorption bands of lactose (2,080 nm) and INS (1,500 to 2,056 and close to 2,174 nm) were also very weak in comparison with those of water and therefore differences were very difficult to detect by simple visual observation (Tsenkova et al., 2001; Holroyd, 2013). The composition of camel milk samples analyzed by reference methods and used for the NIR calibration and the validation subsets necessary for each milk component are shown in **Table 5.1**. Number of samples needed for each model varied with the aim of increasing its accuracy.

Values obtained for all components analyzed varied largely. These large differences tested the ability of NIR spectroscopy and minimized the prediction error of the calibration model according to Schenk et al. (1992) and Naes et al. (2004).

Statistic models for predicting the major components of camel milk (i.e., total solids, fat, protein, casein and lactose) and INS are described in **Table 5.2**. Spectral pre-treatment methods that resulted in the best prediction equation models were selected for the highest determination

coefficient of calibration (R^2), cross validation (R_{cv}^2), validation (r^2), range error ratio (RER) and ratio of performance deviation (RPD), and the lowest standard errors of validation (SEV) and cross validation (SECV), as well as the standard error of prediction (SEP).

Table 5.1. Descriptive statistics of the reference camel milk sample sets used in the NIR (near infrared) spectroscopy analysis for calibration and validation

Milk component	Calibration					Validation				
	n	Mean	Min	Max	SE	n	Mean	Min	Max	SE
Total solids (%)	61	11.45	6.86	19.24	0.26	16	10.98	7.36	14.84	0.49
Fat (%)	61	3.88	0.85	13.60	0.25	16	3.29	1.25	6.25	0.31
Protein (%)	86	2.67	1.43	7.68	0.11	21	2.73	1.64	4.51	0.16
Casein (%)	86	2.01	1.06	4.11	0.06	21	1.88	1.15	2.72	0.10
Lactose (%)	63	4.29	0.51	9.19	0.15	15	3.85	0.33	5.21	0.30
Insulin (ng/ml)	88	0.80	0.03	6.78	0.11	24	1.23	0.18	4.89	0.30

n = number of samples; SE = standard error; Min = minimum; Max = maximum.

The calibrations obtained for total solids, fat and protein in camel milk were satisfactory ($R^2 = 0.98$ to 0.99) and consistent in accordance with the quality criteria reported for milk of other dairy species (Albanell et al., 2003; Melfsen et al., 2012). The coefficient of determination of the external validation set of samples (r^2) were also satisfactory for fat (0.94), total solids (0.92) and protein (0.90) contents. Both the R^2 and r^2 obtained showed a strong relationship between actual values (reference analysis) and predicted values (NIR), thus showing the suitability of NIR spectroscopy for prediction of camel milk composition.

The final evaluation of the calibration models was based on their range error ratio (RER) and ratio of performance deviation (RPD) which ideally, according to Williams and Sobering (1996), should be ideally be greater than 3 and 10, respectively.

Saeyns et al. (2005) indicated that RPD values in the range of 2.0 to 2.5 are necessary for obtaining acceptable quantitative predictions, while insisting that better predictions are those achieved with RPD values greater than 2.5. On the practice, the RPD values lower than 2.0 are considered as very poor and there are not recommended for predictions.

In our samples of camel milk, predictions of casein and lactose contents, despite having R^2 values relatively high (0.89 and 0.98 , respectively), showed r^2 that only reached moderate values (0.69 and 0.71 , respectively), suggesting that more than 30% of the sample variation could not be explained by the NIR spectroscopy.

Table 5.2 Results of statistical analyses related to near infrared reflectance (NIR) spectroscopy prediction models for camel milk composition

Item	Mathematical treatment ^a	Modified PLS factor ^b	Calibration		Cross validation			Validation			
			R ²	SEC	R _{cv} ²	SECV	r ²	SEP	BIAS	RER	RPD
Major components (%)											
Total solids	1.4.4.1 MSC	8	0.98	0.29	0.93	0.54	0.92	0.66	0.21	11.37	2.98
Fat	1.4.4.1 MSC	8	0.99	0.16	0.97	0.25	0.94	0.34	-0.10	14.58	3.64
Protein	2.4.4.1 SNV+DT	8	0.99	0.11	0.97	0.19	0.90	0.24	-0.04	12.11	3.00
Casein	2.5.5.1 MSC	6	0.89	0.18	0.76	0.25	0.69	0.25	-0.06	6.36	1.76
Lactose	2.4.4.1 MSC	6	0.98	0.16	0.92	0.28	0.71	0.75	0.75	6.55	1.56
Bioactive content											
Insulin (ng/ml)	2.8.6.1 MSC	5	0.78	0.24	0.60	0.33	0.59	0.87	0.18	5.43	1.70

^a2.4.4.1 SNV+DT = derivative order (1st digit)-subtraction gap (2nd digit)-smooth segment (3rd digit)-second smoothing segment (4th digit) plus standard normal variate and detrend (DNVD); MSC = Multiplicative scatter correction.

^bModified PLS factor = modified partial least squares factor; R² = determination coefficient of calibration; SEC = standard error of calibration; R_{cv}² = determination coefficient of cross validation; SECV = standard error of cross validation; r² = determination coefficient of validation; SEP = Standard error of prediction; RER = range error ratio; RPD = ratio of performance deviation.

This fact may be a consequence of the nature of the samples (i.e., altered during freezing storage) or to inaccurate methods of analysis for the reference values. Other reasons could be a missing spectral representativeness for a defined sample population (Chodak, 2008) or to the reflection of the incident radiations by milk fat globules or casein micelles.

The worst NIR prediction model in the studied camel milk samples was observed for INS content, showing $R^2 = 0.78$ and $r^2 = 0.59$ values. Predicted values underestimated the actual INS values obtained by ELISA immunoassay.

In addition, RPD and RER values for lactose, casein and INS were below 2 and 10, respectively, hence not recommending the use of NIR for predicting these components in the camel milk samples. Nevertheless, NIR may be used as a fast informative system for making rough screening of these components in camel milk (e.g., classification of samples according to levels).

5.3.2 Analysis of INS in Spiked Milk Samples by NIR

The INS spiked milk samples were used to verify if synthetic bovine INS analyzed by ELISA immunoassay (actual values) might be accurately assessed by NIR (predicted values) in 2 different milk matrixs (i.e., cow milk and camel milk).

In regard to the skim cow milk (commercial) matrix spiked with bovine INS from 0 to 30 ng/mL was fully satisfactory (**Figure 5.2.a**) with $R^2 = 0.991$ (SEP = 0.558). Same results were obtained with the skim camel milk (own) matrix spiked with bovine INS from 0 to 30 ng/mL that showed a better correlation (**Figure 5.2.b**) with $R^2 = 0.996$ (SEP = 0.491).

The results indicate that the analytical precision of the results obtained by NIR spectroscopy were similar and not affected by the milk matrix (i.e., no effects of fat globules or casein micelles).

Nevertheless, when both calibrations set values were mixed to build up a robust prediction model, to which the whole camel sample spectra collection was again submitted, the comparison between the ELISA actual values and the newly NIR predicted values did not improve the accuracy of prediction and were still unsatisfactory ($R^2 = 0.778$; SEP = 0.228). Most probably, the reason of the low accuracy may be the low range of INS values of the camel milk samples (0 to 4 ng/mL).

The INS concentrations determined by NIR spectroscopy in camel milk were in all cases underestimated. More studies are needed to understand the problem and to obtain an accurate calibration of INS in camel milk.

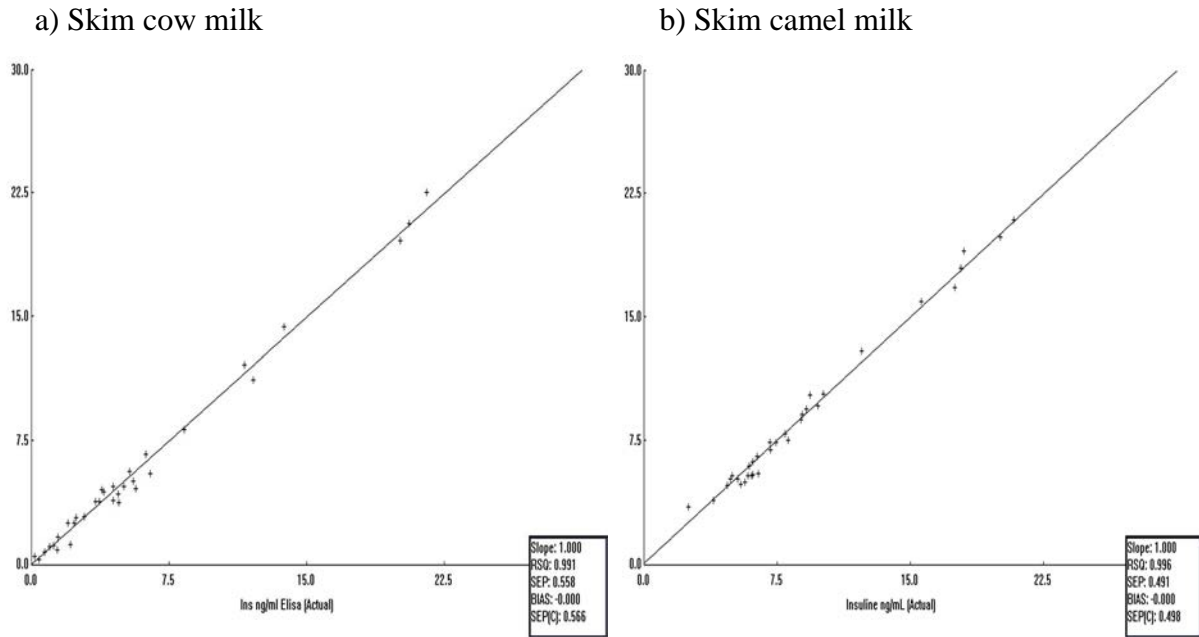


Figure 5.2 Actual (ELISA) vs. predicted (NIR) values of spiked bovine insulin contents in milk according to the matrix used (a, skim cow milk; b, skim camel milk).

5.3.3 Evaluation of Milk Yield of Canarian Camels

Milk yield values obtained in the Canarian camels under intensive conditions at the Oasis Park of Fuerteventura, for the different stages of lactation considered, and done by machine milking with a previous injection of oxytocin are shown in **Table 5.3** and **Figure 5.3**.

The camel's lactation curve fitted a quadratic model ($R^2 = 1$) with an initial value of 4.4 kg/d (estimated colostrum yield) and an estimated milk yield during 365 d of 2,155 kg/camel. As a consequence of the methodology used for obtention, this milk yield should be considered as the milk potential of the breed, and the expected milk yield under commercial exploitation condition might be 25 to 30% lower (i.e., 1,509 to 1,616 kg/yr). Standard error of milk yield increased as lactation advanced, expecting a greater variation at the end of lactation.

Milk yield values for Canarian camels were considered moderately high and showed a peak at mid-late lactation, agreeing with the models of Musaad et al. (2013), who reported the peak of lactation at wk 19 (d 133). In our data the peak may have been delayed because the use of oxytocin. Approximately, 26% milk was produced during early-lactation (d 3 to 103, 560 kg), 40% during mid-lactation (d 104 to 244, 862 kg) and 34% during late-lactation (d 245 to 365, 733 kg).

According to the results obtained, the Canarian camel breed may be classified as a mid-yielding dairy breed (between 1,500 and 3,000 L/yr), as proposed by Alhadrami et al. (2004)

and, consequently, suitable for machine milking and milk production under intensive management conditions. Genetic selection and training should increase the milkability and milk production of the Canarian camel in the future.

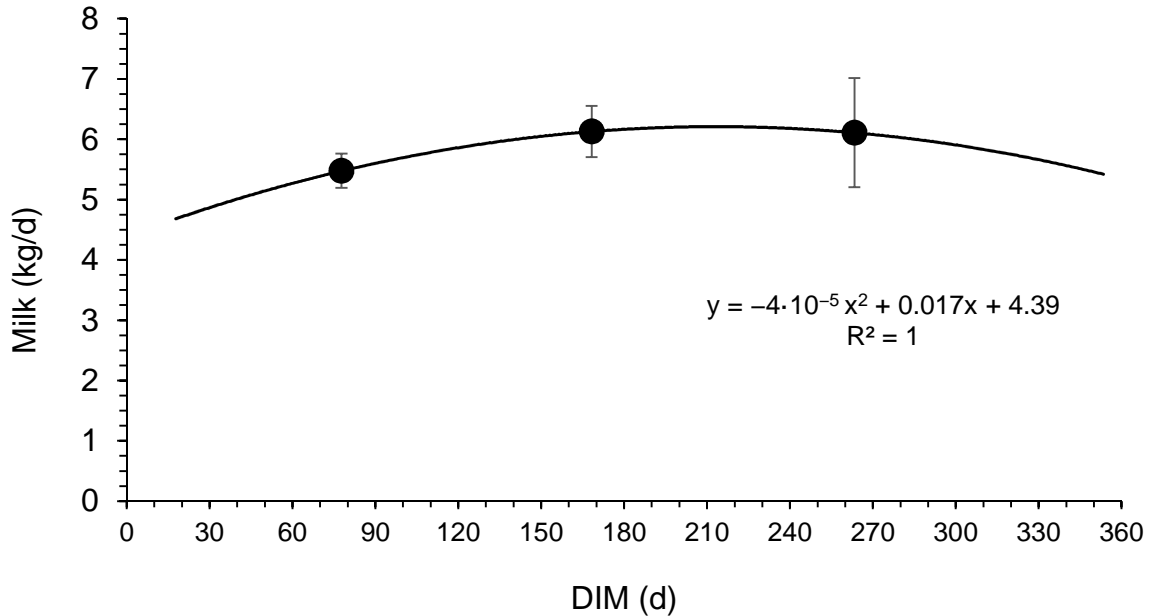


Figure 5.3 Lactation curve of Canarian she-camels at the Oasis Park of Fuerteventura milked with the help of oxytocin (DIM = days in milk).

5.3.5 Colostrum production of Canarian camel breed

Although no colostrum yield was recorded after calving (i.e., the camel calves sucked all the colostrums produced), composition was measured in the samples collected as shown in Table 5.3. Despite the low fat values observed, the average values of protein and total solids were higher than reported by Konuspayeva (2010; 6.03 ± 1.42 and $15.6 \pm 3.4\%$, respectively) for dromedary camels of Kazakhstan under grazing conditions. Transition from colostrum to milk was fast and protein decreased dramatically during the first week of lactation (**Figure 5.4**). Nevertheless, the fat content of the whole colostrum samples was low (Table 5.3), when compared with the results of Konuspayeva et al. (2010; $7.88 \pm 2.48\%$). This may be a consequence of incomplete milk letdown produced during the first week of lactation, which reduced the fat content, and consequently the total solids content of the milk.

Despite the great content of protein observed in the colostrum samples, casein content was low (Table 5.3), as expected. On average, only 31% of colostrum total protein was casein, as a result of its high content in serum proteins which are essential for the transmission of immunity from the mother to the newborn camel calves.

Table 5.3. Compositional changes of mammary secretion of Canarian dromedary camels according to the stage of lactation

Item	Stage of lactation									
	n	Colostrum	n	Early ¹	n	Mid ²	n	Late ³	n	Overall milk
Milk yield (kg/d)	-	-	14	5.5 ± 0.3	43	6.1 ± 0.4	9	6.1 ± 0.9	66	5.9 ± 0.3
Composition										
Fat (%)	16	4.18 ± 0.91 ^a	199	4.80 ± 0.12 ^a	63	3.45 ± 0.16 ^b	9	3.45 ± 0.32 ^b	271	4.45 ± 0.10
Protein (%)	32	7.93 ± 0.48 ^a	199	3.05 ± 0.06 ^b	63	2.44 ± 0.04 ^c	9	2.71 ± 0.20 ^d	271	2.90 ± 0.05
P/F ratio	-	-	199	0.7 ± 0.1	63	0.8 ± 0.1	9	0.8 ± 0.1	271	0.7 ± 0.1
Casein (%)	12	2.73 ± 0.23 ^a	199	2.09 ± 0.03 ^b	34	1.85 ± 0.05 ^c	9	2.01 ± 0.26 ^b	271	2.03 ± 0.03
Casein (% Protein)	12	31.3 ± 3.1 ^c	199	68.4 ± 0.8 ^b	63	75.9 ± 1.0 ^a	9	74.0 ± 4.3 ^a	271	70.0 ± 0.7
Non Casein (%)	12	6.36 ± 0.75 ^a	199	0.96 ± 0.04 ^b	63	0.56 ± 0.03 ^c	9	0.12 ± 0.03 ^d	271	0.87 ± 0.03
Lactose (%) ¹	-	-	199	4.38 ± 0.05	63	4.36 ± 0.07	9	4.02 ± 0.29	271	4.36 ± 0.04
Ashes (%)	-	-	199	0.77 ± 0.02	63	0.79 ± 0.01	9	0.80 ± 0.01	271	0.79 ± 0.01
Total solids (%)	19	13.9 ± 0.6 ^a	199	12.9 ± 0.1 ^b	63	11.0 ± 0.2 ^c	9	10.3 ± 0.8 ^d	271	12.4 ± 0.1
Gross energy (kcal/g)	-	-		790 ^a ± 12	63	631 ^b ± 16	9	632 ^b ± 38	271	750 ± 11
Insulin (ng/mL)	-	-	35	1.99 ± 0.42 ^a	34	0.88 ± 0.37 ^b	7	1.64 ± 0.34 ^b	76	1.63 ± 0.29

¹d 3 to 103; ²d 104 to 244; ³d 245 to 365; ⁴Estimated by difference; ^{a,b,c,d}Different superscript letters indicate differences according to stage of lactation at P < 0.05.

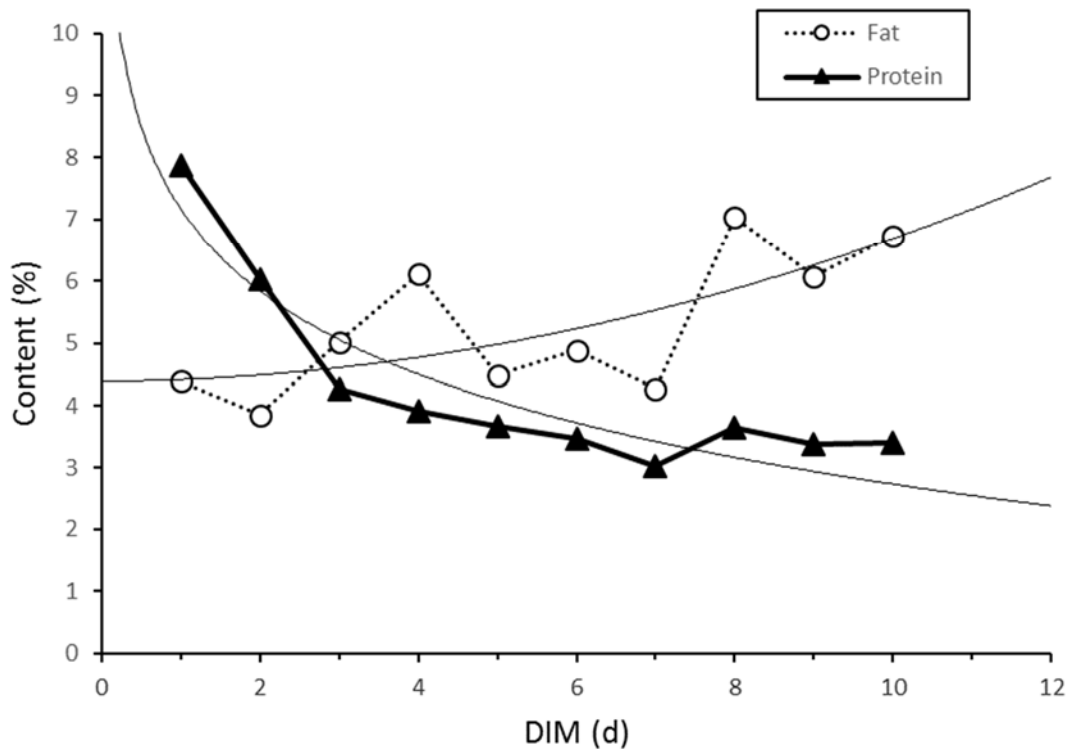


Figure 5.4. Changes in fat and protein contents of mammary secretion during the transition period from colostrum to milk (d 0 to 7).

The placenta of ruminants, which is similar to that of camels, is not permeable to macromolecules such as IgG from the maternal blood (Medvezki, 1989). The serum proteins decreased rapidly during the transition, reaching normal values (70 to 75%) in milk. A similar evolution trend was reported by Zhang et al. (2005) in Bactrian camels, in which the proportion of casein in the mammary secretion, varied from 39 to 78% from h 2 to d 7 after calving.

5.3.6 Milk Composition of the Canarian Camel

The composition values obtained for the major components of the Canarian camel milk during the different stages of lactation are shown in Table 5.3. The obtained values agreed those reported by Konuspayeva et al. (2007) for dromedary camel milk from Kazakhstan, which mean values were slightly higher in fat ($5.94 \pm 2.26\%$) and total protein ($3.03 \pm 0.76\%$), but lower in milk solids ($12.39 \pm 0.74\%$) and lactose ($3.12 \pm 0.92\%$), than our contents. Moreover, comparing the values of Table 5.3 with those obtained by Sawaya et al. (1984) and Mehaia et al. (1995) for camels Saudi Arabian camels, the Canarian camel milk showed slightly greater contents of total solids, protein and fat. The slightly higher values of fat in our data may

be a consequence of the use of oxytocin to obtain the samples throughout lactation, collecting a greater proportion of residual milk at milking.

Milk fat and protein contents correlated positively ($r = 0.43$; **Figure 5.5**), as expected and observed in other dairy species, and did not show inversion (i.e., low fat syndrome) for all the stages of lactation. Milk fat and protein contents changed quadratically ($P < 0.05$) as lactation advanced, the minimum values been observed in mid-lactation, which agreed with the greater milk yield produced.

