

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE TANINOS COMO ADITIVO ALIMENTICIO SOBRE EL COMPORTAMIENTO INGESTIVO, DEGRADABILIDAD Y PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN RUMINAL EN BOVINOS

Mariana Vásquez Isaza; Néstor Enrique Acosta Pérez ¹,

¹ *Estudiantes de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad De Cundinamarca
Sede Fusagasugá (Colombia).*

(06 de octubre de 2015)

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de taninos como aditivo alimenticio sobre el comportamiento ingestivo, la degradabilidad de la materia seca y parámetros de fermentación ruminal en dos grupos genéticos de bovinos. De acuerdo a esto, 8 hembras bovinas fistuladas en rumen, no lactantes y no gestantes de la raza Holstein y Nelore con un peso vivo promedio de $747 \pm 61,31$ y $427 \pm 44,83$ kg, respectivamente, fueron distribuidas a una de las 4 dietas experimentales diferenciándose de acuerdo al nivel de taninos en la dieta, siendo: T1: Dieta control (CON) (dieta basal) sin inclusión de taninos; T2: dieta con 0.5% de inclusión de taninos (TAN 0,5) sobre el CMS; T3: Dieta con 1.0% de inclusión de taninos (TAN 1,0) sobre el CMS y T4: Dieta con inclusión de 1.5% de taninos (TAN 1,5) sobre el CMS. Se realizó la determinación del comportamiento ingestivo, degradabilidad ruminal y parámetros de fermentación ruminal, tales como pH y protozoarios y el efecto del aditivo sobre cada una de las dos razas utilizadas. Todos los resultados fueron analizados por el programa Statistical Analysis System y los efectos de tratamiento se evaluaron por el uso de regresión polinomial, separando los efectos en linear cuadrática y desvío de la cuadrática. No fueron observadas diferencias significativas ($P > 0,05$) para las variables de consumo de materia seca (CMS) al evaluar el efecto del nivel de inclusión de tanino. En el análisis de comportamiento ingestivo, para la variable de numero de eventos rumiando, se observó respuesta linear ascendente ($P < 0,05$) para nivel de inclusión, indicando que a medida que se aumentó la inclusión de tanino condensado de 0 a 1,0 %, el número de eventos rumiando también aumentó. Para el efecto de la inclusión de taninos sobre la degradabilidad in-situ de la materia seca en dos grupos genéticos, se observó efecto significativo ($P < 0,05$) para la degradación efectiva en las tasas en 0,02 y 0,05%. En este caso hubo un efecto linear decreciente para nivel de inclusión de taninos condensados en las dos tasas, demostrando una menor degradación efectiva a medida que se aumentó el nivel de inclusión de TC. Efecto linear decreciente ($P < 0,05$) se observó para las variables de pH, expresado en media, mínimo y máximo, lo que indica que a medida que aumentó el nivel de inclusión de taninos, el pH fue disminuyendo, encontrando de esta forma, un menor valor de pH para el máximo nivel de taninos (1,5% del total de la MS), en relación a los demás tratamientos. En el análisis de protozoarios, a pesar de no haber observado diferencia significativa tanto por nivel como por genética para el total de protozoarios, fue observada interacción entre estos, mostrando una reducción del total de protozoarios con el incremento del nivel de inclusión de taninos, lo que se relacionó con la disminución del pH ruminal cuando suministrado un nivel de taninos de 1,5%, lo que refleja que la disminución del pH ruminal influyó en la disminución del total de protozoarios. En conclusión, el aumento del nivel de taninos

condensados en la dieta de bovinos afectó parámetros de comportamiento ingestivo, de degradabilidad de la MS y de fermentación ruminal.

Palabras claves: Bovinos, comportamiento ingestivo, degradabilidad, protozoarios, taninos condensados.

Abstract.

