

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**SUPLEMENTACIÓN DE NIVELES BAJOS DE TANINOS EN LA DIETA DE NOVILLOS
HOLSTEIN EN ENGORDA**

TESIS

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS
PRESENTA**

M.V.Z. Ernesto Rafael Constantino Jiménez

Director de Tesis

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez

Co-Director de Tesis

Dr. Martín Francisco Montaña Gómez

Asesores

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra

Dr. José Fernando Calderón y Cortés

M.C. Ramón Manuel Valenzuela Padilla

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

ENERO DE 2014

Suplementación de niveles bajos de taninos en la dieta de novillos Holstein en engorda. Tesis presentada por Ernesto Rafael Constantino Jiménez como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Sistemas de Producción Animal, que ha sido aprobada por el comité particular indicado:

Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez
Director Principal

Dr. Martin Francisco Montaña Gómez
Co- Director

Dr. Víctor Manuel González Vizcarra
Asesor

Dr. José Fernando Calderón y Cortés
Asesor

Mc. Ramón Manuel Valenzuela Padilla
Asesor

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	4
HIPÓTESIS.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Definición y clasificación de taninos.....	6
Taninos y su efecto en la ingestión voluntaria.....	7
Taninos y su efecto en la digestibilidad de la dieta.....	8
Privación del sustrato.....	10
Inhibición enzimática.....	11
Acción sobre los microorganismos ruminales.....	12
Efecto sobre la producción de ácidos grasos volátiles.....	12
Efecto sobre otras moléculas.....	14
Interacción de taninos y almidón.....	14
Interacción de taninos y celulosa.....	14
Efecto sobre las enzimas digestivas.....	15
Degradación de proteínas y aminoácidos en el rumen.....	17
Proteína de sobre paso.....	18
Protección de las proteínas de la degradación ruminal.....	20
Efecto de los taninos sobre la digestión de proteínas.....	21
Efecto de los taninos sobre la absorción de aminoácidos.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	33
LITERATURA CITADA.....	34

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes y composición nutrimental de las dietas experimental	28
Tabla 2. Influencia de los tratamientos sobre las características de digestión en rumen y tracto total	30

AGRADECIMIENTOS

El finalizar una meta siempre nos llevamos con nosotros buenas y malas experiencias, nuevas y hasta increíbles momentos que nunca pensamos vivir, sin embargo todo esto no hubiese sido posible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para que este arduo trabajo de 2 años llegue a un feliz término.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Baja California, que por medio del Instituto de Investigaciones de Ciencias Veterinarias en conjunto con la coordinación de dicho instituto permitieron mi ingreso al programa de Maestría en Ciencias Veterinaria.

A mis asesores de tesis Dr. Martin Francisco Montaña Gómez y Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez por la orientación y ayuda que me brindaron en todo momento, por su apoyo y amistad.

A mi comité de tesis por su confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas el cual ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de mi tesis, sino también en mi formación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por su apoyo económico durante el programa de maestría.

Al PhD. Richard A. Zinn, Profesor-Investigador de la Universidad de California, Davis, EUA, por su amabilidad en permitirme una estancia internacional en su laboratorio, y por todas sus atenciones y consejos.

DEDICATORIA

A Dios; por permitirme finalizar una etapa mas de mi vida profesional y personal, Sabiendo que sin la ayuda de El esto no hubiera sido posible.

A mis Padres; Ezequiel Constantino Villatoro y Teresa Jiménez Aguilar por ser lo más importante en esta etapa y de mi vida, han sido un ejemplo a seguir. Por su apoyo, consejos, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles, porque creyeron en mi dándome ejemplos dignos de superación y entrega, forjando mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia y coraje

A mis hermanas; Tere y Nice por sus consejos, motivación y apoyo.

A mi tía Silalydia que siempre será parte importante en toda mi vida Por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

Gracias a todos ya que de alguna u otra manera fueron importantes en la culminación de esta etapa de mi vida, gracias por su amistad y consejos.

RESUMEN

Se utilizaron seis novillos raza Holstein (280 kg PVV) habilitados con cánulas tipo “T” rumen y en duodeno, con comedero individual y bebedero automático compartido. Se utilizó un diseño de Cuadrado Latino Replicado 3 x 3 con el fin de evaluar el efecto de la incorporación directa de taninos con proteína soluble sobre el incremento del flujo de aminoácidos metabolizables a intestino delgado. La dieta basal (DB) fue formulada (BMS) en base a maíz amarillo hojueado. Se añadió 0.40% de óxido crómico como marcador inerte para cálculo del flujo a duodeno y de excreción fecal de materia seca (MS). Los tratamientos consistieron en el nivel de suplementación (BMS) de ByPro[®] en la dieta (0, 0.3 y 0.6%). La dieta basal contó con 11% de suplemento líquido (proporcionando un total de 2% proteína soluble en la dieta a partir de Ultraferm[®]). Los taninos fueron mezclados con suplemento líquido antes de su incorporación a la dieta final. El consumo (BMS) se ajustó al 2.2% del peso vivo vacío, ofreciéndose durante la prueba alimento fresco en forma diaria en dos porciones iguales. El experimento consistió en tres períodos experimentales de 14 días. No se observaron efectos de los tratamientos ($P \geq 0.10$) sobre las características de digestión en rumen ni tracto total. Solo se observó una tendencia lineal ($P \leq 0.10$) en cuanto a incremento de N amoniacal en duodeno y excreción fecal de almidón y N a medida que se incrementó la suplementación de ByPro. Al mismo tiempo, se observó que la digestión total de almidón tendió a disminuir linealmente ($P \leq 0.10$) en respuesta al incremento de ByPro en la dieta. Acorde con los resultados

observados, podemos concluir que los bajos niveles de taninos condensados utilizados no fueron capaces de afectar la eficiencia digestiva.

Palabras clave: Bovinos, digestión, taninos, proteína, Holstein

ABSTRACT

Six steers Holstein cows (280 kg PVV) cannulas-enabled type "T" rumen and in duodenum, with automatic individual and drinker feeder sharing were used in a Latin square design replicated 3 x 3 in order to assess the effect of the direct incorporation of tannins with soluble protein on the diet efficiency. The basal diet (DB) was formulated (BMS) based on steam-flake yellow corn. We added 0.40% of chromic oxide as inert marker for calculation of flow to duodenum and fecal excretion of matter dry (MS). The treatments consisted of ByPro® (BMS) supplementation in the diet level (0, 0.3 and 0.6%). The basal diet was 11% of liquid supplement (providing a total of 2% in the diet from Ultraferm ® soluble protein). The tannins were mixed with liquid supplement prior to the final diet. Consumption (DMB) was adjusted to 2.2% of the empty live weight, offering fresh food on a daily basis in two equal parts during the test. The experiment consisted of three experimental periods of 14 days. No effects were observed in treatments ($P \geq 0.10$) on characteristics of rumen digestion or total tract. There was only a linear trend ($P \leq 0.10$) in terms of increase in ammonia N in duodenum and fecal excretion of starch and N to ByPro supplementation increased. At the same time, it was observed that total digestion of starch tended to decrease linearly ($P \leq 0.10$) in response to the increase of ByPro dietary. Consistent with the observed results, we can conclude that low levels of condensed tannins used were not capable of affecting the digestive efficiency.

Key words: Cattle, digestion, tannin, protein, Holstein

Introducción

La nutrición de rumiantes comprende la alimentación de dos ecosistemas secuenciales. El primer ecosistema es el microbiano-ruminal, cuyas demandas y prioridades nutricionales son para sí mismos, mientras que sus productos finales constituyen la fuente primaria de nutrientes para el segundo ecosistema, el de los tejidos del rumiante (Ellis et al., 1999).

La proteína dietaria que entra al rumen puede ser fraccionada y convertida por los microorganismos a ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco (NH_3), o puede escapar de la degradación y ser digerida y absorbida en el intestino delgado en forma de aminoácidos.