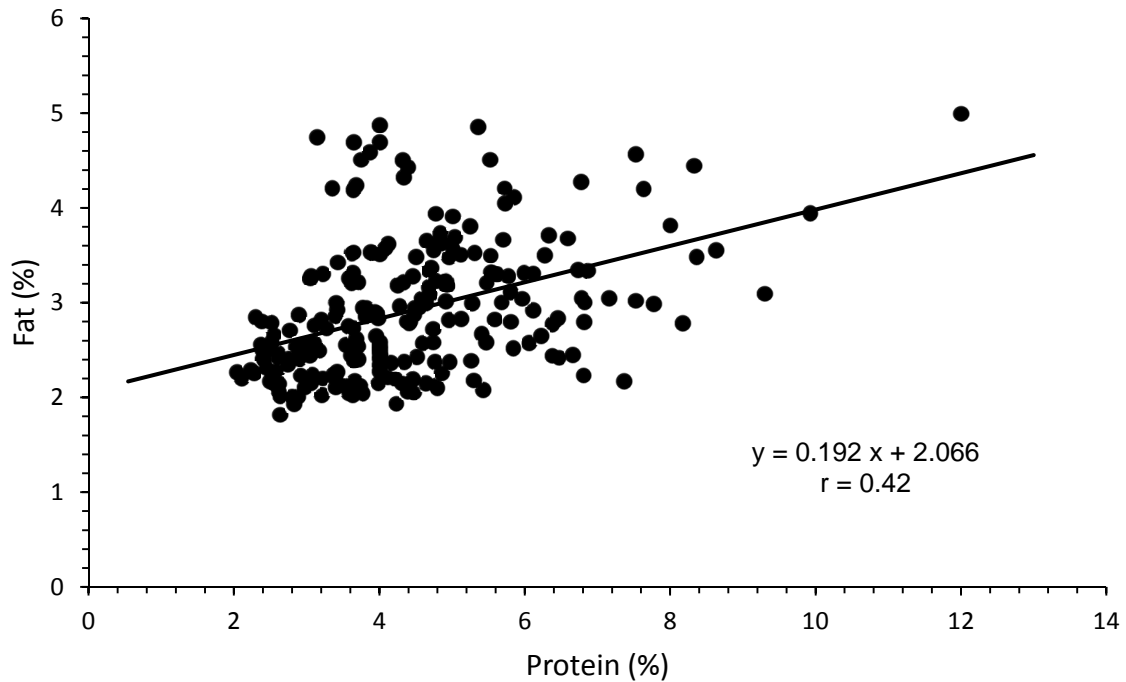


Figure 5.5. Correlation of fat and protein contents of Canarian camel milk throughout lactation.

Total milk solids decreased slightly from early- to late-lactation (Table 5.3; $P < 0.05$), whereas lactose and ash contents in milk did not vary (4.36 ± 0.04 and $0.79 \pm 0.01\%$, respectively) throughout lactation.

The casein content expressed as percentage of total nitrogen in milk is a value that can be used as indicator of the suitability of milk for cheese production. As shown in Table 5.3, it increased in Canarian camels after the colostrum phase and steadied thereafter, when lactation was fully established, without differences between mid- and late-lactation ($75.0 \pm 2.1\%$, on average). Zhang et al. (2005) reported increases from 39%, after parturition, to 80% at d 15 of lactation, remaining stable around 80% thereafter. Comparing with the values of the Canarian camel milk, the slightly lower percentage of casein in our data may be a result of the freezing and thawing of the samples, which should have altered the casein stability.

Gross energy values in milk were greater in early-lactation (Table 5.3) and mean values were similar to those reported in cows and agreed with those reported by Aljumaah et al. (2003) in camels.

Interentstly, INS values in milk changed quadratically as lactation advanced, reaching the minimum values in mid-lactation and increasing thereafter (Table 5.3). Given than INS is a small protein molecule not produced in the mammary gland, its presence in milk must be a consequence of the passage from the blood, must probably when the tight unions of the mammary epithelial cells are open, as it occurs in the onset and late-lactation.

No relationship (**Figure 5.6**) was found between milk INS (1.63 ± 0.29 ng/mL, on average) and plasma INS values (0.27 ± 0.03 ng/mL, on average), which were more than 6 times lower in blood, indicating that a concentration effect was produced inside of the alveolar lumen of the mammary tissue.

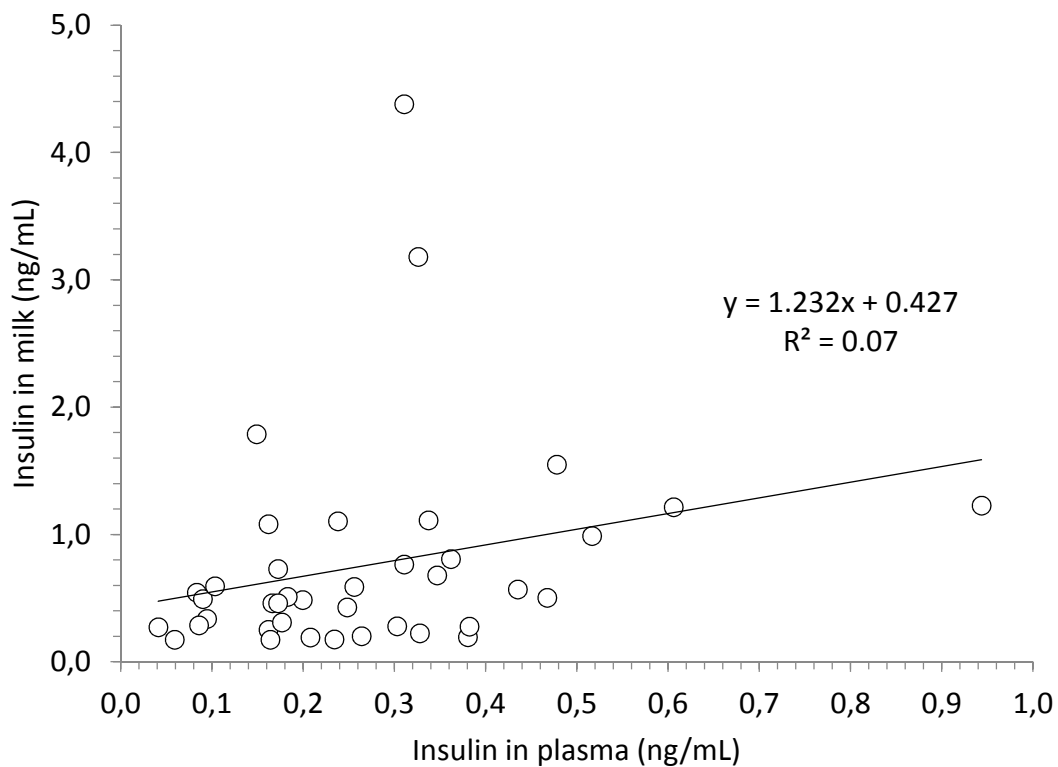


Figure 5.6 Levels of insulin in plasma vs. milk in Canarian camels throughout lactation.

Obtained values of INS in camel milk were greater than those reported by Royatvand et al. (2013; 0.8 ng/mL) but lower than reported by Hamad et al. (2011; 2.7 ng/mL). Nevertheless, it should be considered that values are affected by the analytical methodology used, and the bovine ELISA kits of Mercodia was not previously used.

5.3.7 Confocal Laser Scanning Microscopy of Camel Milk

Confocal laser scanning microscopy (CLSM) was successfully used to observe the morphology and size of the milk fat globules and casein micelles in raw camel milk, after previous staining (**Figure 5.7**). This methodology allowed a better knowledge of the structure and spatial organization of fat and protein in the camel milk. The structure and spatial organization of fat globules is very important for dairy products making and its knowledge may help to improve the retention of fat increase the yield of dairy products.

As it can be observed in Figure 5.7 (up), fat globules stained by Nile red dye appeared dispersed in the milk in the form of round lipid droplets of different sizes. The fat globule distribution was similar to previously reported for other types of milk (Huppertz and Kelly, 2006). In the picture, 3 groups of milk fat globules, according to diameter size, can be distinguished: 1) large-sized fat globules of approximately 5 μm \O , 2) mid-sized fat globules of approximately 3 μm \O , and 3) the rest of fat globules smaller than 3 μm \O .

Size of fat globules in milk usually ranges between 0.2 and 15 μm (Huppertz and Kelly, 2006) for different animal species. Meena et al. (2014) compared the fat globule size in cow and camel and reported variation ranges of 4.3 to 8.4 and 3.2 to 5.6 μm , respectively. Compared to Meena et al. (2014), the fat globule size in the milk of our Canarian camels was smaller. Berton et al. (2012) reported that fat globules size is related with the digestibility. The digestibility will be larger with a smaller size (Berton et al., 2012). In a study done in different dairy species, reported that the small size of fat globules in camel milk, smaller than in goat, cow and buffalo milk maybe the cause by the digestibility of camel milk was the highest, followed by goat milk (Meena et al., 2014).

Milk proteins, mainly casein micelles, were stained by fluorescent green dye, as shown in Figure 5.7 (down, green), in which the fat globules appear stained in orange. The size of casein micelles was smaller than fat globules and only occasionally we observed some protein aggregates (see magnification) with the form and size of fat globules. Ong et al. (2010) reported the presence of proteins bounded to the fat globule membrane of raw cow milk that were not detected in our samples of camel milk, as it can be observed in the microphotography magnification. This may be a result of the greater stability of the camel caseins, that did not react with the fat membrane lipoprotein layers.

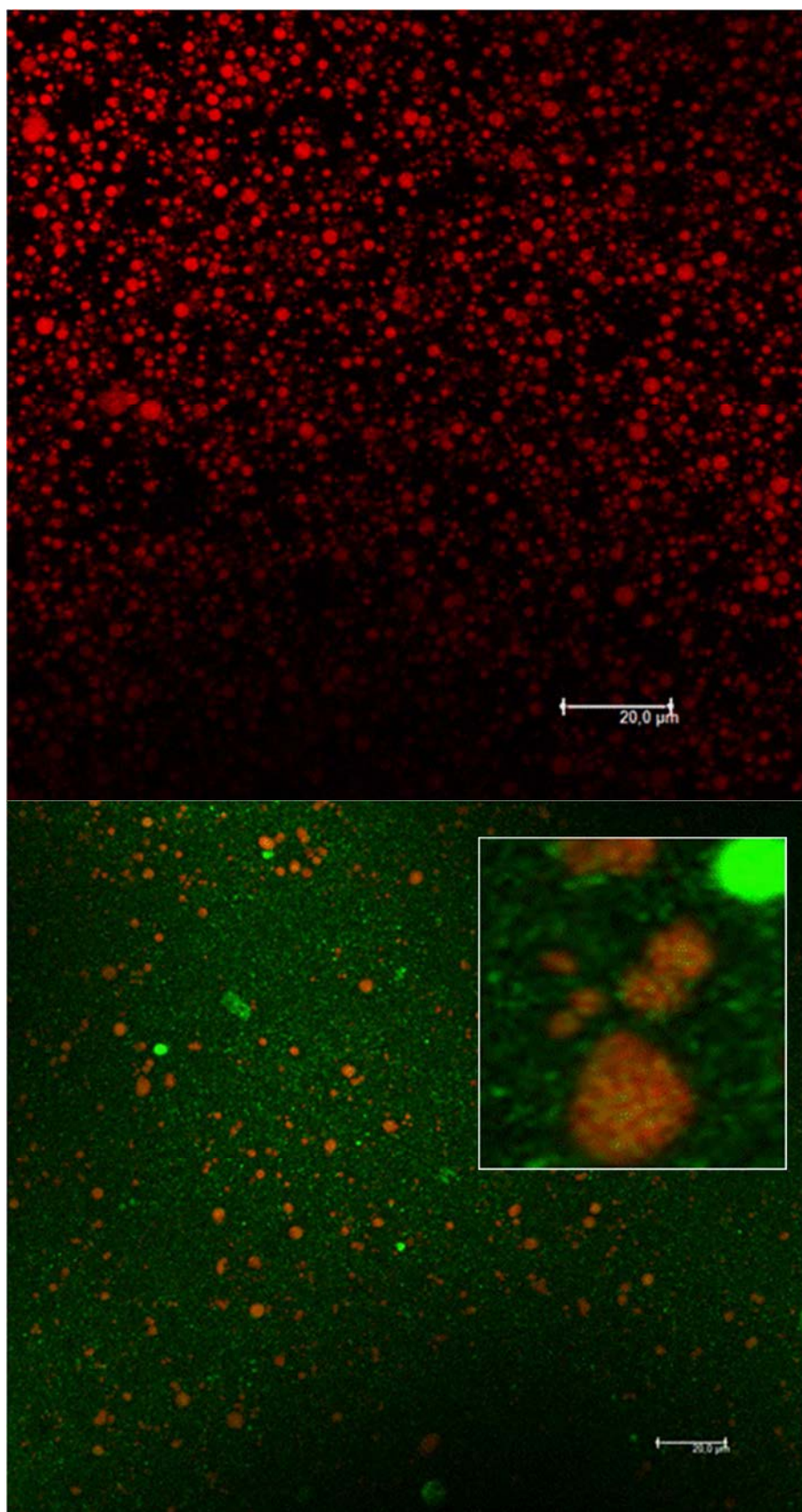


Figure 5.7. Microphotographies of the fat matrix (up, red) and fat globules and casein micelles (down, green) obtained from fresh Canary camel milk and magnified detail of proteins.

5.4 Conclusions

Measured milk yield potential of Canarian camels showed the breed as suitable for dairy production, although training for machine milking and selection by milkability are seen as necessary in practice. According to our results fat, protein and total solids contents in camel milk can be accurately analyzed by NIR spectroscopy. Milk composition, despite the low fat content obtained in colostrum, was normal and similar to other camel breeds, without fat-protein inversion throughout lactation. Major milk components varied quadratically during lactation, with a minimum in mid-lactation. Casein, when expressed as percentage of milk protein, increased from very low values in colostrum (high in whey proteins) to normal milk values after the colostrum-milk transition.

Milk INS was detected in all samples analyzed and also changed quadratically as lactation advanced. No relationship was found between milk INS and plasma INS, indicating a concentration effect inside of the mammary gland that needs further research.

Confocal images revealed that milk fat globules of camel milk are small-sized and fewly bounded to casein micelles, when compared to cow milk.

**CAPÍTULO 6: HYPERGLYCEMIA AND LOW INSULIN SENSITIVITY
ARE NATURAL CONDITIONS OF HEALTHY CAMEL CALVES THAT
APPEAR AT EARLY AGE DURING SUCKLING**

CAPÍTULO 6

HYPERGLYCEMIA AND LOW INSULIN SENSITIVITY ARE NATURAL CONDITIONS OF HEALTHY CAMEL CALVES THAT APPEAR AT EARLY AGE DURING SUCKLING (La hiperglucemia y la baja sensibilidad a la insulina son condiciones naturales de camellos jóvenes sanos que aparecen a edades tempranas durante el amamantamiento)

Resumen

Los camellos se diferencian de los verdaderos rumiantes en el metabolismo de la glucosa (GLU) y la insulina (INS). No hay datos que permitan afirmar si se trata de una condición innata o adquirida. Con este objetivo, se sometieron 2 grupos de dromedarios (A, 15 ± 3 d, $n = 5$; B, 132 ± 19 d, $n = 5$) a un ensayo de tolerancia a la GLU (GTT, 0.25 g GLU/kg PV) y a un reto de INS (4.6 μ g INS/kg PV) durante el periodo de cría. Se recogieron muestras de sangre en doce puntos (min -15 a 150) para analizar GLU, NEFA (ácidos grasos no esterificados), BHB (β -hidroxibutirato) e INS en plasma. En el GTT, los niveles basales de GLU fueron altos y aumentaron con la edad (A vs. B, 121 ± 7 vs. 147 ± 7 mg/100 mL; $P < 0.05$), alcanzaron el pico al min 5 (A vs. B, 241 ± 9 vs. 284 ± 9 mg/100 mL; $P < 0.01$) y no retornaron a los niveles basales después de 150 min. Los niveles basales de INS fueron bajos y similares en ambos grupos (0.14 ± 0.03 ng/mL, de media), alcanzaron el pico al min 5 (A vs. B, 1.24 ± 0.12 vs. 0.39 ± 0.12 ng/mL; $P < 0.001$) y retornaron rápidamente a los niveles basales. Los niveles basales de NEFA fueron altos y similares entre ambos grupos, por efecto del ayuno previo, pero decrecieron considerablemente después de infundir la GLU, alcanzando un nadir al min 20 y retornando a los niveles basales solo en el grupo A. Respecto al IC, los basales de INS no mostraron diferencias entre grupos (0.16 ± 0.09 ng/mL, de media) y la infusión de INS produjo un descenso paralelo de la GLU en ambos grupos hasta el min 90, sin retornar a los niveles basales. Los niveles de INS alcanzaron un pico al min 5 (A vs. B, 60.0 ± 28.0 vs. 256.0 ± 61.7 ng/mL; $P < 0.001$) y se desplomaron a los niveles basales a partir de entonces. Los niveles basales de NEFA fueron diferentes entre grupos (A vs. B, 0.82 ± 0.06 vs. 0.56 ± 0.06 mmol/L; $P < 0.05$) y disminuyeron de forma similar en los camellos A y B hasta el min 20; desde ahí, aumentaron notablemente en los camellos A y se estabilizaron a valores altos, mientras que en los camellos B retornaron a los niveles basales. Los niveles basales de BHB fueron bajos y diferentes entre grupos (A vs. B, 0.029 ± 0.004 vs. 0.016 ± 0.004 mmol/L; $P < 0.05$),

disminuyendo en ambos hasta alcanzar un valor similar en el min 30 y alcanzando sus respectivos valores basales después del min 90. En el grupo B, los valores de BHB se mantuvieron bajos y cercanos a los niveles basales durante todo el IC. Respecto a los índices de GLU e INS, éstos disminuyeron (QUICKI, 0.40 ± 0.01 vs. 0.36 ± 0.01 ; $P < 0.05$) y aumentaron (HOMA, 0.53 ± 0.14 vs. 1.00 ± 0.14 ; $P < 0.05$), respectivamente para A vs. B, lo que demuestra que las crías de camellos aumentan sus niveles de GLU y resistencia a la INS con la edad. Además, la tolerancia a la infusión de GLU y secreción de INS disminuye con la edad, derivando en un estado similar a la diabetes con niveles basales de GLU elevados (hiperglicemia) y baja movilización de grasa durante la administración de GLU e INS respectivamente.

Abstract

Camels differ from true-ruminants in glucose (GLU) and insulin (INS) metabolism. There is no data to elucidate if this is an innate or an acquired condition. With this aim, 2 groups of dromedaries (A, 15 ± 3 d, $n = 5$; B, 132 ± 19 d, $n = 5$) were submitted to GLU tolerance test (GTT, 0.25 g GLU/kg BW) and INS challenge (4.6 μ g INS/kg BW) during suckling. Blood samples for GLU, NEFA (non-esterified fatty acids), BHB (β -hydroxybutyrate) and INS analysis in plasma were collected at 12 time-points (min -15 to 150). In GTT, basal GLU was high and increased by age (A vs. B, 121 ± 7 vs. 147 ± 7 mg/100 mL; $P < 0.05$), peaked at min 5 (A vs. B, 241 ± 9 vs. 284 ± 9 mg/100 mL; $P < 0.01$) and did not return to the baseline at min 150. Basal INS was low and similar in both groups (0.14 ± 0.03 ng/mL, on average), peaked at min 5 (A vs. B, 1.24 ± 0.12 vs. 0.39 ± 0.12 ng/mL; $P < 0.001$) and returned rapidly to the baseline. Basal NEFA were high and similar between groups, due to overnight fasting, but decreased sharply after GLU infusion, reached a nadir at min 20 and only returned to the baseline in A camels. In regard to IC, basal INS did not differ between groups (0.16 ± 0.09 ng/mL, on average) and INS infusion produced a parallel decrease of GLU in both groups until min 90, without returning to the baseline. Values of INS peaked at min 5 (A vs. B, 60.0 ± 28.0 vs. 256.0 ± 61.7 ng/mL; $P < 0.001$) and plummeted to baseline thereafter. Basal NEFA differed between groups (A vs. B, 0.82 ± 0.06 vs. 0.56 ± 0.06 mmol/L; $P < 0.05$) and decreased similarly in A and B camels until min 20; from there, they increased dramatically in A camels and reached a high plateau, whereas returned to the baseline in B camels. Basal BHB were low and different between groups (A vs. B, 0.029 ± 0.004 vs. 0.016 ± 0.004 mmol/L; $P < 0.05$), decreased to a similar value at min 30 and reached their respective basal values after min 90. In group B, BHB values steadied low and close to the baseline for the whole IC. Surrogate indices of GLU and

INS decreased (QUICKI, 0.40 ± 0.01 vs. 0.36 ± 0.01 ; $P < 0.05$) and increased (HOMA, 0.53 ± 0.14 vs. 1.00 ± 0.14 ; $P < 0.05$), respectively for A vs. B, showing that camel calves became more hyperglycemic and resistant to INS with age. Moreover, tolerance to GLU infusion and secretion of INS decreased by age, resulting in a diabetes-like state with basal hyperglycemia and low fat mobilization during GLU and INS administration, respectively.

6.1 Introduction

Camelids are pseudo-ruminants (*Tylopoda* suborder) adapted to live under extreme environmental conditions (e.g., hot and cold temperatures, water and feed scarcity) and differing from true-ruminants (*Ruminantia* suborder) by feeding behavior (Lechner-Doll et al., 1995; Iqbal and Khan, 2001) and anatomo-histology (Lechner-Doll et al., 1995; Abuagla et al., 2014) and motility (von Engelhardt et al., 2006) of their forestomachs. A main difference between camelids and true-ruminants is the lack of papillae in their C1 compartment vs. the reticulo-rumen (Hansen and Schmidt-Nielsen, 1957; Vallenias et al., 1971). Despite this, in both suborders, most feed carbohydrates are fermented and absorbed in the forestomachs as volatile fatty acids, satisfying their requirements of GLU by gluconeogenesis, mainly from propionate, lactate and amino acids after feeding (Aschenbach et al., 2010).