The objective of this study was to evaluate the effect of inclusion of tannins as a food additive on the feeding behavior, degradability of the dry matter and ruminal fermentation parameters into two genetic groups of cattle. Accordingly 8 rumen cannulated bovine females, non-pregnant and non-lactating Holstein and Nelore breed with an average body weight of 747 ± 61.31 and 427 ± 44.83 kg, respectively, were distributed to one of the 4 experimental diets differing according to the level of tannins in the diet, as follows: T1: control diet (CON) (basal diet) without inclusion of tannins; T2: diet with 0.5% inclusion of tannins (TAN 0.5) on the DMI; T3: diet with 1.0% inclusion of tannins (TAN 1.0) on the DMI and T4: Diet including 1.5% tannins (TAN 1.5) on the DMI. It was determined feeding behavior, ruminal degradability and ruminal fermentation parameters such as pH and protozoa and the effect of the additive on each of the two breeds. All results were analyzed by the Statistical Analysis System program and the effects of treatment were evaluated by using polynomial regression, separating the linear quadratic and deviation from the quadratic effects. No significant differences were observed ($P > 0.05$) for the variables dry matter intake (DMI) when evaluated for inclusion level. In the analysis of feeding behavior, the variable ruminating ascending linear response ($P < 0.05$) was observed for inclusion level for event number (EN), indicating that as the inclusion of condensed tannin is increased from 0 to 1.0%, the number of events ruminating also increased. For data on the effect of the inclusion of four levels of tannin on in situ degradability of the dry matter in two genetic groups, significant ($P < 0.05$) was observed for the effective degradation rates of 0.02 and 0.05%, in this case there was a linear effect for decreasing inclusion level of condensed tannins in the two rates, demonstrating a lower effective degradation as the inclusion level TC increased. Decreasing linear effect ($P < 0.05$) was observed for the variables pH, expressed as average, minimum and maximum, indicating that as increased the level of inclusion of tannins, the pH was decreasing, finding Thus, a lower pH for the maximum level of tannins (1.5% of the DM), in relation to other treatments. In analyzing protozoa, despite not having observed significant difference so as level by genetic for total protozoa was observed interaction between these, showing a reduction of total protozoa with increasing level of inclusion of tannins, which it was associated with decreased ruminal pH when supplied a level of 1.5% tannins, reflecting the decrease in ruminal pH influenced the decrease of total protozoa. In conclusion, the increased level of condensed tannins in the diet of cattle affected feeding behavior, as well as parameters of DM degradability and ruminal fermentation.

Key Words: Cattle, feeding behavior, degradability, protozoa, condensed tannins.

Introducción.

En la actualidad las producciones pecuarias y en especial la bovina están sometidas a una serie de desafíos orientados a conseguir altos índices de producción, por la creciente demanda de proteína de origen animal por

parte de la población mundial, lo que conlleva a buscar alta eficiencia en la producción, iniciando con la selección de animales y métodos para que estos puedan expresar todo su potencial zootécnico. Existen dos grupos genéticos de bovinos

ampliamente utilizadas en las producciones agropecuarias alrededor de todo el mundo, como son la raza Nelore y Holstein, cada una de las cuales presenta características fenotípicas así como genotípicas muy diferenciadas, características estas, que permiten el uso especializado de estas especies, en la generación de proteína de origen animal (Gasque, 2010).

Los bovinos son animales poligástricos que poseen la capacidad de obtener nutrientes a partir de carbohidratos estructurales y de aprovechar fuentes de nitrógeno no proteico. La fermentación de los carbohidratos presentes en la dieta es realizada por los microorganismos del rumen. Este proceso, resulta en la producción de ácidos grasos de cadena corta, principalmente acético, propiónico y butírico, sin embargo, resulta también en productos menos deseables considerados como productos de desecho en forma de calor y gases, como metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂), considerados como gases de efecto invernadero, al igual que el óxido nitroso (N₂O), producto de la excreción del nitrógeno que no es asimilado por el animal. Estos gases representan grandes pérdidas energéticas del animal (Johnson y Johnson, 1995).

En los países en desarrollo las producciones ganaderas poseen problemas de gran índole, que los hacen menos competitivos, debido a la escasa disponibilidad e investigación en forrajes, la utilización de alimentos con un alto contenido de fibra, el empleo de dietas mal balanceadas, con una relación inadecuada de nutrientes, carbohidratos y proteína, bien sea con excesos o carencia de ellos, los sistemas de producción se vuelven deficientes, ya que esto puede inducir a que los animales sean improductivos, restringiendo así el rendimiento de los animales (Tiemann et al., 2008). Por otra parte, la mayoría de las producciones Suramericanas no poseen acceso a modelos

de producción eficientes, con una nutrición inadecuada de los animales, presentando en su mayoría deficiencias proteicas (CIAT, 2002). El incremento de la demanda por productos de origen animal en estos países, es fruto del crecimiento poblacional, ya que la demanda de productos requiere de la elaboración de alimentos de forma más rápida y constante, con el fin de mantener la seguridad alimentaria de la población, de esta forma, induciendo a que los productores de bovinos opten por el empleo de sistemas de producción intensivos, animales confinados y con una nutrición inadecuada, puesto que el uso de dietas basadas en materias primas con valores energéticos y proteicos inapropiados, generan poca biodisponibilidad de los nutrientes, las cuales pueden disminuir el consumo voluntario de materia seca, presentar una alta tasa de pasaje y mayor excreción de nutrientes. Esto, puede llevar a que los animales no obtengan los nutrientes necesarios para el mantenimiento de sus funciones vitales, ni para su desempeño productivo, además, el animal puede sufrir desordenes metabólicos, disminuyendo de esta forma, el potencial zootécnico de los animales en parámetros como ganancia diaria de peso, peso al sacrificio, rendimiento en canal, litros de leche por animal por día o por ciclo, afectando la calidad de los productos de origen animal bien sea cárnicos o lácteos (INTA, 2003).