La proteína microbiana más la proteína de sobre paso son las encargadas de proveer de aminoácidos al animal; cuando la degradación de proteína es demasiado rápida, los microorganismos ruminales son incapaces de utilizar todos los péptidos, aminoácidos y amoníaco liberados, provocando un desbalance entre la proteína degradada y la proteína sintetizada, provocando finalmente una pérdida de N en forma de amoníaco (Broderick, 1996 y Huntington, 1999).

Las proteínas pueden ser protegidas por tratamientos físicos y químicos para reducir su solubilidad e incrementar la cantidad de aminoácidos digeridos en el intestino delgado (Van soest, 1994). La razón para proteger la proteína de la dieta es para evitar la degradación de la proteína de alta calidad y para reducir el desperdicio de amoníaco a nivel ruminal.

Los taninos, definidos como polifenoles, son sustancias presentes en casi todas las plantas, pero particularmente importantes en las leguminosas. En la naturaleza vamos a encontrar dos tipos distintos de taninos, los taninos condensados y los taninos hidrolizados. Los taninos condensados (TC) están formados por flavonoides unidos vía átomos de carbono. Los taninos hidrolizados están formados por ésteres de ácido gálico y dímeros de ácido gálico, digálico con monosacáridos.

Los TC pueden presentar efectos positivos o negativos. Un efecto positivo de cierto tipo de TC presentes en especies de leguminosas es que protegen la proteína vegetal de la degradación microbiana en el rumen y de esa forma la hacen disponible para el uso directo del animal (proteína de sobre paso). Por otra parte, niveles altos de TC reducen la digestibilidad de las dietas en rumiantes. Los taninos son interesantes en alimentación de rumiantes porque reaccionan con las proteínas creando una unión. La formación de complejos tanino-proteína tiene lugar en el rumen a un pH de 5.5-7.2, lo que convierte a las proteínas en indigestibles para la población ruminal, que sólo llegan a ser solubles en el pH del abomaso (<3.5) y del intestino delgado, por lo que se liberan para la digestión y absorción por parte del animal.

Los taninos hidrolizados se unen a la proteína por interacciones hidrofóbicas, que van a resultar más débiles a nivel abomasal y van a aumentar la cantidad de proteína de paso digestible a nivel intestinal, lo que mejoraría el balance de nitrógeno, ya que una menor cantidad de nitrógeno sería excretado por las heces. Es por esto que el objetivo del trabajo es evaluar la influencia de la suplementación de taninos en dietas para novillos en finalización.

Por todo lo antes mencionado cabe la importancia de buscar alternativas para proteger a la proteína, una de ellas es la adición de taninos a la dieta. Estos polifenoles actúan en la alimentación de rumiantes en virtud de su capacidad de reaccionar con las proteínas creando una unión. La formación de complejos tanino-proteína tiene lugar en el rumen a un pH de 5,5-7,2, lo que convierte a las proteínas en indigestibles para la población ruminal, que sólo llegan a ser solubles en el pH del abomaso (<3,5) y del intestino delgado, por lo que se liberan para la digestión y absorción por parte del animal.

OBJETIVO

Evaluar la influencia de la suplementación de niveles bajos de taninos sobre las características de digestión en la dieta de novillos Holstein en engorda.

Hipótesis

La inclusión de niveles bajos de taninos puede incrementar la eficiencia digestiva de dietas para novillos Holstein en engorda.

REVISIÓN DE LITERATURA

Definición y clasificación de taninos

Los taninos, definidos como polifenoles, son sustancias presentes en casi todas las plantas, pero particularmente importantes en las leguminosas. Su distribución en ellas depende de la especie y en la célula vegetal se encuentra en las vacuolas citoplasmáticas o en la pared celular. La cantidad de estas sustancias en la planta depende de distintos factores como son la genética, el grado de madurez, la estación climática, etc.

Se consideran como un mecanismo de defensa frente a microorganismos y frente a la destrucción por parte de herbívoros. También se sospecha que pueden funcionar como reguladores del crecimiento en las plantas, ya que su incremento en la periferia de las plantas y en condiciones de alta luminosidad hace sospechar un mecanismo protector contra el estrés producido por la luz del sol. Además, se cree que son agentes antioxidantes y que gracias a su estructura helicoidal impiden la ruptura celular en caso de deficiencias de agua.

En la naturaleza vamos a encontrar dos tipos distintos de taninos, los taninos condensados y los taninos hidrolizados. Los taninos condensados están formados por flavonoides unidos vía átomos de carbono. Los productos con estos taninos se fabrican en su mayoría a partir de la madera del quebracho.

Los taninos hidrolizados están formados por esterres de ácido gálico y dímeros de ácido gálico, digálico con monosacáridos. Aparecen en los preparados comerciales que provienen en su mayoría de la madera del castaño. (Lasa et al, 2010). Se distinguen por las siguientes cinco características: 1. solubilidad en agua, 2. masa molecular en 500 y 3000, 3. Estructura y carácter polifenólico (12 – 16 grupos fenólicos y 5 – 7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa, 4. Complejidad intermolecular, 5. Características estructurales. (Isaza, 2007).

Los taninos y su efecto en la ingestión voluntaria

El efecto de los taninos puede verse influenciado por factores tales como el tipo, concentración, estructura y peso molecular, el resto de los componentes de la dieta y la especie y fisiología del animal que los consume (Hagerman y Butler, 1991). Por lo tanto, los resultados que se encuentran en la literatura disponible sobre su efecto en el consumo voluntario son muy diversos e inclusive pueden parecer contradictorios.

Haciendo un recuento, son más numerosos los trabajos en los que se han observado efectos a partir de concentraciones moderadas de taninos (< 50 g/kg MS; tanto condensados como hidrolizables), en comparación a aquellos en los cuales se han probado concentraciones altas (> 50 g/kg MS). Algunos autores han reportado que la ingestión de un elevado contenido de taninos condensados (> 50 g/kg MS) reduce significativamente la ingestión de energía metabolizable (EM), debido principalmente a una reducción del consumo voluntario y de la degradación de la materia orgánica

(Barry y Duncan, 1984; Leinmuller et al., 1991; Lee et al., 1992; Makkar, 1993; Silanikove et al., 1994).

En la actualidad, y debido a una progresiva investigación sobre los efectos de estos compuestos fenólicos, es que se posee una mayor información de cómo actúan sobre la ingestión voluntaria factores tales como tipo, dosis, especie que los consumen, entre otros. Barry et al. (1986b) y Waghorn y Shelton (1995) señalaron que en respuesta al consumo de TC (55g/kg MA) disminuyó el consumo de alimento en ovejas pastoreando *Lotus pedunculatus*. Por su parte, Waghorn et al. (1994a), observaron que en ovejas consumiendo el mismo pasto, se produjo una reducción del 12% de la ingestión voluntaria, al compararlos con animales que recibieron una suplementación de polietilenglicol (PEG), sustancia que posee una gran afinidad por los taninos y se utiliza para bloquear los efectos negativos de los mismos. Esto concuerda con lo expuesto por otros autores, quienes sostienen que la ingestión voluntaria de MS no se ve afectada cuando son ofrecidas dietas con un contenido de TC menor a 50 g/kg MS (Barry y Manley, 1984; Barry y Manley, 1986).

Los taninos y su efecto en la digestibilidad de la dieta

Varios autores han publicado trabajos sobre de la capacidad que tienen los taninos para disminuir la digestibilidad de las proteínas principalmente, pero también de otras sustancias, como polisacáridos, alcaloides, ácidos nucleicos etc. (Barry et al.,

1986b; Waghorn et al., 1990; 1994b; Waghorn y Shelton, 1995; Komolong et al., 2001; McSweeney et al., 2001b). No podemos dejar de mencionar que los taninos no modifican la digestibilidad de todos los componentes de la dieta por igual (Kumar y Singh, 1984; Kumar y D'Mello, 1995). Horigone et al. (1988) hicieron la observación de que los taninos reducían la digestibilidad de la hemicelulosa, pero no así la de la celulosa. Así mismo, pueden ser afectada la digestibilidad de diversos aminoácidos, esenciales o no (Barry y Manley, 1984; Waghorn et al., 1987a; 1994b; Lee et al., 1992; Schwab, 1995; Wang et al., 1996c; McMahon et al., 2000).

