EFECTO DEL CONTENIDO DE TANINOS EN LA DEGRADACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE VARIOS ÓRGANOS DE ESPECIES ARBUSTIVAS

M. C. Álvarez del Pino, P. Frutos, G. Hervás, A. Gómez, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón
Estación Agrícola experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080. León

INTRODUCCIÓN

El contenido de taninos en las plantas puede variar desde su ausencia en muchas gramíneas hasta casi un 50% de la materia seca en algunos arbustos tropicales (Mueller-Harvey, 1999). Resultados previos sobre el contenido de taninos condensados de especies arbustivas de un puerto de montaña de León, muestran diferencias significativas entre los muestreos de verano y de invierno (Frutos et al., en prensa), lo cual sugiere que pueden existir diferencias importantes en la distribución de los taninos en los distintos órganos de la planta.

Por otra parte, existe en la actualidad una importante controversia acerca del modo de determinar y expresar el contenido de taninos de las plantas. A la ausencia de un método y un estándar de referencia aceptados internacionalmente, hay que sumarle el hecho de la diferente actividad biológica de los distintos taninos dependiendo de su peso molecular, estructura química, etc. La técnica *in vitro* de producción de gas, en ausencia o presencia de polietilenglicol (PEG), un agente químico con una elevada afinidad por los taninos que anula sus efectos, ha sido propuesta como alternativa a los análisis químicos de taninos. La diferencia entre los parámetros de producción de gas "con" y "sin" PEG es una medida de la actividad de los taninos en relación con su efecto sobre la fermentación ruminal.

Este trabajo, por lo tanto, se planteó con dos objetivos: 1) determinar el contenido de taninos de tres órganos (hojas, flores* y tallos) de 4 especies arbustivas y 2) estudiar la relación entre este contenido y su efecto sobre la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de cuatro especies arbustivas: *Erica arborea* y *Erica australis* (familia *Ericaceae*), y *Cytisus cantabricus* y *Genista occidentalis* (familia *Leguminoseae*), procedentes de un ecosistema pastoral de montaña cercano al puerto de San Isidro, en la provincia de León. El muestreo se realizó a lo largo del mes de junio, cuando los arbustos se encontraban en estado fenológico de floración. Para cada especie se recogieron, mediante corte con tijeras, muestras de la parte supuestamente ramoneable de tres individuos elegidos al azar, las cuales fueron inmediatamente congeladas y posteriormente liofilizadas. A continuación se llevó a cabo la separación morfológica manual de los tallos, hojas y flores de cada planta. Todas las muestras se molieron a 1 mm. Los contenidos de materia seca (MS) y cenizas fueron analizados según los procedimientos de la AOAC (1990). El contenido de taninos totales se determinó siguiendo el método del Folin-Ciocalteu descrito por Makkar *et al.* (1993), que emplea ácido tánico como estándar de referencia.

Para estudiar el efecto de los taninos sobre la degradación ruminal, se realizó una prueba *in vitro* de producción de gas (Mauricio *et al.*, 1999). Para ello, se pesaron, aproximadamente, 500 mg de cada muestra en botellas de 125 ml de volumen y se incubaron a 39°C con 10 ml de líquido ruminal y 40 ml de medio de cultivo. Cada muestra se incubó por triplicado y con dos tratamientos: "sin" y "con"

* El término órgano se utilizó en el caso de la flor para simplificar, ya que se trata del conjunto de los órganos sexuales de la planta y sus cubiertas.

añadir 1 g de PEG 6000. Como inóculo se utilizó líquido ruminal extraído, antes de la administración de la comida de la mañana, de tres ovejas Merinas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa.

La producción de gas se midió a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72, 96 y 120 horas de incubación mediante un transductor de presión. Los valores de presión se convirtieron a volumen de gas según una ecuación lineal de predicción y se ajustaron al modelo descrito por France *et al.* (1993) para obtener los parámetros descriptivos de la cinética de producción de gas: producción total de gas (A, ml), tiempo de retraso ("lag time"; L, h), tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (T/2, h) y ritmo de producción de gas en T/2 (μ, h^{-1}).

Todos los ajustes matemáticos de las curvas de producción de gas y los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de taninos totales fue significativamente ($P<0,01$) mayor en las ericáceas que en las leguminosas, tanto en las flores (13,15 vs. 1,31 g "equivalentes de ácido tánico (AT)"/ 100 g MS), como en las hojas (13,16 vs. 1,96%) y en los tallos (6,94 vs. 0,85%). Los contenidos más elevados de taninos se encontraron en las hojas o las flores, dependiendo de la especie (ver tabla 1), y los más bajos en los tallos ($P<0,001$).

Tabla 1.- Valores medios del contenido de taninos totales (g de "equivalentes AT"/100 g MS) para cada especie y órgano y de la diferencia entre el tratamiento "sin" PEG y el tratamiento "con" PEG en la producción total de gas (dA), el tiempo de retraso (dL), el tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (dT/2) y el ritmo de producción de gas en T/2 (dμ).