Debido a lo anterior, es de gran importancia llevar a cabo estudios con diferentes alternativas nutricionales que busquen modificar los parámetros de fermentación ruminal, modular el consumo de materia seca, la tasa de pasaje y el comportamiento ingestivo de los animales, de tal forma que desvíen los procesos de metabolismo hacia la producción de energía y tejidos, reflejándose en ganancia de peso, producción de leche y aumento del

desempeño productivo de los sistemas de producción bovina. En las últimas décadas los investigadores de nutrición de rumiantes han llevado a cabo experimentos con variedad de aditivos como monesina, levaduras, taninos, en diferentes niveles de inclusión, con la finalidad de obtener alternativas nutricionales que logren incrementar el valor nutricional de los alimentos que minimicen los costos productivos, con el fin de aumentar la competitividad y la calidad de los productos de origen bovino (FEDNA, 2005).

Por lo anterior, en la presente investigación fueron utilizados taninos, teniendo en cuenta que se conocen dos tipos, siendo estos, taninos condensados (TC) y taninos hidrolizados (TH). Para esta investigación se usaron TC, puesto que son menos tóxicos que los TH y en la actualidad son bastante estudiados. En el ensayo se evaluó un aditivo comercial, siendo el extracto en polvo de tanino condensado de *Acacia mearnsii*. Existen estudios en los que se ha demostrado que un nivel de inclusión adecuado en la dieta favorece, la absorción de la proteína en intestino aumentando su valor nutricional, evitando la formación de amonio en rumen que indica una pérdida de nitrógeno, debido a su acción inhibitoria y desnaturalizante sobre algunas enzimas como proteasas, glicoproteínas, que son propias de los microorganismos presentes en el rumen (Pordomingo et al, 2006). Concentraciones entre 2% y 4% de la materia seca son consideradas óptimas para la obtención de beneficios por parte de los taninos, por otra parte, estos componentes también han sido descritos como depresores de parásitos intestinales (Min y Hart, 2003; Barry et al., 2001). Pordomingo et al. (2003; 2004) determinaron que una dieta alta en energía con inclusión de taninos condensados de quebracho, aumenta la conversión energética demostrando mayor ganancia de peso en los

tratamientos que incluían taninos condensados. En aspectos de fermentación ruminal, puede decirse que el efecto de los taninos es más complejo de lo que parece, debido a que aún no se tiene claridad acerca de la acción directa sobre la microbiota ruminal, en cuanto a su inhibición enzimática y una posible alteración de las membranas plasmáticas (Scalbert, 1991). Por lo anterior, el experimento realizado sirve como una base para futuras investigaciones, con el fin de encontrar niveles indicados de taninos para adicionar en las dietas y lograr determinar su acción metabólica en el rumen y en la digestión de los nutrientes. Por ello, el objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de taninos como aditivo alimenticio sobre el comportamiento ingestivo, degradabilidad y parámetros de fermentación ruminal en dos grupos genéticos de bovinos.

Material y métodos.

Animales e instalaciones.

El presente experimento se llevó a cabo en el Departamento de Nutrición y Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de São Paulo - Brasil, en las instalaciones del establo experimental de animales fistulados, así como, en el laboratorio de bromatología del campus de Pirassununga, SP.

Para determinación del efecto de la inclusión de taninos como aditivo alimenticio sobre el consumo de materia seca, comportamiento ingestivo, degradabilidad ruminal y parámetros de fermentación ruminal en bovinos, fueron utilizadas 8 hembras bovinas fistuladas, no lactantes y no gestantes de las razas Nelore y Holstein con un peso vivo promedio de 427 ± 44 kg y 747 ± 61 kg, respectivamente. Los animales fueron mantenidos en un establo cubierto, con

comederos de cemento y bebederos automáticos.

Tratamientos y diseño experimental.

Ocho vacas fueron distribuidas a una de las cuatro dietas experimentales, isonenergéticas e isoproteicas formuladas con base a los requerimientos mínimos para bovinos estabulados con el programa Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer, versión 3.0.3., diferenciándose de acuerdo al nivel de taninos en la dieta, siendo los tratamientos: Tratamiento 1: Dieta control (CON) (dieta basal) sin inclusión de taninos; Tratamiento 2: dieta con 0.5% de inclusión de taninos (TAN 0,5) sobre el consumo de materia seca (CMS); Tratamiento 3: Dieta con 1.0% de inclusión de taninos (TAN 1,0) sobre el CMS y Tratamiento 4: Dieta con inclusión de 1.5% de taninos (TAN 1,5) sobre el CMS.

Se utilizó un diseño experimental cuadrado latino 4x4 duplicado, siendo la unidad experimental el animal dentro de cada periodo. De acuerdo a esto, el experimento contó con 32 unidades experimentales referentes a 4 animales, 4 periodos y 2 cuadrados, donde cada raza representa un cuadrado.

El efecto del tratamiento se evaluó por el uso de regresión polinomial, separando los efectos en linear, cuadrática y desvío de la cuadrática.

Manejo nutricional y/o periodo experimental.