Los cambios en la digestibilidad que se originan por el agregado de taninos a la dieta, se relacionan fundamentalmente con cambios en la fermentación ruminal (Waghorn et al., 1994b; Waghorn y Shelton, 1995; Waghorn, 1996; Kobeisy et al., 1999), y posteriormente con cambios en la digestibilidad intestinal.

Algunos autores comentan que las pruebas más evidentes de que los taninos reducen la digestibilidad de los alimentos, es el incremento en la excreción fecal de nitrógeno a medida que aumenta el contenido de taninos en la dieta (Mitjavila et al., 1977; Barry y Duncan, 1984; Mitaru et al., 1984; Bernays et al., 1989; Dawson et al., 1999; Komolong et al., 2001). Esto puede explicarse ya que, los taninos al ser incorporados mediante la dieta, aumentan la secreción de proteínas endógenas (glicoproteínas salivares, moco, enzimas digestivas y células del intestino (Mehansho et al., 1987; Waghorn, 1996). Por lo tanto, el aumento del nitrógeno fecal podría corresponder a un aumento del nitrógeno metabólico fecal, de origen microbiano, más

que a una menor cantidad de proteína de la dieta absorbida a nivel intestinal (Mitjavila et al., 1977; Mitaru et al., 1984; Silanikove et al., 1994; Dawson et al., 1999; Hervás, 2001)

Es conocido y aceptado que los taninos reducen la degradación ruminal de diferentes componentes de la dieta. A pesar de esto, los mecanismos de acción a través los cuales se llevan a cabo, no están del todo claros. Dentro de los más reconocidos encontramos los siguientes: privación de sustrato (Scalbert, 1991; McAllister et al., 1994b; McMahon et al., 2000), inhibición enzimática (Barry y Manley, 1984; Makkar *et al.*, 1988; Bae et al., 1993; Jones et al., 1994) y acción directa sobre los microorganismos ruminales (Leinmuller et al., 1991; Scalbert, 1991).

Privación de sustrato

Los taninos pueden bloquear o atenuar la habilidad de las bacterias ruminales para adherirse a las proteínas, acción fundamental para que luego estas puedan ser degradadas (Chiquette et al., 1988; McAllister et al., 1994; Aharoni et al., 1999). Los taninos puede originar la precipitación de las enzimas extracelulares de los microorganismos ruminales, imposibilitando la fijación a los alimentos (Barry y Manley, 1984).

Varios autores han mencionado que la presencia de estos compuestos en el rumen disminuyen la actividad fermentativa y la multiplicación celular, ya que los

taninos forman complejos con las proteínas y los carbohidratos, disuadiendo el ataque de los microorganismos ruminales (Driedger y Hatfield, 1972; Mangan, 1988; Mueller-Harvey y McAll an, 1992). Scalbert (1991), determinó que los taninos oxidados poseían un efecto tóxico sobre las bacterias metanogénicas.

Inhibición enzimática

McSweeney et al. (2001b), señalan que los taninos son considerados inhibidores del crecimiento de los microorganismos, aunque en la actualidad no se han determinado con exactitud los mecanismos implicados. Se ha observado que la reacción de los taninos frente algunas de las enzimas microbianas (bacterianas y fúngicas) es de privación o reducción de su actividad, debido principalmente al bloqueo del transporte de nutrientes y a una disminución del crecimiento microbiano (Kumar y Singh, 1984; Makkar et al., 1988; McAllister et al., 1994b; Molan et al., 1998; McSweeney et al., 2001b), lo cual pudiera alterar la proporción de la población microbiana en el rumen (Mueller-Harvey y McAllan, 1992; McSweeney et al., 2001b), de forma tal que afecte a los componentes finales de la fermentación.

Nelson et al. (1997), determinaron que las diversas respuestas a la presencia de taninos obedecen a cada microorganismo ruminal, lo que pone de manifiesto la susceptibilidad entre cepas bacterianas. Por otra parte, es importante mencionar que el complejo formado entre los taninos y las enzimas, ya sean bacterianas o endógenas, no involucra necesariamente una disminución de su actividad (Makkar et al., 1988).

Acción sobre los microorganismos ruminales

Algunos autores han observado la posibilidad de que los taninos infieran sobre los microorganismos ruminales, provocando directamente modificaciones en la permeabilidad de las membranas, o produciendo deficiencias nutritivas, lo cual acarrearía como consecuencia tanto la reducción del ritmo de crecimiento como la reproducción de los microorganismos y, por lo tanto, se vería afectada la fermentación en el rumen (Leinmüller et al., 1991; Scalbert, 1991).

Efecto sobre la producción de ácidos grasos volátiles

La concentración de AGV totales de las muestras tratadas con taninos fue similar a la de las muestras control al final del experimento ($P = 0,534$), independientemente de la fuente de tanino (TQ o AT, $P = 0,828$). No obstante, se encontraron diferencias durante las primeras 12 horas ($P = 0,033$), también independientes de la fuente de taninos ($P = 0,410$). La concentración de ácido propiónico disminuyó ($P < 0,001$) por el tratamiento con cualquiera de los dos taninos. Al inicio de la incubación, la relación acetato:propionato (c2:c3) fue aproximadamente de 4.6, mientras que al final del ensayo esta ratio cayó hasta 2.1 en el trigo control. El tratamiento con taninos fue responsable de una moderación en la caída de la ratio c2:c3, aunque este efecto fue significativo ($P = 0,013$) únicamente durante las primeras 12 horas. En relación con el ácido butírico, también se encontraron diferencias en la

concentración de este AGV debidas a los taninos, que persistieron a lo largo de todo el ensayo, pero fueron más manifiestas entre las 8 y 36 horas ($P = 0,002$). La concentración de AGV de cadena ramificada (AGV-CR) fue afectada claramente debido al tratamiento con los taninos ($P = 0,009$), independientemente del tipo ($P = 0,872$). Este último resultado indica una clara inhibición de la hidrólisis de la matriz proteica que constituye el endospermo del grano de trigo, puesto que los AGV ramificados proceden directamente de la fermentación de los aminoácidos ramificados (Bhat et al., 1998).

La disminución en la producción de AGV puede explicarse mediante una menor fermentación microbiana de la proteína y de la fibra del grano de trigo debida al tratamiento con los taninos. Es de destacar que esta influencia es menos evidente después de las 24 horas de incubación, apuntando este hecho a un efecto no persistente que algunos autores han justificado por una hidrólisis microbiana de los taninos (Bhat et al., 1998), pero es mucho más probable que se deba a que el tratamiento con taninos aplicados externamente es fácilmente superable por la microbiota ruminal (Martínez et al., 2004). Las alteraciones observadas en la producción de AGV, particularmente durante las primeras 12 horas de incubación, indican que los taninos, tanto hidrolizables como condensados, aplicados a los granos de trigo disminuyen su degradación in vitro, y sugieren pueden tener valor para regular la hidrólisis ruminal de los cereales rápidamente fermentables utilizados para alimentación de rumiantes.

Efecto sobre otras moléculas

Los taninos también forman complejos con otras macromoléculas presentándose disminución de la digestibilidad de celulosa, hemicelulosa, almidones y materia seca (Garg y Nath, 1990). Los almidones forman complejos catequina-almidón lo cual impide la utilización de las moléculas de almidón por parte de los organismos. Los almidones y la celulosa forman complejos con los taninos (especialmente con los taninos condensados).