Glucose is an obligatory energy substrate for key mammal cells (e.g., erythrocytes, brain, kidney, fetal and mammary) and glycemia values are usually maintained high (~100 mg/100 mL) in monogastric animals (i.e., by carbohydrate intake or by gluconeogenesis during fasting) under the regulation of INS. Nevertheless, true-ruminants cover most of their energy requirements by volatile fatty acids because they have low plasma GLU (40 to 60 mg/100 mL) and low INS sensitivity (Aschenbach et al., 2010). Although there are some metabolic differences between Old-World humped (i.e., *Camelus spp.*) and New-World humpless (i.e., *Lama spp.* and *V. vicugna*) camelids, and despite fermenting carbohydrates like true-ruminants, all of them have high plasma GLU values (70 and 129 mg/100 mL; Wernery et al., 1999; Mohri et al., 2008; Cebra et al., 2014), approximately twice greater than true-ruminants and of similar order like monogastrics.

There is few information available explaining these specificities of the GLU metabolism in camelids, which may be attributed to the use of an alternative pathway for GLU absorption from the intestine, enhanced gluconeogenesis, and/or poor GLU uptake by tissues, among another hypothesis (Cebra et al., 2001).

Plasma INS concentrations of fasted adult camelids are roughly one half to a third of those of other mammals (Cebra et al., 2014). Dromedary (one-humped) camels are recognized by

their low sensitivity to INS (Kaske et al., 2001) and by an impaired use of INS-dependent GLU transporter (**GLUT4**) in skeletal muscle and adipocyte cells, leading to the need of using other INS-independent GLU transporters and of maintaining high blood GLU values as an alternative strategy for GLU uptake (Duehlmeier et al., 2007). Very few is known about GLU transporters in camelids.

The presence of carbohydrates in the intestine enhances the development of enteroendocrine hormone-secreting cell populations (e.g., L-cells) and stimulates the release of incretins (i.e., glucagon-like peptide **GLP-1**), which potentiates INS secretion and suppresses glucagon. So, it is reasonable that adult camelids have very low quantities of carbohydrates that pass into the intestine, which would lead to a low GLP-1 release and a poor INS response to experimentally induced hyperglycemia (Smith et al., 2013). Additionally, the reactivity of IgG to INS receptors (Flier, 1983; Fujita et al., 2002) and the reported genetic differences in the binding of INS to its receptors (Jirimutu et al., 2012) may also be responsible of the low INS sensitivity observed in camelids. Interestingly, the occurrence of diabetes mellitus type 2 and of hepatic lipidosis concurrent with hyperglycemia in llamas (Tornquist et al., 1999), whereas the concurrence is with hypoglycemia (i.e., ketosis) in dairy cows (Grummer, 1993), evidences that GLU metabolism differs markedly between pseudo- and true-ruminants.

On the other hand, suckling true- and pseudo-ruminants appear to be different to adult animals in the GLU metabolism scheme above described. Milk carbohydrates (i.e., lactose) bypass the fermentative forestomachs through the esophageal groove and are absorbed mainly as GLU in the small intestine enterocytes using the SGLT1 (sodium-dependent transport protein). High plasma GLU values are reported in milk fed ruminants (65 to 108 mg/100 mL; Demigné and Rémésy, 1979; Knowles et al., 2000; Lohakare et al., 2012) in which GLU is the main source of energy, their skeletal muscles being able of using GLUT1 (erythrocyte and blood-brain GLU transporter) independently of INS. Young llamas also show high plasma GLU values (94 to 170 mg/100 mL; Fowler and Zinkl, 1989; Cebra and Tornquist, 2005) and low INS concentrations (Cebra et al., 2014), suggesting a diabetes-like state. Consequently, true- and pseudo-ruminants should undergo major physiological changes when the direct supply of GLU is interrupted (i.e., weaning), the last achieving a diabetes-like permanent state. In this regard, the use of metabolic indices, such as GLU tolerance test (**GTT**) and INS challenge (**IC**), developed for the evaluation of the diabetes and pre-diabetes states in humans, could be also of interest to understand the GLU metabolism in camels.

Elmahdi et al. (1997) compared the response to GTT in different true- and pseudo-ruminant

species, concluding that dromedaries eliminate GLU, secrete INS, and suppress NEFA mobilization less than sheep and ponies do under similar conditions. Few is known about if these are innate or acquired traits after birth and if they vary according to the age. In our knowledge, no data referring new-born and young suckling camels are available. Therefore, the purpose of the study reported here was to investigate the changes induced by age (new-born vs. mid-suckling) in the glucose metabolism of dromedary camel calves during their natural suckling period.

6.2 Materials and Methods

Animal care and experimental procedures used in this study were approved by the Ethical Committee on Animal and Human Experimentation of the Universitat Autònoma de Barcelona (CEEAH, reference 2519). The experiment was carried out in the camel farm of the Museo del Campo Majorero-Oasis Park (La Lajita, Fuerteventura, Las Palmas de Gran Canaria, Spain).

6.2.1 Animal and Management Conditions

A total of 12 suckling Canarian dromedary camel calves (*Camelus dromedarius* L.), 7 males and 5 females, were used. The calves were weighed and processed after birth by cutting and disinfecting their navel with alcohol-iodine solution (1:1 vol/vol), supplemented with Se-vitamin E (0.1 mL/kg BW; Esvex inyectable, Riudoms, Tarragona, Spain) within the first 12-h of life and left to suck colostrum and milk freely from their mothers until weaning. Individual identification was performed before wk 1 of age using radiofrequency rumen boluses of 20 g (Datamars, Esplugues de Llobregat, Barcelona, Spain) according to Caja et al. (2016).

Camel cows belonged to the breeding herd of the Museo del Campo Majorero-Oasis Park and were stabled in loose stalls on sand bedded pens and fed alfalfa hay, palm fronds, thornless acacia branches and concentrate (10% CP, as fed; Capisa gránulo grueso, Las Torres, Las Palmas de Gran Canaria, Spain) according to their requirements (Wilson, 1989). Camel calves were creep-fed during suckling with a commercial concentrate (11% CP, as fed; Capisa mezcla) enriched with 20% soybean meal (42% CP, as fed). Water and mineral blocks (Equiblock-10, Nuter, La Coruña, Spain) were freely available for all the camel herd.

6.2.2 Experimental Treatments and Procedures

Camel calves were allocated into 2 virtual experimental groups according to age (A, n = 6, 8 to 21 d, 36.0 to 45.6 kg BW; B, n = 6, 97 to 146 d, 82.6 to 125.0 kg BW) and gender (A, 3 males and 3 females; B, 4 males and 2 females). Calves were catheterized in the jugular vein

(Nutricath S, 60 cm length and 14-gauge, Vygon, Ecouen, France) the day before the start of the experiment. Catheterization was performed under sedation using acepromazine maleate i.m. (0.1 mg/kg BW) as neuroleptic (Calmo Neosan inyectable 0.5 g/100 mL, Labiana Life Sciences, Terrassa, Spain), and the compression hub of the catheter was protected and assured to the neck skin by using cohesive bandage. Catheters were flushed with 4 mL of heparinized 0.9% saline (500 IU/mL; Clexane 4000 UI, Sanofi Aventis, Paris, France) once the placement was completed. Moreover, diluted heparinized-saline (1:10 vol/vol) was flushed before and after each blood sampling to prevent the contamination of the subsequent sample.

Two male calves, one of each group, were discarded due to adverse reaction to sedation during the catheterization, resulting finally in 2 groups of 5 camel calves each (A, 2 males and 3 females, 15 ± 3 d, 39.7 ± 1.8 kg BW; B, 3 males and 2 females, 132 ± 19 d, 115.2 ± 5.8 kg BW). During the experimental days, camel calves were housed by pairs in small pens (2×1.2 m) for an easier handling and to minimize their stress. Calves fasted overnight (12 h) before the GLU and INS metabolic tests, leaving 1 d as washout period between them. At the end of the experiment, catheters were removed and camel calves returned with their mothers. Care monitoring was maintained for the next 48 h.

6.2.3 GTT

The GTT were performed by administering 0.25 g/kg BW of D-(+)-GLU (Sigma-Aldrich Life Science, St. Louis, MO) as a 0.25 g/mL solution in 0.9% saline through the catheter, followed by 4 mL of diluted heparinized saline. Blood sampling during GTT was done by using plastic syringes (5 mL) at 12 time-points (min -15, -5, 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 and 150) regarding the GLU administration (i.e., immediately after the time-point 0). Blood samples were transferred to sodium heparin tubes (BD Vacutainer 10 mL, Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK) which were kept on ice and processed for plasma. Centrifugation (Microcen, Orto Alresa, Ajalvir, Spain) was done at $1,500 \times g$ for 15 min and plasma samples stored at -20°C until analysis.

6.2.4 IC

The IC was done with a timetable similar to GTT by administering 4.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BW INS from bovine and ovine pancreas (Sigma-Aldrich Life Science). A solution of 0.248 mg/mL in 0.9% saline was prepared and administered through the catheter. Blood sampling time and sample processing procedures were as previously described for GTT.

6.2.5 Biochemical Analyses

Plasma GLU was analyzed by the hexokinase method (OSR 6121, Reagent System Olympus, Beckman Coulter, Krefeld, Ireland), NEFA by the enzymatic colorimetric method ACS-ACOD (Wako Chemicals, Neuss, Germany) and BHB by the kinetic enzymatic method (Ranbut, Randox Laboratories, Crumlin, UK) in an Olympus AU400 analyzer (Olympus Europa, Hamburg, Germany). Plasma INS concentration was analyzed by ELISA immunoassay sandwich type for quantitative determination of bovine INS in plasma (Mercodia, Diagnostics, Uppsala, Sweden). Reacted ELISA plates were read for INS in an automatic reader (iEMS Reader MF V.2.9-0, Labsystems España, Barcelona, Spain) at optical density of 450 nm. Area under the curve (AUC) of plasma INS during the GTT was calculated by the trapezoidal method corrected by the baseline values.

6.2.6 GLU and INS Indices

Surrogate indices for GLU metabolism and INS sensitivity, such as INS check index (QUICKI; Katz et al., 2000), revised quantitative INS sensitivity (RQUICKI; Perseghin et al., 2001), revised QUICKI including BHB (RQUICKI_{BHB}; Balogh et al., 2008), homeostasis model assessment (HOMA; Matthews et al., 1985) and HOMA for INS resistance (HOMA-IR; Muniyappa et al., 2008), were obtained from plasma fasting concentration data (GLU₀, mg/100 mL; INS₀, μIU/mL; NEFA₀, mmol/L; BHB₀, mmol/L). Moreover, GLU clearance rate (GLU-CR) and GLU half-life (GLU-t_{1/2}), during GTT, were also calculated from plasma GLU concentrations at min 5 and 60, according to Kerestes et al. (2009).

In the case of IC, the INS stimulated blood glucose response (ISBGR; Oikawa and Oetzelt, 2006) and the INS clearance rate (INS-CR; Mann et al., 2016), were also calculated. Plasma baseline data were obtained by averaging the corresponding values at min -15, -5 and 0 under fasting conditions. The indices were:

$$\text{QUICKI} = 1/(\log[\text{GLU}_0] + \log[\text{INS}_0])$$

$$\text{RQUICKI} = 1/(\log[\text{GLU}_0] + \log[\text{INS}_0] + \log[\text{NEFA}_0])$$

$$\text{RQUICKI}_{\text{BHB}} = 1/(\log[\text{GLU}_0] + \log[\text{INS}_0] + \log[\text{NEFA}_0] + \log[\text{BHB}_0])$$

$$\text{HOMA} = [\text{GLU}_0] \times [\text{INS}_0]$$

$$\text{HOMA-IR} = \text{HOMA}/22.5$$

$$GLU-CR (\% \text{ min}) = \frac{\ln[GLU_{peak}] - \ln[GLU_{60}]}{60 - t_{peak}} \times 100$$

$$GLU-t_{1/2} (\text{min}) = (0.693/GLU-CR) \times 100$$

$$ISBGR (\%) = ([GLU_0] - [GLU_{30}])/[GLU_0] \times 100$$

$$INS-CR (\% \text{ min}) = \frac{\ln[INS_{peak}] - \ln[INS_{60}]}{60 - t_{peak}} \times 100$$

6.2.7 Statistical Analyses

Data were analyzed by the MIXED procedure for repeated measures of SAS version 9.1.3 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The statistical model included the fixed effects of the camel calf group (i.e., treatment) and the interaction treatment \times time as fixed effects, as well as the animal and the residual error as random effects. Basal values were used as covariates when differences between treatments for min -15 to 0 were detected. Results were presented as LS means \pm SEM and their differences separated by the PDIFF option of SAS. Significance was declared at $P < 0.05$, otherwise indicated, and tendencies at $P < 0.10$.

6.3 Results

6.3.1 GTT

Baseline plasma GLU values were high and increased by age in both camel calf groups (A vs. B, 121 ± 7 vs. 147 ± 7 mg/100 mL; $P = 0.023$). Infusion of GLU caused a dramatic increase in plasma GLU levels that was similar in magnitude for the A and B groups (195 and 198%, respectively; **Figure 6.1.a**) and agreed with the similar amounts of GLU infused per weight in both camel groups.

Values of GLU peaked at min 5 (A vs. B, 241 ± 9 vs. 284 ± 9 mg/100 mL; $P = 0.002$) and showed a smooth and parallel decrease in both groups, without returning to the baseline values at the end of the GTT at min 150. No differences between time-points were detected within each group from min 30 to 150 ($P = 0.209$ to 0.658), except in the case of the B group at min 30 and 40 ($P = 0.006$). On average, GLU values were lower in the younger camel calves (A vs. B, 181 ± 6 vs. 236 ± 6 mg/100 mL; $P < 0.001$) during the whole GTT. Plasma INS baseline values before infusing GLU were low and similar in both camel groups (0.141 ± 0.025 ng/mL,

on average; $P = 0.348$). As a response to the GLU infusion, plasma INS levels of both camel groups peaked at min 5, similarly as previously indicated for GLU (**Figure 6.1.b**).

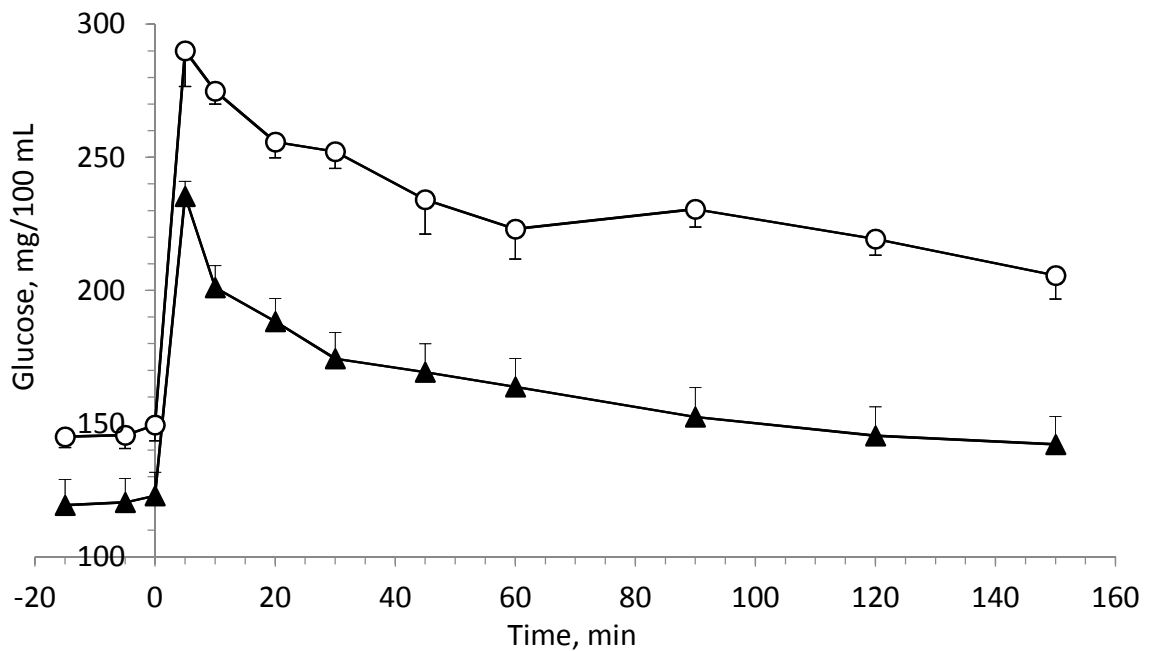


Figure 6.1.a Plasma glucose concentrations during the glucose tolerance test of camel calves at different ages: A (▲, 15 d and 40 kg BW) and B (○, 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

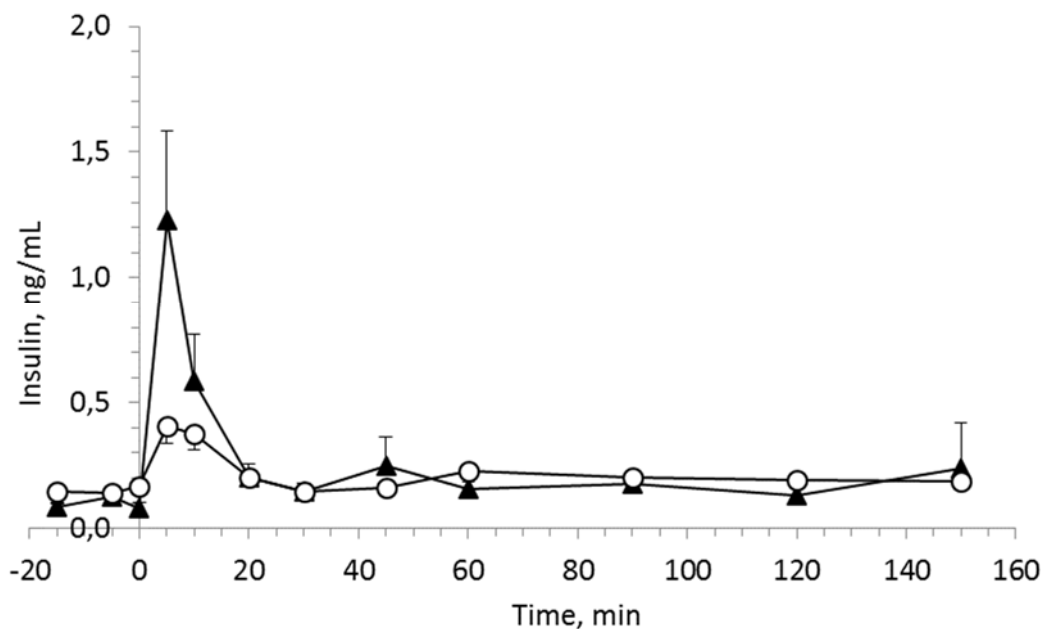


Figure 6.1.b Plasma insulin concentrations during the glucose tolerance test of camel calves at different ages: A (▲, 15 d and 40 kg BW) and B (○, 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

Nevertheless, plasma INS values at the peak differed markedly between groups (A vs. B, 1.241 ± 0.122 vs. 0.394 ± 0.122 ng/mL; $P < 0.001$) the younger A camel calves showing a peak twice higher (215%) than the older B camel calves. After the peak, there was a rapid decrease of INS in both groups, their values being similar and ranging closer to the baseline from min 20 to 150 (0.187 ± 0.015 ng/mL, on average).

Consequently, the mean plasma INS concentration did not differ between A and B groups (0.290 ± 0.079 ng/mL; $P = 0.293$), although the AUC in the A camels was numerically greater (10%) than in B camels (34.8 ± 4.1 and 31.2 ± 3.8 , respectively; $P = 0.489$). The NEFA plasma baseline values were similar in both camel groups before GTT (0.676 ± 0.124 mmol/L; $P = 0.653$). After infusing GLU, NEFA levels decreased dramatically and similarly in both groups until min 20 (0.368 ± 0.071 mmol/L, on average) from which they diverged (**Figure 6.2**; $P < 0.001$), except for min 60 at which no differences were detected between A and B ($P = 0.593$). So, values of NEFA in A camels returned to basal values from min 30 to 150 and steadied high ($P = 0.080$ to 0.692), while no recovery was observed in the older B camels which NEFA values steadied low (0.479 ± 0.026 mmol/L, on average) for the rest of the time ($P = 0.148$ to 0.914).