Los alimentos fueron suministrados dos veces por día a las 8:00 y 16:00 horas en cada periodo experimental y en forma de ración completa. Cada uno de los periodos contó con 24 días, siendo que los primeros 15 días fueron destinados a adaptación de los animales a las dietas experimentales. A partir del día 18 al 23 se evaluó el CMS, mientras que del día 15 al día 19 se realizó la evaluación de degradabilidad ruminal. Por otro lado, se efectuó la colecta de líquido ruminal en el día 23 de cada periodo experimental en los tiempos antes (0), 3, 6, 9 y 12 horas después de la alimentación matinal, para comparar parámetros de fermentación ruminal (pH y protozoarios ruminales).

En todas las dietas, la fuente de forraje fue ensilaje de maíz y el concentrado consistió de maíz en grano molido, harina de soya, sal común, fosfato bicálcico, carbonato de calcio y suplemento mineral - vitamínico. Las proporciones de los diversos ingredientes en la dieta se describen en la Tabla 1.

En cuanto a la fuente de taninos, estos se obtuvieron de una casa comercial SETA S.A. Los taninos utilizados provienen de un extracto condensado de *Acacia mearnsii* y poseen una concentración de taninos condensados del 73%.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de la dieta basal experimental

Ingredientes (% MS)	Dietas			
	Control	TAN 0,5	TAN 1,0	TAN 1,5
Ensilaje de maíz	50,5	50,5	50,5	50,5
Maíz en grano molido	32,8	32,8	32,8	32,8
Harina de soya	12,7	12,7	12,7	12,7
Tanino ¹	0,0	0,5	1,0	1,5
Caulin	1,5	1,0	0,5	0,0
Sal común	0,50	0,50	0,50	0,50

Suplemento mineral ²	2,0	2,0	2,0	2,0
Composición bromatológica³				
Materia seca ² (%)	50,03	50,03	50,03	50,03
PB ² (% MS)	14,00	14,00	14,00	14,00
PDR ³ (% PB)	65,30	65,30	65,30	65,30
PNDR ³ (% PB)	34,70	34,70	34,70	34,70
FDN ² (% MS)	29,90	29,90	29,90	29,90
FDNe ³ (% MS)	26,50	26,50	26,50	26,50
FDA ² (% MS)	17,30	17,30	17,30	17,30
CNE ³ (% MS)	46,10	46,10	46,10	46,10
ALMIDON ³ (% MS)	39,30	39,30	39,30	39,30
MM ² (% MS)	4,50	4,50	4,50	4,50
Ca ² (% MS)	1,46	1,46	1,46	1,46
P ² (% MS)	0,45	0,45	0,45	0,45
EE ² (%MS)	3,10	3,10	3,10	3,10
NDT ³ (% MS)	66,90	66,90	66,90	66,90
EL _i ³ (Mcal/día)	1,52	1,52	1,52	1,52

¹Extracto vegetal con 73% de taninos condensados, ²Suplemento mineral, cantidad por Kg de producto: 140 g de calcio, 80 g de fósforo, 10 g de azufre, 129 g de sodio, 80 mg de cobalto, 1.400 mg de cobre, 800 mg de flúor, 80 mg de yodo, 1.000 mg de manganeso, 20 mg de selenio, 3.500 mg de zinc, 198 mg de ac. linoléico, 40 mg de colina, 0,637 mg de cromo, 201 mg de lisina, 59 mg de metionina, 46 mg de tirosina, 8.430 mg de NNP, 0,015x10⁷ ufc de sacharomices ³ Estimado segundo el programa Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer, versão 3.0.3.

Parámetros de evaluación.

Consumo de materia seca (CMS).

El consumo de materia se evaluó del día 18 al 23 de cada periodo experimental. El CMS fue calculado por la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido en un día y la sobra del alimento colectado y pesado en la mañana siguiente de haber suministrado el alimento, multiplicando esto por el porcentaje de materia seca (MS) de cada alimento (Romero et. al, 2014).

Análisis bromatológico.

Se realizó un análisis bromatológico de los alimentos utilizados en las dietas experimentales determinando de esta forma, la materia seca - MS (Método 2001.12), materia mineral - MM (Método 935.12), proteína bruta - PB (Método 968.06), extracto etéreo - EE (Método 920.39), calcio - Ca

(Método 935.13), fósforo - P (Método 964.06), conforme metodologías descritas por el AOAC (1995) y fibra en detergente neutro - FDN, fibra en detergente ácido - FDA y lignina - LIG, según Van Soest (1994).

Los análisis químicos fueron realizados en el Laboratorio de Nutrición Animal y Ciencia de los Alimentos del Departamento de Producción Animal y Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de São Paulo, Campus Pirassununga.

Comportamiento ingestivo.