Interacción taninos y almidón

Los almidones tienen la habilidad de formar cavidades que permiten formar complejos con taninos y muchas otras moléculas lipofílicas. Solo los almidones entre las moléculas que son atrapadas por los taninos tienen esta característica. (Buttler, 1990).

Interacción taninos y celulosa

La celulosa tiene una interacción directa de superficie con los taninos. Los carbohidratos de la pared celular y su interacción con taninos está menos entendida. Una explicación es que los taninos se asocian con la pared celular de la planta como

una manera de asemejarse a la lignina, sin embargo, otra explicación es que los taninos son meramente un artefacto aislado de las células no vivas y su localización en la pared celular es completamente diferente en las células vivas que en las células de las plantas después de la digestión por los animales.

La interacción taninos-carbohidratos se incrementa por carbohidratos de alto peso molecular, baja solubilidad y flexible conformación; esta interacción se basa probablemente en las formas hidrofóbicas y uniones de hidrógenos. Los grupos carboxilo y/o hidroxilo de los polifenoles pueden formar complejos con los metales catiónicos, estos complejos se disocian a diferentes valores de pH ya que las sales minerales se precipitan a medida que se incrementa el pH y el precipitado se disuelve a medida que el pH desciende (Reddy et al., 1985). En el complejo formado por tanino-hierro hace que se presente un descenso en la hemoglobina ocasionando anemia en los animales (Rozo et al., 1985).

Efecto sobre las enzimas digestivas

Las enzimas digestivas como la amilasa, lipasa y tripsina son fuertemente inhibidas por los taninos condensados, afectando en esta forma la digestibilidad de y almidones, grasas y proteínas (Dale, 1985). Los taninos condensados inhiben más la

tripsina que los taninos hidrolizables mientras que estos últimos inhiben la lipasa y ambos inhiben amilasa. A todos estos factores se atribuye el incremento en los niveles de nitrógeno y del contenido de lípidos en las heces de animales alimentados con sorgos ricos en taninos (Buttler, 1990). Pero también se incrementa la materia seca excretada y el nitrógeno fecal de origen endógeno en aves y ratas (Mitjavalía et al., 1977). Existiendo una correlación negativa altamente significativa entre taninos condensados y la retención de nitrógeno (Trindade et al 1979).

La magnitud del efecto inhibitorio de las enzimas digestivas por acción de los taninos se ha relacionado con los siguientes factores:

- a) La cantidad de la proteína dietaria.
- b) Formación de complejos tanino - proteína antes de la ingestión
- c) Inhibición de varias enzimas en el tracto digestivo.
- d) Diferencias de afinidad entre los taninos y las enzimas digestivas
- e) El pH del tracto digestivo.
- f) El tipo y fuente del tanino.
- g) Especie y edad del animal.

Jaramillo et al. (1994) sugieren que los taninos condensados de muy bajo peso molecular o altamente polimerizados tendrían menor capacidad para precipitar proteínas y por ende menor efecto inhibitorio de las enzimas digestivas in vitro. HTs y PAs forman complejos tanino proteína de manera similar, las proteínas así atrapadas son resistentes al ataque de las proteasas quedando así indisponible para la nutrición

animal. Sin embargo, se supone que los taninos hidrolizables pueden tener un menor efecto depresivo sobre la ingestión de proteínas. Estos taninos pueden hidrolizarse en el ambiente gástrico ácido y liberar las proteínas atrapadas, cuando los taninos solubles obran interactuando recíprocamente con las proteínas se forman complejos solubles e insolubles, su porción depende de la relativa concentración y del tamaño de ambas moléculas. Los complejos solubles son formados cuando la concentración proteica esta en exceso (pocos sitios de acoplamiento por cada molécula de proteína), los complejos solubles representan un problema para su análisis porque ellos no precipitan y así son difíciles de medir.

Degradación de proteína y aminoácidos en el rumen

Las proteínas de los alimentos son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos por los microorganismos del rumen. Sin embargo la mayoría de aminoácidos son rápidamente degradados a ácidos orgánicos, amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco producido es el nutriente primario para el crecimiento bacteriano. Del 40% al 80% de la proteína dietética es degradada en el rumen y transferida a la proteína microbiana. (Huntington 1999).

La degradación de proteína ruminal se puede reducir disminuyendo los tiempos de retención en el rumen. Los aminoácidos libres en el rumen puede ser asimilado directamente por los microbios y ser absorbidos a través del rumen, pero la mayoría son desaminados para dar amoníaco y otros productos intermedios (Hoover y Miller, 1991).

Proteína de sobre paso

Según Broderick (1996) y Huntington (1999), la proteína consumida por los rumiantes es degradada por las bacterias y protozoarios del retículo-rumen, pero el resto es degradada a péptidos y/o aminoácidos libres, los cuales son atacados por enzimas y finalmente se libera amoníaco. Estos subproductos son utilizados para la síntesis de proteínas por los microorganismos ruminales. La proteína microbiana más la proteína de sobre paso provee de aminoácidos al animal; cuando la degradación de proteína es rápida, los microorganismos ruminales no pueden utilizar todos los péptidos, aminoácidos y amoníaco liberados y entonces más proteína es liberada que sintetizada, constituyendo una pérdida de proteína (en forma de amoníaco). Debido a la toxicidad potencial del amoníaco sobre los tejidos, el hígado puede remover esencialmente todo el amoníaco, urea u otros compuestos nitrogenados.

Los microorganismos no solamente sintetizan proteína a partir de la proteína del alimento degradado, también pueden hacer uso eficiente de la urea reciclada al rumen, utilizando como vía la saliva y directamente, a través de la pared ruminal. Así el suministro de proteína al abomaso e intestino delgado puede exceder al suministro del alimento (Broderick, 1996).

En la mayoría de los ingredientes utilizados en la alimentación, predominan cuatro tipos de proteína que aplican al sobre paso ruminal de las mismas, son albuminas, globulinas, prolaminas y gluteinas; las dos primeras son de bajo peso

molecular, solubles en fluido ruminal y se encuentran normalmente en alimentos de origen vegetal, como la soya. Las prolaminas y gluteinas son de alto peso molecular y contienen grupos disulfuros, por lo que su solubilidad en fluido ruminal es baja y sobrepasan en mayor proporción al rumen. Las prolaminas se encuentran con mayor frecuencia en los subproductos de origen animal y las gluteinas se localizan principalmente en el maíz. Es conveniente señalar que el balance de los aminoácidos esenciales es mejor en las albuminas y globulinas que en los otros tipos de proteína (Espinoza y Ezpinosa, 1990).

Gómez (1996), señala que existe una gran variedad de ingredientes y subproductos de origen animal que pueden ser utilizados en la alimentación de rumiantes como fuente de proteína no degradable en rumen (PNDR), tales como la harina de carne, harina de sangre, harina de plumas y harina de pescado.

Klopfenstein (1993), señala que el valor de los productos proteicos de origen animal se basa principalmente en su contenido de proteína de sobre paso. La proteína de sobre paso es aquella que escapa o sobre pasa la digestión en el rumen. Con relación a esta situación, es indiscutible la importancia que tiene el perfil de aminoácidos en la PNDR, y es ideal que incluya aminoácidos esenciales tales como la metionina y lisina.

La proteína dietaria que entra al rumen puede ser fraccionada y convertida por los microorganismos a AGV y NH_3 , o puede escapar la degradación y ser digerida y

absorbida en el intestino delgado como aminoácidos. Las proteínas pueden ser protegidas por tratamientos físicos y químicos para reducir su solubilidad e incrementar la cantidad de aminoácidos digeridos en el intestino delgado (Van soest, 1994), aunque Karges(1990) y Cervantes et al. (1997), mencionan que cuando el animal se encuentra en un estado de alta producción, la proteína microbiana por sí sola no es suficiente para cubrir los requerimientos de proteína metabolizable.