Especie	Órgano	Taninos	d A	d μ	d T/2	D L
E. arborea	Flores	$17,65^{a}$	$-78,3^{b}$	$-0,003^{a}$	$1,6^{ab}$	0,220
	Hojas	$13,36^{b}$	$-58,2^{b}$	$-0,018^{b}$	$9,4^{a}$	0,573
	Tallos	$6,60^{c}$	$-18,6^{a}$	$0,009^{a}$	$-3,8^{b}$	-0,079
	e.s.d.	1,040	6,87	0,0045	3,04	0,3358
	P	0,0001	0,0004	0,0028	0,0138	0,2307
E. australis	Flores	$8,64^{b}$	$-57,9^{ab}$	$-0,010^{b}$	$3,3^{a}$	0,000
	Hojas	$12,96^{a}$	$-85,1^{b}$	$0,013^{a}$	$1,2^{a}$	2,573
	Tallos	$7,29^{b}$	$-35,7^{a}$	$0,016^{a}$	$12,9^{b}$	0,000
	e.s.d.	0,632	13,16	0,0073	4,57	3,5318
	P	0,0003	0,0265	0,0204	0,0242	0,0966
C. cantabricus	Flores	$1,10^{b}$	1,6	-0,002	-0,5	0,000
	Hojas	$2,50^{a}$	-5,4	-0,002	0,6	0,000
	Tallos	$0,82^{b}$	0,1	0,000	0,2	0,000
	e.s.d.	0,320	4,79	0,0035	0,56	---
	P	0,0040	0,3691	0,8101	0,2049	---
G. occidentalis	Flores	1,52	-1,9	-0,007	0,5	0,000
	Hojas	1,43	-4,0	-0,007	0,9	0,000
	Tallos	0,88	2,9	-0,001	-0,4	0,000
	e.s.d.	0,289	4,38	0,0082	0,56	---
	P	0,1348	0,3422	0,7500	0,1467	---

Para cada especie y parámetro, valores con distinto superíndice representan diferencias estadísticamente significativas.

En general, los taninos se encuentran básicamente en las hojas y en las partes de la planta (por ejemplo flores) más susceptibles de ser consumidas por los herbívoros (Robbins *et al.*, 1987).

En cuanto a la producción de gas, el efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal se vio claramente reflejado en la diferencia entre los valores obtenidos en presencia o ausencia de PEG (Makkar *et al.*, 1995). Como puede observarse en la tabla 1, las mayores reducciones en la producción total de gas (A) correspondieron a las muestras con mayor contenido de taninos (hojas y flores de *E. arborea* y *E. australis*) y apenas existió efecto cuando el contenido de taninos fue muy bajo, lo cual se refleja en la tabla 2 en un elevado coeficiente de correlación entre taninos y reducción de la producción de gas (dA; r= -0,92; P<0,001). La ausencia de efecto de la adición de PEG cuando el contenido de taninos de la planta es muy bajo ha sido también señalado por otros autores en especies muy similares a las analizadas en este estudio (Ammar *et al.*, 2000).

El efecto sobre el tiempo de retraso ("lag time") también presentó una correlación significativa con el contenido de taninos, pero en este caso la relación no fue tan clara (ver tabla 2). De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, no se pudo demostrar ninguna relación significativa entre el contenido de taninos de las plantas y los parámetros T/2 y μ.

Tabla 2.- Coeficientes de correlación (r) y nivel de significación (p) entre el contenido de taninos totales y las diferencias entre tratamientos ("sin" PEG – "con" PEG) en los parámetros de la cinética de producción de gas.

		d A	d μ	d T/2	d L
Taninos	r	-0,9242	0,0190	0,2184	0,3999
	p	<0,0001	0,9125	0,2007	0,0157

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León y el F.S.E (Proyecto CSI2/01)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMAR, H., LÓPEZ, S., RANILLA, M.J., OVEJERO, F.J. and GONZÁLEZ, J.S. (2000). In: *EAAP Satellite Symposium. Gas Production: Fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity.* Wageningen, The Netherlands.

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

FRANCE, J., DHANOA, M.S., THEODOROU, M.K., LISTER, S.J., DAVIES, D.R. and ISAC, D. (1993). *Journal of Theoretical Biology*, 163: 99-111.

FRUTOS, P., HERVÁS, G., RAMOS, G., GIRÁLDEZ, F.J: and MANTECÓN, A.R. *Animal Feed Science and Technology* (en prensa)

JACKSON, F.S., McNABB, W.C., BARRY, T.N., FOO, Y.L. and PETERS, J.S. (1996). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72: 483-492.

MAKKAR, H.P.S., BLÜMMEL, M. and BECKER, K. (1995). *British Journal of Nutrition*, 73: 897-913.

MAURICIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S., OWEN, E., CHANNA, K.S. and THEODOROU, M.K. (1999). *Animal Feed Science and Technology*, 79: 321-330.

MUELLER-HARVEY, I. (1999). *Secondary Plant Products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding.* J.C. Caygill and I. Mueller-Harvey (eds.), pp. 17-70. Nottingham University Press. U. K.

ROBBINS, C.T., HANLEY, T.A., HAGERMAN, A.E., HJELJORD, O., BAKER, D.L., SCHWARTZ, C.C. and MAUTZ, W.W. (1987). *Ecology*, 68: 98-107.

S.A.S. (1989). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.