El comportamiento ingestivo fue evaluado el día 17 de cada período experimental, por 24 horas, iniciándose el primer análisis a las 8:00 de la mañana y terminando a las 8:00 horas de la mañana del día siguiente, a través de un monitoreo visual, realizado

cada 5 minutos. Los parámetros evaluados fueron: Comiendo (C), Bebiendo (B), Rumiando (R) y en Ocio (O), conforme metodología citada por Maekawa et al. (2002). Durante la observación nocturna los animales fueron mantenidos con iluminación artificial.

Los resultados referentes a los factores de comportamiento ingestivo fueron obtenidos utilizando las siguientes ecuaciones: La suma de todos los eventos de alimentación representa el número diario de eventos de alimentación (NEA; eventos/día). Las demás actividades como el número de eventos bebiendo (NEB), rumiando (NER) y en ocio (NEO) fueron calculados de la misma manera.

El tiempo total de alimentación (TTA; min/día) fue definido como la suma de los tiempos de cada uno de los eventos de 5 minutos de duración en los que el animal pasó alimentándose. El tiempo medio de alimentación por evento (TAE; min/evento), fue obtenido por el TTA dividido por la NEA. El tiempo total de la rumia (TTR; min/día), de la misma forma, fue definido como la suma de los tiempos de cada uno de los eventos de la rumiación, mientras que el tiempo medio de rumiación por evento (TER; min/evento) se obtuvo por la relación entre el TTR y NER. El tiempo total de masticación (TTM; min/día) se calculó por la suma de TTA y de TTR. El número diario de eventos de masticación (NEM; eventos/día) se obtuvo por la suma de NEA y el NER, mientras que el tiempo medio de masticación por evento (TME; min/evento) se calculó por la relación entre TTM y el NEM. El tiempo total de ocio (TTO; min/día) se obtuvo por el TTM, sustraído del periodo total de 24 horas (1440 min).

La tasa de ingestión de la materia seca (TIMS, g/min), se calculó por el consumo de MS en el día de evaluación dividido por la

TTA. La tasa de ingestión por evento (TIEMS, g/evento) se calculó como la relación entre el consumo de MS en el día de la evaluación y el NEA. También se determinaron las tasas de rumiación (TRMS, min / kg) y masticación (TMMS, min/kg) de la MS, donde el TIR o el TTM fueron divididos por las cantidades ingeridas de los nutrientes en el día de la evaluación.

Determinación de la degradabilidad ruminal.

La degradabilidad ruminal se analizó por medio de la técnica de los sacos de nylon, propuesta por Ørskov et. al. (1980), a partir de los días 15 a 19, con el fin de determinar el desaparecimiento de la materia seca de los alimentos utilizados. Para cada tratamiento, en cada saco se introdujeron 5.5 g de MS (50% de cada uno de los ingredientes) de los alimentos usados en las dietas experimentales. Posterior a la preparación de los sacos de nylon, estos fueron introducidos vía cánula ruminal a las 3, 6, 12, 24, 48 y 96 horas. Después de cada periodo de incubación, los sacos fueron lavados con agua normal, garantizando la limpieza de los poros y posteriormente, fueron sometidos a estufa de secado a una temperatura de 65°C durante 24 horas. Finalmente, los sacos fueron colocados en desecador y pesados nuevamente. El desaparecimiento de la materia seca se obtuvo por la diferencia del peso inicial y final a la incubación, calculando el porcentaje de MS del alimento y su fracción degradada en rumen.

Determinación de pH del líquido ruminal.

El pH ruminal se determinó por la metodología de medición continua del pH ruminal (Lethbridge Research Centre), la cual consiste de un data logger de datos que se utiliza para registrar pH, temperatura y potencial oxido-redox en el rumen de los

bovinos fistulados por varios días. El sistema funciona utilizando un registrador de datos modelo T7-1 LRCpH, DASCOR, una batería alcalina de 9 V y un cable para conectar el ordenador. Este material se encuentra en una capsula de PVC resistente al líquido ruminal. El electrodo de pH Modelo S655CDHT, DASCOR, está cubierto por una protección de 38 mm de diámetro con cuatro agujeros de 25 mm, que se ha desarrollado para permitir el paso de partículas y el líquido al tiempo que protege el electrodo. Además de ello, dos pesos de 900 g están acoplados al electrodo para mantener la "sonda" en el fondo del saco ventral del rumen. La conexión de la "sonda" al computador permite programar la misma para diferentes intervalos de medición utilizando un programa de ordenador (M5-V760) y la descarga de los datos de medición directamente en una hoja de cálculo Excel (Microsoft Office 2007). Antes y después de colocar la sonda en los animales, se calibró el electrodo en soluciones con valores de pH 7.0 y 4.0. Los datos de calibración permiten el cálculo de una pendiente y una intersección antes y después de la prueba para ajustar los datos medidos.

Con este sistema, el pH ruminal se midió durante 24 horas en el día 23, para esto, el día 22 se colocaron las probes en cada animal vía cánula ruminal, para adaptar el sistema a las condiciones ruminales. Posterior al día de colecta, es decir, en el día 24, las probes se retiraron para analizar los datos obtenidos en el día 23 (Moya et al., 2011).