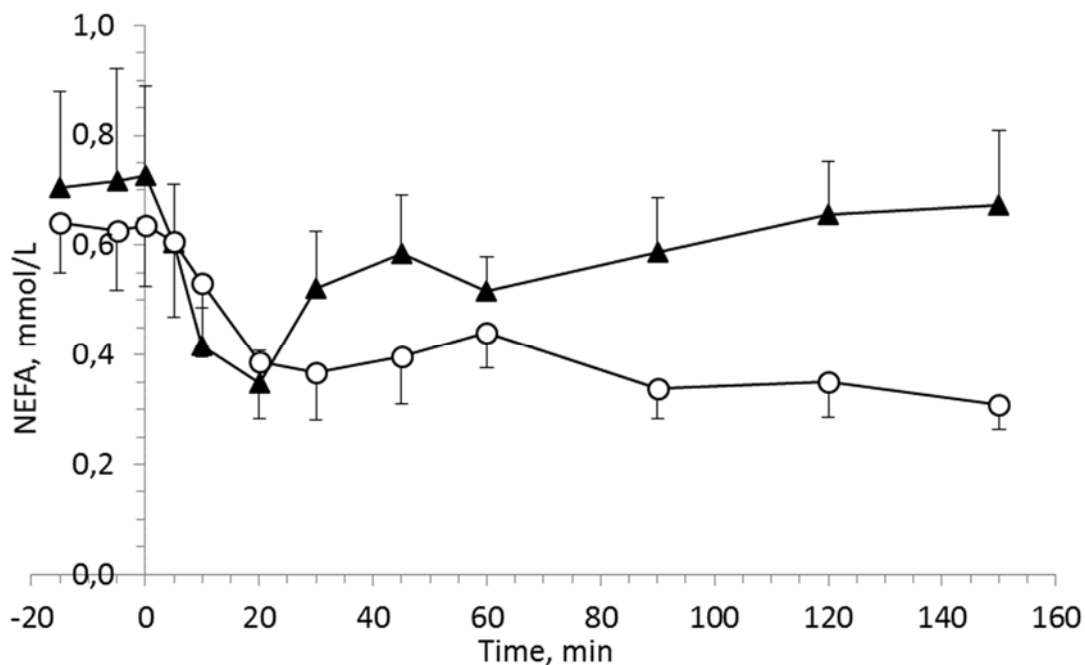


Figure 6.2 Plasma NEFA concentration during the insulin challenge of camel calves at different ages: A (\blacktriangle , 15 d and 40 kg BW) and B (\circ , 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

6.3.2 IC

Plasma GLU baseline values before the IC were different between camel groups (A vs. B, 115 ± 7 vs. 143 ± 7 mg/100 mL; $P = 0.027$). Despite this difference, the response to the IC showed a remarkably parallel reduction of GLU values in both groups until min 90, converging thereafter and being similar at min 150 (**Figure 6.3.a**). No return to the baseline values was observed at the end of the IC. Minimum GLU values observed at min 90 in group A and at min 120 in group B tended to differ (59 ± 6 vs. 63 ± 6 mg/100 mL, respectively; $P = 0.084$), the fall with regard the baseline values being 52%, on average, for both camel groups. Using the baseline values as a covariate, on average, GLU values did not differ between camel groups (A vs. B, 88 ± 5 vs. 101 ± 5 mg/100 mL; $P = 0.147$) during the IC showing a similar response to the infused INS.

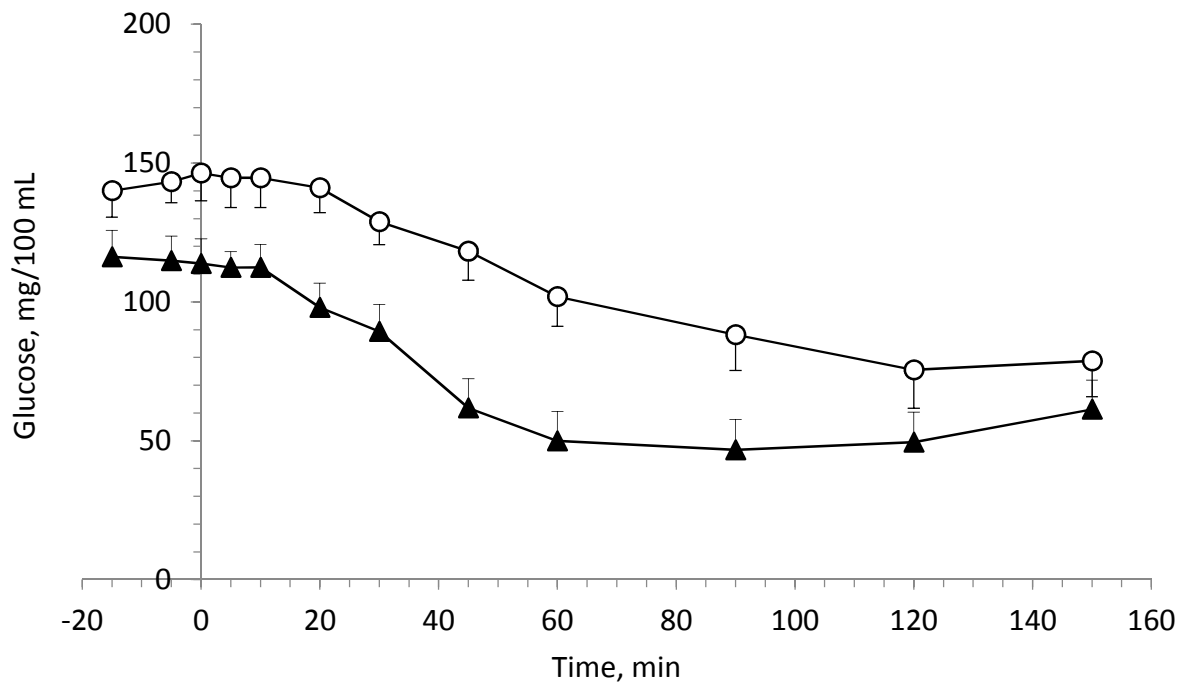


Figure 6.3.a Plasma glucose concentrations during the insulin challenge of camel calves at different ages: A (\blacktriangle , 15 d and 40 kg BW) and B (\circ , 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

In regard to INS concentration during IC (**Figure 6.3.b**), basal values did not differ by camel group (0.162 ± 0.089 ng/mL, on average; $P = 0.439$) and increased dramatically after the infusion of exogenous INS. Peak INS (min 5) was markedly greater in the B than in the A camel group (A vs. B, 60.0 ± 28.0 vs. 256.0 ± 61.7 ng/mL; $P < 0.001$). After the peak, plasma INS plummeted in both groups, their values being similar and ranging closer to the baseline

from min 20 to 150. Although mean plasma INS concentrations did not differ between A and B groups due to their large variations (26.5 ± 17.1 ng/mL, on average; $P = 0.578$), the AUC was markedly greater (255%) in the B than in the A camel calves (A vs. B, 477 ± 101 vs. $1,103 \pm 217$; $P < 0.001$).

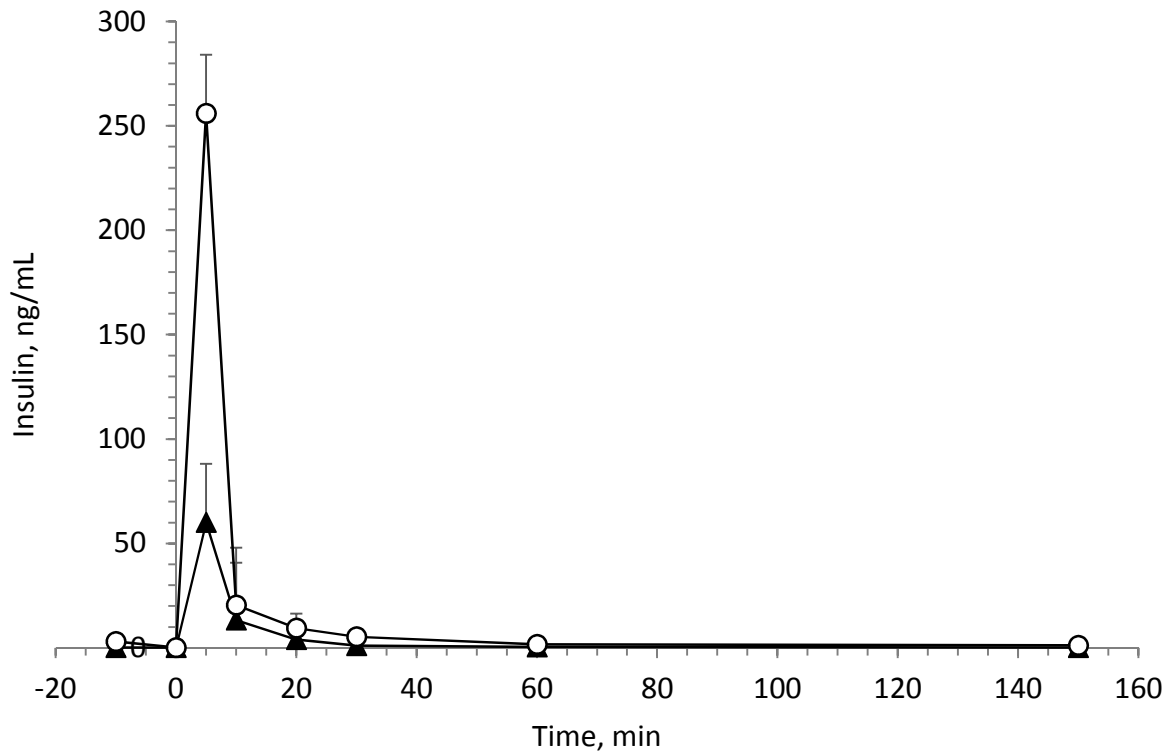


Figure 6.3.b Plasma insulin concentrations during the insulin challenge of camel calves at different ages: A (▲, 15 d and 40 kg BW) and B (○, 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

The baseline plasma values of NEFA before the IC were also different between camel groups (A vs. B, 0.819 ± 0.056 vs. 0.557 ± 0.056 mmol/L; $P = 0.011$). After the INS infusion, NEFA levels decreased rapidly in both groups of camels, reached the same value at min 20 (0.287 ± 0.091 mmol/L, on average; $P = 0.746$) and separated thereafter (**Figure 6.4.a**).

From min 20, the A camels increased rapidly their NEFA values, reaching a very high plateau between min 90 and 150 (0.950 ± 0.091 mmol/L, on average; $P = 0.563$ to 0.962). In the case of the older B camels, they maintained their low NEFA values from min 20 to 60 (0.114 ± 0.043 mmol/L, on average; $P = 0.385$ to 0.453) and slowly increased thereafter until the end of the IC, where they reached the baseline values (**Figure 6.4.b**).

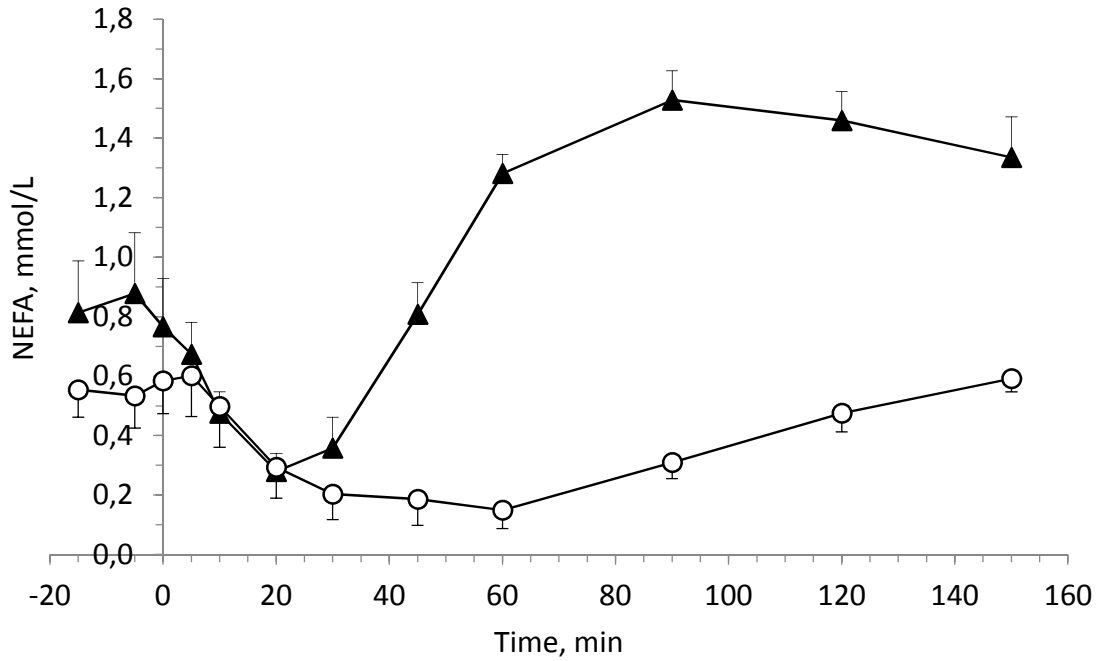


Figure 6.4.a Plasma NEFA (4.a) and BHB (4.b) concentrations during the insulin challenge of camel calves at different ages: A (▲, 15 d and 40 kg BW) and B (○, 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

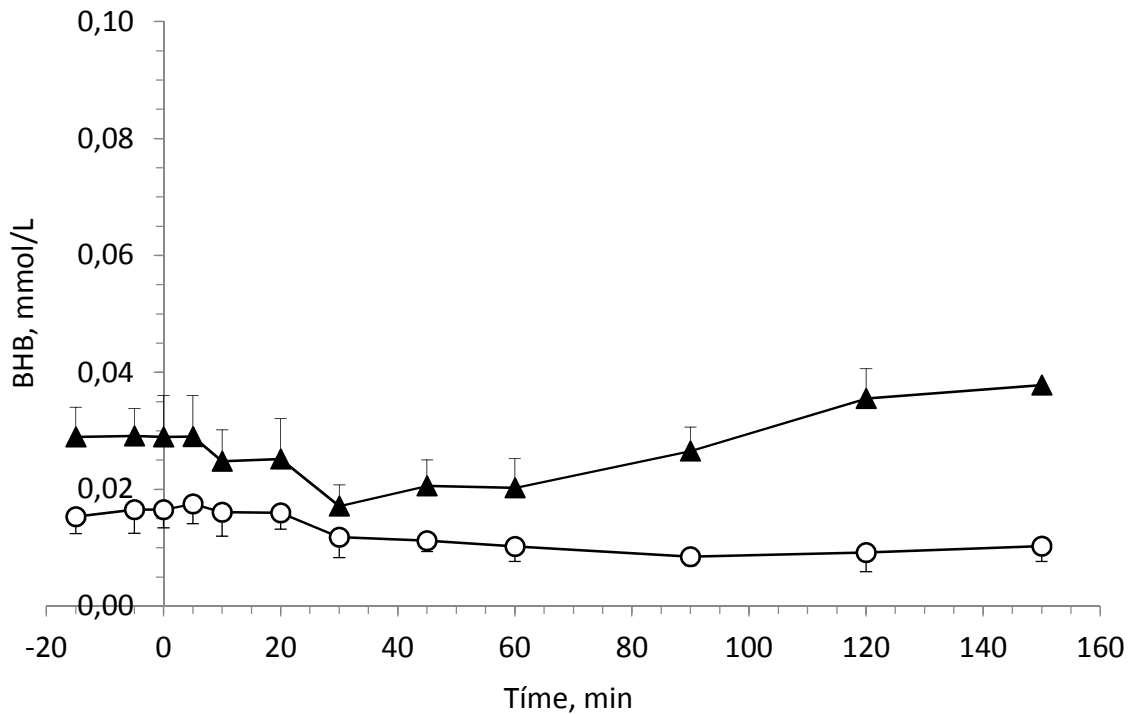


Figure 6.4.b Plasma BHB concentrations during the insulin challenge of camel calves at different ages: A (▲, 15 d and 40 kg BW) and B (○, 132 d and 115 kg BW). Values are means of 5 animals in each group. Bars represent standard errors.

Basal values of BHB before IC were, on average, markedly low and different between camel calf groups (A vs. B, 0.029 ± 0.004 vs. 0.016 ± 0.004 mmol/L; $P = 0.045$). As a result of the INS infusion, the BHB values in both camel groups decreased until min 30 reaching a similar value (0.015 ± 0.002 mmol/L, on average; $P = 0.160$), from which they slowly diverged (Figure 6.4.b). Values of BHB for A camels increased after min 30, reaching their basal values after min 90. Regarding the B camels, their BHB values steadied low and close to the basal values for the whole IC. Differences between A and B were only significant between min 10 to 30 with the min 120 ($P = 0.020$ to 0.049).

6.3.3 GLU and INS Indices

Results of surrogate indices for GLU metabolism and INS sensitivity for both groups of camel calves are shown in Table 1. Significant differences between camel groups were observed for QUICKI, RQUICKI_{BHB}, HOMA and INS-CR indexes ($P = 0.007$ to 0.043), the older camel calves (B) showing greater indices than the young camel calves (A), except for the QUICKI. On the contrary, no differences were detected for RQUICKI, GLU- $t_{1/2}$, GLU-CR and ISBGR ($P = 0.156$ to 0.624). A tendency to differ ($P < 0.10$) was observed in the case of HOMA-IR as shown in **Table 6.1**.

6.4 Discussion

We presented data on GLU and INS dynamics in healthy camel calves of 2 different ages during their natural suckling period. Direct comparison of our results with those of previous research is not possible because, in our knowledge, there are not similar studies done on GTT and IC in young camels. Additionally, comparison with other animal species, mainly with young camelids (e.g., llama) and ruminants (e.g., calf), is also not fully adequate because of their differences in GLU and INS metabolism, as previously indicated, as well as because the differences in the doses of GLU and INS used and conditions of the experiments (e.g., feeding). Our results are of interest as a first reference for clinic and metabolic studies in young dromedary camels.

6.4.1 GTT

The baseline plasma GLU values of our camel calves were high and in the upper range of those of adult dromedary camels, as reported by Wernery et al. (1999) and Kaske et al. (2001). We observed an increase of the basal values with the age, the values of our camel calves of 3 to 5 mo (group B) staying in the range cited by Wernery et al. (1999) for 6 mo to 2 yr

dromedaries (range, 67 to 165 mg/100 mL).

Table 6.1. Surrogate indices of glucose (GLU) metabolism and insulin (INS) sensitivity (values are least square means \pm SE) in camel calves according to age.

Index	Camel group (age)		Effect (<i>P</i> =)
	A (15 \pm 3 d)	B (132 \pm 19 d)	
QUICKI ¹	0.400 \pm 0.010	0.359 \pm 0.010	0.020
RQUICKI ²	0.437 \pm 0.021	0.389 \pm 0.021	0.156
RQUICKI _{BHB} ³	0.621 \pm 0.084	0.908 \pm 0.084	0.042
HOMA ⁴	0.529 \pm 0.138	0.998 \pm 0.138	0.043
HOMA-IR ⁵	0.023 \pm 0.004	0.037 \pm 0.004	0.058
GLU- <i>t</i> _{1/2} ⁶ , min	116.5 \pm 21.4	132.9 \pm 23.9	0.624
GLU-CR ⁷ , % min	0.669 \pm 0.111	0.478 \pm 0.111	0.258
ISBGR ⁸ , %	56.6 \pm 5.72	47.6 \pm 5.72	0.299
INS-CR ⁹ , % min	390.2 \pm 27.9	549.2 \pm 27.9	0.007

¹Revised quantitative INS sensitivity (Katz et al., 2000).

²Revised quantitative INS sensitivity (Perseghin et al., 2001).

³Revised QUICKI including β -hydroxybutyrate (Balogh et al., 2008).

⁴Homeostasis model assessment (Matthews et al., 1985).

⁵Homeostasis model assessment for INS resistance (Muniyappa et al., 2008).

⁶GLU half-life (Kerestes et al., 2009).

⁷GLU clearance rate (Kerestes et al., 2009).

⁸INS stimulated blood glucose response (Oikawa and Oetzel, 2006).

⁹INS clearance rate (Mann et al., 2016).

An earlier study done in llamas of all ages reported GLU basal values ranging from 94 to 170 mg/100 mL (Fowler and Zinkl, 1989), that were similar to those observed in our camel calves. All the GLU basal values reviewed for camelids were greater than those published for milk fed calves, usually ranging from 50 to 125 mg/100 mL during the milk fed period (McCarthy and Kesler, 1956; Knowles et al., 2000; Khan et al., 2007). Reference values in calves are usually low at birth (~50 mg/100 mL), reach a maximum around wk 1 of age (~125 mg/100 mL) and slowly decrease with age until weaning (~60 mg/100 mL). This evolution pattern during the milk fed period was not observed in camels. The higher GLU values in camels compared with true-ruminants may be a consequence of a greater gluconeogenesis of camels

(Emmanuel, 1981) and we hypothesized that the high basal GLU values of camel calves may be key for their water conservation.

As a result of the GLU infusion during GTT, our camel calves showed dramatic hyperglycemia, although they reached lower peaks than those reported in adult Bactrian camels and Bactrian \times dromedary crossbreds (Elmahdi et al., 1997). Moreover, it should be stressed that these last authors reported GLU basal values (128 mg/100 mL) similar to our younger camels (group A), despite infusing lower GLU per BW than we did in our camel calves (0.18 vs. 0.25 g/kg BW, respectively). When compared to GTT values of neonatal suckling llamas (Cebra and Tornquist, 2005) with GLU basal values similar to our B camels and infused with a double GLU dose (0.5 g/kg BW), the peak GLU values of our camel calves were slightly lower than those reported by Cebra and Tornquist (2005) in llamas (342 mg/100 mL). This suggests a slower use of GLU in camel calves than in llama crias that was also supported by the low slope of the GLU curves in our A and B camel groups (Figure 1.a). Moreover, our camel calves did not find their respective baseline values at the end of the GTT (min 150), whereas llama crias matched the basal values at min 90 (Cebra and Tornquist, 2005). Nevertheless, according to Cebra et al. (2001), adult llamas and alpacas match the baseline values during GTT not earlier than min 240, indicating that the matching lag increases with the age. Agreeing this, adult Bactrians were unable to match the basal GLU values during GTT at min 360 (Elmahdi et al., 1997). On the contrary, calves infused less GLU (Bach et al., 2013; 0.18 g/kg BW) than our camel calves, matched the GLU baseline during GTT markedly earlier (min 37) than our camel calves, and independently of the amount of milk replacer offered. Concentration of blood GLU in adult cattle (i.e., bulls) match the baseline during GTT within min 60 and 120 after infusion (Anderson et al., 2000). The persistence of hyperglycemia was most likely attributable to a poor INS response in llamas and alpacas (Cebra et al., 2001), as discussed later.