Protección de las proteínas de la degradación ruminal

La razón para proteger la proteína de la dieta es para evitar la degradación de la proteína de alta calidad y para reducir el posible desperdicio de amoniaco en el rumen. Se sabe que la degradación de proteína en el rumen es más del 60%, la mayoría de la cual es convertida a amoniaco (Min et al., 2000). A pesar de que el amoniaco se utiliza para la síntesis de proteína microbiana, el exceso de amoniaco no puede ser utilizado por el animal y se excreta principalmente vía orina. Se han desarrollado muchas estrategias para mejorar el suministro de proteínas, uno de ellos es la protección de la proteína degradada en rumen, buscando aumentar la cantidad de proteína que entra a abomaso. Este tipo de proteína se llama “proteína de sobre paso”, que puede obtenerse mediante tratamientos físicos, tal como el calor o tratamientos químicos como el uso de lignosulfonato (Broderick et al.,1991), formaldehido (Caja *et al* 1977) o taninos (Makkar,2003;Suhartati,2005).

Los taninos se encuentran ampliamente como compuesto secundarios en muchas plantas y son consideradas como factor anti nutricional ya que disminuyen la digestibilidad de la proteína (Makkar, 2003). La propiedad de la

unión tanino-proteína puede ser benéfica para proteger a la proteína de su degradación en el rumen. Si la unión puede ser rota en el intestino la proteína liberada podría ser utilizada por el animal. El uso de estas técnicas en comparación con las fuentes de proteínas de las dietas, mejora el suministro de aminoácidos sin un aumento en la producción de amoníaco (Kamalak et al., 2005).

Efecto de los taninos sobre la digestión de proteínas

Los taninos pueden ser benéficos o perjudiciales para los rumiantes, dependiendo principalmente del tipo y la cantidad suministrado, la estructura del compuesto y su peso molecular (Hagerman, 1991). Estos son susceptibles a formar puentes de hidrógeno que dan lugar a asociaciones reversibles con otras moléculas, especialmente con los péptidos (McLeod, 1974).

Estos compuestos (los taninos) se combinan con proteínas exógenas y endógenas, inclusive del tracto digestivo, formando complejos Taninos-Proteínas (T-P) que afectarían la digestibilidad de las proteínas entre un 3 a un 15 %, especialmente cuando se encuentran en una concentración superior al 5% (5 gramos/kg de MS) (Gilboa, 1995; Min y Hart, 2003). El complejo taninos–proteínas de la dieta incrementa las proteínas de sobre paso o pasantes. El complejo taninos–proteínas es insoluble al

pH del rumen (4-7). Sin embargo, dicho complejo es soluble, tanto al pH ácido del abomaso o estómago verdadero (< 4) como al pH alcalino del intestino delgado (> 8) (Jones y Mangan, 1977). De esta forma, la proteína dietaria pudiera escapar a la degradación ruminal, llegando íntegra a los sitios de digestión (abomaso y duodeno) y así poder tener la capacidad de incrementar la absorción de aminoácidos (Asquith y Butter, 1986).

Efecto de los taninos sobre la absorción de aminoácidos

Con respecto a los aminoácidos, se ha observado que para la especie trébol pata de pájaro con una concentración 2.2% de taninos en la dieta, los TC aumentaron la absorción de aminoácidos esenciales (AAE) en un 60%, disminuyendo en un 10% a la absorción de los no esenciales (AANE) (Waghorn y col 1997, Montossi y col 1997). Con una concentración de 1.8 % en la dieta, se vio afectada la función ruminal, traduciéndose en una reducción en la digestibilidad del nitrógeno, asociado a una menor concentración de amonio ruminal y menor concentración de ácidos grasos volátiles. Estos hechos pusieron de manifiesto la reducción en la degradación de las proteínas provenientes del forraje consumido. Wang y col (1996)

Waghorn y Shelton (1995), midieron el efecto de los taninos presentes en lotus grande con capacidad para precipitar las proteínas observando una disminución de la digestibilidad del nitrógeno de la dieta en un 13%. Esta fue asociada a una menor concentración ruminal de amoníaco, y de ácidos grasos volátiles, indicando una

reducción en la degradación ruminal de proteínas de la dieta y aumentando por consiguiente su absorción intestinal.

Asimismo, los taninos poseen la capacidad de unirse a las proteínas de otras especies provenientes de la ingesta precipitándolas. Este efecto se ha comprobado para el caso de la alfalfa tanto *in vivo* como *in vitro*. Wang y col (1996), evaluaron los taninos presentes en el trébol pata de pájaro, y concluyó que la mejor producción de ovejas que pastorearon Lotus en contraste con alfalfa se debió a que los TC del Lotus se unieron a las proteínas y facilitaron la absorción de aminoácidos específicos (valina, leucina, arginina y lisina) en el intestino delgado. Consecuentemente hubo una menor concentración de ácidos grasos volátiles, producto de una menor desaminación a nivel ruminal.

Con respecto a la absorción de los AAE, existe una relación lineal positiva entre la concentración de TC en la dieta y el pasaje de nitrógeno no amónico (NNA) duodenal dentro de un determinado rango. Aún así existe una diferencia entre especies, para el género Lotus la diferencia fue a favor del lotus grande en un + 59%, en relación a un +53% para el trébol pata de pájaro, pero solo el 10 % de este fue absorbido, el restante se eliminó por vía fecal.

La interacción de los TC con proteínas y carbohidratos, que ocurre en el rumen puede comprenderse con el concepto de "taninos libres". Este concepto se define como la cantidad de taninos que sometidos a elevados niveles de centrifugación, no precipitan. La formación de los complejos Taninos-Proteínas ocurre hasta un punto de saturación, a una concentración de TC por encima del 90%, la adición de más taninos no favoreció la formación de más complejos. Esto ocurrió con las proteínas de la ingesta proveniente de un pastoreo de *Lotus sp.* (Barry y Mc Nabb 1999).

Luego una determinada proporción de taninos no logra conjugarse, y permanece como TC libres, pudiendo unirse a enzimas microbianas inactivas y reduciendo también de este modo la digestión de los carbohidratos (Barry y McNabb 1999). Este concepto también permite explicar que en dietas compuestas por diferentes especies con diferentes concentraciones de TC (trazas a moderadas) se pueden lograr efectos beneficiosos intermedios entre aquellas que poseen bajos niveles y las de concentraciones de TC más elevadas, sobre todo cuando la concentración de TC es elevada respecto de la concentración de proteínas en el medio (Douglas y col 1995; Barry y McNabb 1999). Este efecto se observó en leguminosas de origen tropical cuando la fertilidad de los suelos era baja.

Materiales y Métodos

El presente estudio se llevó a cabo en la Unidad de Metabolismo Digestivo del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, localizada a un kilómetro del Fraccionamiento Campestre , en la ciudad de Mexicali, Baja California. El clima se considera como cálido muy seco, con una temperatura media anual de 22°C, con oscilaciones de la media mensual mayores a 14 ° C, con lluvias en invierno (SAGARPA, 2007).