La determinación del pH con la metodología de medición continua (probes) permitió el cálculo de las variables de pH medio, pH mínimo, pH máximo y tiempo en que el pH permaneció debajo de 5,8; 6,0 y 6,2 en minutos (min / d) conforme metodología descrita por Villar et al., (2012).

Conteo total y diferencial de protozoarios ruminales.

La colecta para el conteo total y diferencial de protozoarios ruminales se realizó en el día 23 de cada periodo experimental, mediante colecta del líquido ruminal a las 0, 3, 6, 9 y 12 horas después de la alimentación matinal. El contenido ruminal se colectó manualmente vía fistula ruminal, tomando una muestra de 10 mL de este material y almacenándolo en un frasco previamente preparado con 20 mL de formaldehído al 50% (v/v). Para realizar el conteo diferencial de protozoarios se utilizó 1 mL de la muestra diluida con formol, adicionándole 2 gotas de verde brillante al 2%, dejando reposar por 4 horas. Posteriormente, fueron colocados 9 mL de glicerol a 30% homogenizando la muestra, para formar una alícuota de líquido ruminal diluida 30 veces.

Para el conteo diferencial de protozoarios se utilizó una cámara de conteo de protozoarios "Sedgwick-Rafter" compuesta por un retículo de 0.5 mm x 0.5 mm de área, con subdivisiones de 25 cuadrículas. Esta cámara se acopló al ocular de un microscopio de Olympus modelo CH2 de acuerdo a la técnica descrita por Dehority (1993).

Con la cámara adaptada al microscopio, fueron contados 100 campos ópticos a través del retículo, con aumento de 100x, donde se analizó la proporción de los protozoarios encontrados, así como la cantidad en mL de cada uno de los protozoarios ruminales. Del total de protozoarios analizados se clasificaron en tres géneros, siendo estos: *Isotricha*, *Dasytricha*, *Entodinium* y en la subfamilia *Diplodiniinae* (esta última incluye *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium*, *Metadinium* y *Polysplatron*).

Análisis estadístico.

Los datos de consumo de materia seca fueron analizados por el programa SAS® (Versión 9.3, 2010), verificando la normalidad de los residuos por el test de Shapiro-Wilk. Estos datos fueron sometidos a un análisis de varianza, que separó como causas de variación efecto de tratamientos, efecto de periodos, efecto de animal dentro de cuadrado, así como el efecto de cuadrado.

Los datos de comportamiento ingestivo, degradabilidad ruminal, pH ruminal y protozoarios fueron analizados con los mismos factores sin embargo, se adicionó el factor de medidas repetidas en el tiempo, referentes a los diferentes tiempos de colecta. Este análisis se realizó utilizando el procedimiento PROC-MIXED del SAS® (Versión 9.3, 2010). El análisis por tiempo se realizó cuando las interacciones entre efecto

tiempo y efecto de tratamiento fueron significativas. El efecto de tratamiento se evaluó por el uso de regresión polinomial, separando los efectos en linear cuadrática y desvío de la cuadrática.

Resultados y discusión

Consumo de materia seca

Los datos obtenidos de consumo de materia seca (CMS) expresados en kilogramo por día (kg / d), peso vivo (CPV) y por unidad de peso metabólico (CPM), se describen en la tabla 2. No fueron observadas diferencias significativas ($P > 0,05$) para las variables analizadas cuando comparados los efectos por nivel de inclusión, entre tanto, al ser comparados por genética, se observó efecto significativo ($P < 0,05$) para el consumo de materia seca (kg/d), mientras que para las otras variables no hubo diferencia estadística.

Tabla 2. Efecto de la inclusión de cuatro diferentes niveles de taninos sobre el consumo de materia seca en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Niveles				Media	EPM	Probabilidad		
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1,0%	1,5%			Nivel	Genética	N*G
CMS (kg/d)	16,1	9,2	12,9	12,8	12,5	12,3	12,6	0,715	0,802	0,001	0,270
CPV (% PV)	1,92	1,97	1,96	1,95	1,96	1,91	1,94	0,036	0,944	0,701	0,279
CPM (g/kg de PV ^{0,75})	103,3	91,3	98,3	97,9	97,7	95,4	97,3	2,217	0,927	0,090	0,271

CMS: Consumo de Materia Seca; PM: Peso Metabólico; CPV: Consumo en relación a Peso Vivo; CPM: Consumo en relación a peso metabólico; N*G = Interacción Nivel*Genética.

De acuerdo a los datos obtenidos, no fue observado efecto de nivel de inclusión para las variables de consumo, debido a que los animales fueron previamente adaptados a las dietas experimentales y además de ello, todas las dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas, lo que conllevó a obtener un consumo homogéneo cuando comparados los datos por nivel. Por otro lado, los resultados obtenidos, también se debieron a que a los animales recibieron una dieta (50% forraje : 50% concentrado) en forma de ración completa, lo que pudo evitar la acción de astringencia que

presentan los taninos cuando entran en contacto directo con la mucosa salival, haciendo que esta se precipite y disminuya el consumo de materia seca. Sumado a esto, los alimentos concentrados por su alta cantidad de carbohidratos tienden a enmascarar el sabor de los taninos y presentan una alta palatabilidad, lo que pudo haber pasado en el presente experimento.