The decline of GLU during the GTT fitted power curves ($P < 0.001$) in both A ($y = 287.5 x^{-0.141}$; $r^2 = 0.99$) and B ($y = 340.7 x^{-0.095}$; $r^2 = 0.96$) camel groups, the slope rate of the A camel calves descending faster than the B camel calves. Moreover, as a response to the hyperglycemia induced by the GTT, our camel calves responded increasing exponentially their INS plasma values. Despite no differences in the mean INS values during GTT were detected between camel groups, the AUC of INS of the A camel calves was numerically greater than the B camel calves, showing their greater secretion of INS after infusing GLU. Moreover, the correlation between GLU and INS values was higher in the A ($r^2 = 0.80$) than in the B ($r^2 = 0.50$) camels, indicating a decrease in INS secretion responsiveness by age. Younger camels

(A) had stronger INS response and cleared plasma GLU faster than older (B). Similarly, Cebra and Tornquist (2005), concluded that young llamas submitted to GTT show lower peak plasma GLU, had stronger INS response and are more sensitive to exogenous INS than adult llamas and alpacas. Although, in our knowledge there are no other similar references to compare, young calves (Bossaert et al., 2009) also have stronger INS response and faster GLU clearance than adult cows (Pires et al., 2007; Mann et al., 2016).

The lower responsiveness of the B camel calves to the induced hyperglycemia may have been a result of the lower passage of milk carbohydrates and lipids into the gastro intestinal tract, thus decreasing the release of GLP-1 and other incretin hormones what potentiate INS secretion and suppress glucagon (Smith et al., 2013).

Complementing the GTT information, we observed that NEFA baseline of camel calves were markedly greater (twice to thrice) than those reported in adult llamas and alpacas (Cebra et al., 2001) and Bactrians (Kaske et al., 2001) (range, 0.2 to 0.3 mmol/L). In our knowledge, no NEFA values have been published in camelid crias. In regard to milk fed calves, Knowles et al. (2000) reported high NEFA serum values that decreased with the age from 0.8 to 0.2 mmol/L, from birth to d 83 of age, respectively. These high NEFA values agree with those of our camel calves and may be a consequence of the expected energy deficit produced by the fasting period between feedings. This is also supported by the fact that, when we infused GLU in the camels during the GTT, the NEFA plummeted from min 0 to 20 (Figure 2). Young A camel calves returned slowly to basal values thereafter, what may be consequence of the disposal of the GLU infused. On the contrary, values of NEFA steadied low in the older B camel calves, most likely as a response to the very high GLU levels observed during whole GTT (Figure 1.a) which must have inhibited their lipolysis.

6.4.2 IC

Baseline GLU plasma values at the start of the IC were greater in B than A camel calves (Figure 3.a), agreeing with the baseline values previously reported for GTT, and broadly confirming the statement that basal GLU values in camels increased by effect of age. Infusion of INS induced a smooth decrease of glycemia that fitted ($P < 0.001$) exponential curves in A ($y = 110.2 e^{-0.009x}$; $r^2 = 0.84$) and B ($y = 147.5 e^{-0.005x}$; $r^2 = 0.95$), the slope of the decline being initially (min 20 to 60) stronger in A than B camel calves (Figure 3.a). Our results showed a small effect of exogenous INS, at the supraphysiological dose used, on plasma GLU, agreeing with the impaired use of GLUT4 in camels (Duehlmeier et al., 2007). Shepherd and Kahn (1999) identified different causes of resistance to INS secretion, such as mutations in GLU

transporters, polymorphism of the GLUT4 gene, tissue-specific alterations in GLUT4 production, defects in the intracellular translocation of GLUT4, defects in signaling pathways or up-regulation of the proteins that attenuate or inhibit the signaling pathways, such as the tyrosine phosphatase, for example, that reduces the activity of molecules that normally attenuate the action of INS. No specific studies on this subject have been done in camels.

It should be stressed that the hypoglycemic nadir values found in our results could also be an indicator of the lowest GLU value tolerated by camel calves before starting to show clinical signs of hypoglycemia (i.e., 60 mg/100 mL) and which should be taken into account.

Cebra and Tornquist (2005) reported the occurrence of hypoglycemia signs in suckling llamas (14 to 30 d of age) when plasma GLU was lower than approximately 60 mg/100 mL (baseline reference in llamas of all ages, 67 to 175 mg/100 mL) and the authors needed to stop their experiment when GLU fell under 40 mg/100 mL. No comparable published data from adult camel calves are available but Bossaert et al. (2009) reported lower nadir GLU values during IC in camel calves (i.e., 27 to 45 mg/100 mL at min 30), when infused half doses of INS compared with that we infused. The authors also reported no return to the basal line and concluded that dairy breed calves (i.e., Holstein) are more INS resistant than meat breed calves (i.e., Belgian Blue), as a result of the genetic adaptation for increasing the GLU partitioning to the mammary gland. According to our results, camel calves were expected to be more INS resistant than Holstein calves, and that their INS resistance increased with the age (greater in B than A camels).

Basal INS values of our camel calves were lower than those of llama crias (Cebra et al., 2005; ~0.5 ng/mL), but agreed with Bactrians and F₁ crossbreed adult camels (Elmahdi et al., 1997; Kaske et al., 2001; ~0.23 ng/mL). The INS basal values reported for milk fed calves usually range from 0.35 to 1.58 ng/mL (Bossaert et al., 2009; Monteiro et al., 2016), being high around birth, peaking at d 8 (~0.96 ng/mL) and then decrease gradually to medium values at mo 1 and 2 (~0.46 ng/mL) around weaning, as reported by Monteiro et al. (2016). Additionally to the basal INS concentration differences, the pattern of INS changes with the age also seems to be different in camels and calves. According to our results, younger dromedaries had low INS basal values that increased with the age, the contrary that occurs in calves.

As a result of the supraphysiological doses of INS used for IC, high plasma INS values were observed in our camels (Figure 3.b), approximately 36% greater than those reported by Kaske et al. (2001; 2.8 mIU/mL) in adult Bactrians and F₁ crossbreed camels. Despite this, no signs of hypoglycemia were detected during the whole IC and INS was rapidly cleared from the blood of both groups of camels fitting ($P < 0.001$) power curves (A, $y = 1371.2 x^{-2.091}$, $r^2 =$

0.99; B, $y = 6533.8 x^{-2.210}$, $r^2 = 0.98$) that fell to their basal values after min 20. The similar magnitudes of the exponent in both camel groups suggested a similar metabolization of the exogenous INS infused, independently of the age of the camel. Our camel calves cleared the exogenous INS faster than the Kaske's adult camels did (20 min vs. 180 min, respectively), suggesting an impairment of INS degradation in the kidney of camels by age.

Insulin facilitates the entry of GLU in the cells by increasing the exocytosis and decreasing the endocytosis rates of the GLUT4 transporter (Hayirli et al., 2002), which produces the hypoglycemic effect. This may be a consequence of increased oxidation of GLU (i.e., muscular tissue), decreased production of GLU (i.e., hepatic tissue) via inhibition of gluconeogenesis and glycogenolysis, increased storage of GLU (i.e., hepatic and adipose tissues) via stimulation of glycogenesis and lipogenesis, respectively, or by a combination of any of the ways above indicated (Katzung, 1995).

The low basal levels of INS in our camel calves may have promoted maximal rates of gluconeogenesis in the liver and, additionally, low lipogenesis in their adipose tissue. On the other hand, the infusion of exogenous INS might have produced a lipogenic effect, resulting in a decrease of plasma NEFA, as also reported by Hayirli (2006) in calves.

Plasma NEFA reflects fat mobilization during negative energy balance and is an adequate parameter to assess the antilipolytic effect of INS. The infusion of exogenous INS of the IC caused a plummet of the high plasma NEFA basal values previously discussed in our camel calves. The NEFA decrease was approximately similar in both groups of camel calves (A, 65.9%; B, 72.7%), despite their differences in basal values, reaching a similar nadir of NEFA at min 20 (Figure 4.a), and separating thereafter. Kaske et al. (2001) reported 70% NEFA decrease in pigs, ponies, sheep and camels, when INS was infused continuously for 2 h (6 mUI/kg BW and min), although the decrease was faster in pigs and sheep, then in camel and ponies. Moreover, the NEFA decrease induced in our camel calves was slower than reported by Kaske et al. (2001), showing a low antilipolytic effect of INS. This may be a metabolic advantage under undernutrition conditions in order to increase the mobilization of fat deposits (i.e., hump). According to Li et al. (2013), high levels of INS inhibit the expression of fatty acid oxidation genes and result in a decreased fatty acid oxidation in the liver of calves. Yet, Wensvoort et al. (2004) stressed that ketosis does not occur in severely undernourished or starved camels, because they can maintain high blood GLU values with increased NEFA levels, such as we observed in our camel calves. Nevertheless, changes in lipid reserves and related mechanisms to adapt to harsh environmental conditions are not well understood yet in camels (Delavaud et al., 2013).

Plasma levels of BHB observed during IC in our camel calves were markedly lower than those reported in 4-d fasted (0.129 mg/100 mL) or fed (0.089 mg/100 mL) adult camels (Chandrasena et al., 1979). Levels of BHB in ruminants adequately fed are two times higher than those of monogastric mammals. Accordingly, the high GLU values observed in our camel calves, may have prevented the metabolization of NEFA to ketone bodies. On the other hand, given that rumen epithelium is the major site of ketone body synthesis in ruminants (Annison et al., 1957; Hird and Weidemann, 1964) the low BHB of camels may also be a result of their forestomach differences with true-ruminants, as initially discussed. Nevertheless, no differences in the activity of enzyme β -hydroxybutyrate dehydrogenase between the rumen epithelium and the liver of camels, compared to sheep, have been reported (Chandrasena et al., 1979).

6.4.3 GLU and INS Indices

The GLU and INS surrogate indices are proxy methods well established for clinical and epidemiological practice in human obesity and diabetes. According to Holtenius and Holtenius (2007), INS sensitivity is key for energy regulation in the metabolism and it is used as an etiologic component for metabolic disorders. A decrease in QUICKI indices, as well as an increase in the HOMAs indices, are associated to hyperglycemia and INS resistance in humans (Hřebíček et al., 2002). The GLU and INS surrogate indices have also been used in farm animals (i.e., cattle, sheep, pigs, horses, llama) but, in our knowledge, no yet in camels. In the case of camel calves, we observed increases of QUICKI and RQUICKI_{BHB}, as well as decreases of HOMA values (Table 1) by effect of age, which support the statement that camel calves became hyperglycemic and insensitive to INS when they grew up. Values of QUICKI of our suckling camel calves were greater than those reported for healthy, diabetic or obese children (Hřebíček et al., 2002; 0.33 to 0.37), but lower than milk fed calves (Bossaert et al., 2009, 2014; 0.46 to 0.76). Although no significant differences were observed in RQUICKI values of our camel calves (Table 1), their mean value was markedly lower than reported by Bossaert et al. (2009; 0.86 to 1.59) in milk fed calves. According to Bossaert et al. (2009), the lowest QUICKI and RQUICKI are found in the dairy breed calves. So, we expect that our camel calves had a greater INS resistance than dairy cattle. Holtenius and Holtenius (2007) also reported that RQUICKI correlated negatively with BCS in dairy cows, the highest values being found in obese cows compared to their thinner counterparts. Balogh et al. (2008) concluded that RQUICKI was the most suitable surrogate index in lactating dairy cows, but this was not the case of our camel calves where no differences were detected by age groups.

On the contrary, HOMA and HOMA-IR approximatedly duplicated or tended to duplicate, respectively, by effect of age in our camel calves (Table 1). Values of HOMA of our camel calves were markedly smaller than those reported for healthy, diabetic or obese children (Hřebíček et al., 2002; 2.45 to 9.57), but also indicate an increase of INS resistance by effect of age. In our knowledge no data from adult camel or bovine calves are available for comparison.

Results of GLU- $t_{1/2}$, GLU-CR and ISBGR did not change by effect of age in our camel calves (Table 1). Nevertheless, when compared with adult alpacas (Cebra et al., 2001) and llamas (Cebra and Tornquist, 2005), infused with a double dose of GLU than in our camel calves, the induced hyperglycemia lasted longer in our camel calves than in llamas and alpacas, indicating that they had lower GLU-CR. Values of GLU-CR reported in milk fed calves are markedly greater than observed in our camels (Bach et al., 2013; 8.6 to 8.9 %/min). Yagil and Berlyne (1977) reported that dehydration leads to hyperglycemia and decreased INS in adult dromedary camels.

Despite not being different, ISBGR values obtained in our camel calves (Table 1) were lower than reported in calves (Bossaert et al., 2009; 59 to 75%) and dairy cows (Oikawa and Oetzel, 2006; 45 to 50%); again the calves of dairy breed showed the lowest ISBGR with values similar to our camel calves. According to Duehlmeier et al. (2007) the main site of GLU uptake in bovine calves is the skeletal muscle that uses GLUT4 transporter (Duehlmeier et al., 2005) and hence the difference in INS sensitivity between bovine and camel calves, as previously discussed.

Our findings in camel calves agreed with those of Elmahdi et al. (1997), in adult dromedaries, and Kaske et al. (2001) in adult Bactrian camels, and evidence that they are even more INS resistant than cattle and sheep. The INS resistance of camels seems to be an acquired evolutionary advantage to support longer starvation periods and poor feeding conditions, as early stated by Kaske et al. (2001). The adaptation to arid environments may also have a direct impact into the epigenetic background of the INS dependent GLU metabolism but there are not information about this in camels. More studies are required to establish the contribution of non-INS mediated GLUT uptake at low INS concentrations in camels and of their effects on GLU metabolism.

6.5 Conclusions

No previous studies evaluated GTT and IC in dromedary calves of different ages during suckling. Our results show that early after birth, neonatal camel calves develop natural

hyperglycemia and INS resistance conditions. Surrogate indices such as QUICKI and HOMA show the impairment of INS sensitivity in suckling camel calves. Nevertheless, the precise mechanism by which the INS sensitivity worsened in camels according to age remains to be determined. Young camels may be considered as a surrogate model for the study of diabetes in humans.

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas en los distintos experimentos incluidos en la presente Tesis Doctoral son las siguientes:

7.1 Identificación

- Las marcas al fuego mostraron una baja eficiencia de lectura (42.9%), observándose además problemas de cicatrización de las heridas (8.6%) e incumplimiento de la normativa del bienestar animal. Se desaconseja su uso como sistema de ID permanente en camellos.
- Los microchips inyectables, mostraron una baja eficiencia de lectura a los 7 años de haber sido inyectados (69.5%) lo que no cumple con los requerimientos de ICAR (>98%). Además, se observaron problemas de localización en el cuello, aumentando el tiempo medio de lectura a 26 ± 4 s. Por tanto, desaconsejamos su uso como sistema de ID permanente en camellos.
- Entre los dos tipos de crotales visuales utilizados, rectangulares y circulares, éstos últimos mostraron una eficiencia de lectura superior (66.3 vs. 80.9%, respectivamente), sin llegar en ningún caso a los niveles establecidos por ICAR. Se observó un alto riesgo de rotura de oreja, así como riesgos y dificultades de manejo para la lectura. Por ello, se desaconseja su uso como sistema de ID individual permanente para camellos.
- En el caso de aplicar crotales visuales, aconsejamos el uso de crotales redondos y de pequeño tamaño, frente a los crotales rectangulares de mayor tamaño.
- Los crotales electrónicos, mostraron una eficiencia de lectura de 82.2%, superior a la de los crotales visuales, después de 3 años de haber sido implantados. Aunque el tiempo de lectura estimado fue de muy rápido, los valores obtenidos de lectura no cumplieron con los requerimientos ICAR.
- Los bolos electrónicos de alta densidad y diseño adecuado fueron retenidos eficientemente (99.6 a 100%), de acuerdo con las recomendaciones establecidas ICAR. El tiempo medio de lectura por animal fue de 12 ± 5 s. Los resultados obtenidos hacen recomendable su uso como sistema de ID permanente de referencia en camellos.
- Teniendo en cuenta la legislación actual para otras especies en temas de ID, y las posibles pérdidas y fallos de los dispositivos empleados, el uso de doble ID compuesto de un bolo

ruminal (ID-e) y un crotal (ID-v), resultan plenamente recomendables para la ID individual de los camellos.

7.2 Producción y composición de la leche de camella

- Los niveles medios de producción de leche en camellas de raza Canaria fue de 5.9 ± 0.3 kg/d, lo que equivale a un total de 2.155 L/año (con la ayuda de oxitocina), por lo que se considera una raza con nivel medio de producción de leche y por lo tanto puede usarse con este propósito.
- La composición de la leche de camella en grasa, proteína y sólidos totales se estimó de forma satisfactoria mediante metodología NIR. Sin embargo, la predicción de los contenidos en lactosa y caseína fue moderada.
- La predicción de los niveles de INS en leche de camella a través del NIR fue deficiente, siendo únicamente útil su predicción a nivel informativo.
- Los contenidos medios de grasa y proteína en leche de camellas de raza Canaria fueron de $4.45 \pm 0.10\%$ y $2.90 \pm 0.05\%$, respectivamente. Ambos parámetros se correlacionaron positivamente ($r = 0.42$) y mostraron una evolución cuadrática ($P < 0.05$) e inversamente proporcional a la cantidad de leche.
- La proporción media en caseína fue del $70.0 \pm 0.7\%$ respecto a la proteína.
- Los sólidos totales en leche supusieron un $12.4 \pm 0.1\%$, y su contenido disminuyó con el estado de lactación, mientras que la lactosa ($4.36 \pm 0.04\%$) y cenizas ($0.79 \pm 0.01\%$) no variaron a lo largo de la lactación.
- El contenido de INS varió de forma cuadrática, con valores mínimos a mitad de lactación.
- Los niveles de INS en leche (1.63 ± 0.29 ng/mL) y en plasma (0.27 ± 0.03 ng/mL) no se correlacionaron, lo que sugiere un efecto de concentración en el lumen alveolar.
- El diámetro de los glóbulos de grasa de la leche de camellas de raza Canaria fue inferior a $5 \mu\text{m}$ y se detectaron micelas de caseína con un diámetro marcadamente inferior al de los glóbulos de grasa. El pequeño tamaño de los glóbulos de grasa, mejora la digestibilidad de la leche de camella.

7.3 Metabolismo de camellos lactantes

- Los camellos lactantes mostraron altos niveles de glucosa en sangre, que aumentaron con la edad, y bajos niveles de insulina.

- La infusión de glucosa, produjo aumentos en los niveles de insulina en plasma que fueron mayores en los camellos más jóvenes con respecto a los de mayor edad.
- Los resultados obtenidos indican que son tolerantes a la infusión de glucosa, con bajos niveles de secreción de insulina, lo que deriva a un estado natural similar a una pseudo-diabetes con hiperglucemia y baja movilización de reservas de grasa.
- Los altos niveles de glucosa y bajos niveles de insulina durante los test de tolerancia de la glucosa en los camellos, evidencian el uso de transportadores de glucosa independientes de la insulina.
- El estado natural de pseudo-diabetes característico de esta especie, parece estar relacionado con mecanismos de adaptación para sobrevivir en ambientes extremos con escasez de agua, condiciones de subnutrición y estrés por calor.
- Debido a su condición natural, el camello podría ser una especie de especial interés como modelo animal para el estudio experimental de la diabetes.

CAPÍTULO 8: BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO 8

BIBLIOGRAFÍA

- Abuagla, I. A., H. A. Ali, and Z. H. Ibrahim. 2014. Gross anatomical and histometric studies on the stomach glandular sacs of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). Sudan J. Sci. Tech. 15:46–56.
- Abdalla, E. B., A. E. H. A. Ashmawy, M. H. Farouk, O. A. E. R. Salama, F. A. Khalil and A. F. Seioudy. 2015. Milk production potential in Maghrebi she-camels. Small Rumin. Res. 123:129–135.
- Abdelgadir, W. S., T. K. Ahmed, and H. A. Dirar. 1998. The traditional fermented milk products of the Sudan. Int. J. Food Microbiol. 44:1–13.
- Abdulrahman, A. O., M. A. Ismael, K. Al-Hosaini, C. Rame, A. M. Al-Senaidy, J. Dupont, and M. A. Ayoub. 2016. Differential effects of camel Milk on insulin receptor signaling—Toward Understanding the insulin-like Properties of camel Milk. Front. Endocrinol. 7:4.
- Abu-Lehia, I. H., I. S. Al-Mohizea, and M. El-Beheri. 1989. Physical and chemical characteristics of camel colostrum. Aust. J. Dairy Technol. 44:34–36.
- ADFCA (Abu Dhabi Food Control Authority). 2010. Regulation No. 4. The animal identification and registration system for the Emirate of Abu Dhabi. Accessed Feb.8,2016.<http://www.adfca.ae/English/PolicyAndLegislations/Guidelines/Documents/AIRS%20-20en.pdf>.
- Aernouts, B., E. Polshin, J. Lammertyn, and W. Saeys. 2011. Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: Reflectance or transmittance? J. Dairy Sci. 94:5315-5329.
- Agrawal, R. P., S. Budania, P. Sharma, R. Gupta, D. K. Kochar, R. B. Panwar, and M. S. Sahani. 2007a. Zero prevalence of diabetes in camel milk consuming Raica community of Northwest Rajasthan-India. Diabetes Res. Clin. Prac. 76: 290–296.
- Agrawal R. P., S. Saran, P. Sharma, R. P. Gupta, D. K. Kochar, and M. S. Sahani. 2007b. Effect of camel milk on residual beta-cell function in recent onset type 1 diabetes. Diabetes Res. Clin. Pract. 77:494–495.
- Agrawal, R. P., S. C. Swani, R. Beniwall, D. K. Kochar, M. S. Sahani, F. C. Tuteja, and S. K. Ghorui. 2003. Effect of camel milk on glycaemic control, lipid profile and diabetes quality of life in type-1 diabetes: a randomised perspective controlled cross over study. India J. Anim. Sci. 73:1105–1110.