Se utilizaron seis novillos raza Holstein (280 kg PVV) habilitados con cánulas tipo “T” rumen y en duodeno (a 6 cm del esfínter pilórico) con comedero individual y bebedero automático compartido. Se utilizó un diseño de Cuadrado Latino Replicado 3 x 3 con el fin de evaluar el efecto de la incorporación directa de taninos con proteína soluble sobre las características de digestión en rumen y tracto total. La dieta basal (DB) formulada (BMS) en base a maíz amarillo hojueado (Tabla 1). Se añadió 0.40% de óxido crómico como marcador inerte para cálculo del flujo a duodeno y de excreción fecal de materia seca (MS). Los tratamientos consistieron en el nivel de suplementación (0, 0.3 o 0.6%, Base MS) de ByPro® (Silvafeed BYPRO®), el cual es una mezcla de extractos vegetales de diferentes maderas, empleando agua pura y super calentada, sin realizar modificaciones químicas ni el agregado de derivados sintéticos. La dieta basal contenía 11% de suplemento líquido (proporcionando un total de 2% proteína soluble en la dieta a partir de Ultraferm®). Los taninos fueron mezclados con el suplemento líquido antes de su incorporación a la dieta final. El consumo (BMS) se ajustó al 2.2% del peso vivo vacío, ofreciéndose durante la prueba alimento fresco en

forma diaria en dos porciones iguales a las 08:00 y 20:00 h. El experimento consistió en tres períodos experimentales de 14 días (10 para adaptación a la dieta y 4 para colección de muestras). Durante el periodo de colección de muestras, muestras duodenales (700 ml) y fecales (200 g base fresca) fueron tomadas a cada novillo dos veces al día en los siguientes horarios: día 1, 10:30 y 16:30 h; día 2, 09:00 y 15:00 h; día 3, 07:30 y 13:30 h y día 4, 06:00 y 12:00 h. Las muestras de cada novillo, en cada periodo de colección, se mezclaron con el propósito de formar una muestra compuesta misma que se congeló a -20°C para análisis posteriores. El último día, del penúltimo periodo experimental se tomó una alícuota de líquido ruminal para aislamiento de bacterias ruminales por centrifugación diferencial. Las muestras de cada novillo, en cada periodo de colección, se mezclarán con el propósito de formar una muestra compuesta misma que se congelará a -20°C para análisis posteriores. A las 4 h posconsumo (12:00 h), en el último día de cada periodo, se determinará el pH (Orion 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) del contenido ruminal de una muestra obtenida ($\pm 500\text{ mL}$) de cada novillo mediante el uso de una bomba de vacío (Cole Parmer Instrument, Vernon Hill, IL). El penúltimo día, del último periodo experimental, muestras del fluido ruminal se obtuvieron de todos los novillos, se mezclaron y del resultante se tomó una alícuota para aislamiento de bacterias ruminales por centrifugación diferencial (Bergen et al., 1968). Las muestras generadas se sujetaron a todos, o parte de los siguientes análisis: Materia seca (MS; estufa desecando a 105°C , hasta peso constante), cenizas, N kjeldhal y nitrógeno amoniacal de acuerdo con lo estipulado por la AOAC (1984), energía bruta (EB) (utilizando una bomba calorimétrica adiabática modelo 1271; Parr Instrument Co., Moline, IL), purinas (Zinn y Owens,

1986), óxido crómico (Hill y Anderson, 1958), almidón (Zinn, 1990) y fibra detergente neutra (FDN) (Goering y Van Soest, 1970; corregida para cenizas insolubles). La cantidad de materia orgánica microbiana (MOM), así como el nitrógeno microbiano (NM) que fluye a duodeno se calculará con base en los análisis de las bacterias aisladas en el fluido ruminal así como en las muestras obtenidas de duodeno, usando purinas como marcadores microbianos (Zinn y Owens, 1986). La materia orgánica fermentada (MOF) en rumen fue calculada de acuerdo a la cantidad de MO consumida y las proporciones de MO microbiano y MO total determinadas en duodeno (Zinn et al., 1996). El N consumido que escapa de la digestión ruminal (proteína de escape) se consideró como el equivalente al total de N que ingresa al duodeno menos la suma de las cantidades de N amoniacal y N microbiano que fluyen al duodeno. Los datos fueron analizados en un diseño de Cuadrado Latino Replicado 3 x 3 con 6 observaciones por tratamiento, de acuerdo al siguiente modelo: $Y_{ijkl} = \mu + B_i + A_j + P_k + \zeta_{lk} + E_{ijkl}$ en el cual, μ es la media general, B_i es el tratamiento, A_j es el periodo, P_k repetición, ζ_{lk} el efecto del animal en la repetición y E_{ijkl} es el error residual. Los efectos de los tratamientos se contrastarán de la siguiente manera: 1) TMT1 vs. TMT2) TMT1 vs. TMT3) TMT2 vs. TMT3. Además, se analizará la posibilidad de presencia de efecto lineal y/o cuadrático. Se considerará diferencia significativa cuando $P \leq 0.05$ (Hicks, 1973).

Tabla 1. Ingredientes y composición nutrimental de las dietas experimentales.

Concepto	Tratamientos		
	1	2	3
Ingredientes, g/kg MS			
Heno de Sudan	10.00	10.00	10.00
Maiz hojuelado	61.84	61.54	61.24
DDGS	18.00	18.00	18.00
Grasa amarilla	2.20	2.20	2.20
Melaza	3.57	3.57	3.57
Piedra caliza	1.31	1.31	1.31
Ultraferm [®]	2.49	2.49	2.49
Oxido de cromo ¹	0.40	0.40	0.40
Premezcla mineral ²	0.19	0.19	0.19
Composición nutrimental ³			
Energía neta			
ENm, Mcal/kg	2.21	2.21	2.21
ENg, Mcal/kg	1.54	1.54	1.54
Proteína cruda, %	13.75	13.75	13.75
PDR, %	44.56	44.56	44.56
PIR, %	55.44	55.44	55.44
FND, %	20.44	20.44	20.44
Extracto Etéreo, %	6.96	6.96	6.96
Calcio, %	0.70	0.70	0.70
Fosforo, %	0.40	0.40	0.40
Potasio, %	0.87	0.87	0.87
Magnesio, %	0.20	0.20	0.20

¹Oxido Crómico (0.40%) fue agregado como marcador de digestión.

²Premezcla mineral contiene: CoSO₄, 0.68%; CuSO₄, 1.04%; FeSO₄, 3.57%; ZnO, 1.24%; MnSO₄, 1.07%; KI, .052%; y NaCl, 92.96%.

³Estimado utilizando los valores tabulados para cada ingrediente (NRC, 1996).

Resultados y Discusión

El efecto de los tratamientos sobre las variables de respuesta es mostrado en la tabla 2. No se observaron efectos de los tratamientos ($P \geq 0.10$) sobre las características de digestión en rumen ni tracto total. Solo se observó una tendencia lineal ($P \leq 0.10$) en cuanto a incremento de N amoniacal en duodeno y excreción fecal de almidón y N a medida que se incrementó la suplementación de ByPro. Al mismo tiempo, se observó que la digestión total de almidón tendió a disminuir linealmente ($P \leq 0.10$) en respuesta al incremento de ByPro en la dieta.

Efectos significativos sobre la ingestión de energía metabolizable (EM), debido principalmente a una reducción del consumo voluntario y de la degradación de la materia orgánica han sido reportados en respuesta a la ingestión de un elevado contenido (> 50 g/kg MS) de taninos condensados (Barry y Duncan, 1984; Leinmuller et al., 1991; Lee et al., 1992; Makkar, 1993; Silanikove et al., 1994). Lo cual concuerda con lo expuesto por otros autores (Barry y Manley, 1984; Barry y Manley, 1986), quienes sostienen que la ingestión voluntaria de MS no se ve afectada cuando son ofrecidas dietas con un contenido de TC menor a 50 g/kg MS.

Otros investigadores han observado que las pruebas más evidentes de que los taninos poseen la capacidad de reducir la digestibilidad de diversos componentes de las dietas, es el incremento en la excreción fecal de nitrógeno a medida que aumenta el contenido de taninos en la dieta (Mitjavila et al., 1977; Barry y Duncan, 1984; Mitaru et al., 1984; Bernays et al., 1989; Dawson et al., 1999; Komolong et al., 2001), en respuesta a la suplementación de taninos a niveles del 10 y 15%.