En contrapartida, el efecto significativo ($P < 0,05$) del consumo de materia seca por genética fue debido a que animales *Bos taurus* (Holstein) tienen un tamaño y exigencias

mayores que animales *Bos indicus* (Nelore), ya que son una raza especializada para leche. Además, la capacidad de los preestómagos presenta ciertas diferencias anatómicas en cuanto a tamaño de sus órganos digestivos, siendo menor en animales *Bos indicus*.

Barry y McNabb (1999) indican que la adición de taninos condensados a niveles inferiores a un 4% de TC por kg de MS no afecta el consumo voluntario. Por otro lado, Pordomingo et al., (2004) demostró que la adición de TC al 1% por kg de MS, mantiene de forma constante el consumo, sin afectar la ingestión voluntaria de alimento. Valores similares fueron obtenidos por Beauchemin et al., (2007), con inclusiones de TC de 1 y 2% / kg de MS, donde no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Finalmente, en ensayos realizados por Neto et al. (2011) con animales Nelore, a los cuales les suministraron niveles de TC de 0,2 y 0,4 % por kg de MS, no se observaron diferencias significativas para el efecto de nivel de inclusión. Los

experimentos mencionados corroboran que la astringencia que generan los TC, no es suficiente para reducir el consumo de materia seca en niveles entre 4% o menores a este, efecto que fue observado en el presente experimento.

En contraposición, Barry y Duncan (1984) y Silanikove et al. (1994) indican que la inclusión de niveles más elevados de taninos (5% de MS), reducen significativamente el consumo voluntario de alimento y la degradación de la materia orgánica, generando menor ingestión de energía metabolizable. Por otro lado, Waghorn y Shelton (1995) indicaron que la adición de 5,05 % de TC del total de la MS, redujo el consumo de alimento en ovinos.

Comportamiento Ingestivo

Los datos obtenidos de la evaluación de comportamiento ingestivo referentes a los diferentes eventos, en ocio, rumiando, bebiendo, comiendo y masticando se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre el comportamiento ingestivo en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Nivel				Média	EPM	Probabilidad			
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G	
Ocio	NE	20,48	18,75	19,38	19,25	20,00	19,75	19,59	0,4087	0,8744	0,1201	0,8177
	TTE	690,3	686,8	691,3	691,9	683,1	688,1	688,6	11,8420	0,9795	0,8953	0,2487
	TTE%	47,94	47,70	48,00	48,05	47,44	47,79	47,82	0,8225	0,9795	0,8951	0,2483
	TME	33,97	37,08	36,06	36,05	34,43	35,56	35,52	0,8493	0,8320	0,2232	0,2230
Rumiando	NE	17,25	14,25	14,88	15,13	17,00	16,00	15,75	0,4330	L=0,0336	0,0176	0,4794
	TTE	491,9	497,2	481,3	488,8	501,3	506,9	494,5	11,0542	0,6911	0,8851	0,2233
	TTE%	34,16	34,53	33,42	33,94	34,81	35,20	34,34	0,7677	0,6908	0,8855	0,2229
	TME	28,74	35,70	32,85	33,76	30,03	32,23	32,22	1,2428	0,2757	0,1079	0,4248
Bebiendo	NE	5,00	3,56	4,38	4,00	4,25	4,50	4,28	4,2812	0,8666	0,3335	0,2401
	TTE	27,19	19,06	24,38	22,50	23,13	22,50	23,13	23,1250	0,9408	0,2940	0,1992
	TTE%	1,89	1,32	1,69	1,56	1,61	1,56	1,61	1,6053	0,9403	0,2922	0,1983
	TME	5,47	5,54	5,57	5,83	5,59	5,02	5,50	0,1694	0,2950	0,8744	0,7632
me	NE	8,44	8,19	8,50	8,63	8,13	8,00	8,31	0,3373	0,8641	0,7851	0,2228

	TTE	230,6	236,9	243,1	236,9	232,5	222,5	233,8	7,6365	0,3310	0,8066	0,3638
	TTE%	16,01	16,45	16,88	16,48	16,15	15,45	16,23	0,5303	0,3310	0,8065	0,3637
	TME	27,89	29,90	28,87	27,93	28,87	29,90	28,89	1,0368	0,8641	0,7851	0,2228
Masticando	NE	25,69	22,44	23,38	23,75	25,13	24,00	24,06	0,5273	0,4866	0,0291	0,3508
	TTE	722,5	734,1	724,4	725,6	733,8	729,4	728,3	11,4863	0,9737	0,6524	0,2456
	TTE%	50,17	50,98	50,30	50,39	50,96	50,65	50,57	0,7977	0,9735	0,6519	0,2452
	TME	28,33	33,12	31,46	31,01	29,33	31,10	30,73	0,8497	0,6371	0,0634	0,8282

QL: Cuadrado latino. EPM: Error padrón de la media. NxQL: Niveles x cuadrado latino. NE: Numero de eventos. TTE: Tiempo total del evento. TTE%: Porcentaje de tiempo total del evento. TME: Tiempo medio del evento; N*G = Interacción Nivel*Genética.