- Aguilera, G., R. L. Hauger, and K. J. Catt. 1978. Control of aldosterone secretion during sodium restriction: Adrenal receptor regulation and increased sensitivity to angiotensin II. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:975–979.
- Ait-Saidi, A., G. Caja, and J. H. Mocket. 2013. Eficacia de lectura dinámica de transpondedores de distintas tecnologías en ganado ovino en condiciones de granja. In: XV Jornadas sobre Producción Animal. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), Zaragoza, Spain, pp. 91–93.
- Albanell E., P. Cáceres, G. Caja, E. Molina, and A. Garcouri. 1999. Determination of fat, protein, and total solids in ovine milk by Near-Infrared Spectroscopy. *J. AOAC Int.* 82: 753-758.
- Albanell, E., G. Caja, X. Such, M. Rovai, A. Salama, and R. Casals. 2003. Determination of fat, protein, casein, total solids, and somatic cell count in goat's milk by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. AOAC Int.* 86: 746-752.
- Alhadrami, G. 2004. Achievement of research in the field of camelides. In: WAAP (World Association for Animal Production) book of the year 2003. A review on developments and research in livestock systems. Rosati, A., A. Tewolde, and C. Mosconi, eds. *World Assoc. Anim. Prod.* 14:187–189.
- Alhadrami, G. A. 2003. Camel. In: *Encyclopedia of dairy sciences*. Roginski, H., J. W. Fuquay and P. F. Fox, eds. Academic Press, London, UK.
- Alhaider, A. A., A. G. M. Abdel Gader, N. Almeshaal, and S. Saraswati. 2014. Camel milk inhibits inflammatory angiogenesis via downregulation of proangiogenic and proinflammatory cytokines in mice. *Apmis* 122:599–607.
- Al haj, O. A., and H. A. Al Kanhal. 2010. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *Int. Dairy J.* 20:811–821.
- Ali, M. A., A. Adem, I. S. Chandranath, S. Benedict, J. Y. Pathan, N. Nagelkerke, F. Nyberg, L. K. Lewis, T. G. Yandle, G. M. Nicholls, C. M. Frampton, and E. Kazzam. 2012. Responses to Dehydration in the One-Humped Camel and Effects of Blocking the Renin-Angiotensin System. *PloS one*, 7:e37299.
- Aljumaah, R. S., F. F. Almutairi, E. Ismail, M. H. Alshaikh, A. Sami, and M. Ayadi. 2012. Effect of production system, breed, parity and stage of lactation on milk composition of dromedary camels in Saudi Arabia. *J. Anim. Vet. Adv.* 11:141-147.
- Almathen, F., P. Charruau, E. Mohandesan, J. M. Mwacharo, P. Orozco-terWengel, D. Pitt, A. M. Abdussamad, M. Uerpmann, H-P. Uerpmann, B. De Cupere, P. Magee, M. A. Alnaqeeb, B. Salim, A. Raziq, T. Dessie, O. M. Abdelhadi, M. H. Banabazi, M. Al-Eknaah,

- C. Walzer, B. Faye, M. Hofreiter, J. Peters, O. Hanotte, and P. A. Burger. 2016. Ancient and modern DNA reveal dynamics of domestication and cross-continental dispersal of the dromedary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113:6707–67012.
- Anderson, D. E., D. R. Monke, F. Silveira, W. Ayars, and M. Rings. 2000. Determination of serum insulin concentration during intravenous glucose tolerance testing of healthy bulls. *Am. J. Vet. Res.* 61:61–63.
- Annison E. F., K. J. Hill, and D. Lewis. 1957. Studies on the portal blood of sheep. 2. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of the sheep. *Biochem. J.* 66:592–597.
- Antonini, C., M. Trabalza-Marinucci, R. Franceschini, L. Mughetti, G. Acuti, A. Faba, G. Asdrubali, and C. Boiti. 2006. In vivo mechanical and in vitro electromagnetic side-effects of a ruminal transponder in cattle. *J. Anim. Sci.* 84:3133–3142.
- AOAC International. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.
- Arab, H. H., S. A. Salama, A. H. Eid, H. A. Omar, E. S. A. Arafa, and I. A. Maghrabi. 2014. Camel's milk ameliorates TNBS-induced colitis in rats via downregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress. *Food Chem. Toxicol.* 69:294–302.
- Aschenbach, J. R., N. B. Kristensen, S. S. Donkin, H. M. Hammon, and G. B. Penner. 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *Life* 62:869–877.
- Aurich, J., P. Wohlsein, M. Wulf, M. Nees, W. Baumgärtner, M. Becker-Birck, and C. Aurich. 2013. Readability of branding symbols in horses and histomorphological alterations at the branding site. *Vet. J.* 195:344–349.
- Babot, D., M. Hernández-Jover, G. Caja, C. Santamarina, and J. J. Ghirardi. 2006. Comparison of visual and electronic identification devices in pigs: On-farm performances. *J. Anim. Sci.* 84:2575–2581.
- Barbour, E. K., N. H. Nabbut, W. M. Frerichs, and H. M. Al-Kakhi 1984. Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk: Relation to whey lysozyme and stage of lactation. *J. Food Protec.* 47:838–840.
- Bach, A., L. Domingo, C. Montoro, and M. Terré. 2013. Insulin responsiveness is affected by the level of milk replacer offered to young calves. *J. Dairy Sci.* 96:4634–4637.
- Badraghi, J., R. Yousefi, A. A. Saboury, A. Sharifzadeh, T. Haertl, F. Ahmad, and A. A. Moosavi-Movahedi. Effect of salts and sodium dodecyl sulfate on chaperone activity of camel aS1-CN: Insulin as the target protein. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 71:300–305.

- Balabin, R. M., and S. V. Smirnov. 2011. Melamine detection by mid- and near-infrared (MIR/NIR) spectroscopy: A quick and sensitive method for dairy products analysis including liquid milk, infant formula, and milk powder. *Talanta* 85:562-568.
- Balogh, O., O. Szepes, K. Kovacs, M. Kulcsar, J. Reiczigel, J. A. Alcazar, M. Keresztes, H. Febel, J. Bartyik, S. G. Fekete, L. Fesus, and G. Huszenicza. 2008. Interrelationship of growth hormone AluI polymorphysm, insulin resistance, milk production and reproductive performance in Holstein-Friesian cows. *Vet. Med. (Praha)* 53:604–616.
- Barhat, N. K., M. S. Chowdhary, and A. K. Gupta. 1979. Note on relationship among gestation length, birth weight, placental weight and intrauterine development index in Bikaneri camel. *Indian J. Anim. Res.* 13:115–117.
- Barłowska, J., M. Sz wajkowska, Z. Litwińczuk, and J. Król. 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety* 10: 291–302.
- Barnes, K., J. C. Ingram, O. H. Porras, L. F. Barros, E. R. Hudson, L. G. D. Fryer, F. Fougelle, D. Carling, D. G. Hardie, and S. A. Baldwin. 2002. Activation of GLUT1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP-activated protein kinase (AMPK). *J. Cell Sci.* 115: 2433–2442.
- Bauer, U., M. Kilian, J. Harms, and G. Wendl. 2009. First results of a large field trial regarding electronic tagging of sheep in Germany. In: Lokhorst, C., Groot Koerkamp, P.W.G. (Eds.), *Precision Livestock Farming '09*. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 237–242.
- Baxter, R. C., Z. Zaltsman, and J. R. Turtle. 1984. Immunoreactive somatomedin-C/insulin-like growth factor I and its binding protein in human milk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58:955–959.
- Bekele, T., N. Lundeheim, and K. Dahlborn. 2011. Milk production and feeding behavior in the camel (*Camelus dromedarius*) during 4 watering regimens. *J. Dairy Sci.* 94:1310–1317.
- Bengoumi, M., and B. Faye. 2002. Adaptation du dromadaire à la déshydratation. *Sécheresse*. 13: 121–129.
- Ben Goumi, M., F. Riad, J. Giry, F. de la Farge, A. Safwate, M.-J. Davicco, and J.-P. Barlet. 1993. Hormonal control of water and sodium in plasma and urine of camels during dehydration and rehydration. *Gen. Comp. Endocrinol.* 89: 378–386.

- Bengoumi, M., Y. Faulconnier, A. Tabarani, A. Sghiri, B. Faye, and Y. Chilliard. 2005. Effects of feeding level on body weight, hump size, lipid content and adipocyte volume in the dromedary camel. *Anim. Res.* 54: 383–393.
- Berton, A., S. Rouvellac, B. Robert, F. Rousseau, C. López, and I. Crenon. 2012. Effect of the size and interface composition of milk fat globules on their in vitro digestion by the human pancreatic lipase: native versus homogenized milk fat globules. *Food Hydrocolloids* 29: 123–134.
- Bossaert, P., E. Fransen, A. Langbeen, M. Stalpaert, I. Vandebroek, P. E. Bols, and J. L. Leroy. 2014. Effects of parity and periconceptional metabolic state of Holstein–Friesian dams on the glucose metabolism and conformation in their newborn calves. *Animal* 8:975–981.
- Bossaert, P., J. L. M. R. Leroy, S. De Campeneere, S. De Vlieghe, and G. Opsomer. 2009. Differences in the glucose-induced insulin response and the peripheral insulin responsiveness between neonatal calves of the Belgian Blue, Holstein-Friesian, and East Flemish breeds. *J. Dairy Sci.* 92:4404–4411.
- Brock, J. H. 1980. Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant. *Arch. Disease Child.* 55:417–421.
- Burg, M. B., J. D. Ferraris, and N. I. Dmitrieva. 2007. Cellular response to hyperosmotic stresses. *Physiol. Rev.* 87: 1441–1474.
- Burger, P. A., and N. Palmieri. 2013. Estimating the population mutations rate from the novo assembled Bactrian camel genome and cross-species comparison with dromedary ESTs. *J. Hered.* doi: 10.1093/jhered/est005
- Caja, G., C. Conill, R. Nehring, and O. Ribó. 1999. Development of a ceramic bolus for the permanent electronic identification of sheep, goat and cattle. *Comput. Electron. Agric.* 24:45–63.
- Caja, G., E. Díaz-Medina, A. A. K. Salama, O. A. E. Salama, M. H. El-Shafie, H. A. El-Metwaly, M. Ayadi, R. S. Aljumaah, M. A. Alshaikh, M. H. Yahyahoui, M. M. Seddik, M. Hammadi, T. Khorchani, O. Amann, and S. Cabrera. 2016. Comparison of visual and electronic devices for individual identification of dromedary camels under different farming conditions. *J. Anim. Sci.* 94:3561–3571.
- Caja, G., F. Barillet, R. Nehring, C. Marie, O. Ribó, E. Ricard, G. Lagriffoul, C. Conill, M. R. Aurel, M. Jacquin. 1996. Comparison of different devices for electronic identification in dairy sheep. In: Renaud, J., van Gelder, J. (Eds.), *Performance Recording of Animals*. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands, pp. 349–353, EAAP Publ. No. 87.

- Caja, G., F. Barillet, R. Nehring, C. Marie, C. Conill, E. Ricard, O. Ribó, G. Lagriffoul, S. Peris, M. R. Aurel, D. Solanes, and M. Jacquin. 1997. State of the art on electronic identification of sheep and goat using passive transponders. *Options Méditerranéennes. Serie A: Séminaires Méditerranéens* 33:43–57.
- Caja, G., J. J. Ghirardi, M. Hernández-Jover, and D. Garín. 2004. Diversity of animal identification techniques: From ‘fire age’ to ‘electronic age’. In: R. Pauw, S. Mack, and J. Maki-Hokkonen, editors, *Development of animal identification and recording systems for developing countries*. International Committee for Animal Recording, Rome, Italy. p. 21–39.
- Caja, G., M. Luini, and P. D. Fonseca. 1994. Electronic identification of farm animals using implantable transponders. In: *FEOGA Research Project (Contract CCAM 93-342), Final Report, vol. I–II, December 1994*, European Commission, Brussels.
- Caja G., R. McDonald, A. Molenaar, and K. Singh. 2014. Quantification of insulin and adiponectin in the milk of dairy cows and variation according to stage of lactation and milking frequency. *AGAUR Grant Report*. AgResearch, Ruakura Research Centre, Hamilton, New Zealand.
- Caja, G., S. Carné, A. A. K. Salama, A. Ait-Saidi, M. A. Rojas-Olivares, M. Rovai, J. Capote, N. Castro, A. Argüello, M. Ayadi, R. Aljumaah, and M. A. Alshaikh. 2014. State-of-art of electronic identification techniques and applications in goats. *Small Rumin. Res.* 121:42–50.
- Castro, N., D. Martín, A. Castro-Alonso, A. Argüello, J. Capote, and G. Caja. 2010. Suitability of electronic mini-boluses for the early identification of goat kids and effects on growth performance and development of the reticulorumen. *J. Anim. Sci.* 88, 3464–3469.
- Claeys, W. L., C. Verraes, S. Cardoen, J. De Block, A. Huyghebaert, K. Raes, K. Dewettinck, and L. Herman. 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control* 42:188–201.
- Campanella, L., E. Martini, M. Pintore, and M. Tomassetti. 2009. Determination of lactoferrin and immunoglobulin G in animal milks by new immunosensors. *Sensors* 9:2202–2221.
- Cardoso, R. R. A., and C. R. A. Cardoso. 2010. Camel milk as an aid in the treatment of patients with type 1 diabetes. *Brasilia Med.* 47:204–208.
- Carné, S., G. Caja, J. J. Ghirardi, and A. A. K. Salama. 2009. Longterm performance of visual and electronic identification devices in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 92:1500–1511.
- Carné, S., G. Caja, J. J. Ghirardi, and A. A. K. Salama. 2011. Modeling the retention of rumen boluses for the electronic identification of goats. *J. Dairy Sci.* 94:716–726.

- Carné, S., G. Caja, M. A. Rojas-Olivares, and A. A. K. Salama. 2010. Readability of visual and electronic leg tags versus rumen boluses and electronic ear tags for the permanent identification of dairy goats. *J. Dairy Sci.* 93:5157–5166.
- Carné, S., T. A. Gipson, M. Rovai, R. C. Merkel, and G. Caja. 2009b. Extended field test on the use of visual ear tags and electronic boluses for the identification of different goat breeds in the United States. *J. Anim. Sci.* 87:2419–2427.
- Castro, N., D. Martín, A. Castro-Alonso, A. Argüello, J. Capote, and G. Caja. 2010. Effects of mini-bolus used for the electronic identification of milk fed kids on the growth performance and development of the reticulorumen. *J. Anim. Sci.* 88:3464–3469.
- Cebra, C. K., D. Anderson, A. Tibary, R. Van Saun, and L. Johnson. 2014. Chapter 41. Hepatic, pancreatic, and metabolic disorders *in* Llama and Alpaca Care. *Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition and Herd Health*. Pages 537–552 C. Cebra, ed. Elsevier, St. Louis, MO.
- Cebra, C. K., S. A. McKane, and S. J. Tornquist. 2001a. Effects of exogenous insulin on glucose tolerance in alpacas. *J. Am. Vet. Res.* 62:1544–1547.
- Cebra, C. K., and S. J. Tornquist. 2005. Evaluation of glucose tolerance and insulin sensitivity in llama crias. *Am. J. Vet. Res.* 66:1013–1017.
- Cebra, C. K., S. J. Tornquist, R. J. Van Saun, and B. B. Smith. 2001b. Glucose tolerance testing in llamas and alpacas. *J. Am. Vet. Res.* 62:682–686.
- Chandrasena, L. G., B. Emmanuel, D. W. Hamar, and B. R. Howard. 1979. A comparative study of ketone body metabolism between the camel (*Camelus dromedarius*) and the sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.* 64B:109–112.
- Chelikani, P. K., D. R. Glimm, and J. J. Kennelly. 2003. Short communication: tissue distribution of leptin and leptin receptors mRNA in the bovine. *J. Dairy Sci.* 86:2369–2372.
- Chen, J. Y., C. Iyo, F. Terada, and S. Kawano. 2002. Effect of multiplicative scatter correction on wavelength selection for near infrared calibration to determine fat content in raw milk. *J. Near Infrared Spectrosc.* 10:301-307.
- Chilliard, Y. 1989. Particularités du métabolisme des lipides et du métabolisme énergétique chez le dromadaire. *Options Méditerran. Sér A Sémin. Méditerran.* 2:101–110.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, Y. Faulconnier, M. Bonnet, J. Rouel, and F. Bocquier 2000. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 59:127–134.

- Chilliard, Y., C. Delavaud, and M. Bonnet. 2005. Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domest. Anim. Endocrinol.* 29:3–22.
- Chilliard, Y., F. Bocquier, and M. Doreau. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod. Nutri. Dev.* 38:131–152.
- Chodak, M. 2008. Application of Near Infrared Spectroscopy for Analysis of Soils, Litter and Plant Materials. *Polish J. Environ. Studies* 17:631-642.
- Chu, D. K. W., L. L. M. Poon, M. M. Gomaa, M. M. Shehata, R. A. P. M. Perera, D. A. Zeid, A. S. El Rifay, L. Y. Siu, Y. Guan, R. J. Webby, M. A. Ali, M. Peiris, and G. Kayali. 2014. MERS coronaviruses in dromedary camels, Egypt. *Emerging Infect. Dis. J.* 20:1049–1053.
- Clare, D. A., and H. E. Swaisgood. 2000. Bioactive milk peptides: A Prospectus. *J. Dairy Sci.* 83:1187-1195.
- Conill, C., G. Caja, R. Nehring, and O. Ribó. 2000. Effects of injection position and transponder size on the performances of passive injectable transponders used for the electronic identification of cattle. *J. Anim. Sci.* 78:3001–3009.
- Corps, A. N., K. D. Brown, L. H. Rees, J. Carr, and C. G. Prosser. 1988. The insulin-like growth factor I content in human milk increases between early and full lactation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 67:25–29.
- Cox, D. R. 1970. *The analysis of binary data*. Chapman & Hall, London, UK.
- Dračková, M., I. B. Ová, B. Janštová, M. N. Erová, H. P. Alová, P. N. Avrátilová, and L. Vorlová. 2009. Determination of lactoferrin in goat milk by HPLC method. *Czech J. Food Sci.* 27:S102–S104.
- Delavaud, C., M. Bengoumi, B. Faye, D. Levieux, and Y. Chilliard. 2013. Plasma leptin, glucose and non-esterified fatty acid variations in dromedary camels exposed to prolonged periods of underfeeding or dehydration. *Comp. Biochem. Physiol.* 166A:177–185.
- Demigné, C., and C. Rémesy. 1979. Fetal and postnatal metabolism in the calf. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 19:159-165.
- Dennis, E., L. Russell, and G. Edwards. 2010. Feral camels in the Australian rangelands. Accessed Feb. 3, 2016. <http://www.austrangesoc.com.au/biennial-conference-pages/Eleanor%20Dennis%20%20new.pdf>.
- Desert Farms. 2017. Accessed May 1, 2017. <https://desertfarms.co.uk/collections/camelmilk>.

- Desquesnes, M., P. Holzmüller, D. H. Lai, A. Dargantes, Z. R. Lun, and S. Jittaplapong. 2013. Trypanosoma evansi and surra: a review and perspectives on origin, history, distribution, taxonomy, morphology, hosts, and pathogenic effects. *BioMed Res. Int.* 194176.
- Duehlmeier, R., A. Hacker, A. Widdel, W. von Engelhardt, and H. P. Sallmann. 2005. Mechanisms of insulin-dependent glucose transport into porcine and bovine skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 289:187–197.
- Duehlmeier, R., K. Sammet, A. Widdel, W. von Engelhardt, U. Wernery, J. Kinne, and H. P. Sallmann. 2007. Distribution patterns of the glucose transporters GLUT4 and GLUT1 in skeletal muscles of rats (*Rattus norvegicus*), pigs (*Sus scrofa*), cows (*Bos taurus*), adult goats, goat kids (*Capra hircus*), and camels (*Camelus dromedarius*). *Comp. Biochem. Physiol. A* 146:274–282.
- EC. 2000. Council Regulation (EC) No 1760/2000 of 17 July 2000 establishing a system for the identification and registration of bovine animals and regarding the labelling of beef and beef products and repealing Council Regulation (EC) No 820/97. *Off. J. Eur. Union* L204:1–10.
- EC. 2004. Council Regulation (EC) No 21/2004 of 17 December 2003 establishing a system for the identification and registration of ovine and caprine animals and amending Regulation (EC) No 1782/2003 and Directives 92/102/EEC and 64/432/EEC. *Off. J. Eur. Union* L5:8–17.
- EC. 2008a. Commission Regulation (EC) No 504/2008 of 6 June 2008 implementing Council Directives 90/426/EEC and 90/427/EEC as regards methods for the identification of equidae. *Off. J. Eur. Union* L149:3–32.
- EC. 2008b. Commission Regulation (EC) No 933/2008 of 23 September 2008 amending the Annex to Council Regulation (EC) No 21/2004 as regards the means of identification of animals and the content of the movement documents. *Off. J. Eur. Union* L256:5–11.
- EC. 2009. Council Regulation (EC) No 759/2009 of 19 August 2009 amending the Annex to Council Regulation (EC) No 21/2004 establishing a system for the identification and registration of ovine and caprine animals. *Off. J. Eur. Union* L215:3–4.
- Eddleman, H. 1999. Study of the lactoperoxidase system and its functions. President, Indiana Biolab, Palmyra, USA.
- Edwards, D. S., A. M. Johnston, and D. U. Pfeiffer. 2001. A comparison of commonly used ear tags on the ear damage of sheep. *Anim. Welf.* 10:141–151.

