DEGRADABILIDAD *IN VITRO* DE ESPECIES ARBUSTIVAS DE PUERTOS DE MONTAÑA: EFECTO DE LA INFUSIÓN DE QUEBRACHO EN EL RUMEN DE OVEJAS

G. Ramos, P. Frutos, G. Hervás, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080 León

INTRODUCCIÓN

Los taninos condensados o proantocianidinas son compuestos polifenólicos de las plantas, potencialmente dañinos para los animales a concentraciones elevadas. Para contrarrestar sus efectos, los rumiantes han desarrollado, principalmente, dos mecanismos adaptativos: la secreción de proteínas salivares con elevada afinidad por estos compuestos, capaces de formar complejos tanino-proteína que son estables en todo el rango de pH del tracto digestivo, y que, por consiguiente, anulan su efecto adverso (Austin *et al.*, 1989); y la proliferación de cepas de bacterias ruminales resistentes a los taninos condensados. En la actualidad, sin embargo, aún no se conocen suficientemente los medios de los que se valen los microrganismos ruminales para adaptarse a la presencia de estos polifenoles, ni si poseen la capacidad de degradarlos (Nelson *et al.*, 1998). Ahora bien, parece lógico pensar que los animales que consumen habitualmente plantas que contienen taninos, podrían llegar a presentar una población ruminal con cierto grado de adaptación a estos compuestos, que les permitiera una mejor utilización digestiva de sus dietas.

En este trabajo se trató de averiguar si la infusión de quebracho en el rumen de ovejas, durante un periodo de siete semanas, proporciona a los microorganismos ruminales mayor capacidad de degradación de especies arbustivas con diferentes contenidos en taninos condensados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras vegetales correspondieron a 15 especies de arbustos procedentes de un ecosistema pastoral de montaña situado en el puerto de San Isidro, en la provincia de León. El muestreo tuvo lugar en la primera quincena de junio mediante un corte con tijeras de la parte supuestamente ramoneable del arbusto. Las especies recogidas, agrupadas por familias, fueron: *Ericaceae* (*Calluna vulgaris, Erica arborea, E. australis, E. scoparia, E. tetralix*), *Leguminoseae* (*Cytisus purgans, C. scoparius, Chamaespartium tridentatum, Genista florida, G. obtusiramea, G. occidentalis*), *Rosaceae* (*Cotoneaster integerrimus, Crataegus monogyna, Rubus ulmifolius*), y *Cupresaceae* (*Juniperus communis*).

Para todos los análisis químicos, las muestras fueron sucesivamente congeladas, liofilizadas y molidas a 1 mm. Posteriormente, los contenidos en materia seca (MS), cenizas (CEN), proteína (PB) y proteína ligada a la fibra (PB-FND), fueron analizados según los procedimientos de la AOAC (1990). Las determinaciones de la fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se llevaron a cabo mediante la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970), con la modificación que comprende la utilización del analizador de fibra Ankom^{200}®.

En la extracción de taninos condensados (taninos libres, ligados a proteína, y ligados a fibra), así como en su determinación por el método del butanol-HCl se siguió el procedimiento desarrollado por Terrill *et al.* (1992), considerando las modificaciones para la extracción propuestas por Pérez-Maldonado y Norton (1996).

Se utilizó como estándar el tanino condensado comercial de quebracho (*Roy Wilson Dickson. Ltd.* Reino Unido), cuya purificación se realizó siguiendo las indicaciones de Hagerman (1991).

La estimación de la degradabilidad *in vitro* se llevó a cabo con el método desarrollado por Tilley y Terry (1963), omitiendo la fase de la pepsina. El líquido ruminal se extrajo de 10 ovejas adultas de raza Merina (54,6 ±2,87 kg PV), fistuladas en el rumen, que fueron alojadas en jaulas individuales y alimentadas con heno de alfalfa deshidratado (MS= 926 g/kg; PB= 151 g/kg MS; FND= 438 g/kg MS) distribuido en dos tomas iguales (a las 9.00 h y a las 18.00 h), a 1,2 veces su nivel de mantenimiento.

Durante 48 días, a todos los animales se les infundió diariamente, antes de la comida de la mañana y a través de la cánula ruminal, 300 ml de una solución de metanol al 0,08% que contenía las siguientes dosis de quebracho comercial:

Grupo "control" (5 ovejas): 0,0 g de quebracho/ kg PV (placebo)
Grupo "quebracho" (5 ovejas): 0,6 g de quebracho/ kg PV

Tanto la estadística descriptiva como el análisis de regresión y el test pareado se efectuaron con el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 aparecen los datos correspondientes a la degradabilidad *in vitro* de los 15 arbustos estudiados. Como puede observarse, ésta fue ligeramente superior en los arbustos incubados en líquido ruminal perteneciente a los animales que recibían diariamente la infusión ruminal de quebracho. La excepción más notable la presentó *Cytisus scoparius*, con un valor claramente superior en el grupo control (67,17 *vs.* 60,65).