Tabla 2. Influencia de los tratamientos sobre las características de digestión en rumen y tracto total

Item	ByPro g/d			Valor-P		
	0	0.3	0.6	TMTS ¹	L ²	C ³
Repeticiones	3	3	3			
Consumo, g/d ⁴						
MS	4052.51	4064.00	4076.00	-	-	-
MO	3906.10	3917.18	3928.75	-	-	-
FDN	819.70	834.02	848.45	-	-	-
Almidón	1964.86	1970.43	1976.25	-	-	-
N	73.01	73.22	73.44	-	-	-
Flujo a duodeno, g/d						
MO	2062.73	2056.87	2022.33	.396	.219	.599
FDN	398.07	368.17	417.70	.318	.540	.172
Almidón	298.51	277.55	249.93	.426	.206	.915
N	97.30	102.74	102.26	.161	.115	.257
N microbial	52.18	50.92	51.77	.955	.925	.780
N amoniacal	3.18	3.54	3.48	.077	.069	.134
N de la dieta		37.83	36.56	.239	.199	.259
	31.49					
Digestión ruminal, %						
MO	60.55	60.49	61.70	.430	.280	.482
FDN	51.44	55.86	50.78	.357	.858	.167
Almidón	84.81	85.91	87.35	.405	.193	.917
N de la dieta	56.87	48.33	50.22	.251	.215	.257
NM eficiencia ⁵	21.94	21.57	21.40	.934	.728	.936
N eficiencia ⁶	1.15	1.21	1.20	.218	.165	.275
Excreción fecal, g/d						
MS	865.07	908.20	904.56	.369	.249	.420
MO	755.20	793.74	793.70	.396	.247	.490
FDN	347.24	353.94	335.16	.835	.709	.651
Almidón	14.51	20.75	20.52	.138	.091	.266
N	24.68	25.35	27.53	.150	.068	.536
Digestión total%						
MS	78.65	77.65	77.81	.428	.312	.419
MO	80.67	79.74	79.80	.450	.301	.488
FDN	57.64	57.56	60.50	.689	.472	.658
Almidón	99.26	98.95	98.96	.146	.098	.268
N	66.20	65.39	62.52	.174	.081	.539

¹ Entre tratamientos

² Efecto lineal

³ Efecto cuadrático

⁴ El consumo de la materia seca fue restringido al 2.2 % del peso vivo diariamente.

⁵ Nitrógeno microbial, g/kg MO fermentada.

⁶ N no amoniacal que fluye al intestino delgado como una fracción del N consumido.

Los taninos condensados inhiben más la tripsina que los taninos hidrolizables mientras que estos últimos inhiben la lipasa y ambos inhiben amilasa. A todos estos factores se puede atribuir el incremento en los niveles de nitrógeno y del contenido de lípidos en las heces de animales alimentados con sorgos ricos en taninos (Buttler, 1990). De la misma manera, han sido reportados incrementos de MS excretada y N fecal de origen endógeno en aves y ratas (Mitjavalía et al., 1977), existiendo una correlación negativa altamente significativa entre taninos condensados y la retención de nitrógeno (Trindade et al., 1979).

Acorde Gilboa, (1995) y Min y Hart, (2003), los taninos poseen la capacidad de combinarse tanto con proteínas exógenas como endógenas, inclusive del tracto digestivo, formando complejos Taninos-Proteínas (T-P) que pueden afectar la digestibilidad de las proteínas en un rango de 3 a un 15 %, especialmente cuando se encuentran en la dieta a una concentración superior al 5% (5 gramos/kg de MS).

Con respecto a los aminoácidos, se ha observado que para la especie trébol pata de pájaro con una concentración 2.2% de taninos en la dieta, los TC aumentaron la absorción de aminoácidos esenciales (AAE) en un 60%, disminuyendo en un 10% a la absorción de los no esenciales (AANE) (Waghorn y col 1997, Montossi y col 1997). Además, con una concentración de 1.8 % en la dieta, se vio afectada la función ruminal, traduciéndose en una reducción en la digestibilidad del nitrógeno, asociado a una menor concentración de amonio ruminal y menor concentración de ácidos grasos volátiles. Estos hechos pusieron de manifiesto la reducción en la degradación de las proteínas provenientes del forraje consumido (Waghorn, 1996).

Waghorn y Shelton (1995), midieron el efecto de los taninos presentes en lotus grande con capacidad para precipitar las proteínas observando una disminución de la digestibilidad del nitrógeno de la dieta en un 13% en respuesta a la suplementación de taninos a niveles de 0.2.% 0.4% 0.6%. Esta fue asociada a una menor concentración ruminal de amoníaco, y de ácidos grasos volátiles, indicando una reducción en la degradación ruminal de proteínas de la dieta y aumentando por consiguiente su absorción intestinal.

Conclusiones

Acorde con los resultados observados, podemos concluir que los bajos niveles de taninos condensados utilizados no fueron capaces de afectar la eficiencia digestiva.

Literatura Citada

- Asquith, T. N. and Butler, L. C. 1986. Interaction of condensed tannin with selected proteins. *Phytochemistry*, 25: 1591-1593.
- Bae, H.D.; McAllister, T.A.; Yanke, J.; Cheng, K.-J. and Muir, A.D. 1993. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 2132-2138.
- Barry, T.N.; Allsop, T.F. and Redekopp, C. 1986a. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 5. Effects on the endocrine system and on adipose tissue metabolism. *British Journal of Nutrition*, 56, 607-614.
- Barry, T.N. and Duncan, S.J. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. *British Journal of Nutrition*, 51, 485-491.
- Barry, T.N. and MANLEY, T.R. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British Journal of Nutrition*, 51, 493-504.
- Barry, T. N., and Mc Nabb W C 1999 The Effect of Condensed Tannins in Temperate forages on Animal Nutrition and Productivity. In *Tannins in Livestock and Human Nutrition*, pp 30-35 [J D Brooker, editor]. Canberra Australian Center for International Agricultural Research.
- Bernays, E.A.; Cooper Driver, G. and Bilgener, M. 1989. Herbivores and plant tannins. In: *Advances in ecological research*. M. Begon, A.H. Fitter, E.D. Ford and A. MacFadyen (Eds.), pp. 263-302. Academic Press (Reino Unido).
- Broderick, G.A., R.J. Wallace and Orskov, E.R. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. T. TSUDA, Y. SASAKI and R. KAWASHIMA (Eds.). Academic Press, New York. pp. 541-592.
- Caja, G., J.F. Galvez, A., Argamenteria and J. Ciria. 1977. Inhibition of ruminal deamination *in vitro* by formaldehyde treatment of sunflower-seed, soyabean and fish meals: Response curves to protective treatment. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2: 267-275.

- Cervantes, R. M., Ceseña, A .M. y Zinn, R.A. (1997). Flujo y digestión de nutrientes en vaquillas Holstein alimentadas con dietas a base de urea o harinolina como fuentes principales de proteína cruda. *Agrociencia*. 31:247.
- Chiquette, J.; Cheng, K. J.; Costerton, J.W. and Milligan, L.P. 1988. Effect of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) using *in vitro* and *in sacco* techniques. *Canadian Journal of Animal Science*, 68, 751-760.
- Dawson, J.M.; Buttery, P.J.; Jenkins, D.; Wood, C.D. and Gill, M. 1999. Effects of dietary quebracho tannin on nutrient utilisation and tissue metabolism in sheep and rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1423-1430.
- Douglas, G. B., Wang, Y., Waghorn, C. G., Barry, T. N., Purchas, R. W., Foote, A. G., and Wilson, G. F. 1995. Live weight gain and wool production of sheep grazing *Lotus corniculatus* and Lucerne (*Medicago sativa*). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38:95-104.
- Driedger, A. and Hatfield. 1972. Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. *Journal of Animal Science*, 34, 465-468.
- Ellis, W. C., D. P. Poppi, J. H. Matis, H. Lippke, T. M. Hill, and F. M. Rouquette. 1999. Dietary-digestive interactions determining the nutritive potential of ruminant diets. In: H. J. G. Jung and G. C. Fahey, Jr. (ed.) 5th Int. Symp. Nutr. Herbivores. pp 432–481. Am. Soc. Anim. Sci., Savoy, IL.
- Espinoza, J.J. y Espinoza, R.S. 1990. Algunos factores que afectan la degradabilidad ruminal de la proteína. En: Memorias de la tercera reunión de nutrición animal. U.A.A.A.N .Saltillo, Coah.
- Gómez, A.R. 1996. Harinas de origen animal. En: Shimada, A. S. ,F.G. Rodríguez y J.A. Cuarón (Ed.). Engorda de ganado bovino en corral. Consultores en producción animal, S.C.Mexico.
- Hagerman, A.E., and BUTLER, L.G. 1991. Tannins and lignins. In: Herbivores, : Their interactions with secondary plant metabolites. Vol I: The chemical participants. x.x. Rosenthal and M.R. Berenbaum. pp. 355-388. Academic press. New York (Estados Unidos)
- Hagerman, A. E., Robbins, C.T., Weerasuriya Y., Wilson, T.C., McArthur C., 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *J Range Manage* 45, 57-62.
- Hoover, W.H., Miller, T.K. 1991. Rumen digestive physiology and microbial ecology. *Veteriner Clinics of North America Food Animal Practice*, 7: 311-325.
- Horigone, T.; Kumar, R. and Okamoto, K. 1988. Effects of condensed

tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes *in vitro* and in the intestine of rats. *British Journal of Nutrition*, 60, 275-285.