- El-Agamy, E. I., and M. Nawar. 2000. Nutritive and immunological values of camel milk.: A comparative study with milk of other species. In: Proc. 2nd Int. Camelid Conference: Agrocons Camelid Farm, Almaty, Kazakhstan, 8–12 Sept.
- El-Agamy, E. I., M. Nawar, S. M. Shamsia, S. Awad, and G. F. W. Haenlein. 2009. Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk. *Small Rumin. Res.* 82:1–6.
- El-Agamy, E. I., Z. I. Abou-Shloue and Y. I. Abdel-Kader. 1998. Gel electrophoresis of proteins, physicochemical characterization and vitamin C content of milk of different species. *Alexandria J. Agric. Res.* 43:57–70.
- Elagamy, E. I., R. Ruppanner, A. Ismail, C. P. Champagne, and R. Assaf. 1996. Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy J.* 6:129–145.
- Elkhawad, A.O. 1992. Selective brain cooling in desert animals: The Camel (*Camelus dromedarius*). *Comp. Biochem. Physiol.* 101:195–202.
- El-Keblawy, A., T. Ksiksi, and H. El-Alqamy. 2009. Camel grazing affects species diversity and community structure in the deserts of the UAE. *J. Arid Environ.* 73:347–354.
- Elmahdi, B., H. P. Sallmann, H. Fuhrmann, W. Engelhardt, and M. Kaske. 1997. Comparative aspects of glucose tolerance in camels, sheep, and ponies. *Comp. Biochem. Physiol.* 118A:147–151.
- Emmanuel, B. 1981. Glucokinase, hexokinase, gluconeogenesis, glycogenesis and glycolysis in camel (*Camelus dromedarius*) and sheep (*Ovis aries*). *Comp. Biochem. Physiol.* 68B:547–550.
- Elamin, F. M., and C. J. Wilcox. 1992. Milk Composition of Majaheim Camels. *J. Dairy. Sci.* 75:3155–3177.
- El-Hatmi, H., A. Levieux, and D. Levieux. 2006b. Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, a-lactalbumin, serum albumin and lactoferrin in colostrum and milk during the early post partum period. *J. Dairy Res.* 73 288–293.
- El-Hatmi, H., J-M. Girardet, J-L. Gaillard, M. H. Yahyaoui, and H. Attia. 2006a. Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Rumin. Res.* 70:267–271.
- El-Gawad, I. A., E. M. El-Sayed, M. B. Mahfouz, and A. M. Abd El-Salam. 1996. Changes of lactoferrin concentration in colostrum and milk from different species. *Egyptian J. Dairy Sci.* 24:297–308.
- Erber, R., M. Wulf, M. Becker-Birck, S. Kaps, J. E. Aurich, E. Möstl, and C. Aurich. 2012. Physiological and behavioural responses of young horses to hot iron branding and microchip implantation. *Vet. J.* 191:171–175.

- Ereifej, K. I., M. H. Alu'datt, H. A. AlKhalidy, I. Alli, and T. Rababah. 2011. Comparison and characterisation of fat and protein composition for camel milk from eight Jordanian locations. *Food Chem.* 127:282–289.
- Esmaili, M., S. M. Ghaffari, Z. Moosavi-Movahedi, M. S. Atri, A. Sharifzadeh, M. Farhadi, R. Yousefi, J-M. Chobert, T. Haertlé, A. A. Moosavi-Movahedi. 2011. Beta casein-micelle as a nano vehicle for solubility enhancement of curcumin; food industry application. *LWT - Food Sci. Techn.* 44:2166–2172.
- Fabelo, F. 2008. Historia y economía de la ganadería local. En: *El camello en Lanzarote*. U. Schulz. Ed. ADERLAN. Lanzarote. Canarias. España. pp. 47–54.
- Fassi-Fehri, M. M. 1987. Diseases of camels. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 6:337–354.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2008. Camel milk. Accessed Dec. 2, 2013. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/dairy/camel.html>.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2015. FAOStat. Accessed Dec. 17, 2015. <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2016. FAOStat. Accessed Dec. 10, 2016. <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>.
- Farah, Z., and A. Fischer. 2004. *Milk and Meat from the Camel: Handbook on Products and Processing*. VDF Hochschulverlar AG and ETH Zürich, Zürich, Switzerland.
- Farah, Z., M. Mollet, M. Younan, and R. Dahi. 2007. Camel dairy in Somalia: Limiting factors and development potential. *Livest. Sci.* 110:187-191.
- Farah, Z., T. Streiff, and M. R. Bachmann. 1989. Manufacture and characterization of camel milk butter. *Milchwissenschaft* 44:412-414.
- Faye, B. 1997. *Le guide de l'élevage du dromadaire*. Ed. Sanofi, Libourne, France.
- Faye, B. 2015. Role, distribution and perspective of camel breeding in the third millennium economies. *Emir. J. Food Agric.* 27:318–327.
- Faye, B., G. Konuspayeva, S. Messad, and G. Loiseau. 2008. Discriminant milk components of Bactrian camel (*Camelus bactrianus*), dromedary (*Camelus dromedarius*) and hybrids. *Dairy Sci. Technol.* 88:607–617.
- Faye, B., H. Abdallah, F. Almathen, B. Harzallah, and S. Al-Mutairi. 2011. *Camel Biodiversity. Camel Phenotypes in the Kingdom of Saudi Arabia*. Camel Breeding, Protection and Improvement Center, project UTF/SAU/021/SAU, FAO, Riyadh, Saudi Arabia.
- Faye, B., M. Bengoumi, S. Messad, and Y. Chilliard. 2002. Assessment of body fat reserves in camels. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 55:69–78.

- Faye, B., M. Chaibou, and G. Vias. 2012. Integrated impact of climate change and socioeconomic development on the evolution of camel farming systems. *Br. J. Environ. Clim. Change* 2:227–244.
- Felmer, R., R. Chávez, A. Catrileo, and C. Rojas. 2006. Current and emergent technologies for animal identification and their use in animal traceability. *Arch. Med. Vet.* 38:197–206.
- Fink, R. I., P. Wallace, G. Brechtel, J. M. Olefsky. 1992. Evidence that glucose transport is rate-limiting for in vivo glucose uptake. *Metabolism* 41:897–902.
- Flier, J. S., C. R. Kahn, D. B. Jarrett, and J. Roth. 1976. The immunology of the insulin receptor. *Immun. Comm.* 5:361-373.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). 2015. FAOStat. Accessed Dec. 17, 2015. <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancor>.
- Fosgate, G. T., A. A. Adesiyun, and D. W. Hird. 2006. Ear-tag retention and identification methods for extensively managed water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Trinidad. *Prev. Vet. Med.* 73:287–296.
- Fowler, M. E., and J. G. Zinkl. 1989. Reference ranges for hematologic and serum biochemical values in llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* 50:2049–2053.
- Fujita, N., H. Yamasaki, K. Yamakawa, S. Uotani, H. Kuwahara, M. Degawa-Yamauchi, T. Abe, M. Ozaki, Y. Sera, E. Kawasaki, H. Takino, Y. Yamaguchi, and K. Eguchi. 2002. Decrease in the insulin receptor protein level by anti-insulin receptor antibodies: roles of tyrosine kinase activity and receptor internalization. *Acta Diabetol.* 39:221–227.
- Garín, D., G. Caja, and C. Conill. 2003. Effects of small ruminal boluses used for electronic identification of lambs on the growth and development of the reticulorumen. *J. Anim. Sci.* 81, 879–884.
- Garín, D., G. Caja, and C. Conill. 2005. Performance and effects of small ruminal boluses for electronic identification of young lambs. *Livest. Prod. Sci.* 92, 47–58.
- Garry, F. 1989. Clinical pathology of llamas. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 5: 55–70.
- Ghirardi, J. J., G. Caja, D. Garín, J. Casellas, and M. Hernández-Jover. 2006a. Evaluation of the retention of electronic identification boluses in the forestomachs of cattle. *J. Anim. Sci.* 84:2260–2268.
- Ghirardi, J. J., G. Caja, D. Garín, M. Hernández-Jover, O. Ribó, and J. Casellas. 2006b. Retention of different sizes of electronic identification boluses in the forestomachs of sheep. *J. Anim. Sci.* 84:2865–2872.

- Gorban, A. M. S., and O. M. Izzeldin. 1999. Study on cholesteryl ester fatty acids in camel and cow milk lipid. *Int. J. Food Sci. Technol.* 34:229–234.
- Gray, A. P. 1972. *Mammalian hybrids*, 2nd ed. Slough: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3882–3896.
- Gruys, E., J. M. Schakenraad, L. Kruit, J. M. Bolsher. 1993. Biocompatibility of glass-encapsulated electronic chips (transponders) used for the identification of pigs. *Vet. Rec.* 133, 385–388.
- Gwida, M., A. El-Gohary, F. Melzer, I. Khan, U. Rösler, and H. Neubauer. 2012. Brucellosis in camels. *Res. Vet. Sci.* 92:351–355.
- Haddadin, M. S., S. I. Gammoh, and R. K. Robinson. 2008. Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *J. Dairy Res.* 75:8–12.
- Hamad, E. M., E. A. Abdel-Rahim, and E. A. Romeih. 2011. Beneficial effect of camel milk on liver and kidneys function in diabetic sprague-dawley rats. *Int. J. Dairy Sci.* 6:190–197.
- Hansen, A., and K. Schmidt-Nielsen. 1957. On the stomach of the camel with special reference to the structure of its mucous membrane. *Acta Anat. (Basel)* 31:353–375.
- Hanton, J. P., and H. A. Leach. 1974. Electronic livestock identification system. US Patent 4.262.632 (04.21.81).
- Hayirli, A. 2006. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Vet. Res. Commun.* 30:749–774.
- Hayirli, A., S. J. Bertics, and R. R. Grummer. 2002. Effects of slow-release insulin on production, liver triglyceride, and metabolic profiles of Holstein in early lactation. *J. Dairy Sci.* 85:2180–2191.
- Hennart, P. F., D. J. Brasseur, J. B. Delogne-Desnoeck, M. M. Dramaix, and C. E. Robyn. 1991. Lysozyme, lactoferrin, and secretory immunoglobulin A content in breast milk: influence of duration of lactation, nutrition status, prolactin status, and parity of mother. *Am. J. Clin. Nutr.* 53:32–39.
- Hentz, F., C. Umstätter, S. Gilaverte, O. R. Prado, C. J. A. Silva, and A. L. G. Monteiro. 2014. Electronic bolus design impacts on administration. *J. Anim. Sci.* 92:2686–2692.
- Hird, F. J. R., and M. J. Weidemann. 1964. Transport and metabolism of butyrate by isolated rumen epithelium. *Biochem. J.* 92:585–589.

- Hochachka, P. W. and Somero, G. N. 2002. Biochemical adaptation. Mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Holroyd, S. E. 2013. Review: The use of near infrared spectroscopy on milk and milk products. *J. Near Infrared Spectrosc.* 21:311-322.
- Holtenius, P., and K. Holtenius. 2007. A model to estimate insulin sensitivity in dairy cows. *Acta Vet. Scand.* 49:29–31.
- Homayouni-Tabrizi, M., H. Shabestarin, A. Asoodeh, and M. Soltani. 2016. Identification of two novel antioxidant peptides from camel milk using digestive Proteases: Impact on expression gene of superoxide dismutase (SOD) in hepatocellular carcinoma cell line. *Int. J. Res. Ther.* 22: 187–195.
- Hřebíček, J., V. Janout, J. Malincíková, D. Horáková, and L. Cízek. 2002. Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index QUICKI for epidemiological assessment and prevention. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87:144–147.
- Ingram, D. L., and L. E. Mount. 1975. Heat Exchange between Animal and Environments. In *Man and Animals in Hot Environments*. Springer New York, USA.
- International Committee for Animal Recording (ICAR). 2016. ICAR recording guidelines. International agreement of recording practices. Accessed July 7, 2016. <http://www.icar.org/wp-content/uploads/2016/03/Guidelines-Edition-2016.pdf>.
- INLAC (Organización Interprofesional Láctea Española). 2016. Accessed Oct. 23, 2016. http://www.inlac.es/admin/uploads/files/id_20173418_Informesocioeconomicoinlac20.09.16.pdf.
- International Organization for Standardization (ISO). 1996a. Radio frequency identification of animals – Code structure. ISO 11784:1996 (E), 2nd ed. 1996-08-15, ISO, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (ISO). 1996b. Radio frequency identification of animals – Technical concept. ISO 11785:1996 (E), 1st ed. 1996-10-15, ISO, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization (ISO). 2009. Agricultural equipment. Radio frequency identification of animals – Code structure. Draft Amendment ISO 11784:1996/DAmD 2 (E). ISO, Geneva, Switzerland.
- Ibrahim, S. A., and I. E. M. El Zubeir. 2016. Processing, composition and sensory characteristic of yoghurt made from camel milk and camel-sheep milk mixtures. *Small Rumin. Res.* 136:109–112.

- Iqbal, A., and B. B. Khan. 2001. Feeding behavior of camel review. *Pak. J. Agri. Sci.* 38:58–63.
- Jones, H. N., T. Jansson, and T. L. Powell. 2010 Full-length adiponectin attenuates insulin signaling and inhibits insulin-stimulated amino acid transport in human primary trophoblast cells. *Diabetes* 59:1161–1170.
- Jrad, Z., H. El Hatmi, I. Adt, J-M. Girardet, C. Cakir-Kiefer, J. Jardin, P. Degraeve, T. Khorchani and N. Oulahal. 2014. Effect of digestive enzymes on antimicrobial, radical scavenging and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of camel colostrum and milk proteins. *Dairy Sci. Techn.* 94:205–224.
- Jirimutu et al. 2012. Genome sequences of wild and domestic Bactrian camels. *Nat. Commun.* 3:1202 doi:10.1038/ncomms2192.
- Kamal, M., and R. Karoui. 2016. Monitoring of mild heat treatment of camel milk by front-face fluorescence spectroscopy. *LWT - Food Sci. Techn.*
- Kamal, A. M., O. A. Salama, and K. M. El-Saied. 2007. Changes in amino acids profile and camel milk protein during the early lactation. *Int. J. Dairy Sci.* 2:226–234.
- Karray, N., C. Lopez, M. Ollivon, and H. Attia. 2005. La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme. Une revue. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 12:439–446.
- Kaske, M., B. Elmahdi, W. von Engelhardt, and H. P. Sallmann. 2001. Insulin responsiveness of sheep, ponies, miniature pigs and camels: results of hyperinsulinemic clamps using porcine insulin. *J. Comp. Physiol. B* 171:549–546.
- Katz, A., S. S. Nambi, K. Mather, A. D. Baron, D. A. Follmann, G. Sullivan, and M. J. Quon. 2000. Quantitative insulin sensitivity check index: A simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85:2402–2410.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, and A. J. Trevor. 1995. Chap. 41. Pancreatic hormones and antidiabetic drugs. Pages 637–654 in *Basic and Clinical Pharmacology*. 12th ed. Appleton and Lange Co., Norwalk, CT.
- Kawasaki, M., S. Kawamura, M. Tsukahara, S. Morita, M. Komiya, and M. Natsuga. 2008. Near-infrared spectroscopic sensing system for on-line milk quality assessment in a milking robot. *Comput. Electron. Agric.* 63:22-27.
- Kerestes, M., V. Faigl, M. Kulcsar, O. Balogh, J. Foldi, H. Febel, Y. Chilliard, and G. Huszenicza. 2009. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 37:250–261.

- Khalesi, M., M. Salami, M. Moslehishad, J. Winterburn, and A. A. Moosavi-Movahedi. 2017. Biomolecular content of camel milk: A traditional superfood towards future healthcare industry. *Trends Food Sci. Techn.* 62:49–58.
- Khan, M. A., H. J. Lee, W. S. Lee, H. S. Kim, K. S. Ki, T. Y. Hur, G. H. Suh, S. J. Kang, and Y. J. Choi. 2007. Structural growth, rumen development, and metabolic and immune responses of Holstein male calves fed milk through step-down and conventional methods. *J. Dairy Sci.* 90:3376–3387.
- Knowles, T. G., J. E. Edwards, K. J. Bazeley, S. N. Brown, A. Butterworth, and R. D. Warris. 2000. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Vet. Record.* 147:593–598.
- Konermann, H. 1991. Identification of horses by implantation of microchips. In: E. Lambooi, editor, Automatic electronic identification systems for farm animals. The Commission of the European Communities, DG Telecommunications, Information Industries and Innovation, Sci. and Tech. Comm. Unit, Luxembourg, Belgium. p. 37–43.
- Konuspayeva, G. 2007. Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélides (Camelus bactrianus, Camelus dromedarius et hybrides) au Kazakhstan. Ph.D. Thesis. Université Montpellier II, France, 255 pp.
- Konuspayeva, G., B. Faye, and G. Loiseau. 2009. The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *J. Food Composit. Anal.* 22:95–101.
- Konuspayeva, G., B. Faye, G. Loiseau, M. Narmuratova, A. Ivashchenko, A. Meldebekova, and S. Davletov. 2010. Physiological change in camel milk composition (*Camelus dromedarius*) 2: physico-chemical composition of colostrum. *Trop. Anim. Health Prod.* 42:501–505.
- Konuspayeva, G., E. Lemarie, B. Faye, G. Loiseau and D. Montet. 2008. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. *Dairy Sci. Technol.* 88:327–340.
- Korashy, H. M., Z. H. Maayah, A. R. Abd-Allah, A. O. El-Kadi, and A. A. Alhaider. 2012. Camel milk triggers apoptotic signaling pathways in human hepatoma HepG2 and breast cancer MCF7 cell lines through transcriptional mechanism. *J. Biomed. Biotechnol.* 593195.
- Koster, J. D. D., and G. Opsomer. 2013. Insulin resistance in dairy cows. *Vet. Clin. Food Anim.* 29:299–322.

- Król, J., Z. Litwińczuk, A. Brodziak, J. Barłowska. 2010a. Lactoferrin, lysozyme and immunoglobulin G content in milk of four breeds of cows managed under intensive production system. *Polish J. Vet. Sci.* 13: 357–361.
- Król, J., A. Brodziak, Z. Litwińczuk, and J. Barłowska. 2010b. selected factors determining the content of lactoferrin, lysozyme and immunoglobulins G in bovine milk. In: *A Search for Antibacterial Agents*. pp. 108–123.
- Lalla, S., and W. Drommer. 1997. Observations on the fine structure of the liver in the camel (*Camelus dromedarius*). *Anat. Histol. Embryol.* 26:271–275.
- Lawrence, R. A. 1980. *Breast Feeding – A Guide for the Medical Profession*. C. V. Mosby Co., Missouri.
- La Vanguardia. 2017. Accessed April 23, 2016. <http://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20170215/4218910880/leche-camella-beneficios-investigacion-celebrities.html>
- Lechner-Doll, M., W. von Engelhardt, A. M. Abbas, H. M. Mousa, L. Luciano, and E. Reale. 1995. Particularities in forestomach anatomy, physiology and biochemistry of camelids compared to ruminants. *Options Médit. Série B* 13:19–32.
- Leon, J. B., B. B. Smith, K. I. Timm, and G. LeCren. 1990. Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). *J. Reprod. Fertil.* 88:503–511.
- Ley, S. H., A. J. Hanley, D. Stone, and D. L. O’Connor. 2011. Effects of pasteurization on adiponectin and insulin concentrations in donor human milk. *Pediatric Res.* 70:278–281.
- Li, P., C. C. Wu, M. Long, Y. Zhang, X. B. Li, J. B. He, Z. Wang, and G. W. Liu. 2013. High insulin concentrations inhibit fatty acid oxidation-related gene expression in calf hepatocytes cultured in vitro. *J. Dairy Sci.* 96:3840–3844.
- Lohakare, J. D., H. van de Sand, K. Gerlach, A. Hosseini, M. Mielenz, H. Sauerwein, M. Pries, and K. H. Südekum. 2012. Effects of limited concentrate feeding on growth and blood and serum variables, and on nutrient digestibility and gene expression of hepatic gluconeogenic enzymes in dairy calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96:25–36.
- Løken, T., G. Vatn, and E. Kummen. 2011. Subcutaneous electronic identification in cattle: A field study. *Vet. Rec.* 165:45–50.
- Lønnerdal, B. 2013. Review article: Bioactive proteins in breast milk. *J. Paediatrics Child Health.* 49:1–7.
- MacFarlane, W. V., R. J. H. Morris, and B. Howard. 1963. Turn-over and distribution of water in desert camels, sheep, cattle and kangaroos. *Nature.* 19:270–271.

- Macrae, A. I., D. F. Barnes, H. A. Hunter, N. D. Sargison, P. R. Scott, K. J. Blis- sitt, T. M. Booth, and R. S. Pirie. 2003. Diagnosis and treatment of retropharyngeal injuries in lambs associated with the administration of intraruminal boluses. *Vet. Rec.* 153, 489–492.
- Magistrelli, D., G. P. Dimel, and F. Rosi. 2008. Leptin, insulin and ghrelin levels in goat milk and in plasma of suckling kids. *Small Rumin. Res.* 79:38–41.
- Magjeed, N. A. 2005. Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with Aflatoxin B1. *J. Saudi Chem. Soc.* 9:253–263.
- Malik, A., A. Al-Senaigy, E. Skrzypczak-Jankun, and J. Jankun. 2012. A study of the anti-diabetic agents of camel milk. *Int. J. Mol. Med.* 30:585–592.
- Malven, P. V., H. H. Head, R. I. Collier, and F. C. Buonomo. 1987. Periparturient changes in secretion and mammary uptake of insulin and in concentrations of insulin and insulin-like growth factors in milk of dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 70:2254–2265.
- Mamo, G., G. Bayleyegn, T. S. Tessema, M. Legesse, G. Medhin, G. Bjune, F. Abebe, and G. Ameni. 2011. Pathology of camel tuberculosis and molecular characterization of its causative agents in pastoral regions of Ethiopia. *PLoS One* 6:e15862.
- Mann, S., F. A. Leal Yepes, M. Duplessis, J. J. Wakshlag, T. R. Overton, B. P. Cummings, and D. V. Nydam. 2016. Dry period plane of energy: Effects on glucose tolerance in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:701–717.
- Martín, D., G. Caja, A. Argüello, N. Castro, S. Alvarez, and J. Capote. 2006. Intake behaviour and digestive effects of electronic identification with ruminal bolus in adult goats. *J. Anim. Vet. Adv.* 5:1088–1092.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio ambiente). 2017. http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razasganaderas/razas/catalogo/peligro-extincion/otras-especies/camello-canario/datos_morfologicos.aspx. Accessed Feb. 9, 2017.
- Matthews, D. R., J. P. Hosker, A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher, and R. C. Turner. 1985. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412–419.
- McCarthy, R. D., and E. M. Kesler. 1956. Relation between age of calf, blood glucose, blood and rumen levels of volatile fatty acids, and in vitro cellulose digestion. *J. Dairy Sci.* 39:1280–1287.
- Medvezki, D. 1989. *The Rearing of Calves*. Zemizdat, Sofia.
- Meena, S., Y. S. Rajput, and R. Sharma. 2014. Comparative fat digestibility of goat, camel, cow and buffalo milk. *Int. Dairy J.* 35:153–156.