El análisis estadístico de estos datos mediante un test pareado (tabla 1), mostró una tendencia ($P<0,1$) hacia una degradabilidad algo superior de las muestras incubadas con rumen procedente de los animales infundidos con taninos condensados. Dadas las especiales características de la muestra de *C. scoparius*, cuando se eliminó ésta del análisis, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) entre los dos grupos

Los análisis de la composición química de los arbustos, incluyendo el contenido en taninos condensados totales, libres, ligados a proteína o ligados a fibra, no permitieron explicar, de un modo sencillo, la variación en la magnitud de las diferencias observadas. Mediante análisis de regresión, se comprobó que el contenido en taninos libres y en taninos ligados a proteína en relación con el contenido total en PB explicaban el 59,14 % de dicha variación. Es probable que una parte importante de las diferencias no puedan ser explicadas con los datos de composición química de que se dispone, dada la influencia de la estructura química y el peso molecular de los distintos taninos en su diferente actividad biológica (McNabb *et al*, 1998).

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se podría especular que la infusión de quebracho hubiera estimulado algún tipo de adaptación de los microorganismos ruminales a los taninos condensados, aumentando, por ejemplo, el número de cepas resistentes a estos polifenoles (Nelson et al., 1998) o la actividad de las enzimas celulolíticas intracelulares (Bae et al., 1993), de modo que los

animales supuestamente adaptados dispondrían de una mayor capacidad para utilizar especies arbustivas que contuviesen estos compuestos.

Figura 1.- Degradabilidad *in vitro* de los arbustos en el grupo control y en el infundido con quebracho

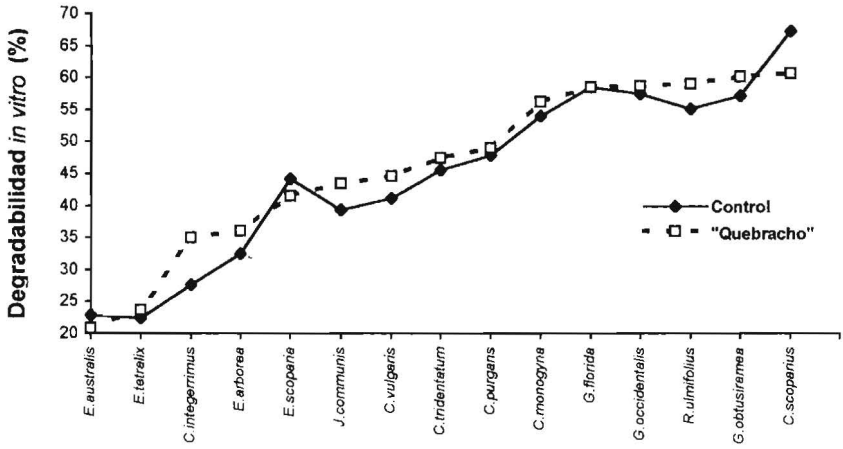


Tabla 1.- Media de las diferencias entre los grupos control e infundido con quebracho para las degradabilidades *in vitro* de los arbustos

Nº arbustos	Media de la diferencia	Nivel de significación
15	-1,465 ±0,859	P< 0,1
14 (sin *C. scoparius*)	-2,035 ±0,689	P< 0,05

El hecho de haber realizado el ensayo mediante pruebas *in vitro* hace que no se puedan extraer conclusiones firmes de este estudio. No obstante, los resultados observados permiten intuir ciertas posibilidades de adaptación ruminal y subrayan la necesidad de profundizar en esta línea de investigación, tan novedosa como importante en los estudios de pastoreo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Junta de Castilla y León (proyecto CSI 3/99).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. (1990). *Association of Official Analytical Chemist.* Washington D.C.

Austin, P.J.; Suchar, L.A.; Robbins, C.T. and Hagerman, A.E. (1989). *J. Chem. Ecol.*, 15: 1335-1347.

Bae, H.D.; Mcallister, T.A.; Yanke, L.J.; Cheng, K.J. and Muir, A.D. (1993). *Appl. Environ. Microbiol.*, 59: 2132-2138.

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. (1970). *Agr. Handb.*, nº 379. Agrc. Res. Serv.. USDA. Washington. USA.

Hagerman, A.E. (1991). Tannin Analisis. Miami University. Oxford. OH. USA.

Mcnabb, W.C.; Peters, J.S.; Foo, Y.L.; Waghorn, G.C. and Jackson, F.S. (1998). *J. Sci. Food Agric*, 77: 201-212.

Nelson, K.E.; Thonney, M.L. Woolston, T.K.; Zinder, S.H. and Pell, A.N. (1998). *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 3824-3830.

Pérez-Maldonado, R.A. and Norton, B.W. (1996). *Br. J. Nut.*, 76: 515-533.

S.A.S. (1989). SAS/STAT®. User's Guide Int. (Ver. 6, 4th Ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Terrill, T.H.; Rowan, A.M.; Douglas, G.B. and Barry, T.N. (1992). *J. Sci. Food Agric*, 58: 321-329.

Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. (1963). *J. Br. Grassland Soc.*, 18: 104-111.