Huntington, G. B. 1999. Nutrient metabolism by gastrointestinal tissues of herbivores. En: Jung, H.G y G.C. Fahey (Ed.) Proceeding of V International Symposium on the Nutrition of Herbivores. American society of Animal Science. Illinois, USA.

Isaza, J.H., and Yoshida, T., 2007. Oligomeric hydrolyzable tannins from *monochetum multiflorum*. *phytochemistry*, 65(3):359-367.

Jones, G.A.; McAllister, T.A.; Muir, A.D. and Cheng, K.-J. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1374-1378.

Jones, W.T. and Mangan, J.L. 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 126-136.

Kamalak, A., O. Canbotal, Y. Gurbuz, and O. Ozay. 2005. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. *J of science and engineering*.

Karges, K. K. 1990. Effects of rumen degradable and escape protein on cattle response to supplemental protein on native pasture. M.S. Thesis. University of Nebraska, Lincoln, Nebraska.

Kobeisy, M.A.; Boechm, J.; Dirl, G.; Holtershinken, M. and Leibetseder, J. 1999. The influence of tannin on rumen metabolism using RUSITEC. *Journal of Animal Science*, 77, Suppl. 1, 87.

Komolong, M.K.; Barber, D.G. and McNeill, D.M. 2001. Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 92, 59-72.

Kumar, R. and D'Mello, J.P.F. 1995. Anti-nutritional factors in forage legumes. In: *Tropical legumes in animal nutrition*. J.P.F. D'Mello and C. Devendra (Eds.), pp. 95-133. CAB International, Wallingford (Reino Unido).

Kumar, R. and Singh, M. 1984. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 32, 447-453.

Lasa, J. Cristina Mantecón y Miguel Ángel Gómez. 2010. Utilización de taninos en la dieta de rumiantes. Servicio de Rumiantes de Nuevas Tecnologías de Gestión Alimentaria, S.L.

- Lee, J.; Harris, P.M.; Sinclair, B.R. and Treolar, B.P. 1992. The effect of condensed tannin containing diets on whole body amino acid utilisation in Romney sheep: consequences on wool growth. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 52, 243-245.
- Leinmuller, E.; Steingass, H. and Menke, K.H. 1991. Tannins in ruminant feedstuffs. *Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research*, 33, 9-62.
- Makkar, H. P. S. 1988. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannin and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rum. Res.* 49: 241-256.
- Makkar, H.P.S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. In: *Animal production in developing countries*. BSAS Occasional Publication No. 16. M. Gill, E. Owen, G.E. Pollot and T.L.J. Lawrence (Eds.), pp. 69-85. British Society of Animal Science (BSAS), Edimburgo (Reino Unido).
- Makkar, H.P.S.; Singh, B. and Dawra, R.K. 1988. Effect of tannin-rich of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. *British Journal of Nutrition*, 60, 287-296.
- Mangan, J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, 1, 209-231.
- McAllister, T.A.; Bae, H.D.; Yanke, L.J.; Cheng, K.-J. and Muir, A. 1994b. Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 40, 298-305.
- Mcleod, M.N. 1974. Plants tannins. Their role in forage quality. *Nutrition abstracts and reviews*, 44, 803-812.
- McMahon, L.R.; McAllister, T.A.; Berg, B.P.; Majak, W.; Acharya, S.N.; Popp, J.D.; Coulman, B.E.; Wang, Y. and Cheng, K.-J. 2000. A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80, 469-485.
- McSweeney, C.S.; Palmer, B.; Bunch, R. and Krause, D.O. 2001a. Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 78-88.
- Mehansho, H.; Butler, L.G. and Carlson, D.M. 1987. Dietary tannins and salivary proline-rich proteins: interactions, induction and defence mechanisms. *Annual Review of Nutrition*, 7, 423-440.

- Min, B. R., W.C. McNabb,, T. N. BARRY and J. S. Peters. 2000. Solubilization and degradation of ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase (EC4.1.1.39; Rubisco) protein from white clover (*Trifolium repens*) and *Lotus corniculatus* by rumen microorganisms and the effect of condensed tannins on these processes. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 134: 305–317.
- Min, B. R., HART, S. P. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. *J Anim Sci* 81, E. Suppl. 2, E102-E109.
- Mitaru, B.N.; Reichert, R.D. and Blair, R. 1984. The binding of dietary protein by sorghum tannins in the digestive tract of pigs. *Journal of Nutrition*, 114, 1787-1796.
- Mitjavila, S.; Lacombe, C.; Carrera, G. and Derache, R. 1977. Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. *Journal of Nutrition*, 107, 2113-2121.
- Molan, A.L.; McNabb, W.C.; Waghorn, G.C. and Min, B.R. 1998. The effect of condensed tannins from two *Lotus pedunculatus* on in vitro protein degradation, bacterial growth and nematode laval migration. In: The 8th World Conference on Animal Production. Proceedings, Contributed papers - Vol. I, 2-3.
- Montossi, F., Liu, F., Hodgson, J. and Morris, S. T. 1997. Influence of low-level condensed tannins concentrations in temperate forage on sheep performance. Proceedings of the XVII International Grassland Congress Session 8: Tannins-Plant Breeding Animal Effects IDN 110 Winnipeg, Canada, 8:1-2.
- Mueller-Harvey, I. and McAllan, A.B. 1992. Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*. Vol. 1. I.M. Morrison (Ed.), pp. 151-217. JAI Press Ltd., Londres (Reino Unido).
- Nelson, K.E.; Pell, A.N.;Doane, P.H.;Giner-Chavez,B.I. and Schofield,p.1997. Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins.*Journal of chemical ecology*,23,1175-1194.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Silanikove, N., Nitsan, Z. and Perevolotsky, A. 1994. Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*,42,2844-2847.

- Suhartati, F.M. 2005. Protein Lamtoro leaves (*Leucaena leucocephala*) with tannin, saponin and oil protection and the effect on ruminal undegradable dietary protein (RUDP) and synthesis of rumen microbial protein. *Anim. Prod.* (Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia) 7: 52-58.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Second Ed. Cornell University Press. Ithaca, N.Y.
- Waghorn, G. 1996. Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. In: *Proceedings of the Canadian Society of Animal Science*, 175-194.
- Waghorn, G.C.; Jones, W.T.; Shelton, I.D. and McNabb, W.C. 1990. Condensed tannins and the nutritive value of herbage. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 51, 171-176.
- Waghorn, C. G., and Shelton, I. D. 1995. Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the nutritive value of raigrás (*Lolium perenne*) fed to sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 125, 291-297.
- Wang, Y., Douglas G. B., Waghorn, C. G., Barry, T. N., Foote, A. G., and Purchas, R. W. 1996. Effect of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and Lucerne (*Medicago sativa*). *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 126:87-98.