- Mehaia, M. A., M. A. Hablas, K. M. Abdel-Rahman, and S. A. El-Mougy. 1995. Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chem.* 52:115–122.
- Mehta, V. S., A. H. A. Prakash, and M. Singh. 1962. Gestation period in camels. *Indian Vet. J.* 39:387–389.
- Meisel, H., and R. J. FitzGerald, 2003. Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr. Pharm. Des.* 9: 1289–95.
- Melfsen, A., E. Hartung, and A. Haeussermann. 2012. Accuracy of milk composition analysis with near infrared spectroscopy in diffuse reflection mode. *Biosyst. Engin.* 112:210-217.
- Michalski, M. C., R. Cariou, F. Michel, and C. Garnier. 2002. Native vs. damaged milk fat globules: Membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *J. Dairy Sci.* 85:2451–2461.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). 2007. Identificación electrónica animal: Experiencias del MAPA. (In Spanish.) MAPA, Madrid, Spain.
- Mihic, T., D. Rainkie, K. J. Wilby, and S. A. Pawluk. 2016. The Therapeutic Effects of Camel Milk: A Systematic Review of Animal and Human Trials.
- Mohamed, H. E., Mousa, H. M., and Beynen, A. C. 2005. Ascorbic acid concentrations in milk from Sudanese camels. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 89:35–37.
- Mohri, M., H. R. Moosavian, and M. J. Hadian. 2008. Plasma biochemistry of one-humped camel (*Camelus dromedarius*): Effects of anticoagulants and comparison with serum. *Res. Vet. Sci.* 85:554–558.
- Monteiro, A. P. A., J. R. Guo, X. S. Weng, B. M. Ahmed, M. J. Hayen, G. E. Dahl, J. K. Bernard, and S. Tao. 2016. Effect of maternal heat stress during the dry period on growth and metabolism of calves. *J. Dairy Sci.* 99:3896–3907.
- Morales-Olivas, F. J., and L. Estañ. La actividad de la renina plasmática. 2011. Papel de la inhibición directa de la renina. *Revista española de cardiología suplementos.* 11:3–7.
- Moreki, J. C., N. S. Ndubo, T. Ditshupo, and J. B. Ntesang. 2012. Cattle identification and traceability in Botswana. *J. Anim. Sci. Adv.* 2:925–933.
- Moslehishad, M., M. R. Ehsani, M. Salami, S. Mirdamadi, H. Ezzatpanah, A. N. Naslaji, and A. A. Moosavi-Movahedi. 2013. The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637. *Int. Dairy J.* 29:82–87.
- Motasem, I. 2013. Molecular identification and characterization of camel milk insulin. Thesis. Accessed Feb. 2, 2015. <http://ethos.bl.uk/OrderDetails.do?uin=uk.bl.ethos.604008>

- Muniyappa, R., S. Lee, H. Chen, and M. J. Quon. 2008. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. Physiol.* 294:E15–E26.
- Musaad, A., B. Faye, and A. A. Nikhela. 2013. Lactation curves of dairy camels in an intensive system. *Trop. Anim. Health Prod.* 45:1039–1046.
- Næs, T., T. Isaksson, T. Fearn, and T. Davies. 2004. A user-friendly guide to multivariate calibration and classification. NIR Publications, Charlton, Chichester, UK.
- Nagy, P., V. Faigl, J. Reiczigel, and J. Juhasz. 2015. Effect of pregnancy and embryonic mortality on milk production in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *J. Dairy Sci.* 98:975–986.
- Nagy, P., J. Skidmore, and J. Juhasz. 2013. Use of assisted reproduction for the improvement of milk production in dairy camels (*Camelus dromedarius*). *Anim. Reprod. Sci.* 136:205–210.
- Newburg, D. S., J. G. Woo, and A. L. Morrow. 2012. Characteristics and potential functions of human milk adiponectin. *The J. Pediatrics.* 156:S41–S46.
- Nieddu, G., and Caja, G. 2017. Eficiencia de identificación electrónica y recogida de datos de leche en un sistema automático para ovejas y cabras lecheras. XVII Jornadas AIDA (Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario) sobre Producción Animal, Zaragoza, España.
- O'Brien, H. D. 2017. Cranial arterial patterns of the alpaca (Camelidae: Vicugna pacos). *R. Soc. Open Sci.* 4:160967.
- OIE (World Organisation for Animal Health). 2015. Terrestrial Animal Health Code, Section 4, General recommendations: Disease prevention and control. Accessed Nov. 13, 2015. http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=titre_1.4.htm.
- Oikawa, S., and G. R. Oetzel. 2006. Decreased insulin response in dairy cows following a four-day fast to induce hepatic lipodosis. *J. Dairy Sci.* 89:2999–3005.
- Omer, R. H., and A. H. Eltinay. 2009. Changes in chemical composition of camel's raw milk during storage. *PJN* 5:607–610.
- Outwater, J. L., A. Nicholson, and N. Barnard. 1997. Dairy products and breast cancer: the IGF-I, estrogen, and bGH hypothesis. *Med. Hypotheses* 48:453–461.
- PAHCW FAO. 2017. A manual for primary animal health care worker. Accessed Feb. 2. <http://www.fao.org/docrep/t0690e/t0690e00.htm>
- Park, Y. W. 2009. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA.

- Perseghin, G., A. Caumo, M. Caloni, G. Testolin, and L. Lutz. 2001. Incorporation of the fasting plasma FFA concentration into QUICKI improves its association with insulin sensitivity in non-obese individuals. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86:4776–4781.
- Pires, J. A. A., A. H. Souza, and R. R. Grummer. 2007. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90:2735–2744.
- Puche, J. E., and I. Castilla-Cortázar. 2012. Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J. Translational Med.* 10:2–29.
- Quajd, S., and B. Kamel. 2009. Physiological particularities of dromedary (*Camelus dromedarius*) and experimental implications. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 36:19–29.
- Quan, S., H. Tsuda and T. Miyamoto. 2008. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide in skim milk fermented with *Lactobacillus helveticus* 130B4 from camel milk in Inner Mongolia, China. *J. Sci. Food Agricul.* 88, 2688–2692.
- Raei, M., G. Rajabzadeh, S. Zibaei, S. M. Jafari, and A. M. Sani. 2015. Nano-encapsulation of isolated lactoferrin from camel milk by calcium alginate and evaluation of its release. *Int. J. Biol. Macromol.* 79:669–673.
- Ram, S., B. Singh, and O. P. Dhanda. 1977. A note on genetic studies on gestation length, birth weight and intrauterine development in Indian camel (*Camelus dromedarius*). *Indian Vet. J.* 54:953–955.
- Rao, M. B., R. C. Gupta, and N. N. Dastur. 1970. Camels' milk and milk products. 23:71–78.
- Riek, A., and M. Gerken. 2006. Changes in llama (*Lama glama*) milk composition during lactation. *J. Dairy Sci.* 89:3484–3493.
- Robinson, P. H., J. M. Moorby, and D. D. Gisi. 2009. Colostrum production by primiparous and multiparous Holstein dairy cows and its usefulness as an estimator of full lactation milk yield. *Livestock Science.* 125:323–325.
- Rodríguez, C., N. Castro, J. Capote, A. Morales-delaNuez, I. Moreno-Indias, D. Sánchez-Macías, and A. Arguello. 2009. Effect of colostrum immunoglobulin concentration on immunity in Majorera goat kids. *J. Dairy Sci.* 92:1696–1701.
- Röttcher, D., D. Schillinger, E. Zwegarth. 1987. Trypanosomiasis in the camel. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.* 6:463–470.
- Royatvand, S., H. F. Hoseini, H. Ezzatpanah, M. Sekehchi. 2013. Determination of insulin concentration in camel milk using ultra violet–visible absorption spectroscopy. *J. Food Biosci. Tech.* 3:53–60.

- Salama, A. A. K., G. Caja, X. Such, R. Casals, and E. Albanell. Effect of Pregnancy and Extended Lactation on Milk production in Dairy Goats Milked Once Daily. *J. Dairy Sci.* 88:3894–3904.
- Salami, M., A. A. Moosavi-Movahedi, M. R. Ehsani, R. Yousefi, T. Haertl, and J-M. Chobert. 2010. Improvement of the antimicrobial and antioxidant activities of camel and bovine whey proteins by limited proteolysis. *J. Agric. Food Chem.* 58:3297–3302.
- Salami, M., R. Yousefi, M. R. Ehsani, M. Dalgalarondo, J. M. Chobert, and T. Haertl. 2008. Kinetic characterization of hydrolysis of camel and bovine milk proteins by pancreatic enzymes. *Int. Dairy J.* 18:1097–1102.
- Salami, M., R. Yousefi, M. R. Ehsani, S. H. Razavi, J. M. Chobert, T. Haertlé, A. A. Saboury, M. S. Atri, A. Niasari-Naslaji, F. Ahmad, A. A. Moosavi-Movahedi. 2009. Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel-lactalbumin: Possible significance for use in infant formula. *Int. Dairy J.* 19:518–523.
- Sato, T., S. Kawano, and M. Iwamoto. 1991. Near infrared spectral patterns of fatty acid analysis from fats and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68:827–833.
- Sayed-Ahmed, A., P. Rudas, T. Bartha. 2005. Partial cloning and localisation of leptin and its receptor on the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Vet. J.* 170:264–267.
- Sawaya, W. N., J. K. Khalil, and A. Al-Shalhat. 1984. Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food Sci.* 49:744–747.
- Schenk, J. S., J. Workman, and M. O. Westerhaus. 1992. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In: D. Burns and E. Ciurczak eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*. Marcel Dekker, New York, USA. Pp. 382–481.
- Schmidt-Nielsen, B., K. Schmidt-Nielsen, T. R. Houpt, S. A. Jamum. 1956. Water balance of the camel. *Am. J. Physiol.* 185:185–94.
- Schmidt-Nielsen, K. 1959. The physiology of the camel. *Sci. Am.* 201:140–151.
- Schmidt-Nielsen, K. 1997. *Animal physiology: adaptation and environment*. Cambridge University Press.
- Schmidt-Nielsen, K., E. C. Crawford, and H. T. Hammel. 1981. Respiratory water loss in camels. *Proceedings of the Royal Society of London B Biol. Sci.* 211:291–304.
- Schulz, U. 2008. El camello en Lanzarote. Asociación para el Desarrollo Rural de Lanzarote. Ed. ADERLAN. Lanzarote. Canarias. España. pp. 210.
- Schulz, U., I. Tupac-Yupanqui, A. Martínez, S. Méndez, J.V. Delgado, M. Gómez, S. Dunner, and J. Cañón. 2010. The Canarian Camel: A traditional dromedary population. *Diversity* 2:561–571.

- Schutt, L. K., and P. V. Turner. 2010. Microchip-associated sarcoma in a shrew (*Suncus murinus*). *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 49:638–641.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S., J. M. Stookey, and R. Welford. 1997. Behavior of cattle during hot-iron and freeze branding and the effects on subsequent handling ease. *J. Anim. Sci.* 75:2064–2072.
- Seroussi, E., E. Yakobson, S. Garazi, Z. Oved, and I. Halachmi. 2011. Long-term survival of flag eartags on an Israeli dairy farm. *J. Dairy Sci.* 94:5533–5535.
- Shalash, M. R. 1984. The production and utilization of camel milk. Pp. 196–208. In *The Camelid: An all-purpose animal*, W. R. Cockrill, Uppsala, Sweden.
- Shapiro, M., B. London, D. Nigri, A. Shoss, E. Zilber, and I. Fogel. 2016. Middle East respiratory syndrome coronavirus: review of the current situation in the world. *Disast. Military Med.* 2:9.
- Shehadeh, N., N. Aslih, S. Shihab, M. J. Werman, R. Sheinman, and R. Shamir. 2006. Human milk beyond one year post-partum: Lower content of protein, calcium, and saturated very long-chain fatty acids. *J. Pediatr.* 148:122–124.
- Shori, A. B. 2015. Camel milk as a potential therapy for controlling diabetes and its complications: A review of in vivo studies. *J. Food Drug Anal.* 23:609–618.
- Shepherd, P. R., and B. B. Kahn. 1999. Glucose transporters and insulin action. Implications for Insulin Resistance and Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.* 341:248–257.
- Shimamoto, H., and S. Komiya. 2000. The Turnover of Body Water as an Indicator of Health. *J. Physiol. Anthropol.* 19:207–212.
- Shuiep, E. T. S., I. J. Giambra, I. E. Y. M. El Zubeir, and G. Erhardt. 2013. Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of κ -casein in Sudanese camel (*Camelus dromedarius*) milk. *Int. Dairy J.* 28:88–93.
- Skidmore, J. A., M. Billah, M. Binns, R. V. Short and W. R. Allen. 1999. Hybridizing Old and New World camelids: *Camelus dromedarius x Lama guanicoe*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 266:649–656.
- Smith, C. C., and C. K. Cebra. 2009. Effects of Exenatide on Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Alpacas. *J. Vet. Intern. Med.* 23:919–925.
- Smith, C. C., C. K. Cebra, J. R. Heidel, and B. V. Stang. 2013. Anti-glucagon-like peptide-1 immunoreactivity in samples of blood and ileum obtained from neonatal and adult alpacas. *Am. J. Vet. Res.* 74:1409–1414.
- Stein, F. J., S. C. Geller, and J. C. Carter. 2003. Evaluation of microchip migration in horses, donkeys, and mules. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223:1316–1319.

- Sumar, J. 1983. Studies on reproductive pathology in alpacas. MS Thesis. Department of Obstetrics and Gynaecology, College of Veterinary Medicine, Swedish University of Agriculture and Science, Uppsala.
- Tayefi-Nasrabadi, H., M. A. Hoseinpour-fayzi, and M. Mohasseli. 2011. Effect of heat treatment on lactoperoxidase activity in camel milk: A comparison with bovine lactoperoxidase. *Small Rumin. Res.* 99:187–190.
- Taylor, K. M., D. A. Hungerford, R. L. Snyder, and Jr F. A. Ulmer. 1968. Uniformity of karyotypes in the Camelidae. *Cytogenet. Genome Res.* 7:8–15.
- Tefera, M. 2004. Observations on the clinical examination of the camel (*Camelus dromedarius*) in the field. *Trop. Anim. Health Prod.* 36:435–449.
- Tibary, A., and A. Anouassi. 1997. *Theriogenology in Camelidae*. Abu Dhabi Printing, Mina, Abu Dhabi, UAE.
- Tornquist, S. J., R. J. Van Saun, B. B. Smith, C. K. Cebra, and S. P. Snyder. 1999. Hepatic lipidosis in llamas and alpacas: 31 cases (1991–1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214:1368–1372.
- Tsenkova, R., S. Atanassova, K. Toyoda, Y. Ozaki, K. Itoh, and T. Fearn. 1999. Near infrared spectroscopy for dairy measurement: Measurement of unhomogenized milk composition. *J. Dairy Sci.* 82:2344-2351.
- Tsenkova, R., S. Atanassova, H. Morita, K. Ikuta, K. Toyoda, I. K. Iordanova, and E. Hakogi. 2006. Near infrared spectra of cows' milk for milk quality evaluation: disease diagnosis and pathogen identification. *J. Near Infrared Spec.* 14: 363-370.
- Tsenkova, R., S. Atanassova, S. Kawano and K. Toyoda. 2001. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: a new diagnostic tool. *J. Anim. Sci.* 79:2550-2557.
- Urquieta, B., and J. R. Rojas. 1990. Studies on the reproductive physiology of the vicuña (*Vicugna vicugna*). *Livestock reproduction in Latin America. Proceedings of the Final Research Coordination Meeting of the FAO-IAEA-ARCAL, Vienna*, pp. 407–428.
- Vallenas, A., J. F. Cummins, and J. F. Munnell. 1971. A gross study of the compartmentalized stomach of two New World camelids, the llama and guanaco. *J. Morphol.* 134:399–423.
- Vander, A. J., J. H. Sherman, and D. S. Luciano. 1994. *Human Physiology*, 6th edition. McGraw Hill Inc. New York.
- Van Neerven, R. J. J., E. F. Knol, J. M. L. Heck, and H. F. J. Savelkoul. 2012. Which factors in raw cow's milk contribute to protection against allergies? *J. Allergy Clin. Immunol.* 130:853–858.

- Vascellari, M., E. Melchioni, and F. Mutinelli. 2006. Fibrosarcoma with typical features of postinjection sarcoma at site of microchip implant in a dog: Histologic and immunohistochemical study. *Vet. Pathol.* 43:545–548.
- Vega, J. R., C. A. Gibson, T. C. Skaar, D. L. Hadsell, and C. R. Baumrucker. 1991. Insulin-like growth factors (IGF-1) and IGF binding protein in serum and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 69:2538–2544.
- von Engelhardt, W., P. Haarmeyer, M. Kaske, and M. Lechner-Doll. 2006. Chewing activities and oesophageal motility during feed intake, rumination and eructation in camels. *J. Comp. Physiol. B* 176:117–124.
- Vorland, L. H. 1999. Lactoferrin: A multifunctional glycoprotein. Review article. *APMIS* 107: 971.
- Wardeh, M. F., M. Dawa, M. S. Soghmani, and M. M. Ould Al Mustafa. 1990. The nutritive value of preferred plant species by camels. *Int. Conf. Camel production and Improvement. Tobruk, Libya*, pp. 126–145.
- Wenswoort, J., D. J. Kyle, E. R. Ørskov, and D. A. Bourke. 2004. Biochemical adaptation of camelids during fasting. *J. Camel Sci.* 1:71–75.
- Wernery, U., M. E. Fowler, and R. Wernery. 1999. *Color Atlas of Camelid Hematology*. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, Germany.
- Wikipedia. 2016. Accessed Dec. 10, 2016. <https://es.wikipedia.org/wiki/Camelidae>
- Wilson, R. T. 1989. *Ecophysiology of the Camelidae and Desert Ruminants*. Springer-Verlag, Berlin.
- Wilson, R. T. 1984. *The Camel*. Longman Group Ltd., Harlow, Essex, UK.
- Wilson, R. T. 1989. The nutritional requirements of camel. *Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches* 2:171–179.
- World Health Organization – Food and Agricultural Organization of the United Nations (WHO-FAO). 2015. *Codex Alimentarius: International food standards*. Accessed Jul. 10, 2016. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/en/>.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2016. *Terrestrial animal health code. Chapter 4.1. General principles on identification and traceability of live animals*. Accessed Jul. 10, 2016. http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/accessonline/?htmfile=chapitre_ident_traceability.htm.

- World Small Animal Veterinary Association. 2016. Microchip identification guidelines. Accessed Apr. 23, 2016. <http://www.wsava.org/guidelines/microchip-identification-guidelines>.
- WSAVA (World Small Animal Veterinary Association). 2016. Microchip identification guidelines. Accessed Apr. 23, <http://www.wsava.org/guidelines/microchip-identification-guidelines>.
- Wu, H., X. Guang, M. B. Al-Fageeh, J. Cao, S. Pan, H. Zhou, L. Zhang, M. H. Abutarboush, Y. Xing, Z. Xie, A. S. Alshanqeeti, Y. Zhang, Q. Yao, B. M. Al-Shomrani, D. Zhang, J. Li, M. M. Manee, Z. Yang, L. Yang, Y. Liu, J. Zhang, M. A. Altammami, S. Wang, L. Yu, W. Zhang, S. Liu, L. Ba, C. Liu, X. Yang, F. Meng, S. Wang, L. Li, E. Li, X. Li, K. Wu, S. Zhang, J. Wang, Y. Yin, H. Yang, A. M. Al-Swailem, and J. Wang. 2014. Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments. *Nat. Commun.* 5, P5188.
- Wulf, M., C. Aurich, M. von Lewinski, E. Möstl, and J. E. Aurich. 2013. Reduced-size microchips for identification of horses: Response to implantation and readability during a six-month period. *Vet. Rec.* 173:451–454.
- Yagil, R. 1985. The desert camel: Comparative physiological adaptation. Comparative animal nutrition. Ed. Karger. Basel. Switzerland.
- Yagil, R., and G. M. Berlyne. 1977. Glucose loading and dehydration in the camel. *J. Appl. Physiol.* 42:690–693.
- Yagil, R., and Z. Etzion. 1980. Effect of drought condition on the quality of camel milk. *J. Dairy Res.* 47:159–166.
- Yagil, R., O. Zagorski, C. von Creveld, A. Saran. 1994. Science and camel milk production. In: Chameaux et dromedaires, animeaux laitiers. Saint-Martin, G. Expansion Scientifique Francaise, Paris.
- Yancey, P. H. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *J. Exp. Biol.* 208:2819–2830.
- Yki-Järvinen H., A. A. Young, C. Lamkin, and J. E. Foley. 1987. Kinetics of glucose disposal in whole body and across the forearm in man. *J. Clin. Invest.* 79:1713–1719.
- Zagorski, O., A. Maman, A. Yaffe, A. Meisler, C. Van Creveld, and R. Yagil. 1998. Insulin in milk-a comparative study. *Int. J. A. Sci.* 13:241–244.
- Zhang, H., J. Yao, D. Zhao, H. Liu, J. Li, and M. Guo. 2005. Changes in Chemical Composition of Alxa Bactrian Camel Milk During Lactation. *J. Dairy Sci.* 88:3402–3410.

- Zhao, D., Y. Bai, and Y. Niu. 2015. Composition and characteristics of Chinese Bactrian camel milk. *Small Rumin. Res.* 127:58–67.
- Ziane, M., O. Couvert, P., Le, B. Moussa-boudjemaa, and I. Leguerinel. 2016. Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria. *Small Rumin. Res.* 137:59–64.