No se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) para las variables analizadas cuando comparados los efectos por nivel de inclusión. Entre tanto, para la variable rumiando, se observó una respuesta lineal ascendente ($P<0,05$) para nivel de inclusión para número de eventos (NE), indicando que a medida que se aumentó la inclusión de tanino condensado de 0 a 1,0 %, el número de eventos rumiando también aumentó. Por otro lado, al comparar los resultados por genética, las variables referentes a rumiando y masticando mostraron un efecto significativo ($P<0,05$) para número de eventos (NE), mientras que, para las otras variables no hubo diferencia significativa.

Se puede ver que los diferentes niveles de TC utilizados en las dietas experimentales, no afectaron parámetros como ocio, bebiendo y comiendo, en las variables NE, TTE, TTE% y TME, las cuales no presentan efecto significativo ($P<0,05$), demostrando de este modo, que cuando se suministran TC en niveles inferiores a 2%, el efecto astringente de los TC puede desaparecer o ser insuficiente para afectar la ingestión de alimento. En el

presente estudio, los niveles de tanino condensado no afectaron el consumo de agua, ni el consumo de alimento. Por otra parte, animales *Bos indicus* en relación a *Bos taurus*, al presentar un mayor porcentaje en la población de protozoos degradadores de alimentos fibrosos (Tabla 7) (*Dasytricha* 1,46 vs 3,40 e *Isotricha* 0,13 vs. 0,35, respectivamente), resultan un mayor degradación del componente fibroso de la dieta, por medio de la acción de estos microorganismos y sus enzimas, disminuyendo así, el tiempo que se invierte en la degradación mecánica del alimento por medio de la rumia.

Los datos obtenidos del efecto de los taninos sobre las tasa de ingestión, rumiación y masticación se muestran en la tabla 4. No se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) cuando comparados los resultados por nivel de inclusión, indicando que tal vez los taninos suministrados no generaron astringencia, ni se alteró la palatabilidad de las dietas, por lo cual no se vieron afectadas las tasas evaluadas.

Tabla 4. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre las tasas de ingestión, rumiación y masticación en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Nivel				Media	EPM	Probabilidad		
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G
Tasa de ingestión											
MS g/min	0,0752	0,0398	0,058	0,056	0,056	0,058	0,057	0,0049	0,9642	0,0325	0,4236
MS min/g	15,176	26,395	21,46	21,59	20,29	19,79	20,78	1,450	0,7937	0,0082	0,2755
MS/evento	2,0496	1,1715	1,565	1,565	1,596	1,715	1,6106	0,125	0,9135	0,0172	0,5940
Tasa de rumiación											

MS g/min	0,0330	0,0187	0,027	0,026	0,025	0,024	0,0258	0,0015	0,3524	0,0006	0,2901
MS min/g	31,298	54,940	41,58	43,28	43,50	44,10	43,119	2,5196	0,8605	0,0003	0,3862
MS/evento	0,9347	0,6623	0,852	0,838	0,739	0,764	0,798	0,0364	0,1113	0,0250	0,9381
Tasa de masticación											
MS g/min	0,0224	0,0126	0,0181	0,0178	0,0173	0,0168	0,0175	0,0010	0,6800	0,0018	0,3480
MS min/g	46,475	81,335	63,046	64,876	63,800	63,898	63,905	3,7882	0,9843	0,0003	0,3725
MS/evento	0,6319	0,4155	0,5469	0,5329	0,4998	0,5151	0,5237	0,0270	0,6066	0,0135	0,4385

N*G = Interacción Nivel*Genética.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) para los efectos correspondientes a genética, donde animales *Bos taurus* presentaron una mayor tasa de ingestión, expresada en materia seca en gramos por minuto (g / min), menos tiempo en la ingestión de gramos de materia seca y mayor ingestión de MS por evento; efecto similar fue observado para la tasa de ruminación. Para la variable de tasa de masticación, animales *Bos taurus* masticaron más MS en gramos por minuto, así como, en minutos masticaron mayor cantidad de gramos de MS y más MS por evento, en comparación con animales *Bos indicus*, que presentaron valores inferiores para cada una de las variables.

El comportamiento ingestivo es dependiente de varios factores, no solo de la dieta sino también del animal, por lo cual, las diferencias observadas para el efecto de genética, se deben a que animales *Bos taurus* presentan mayor tamaño o capacidad ruminal,

mayor ingestión de materia seca, altos requerimientos nutricionales y una población de protozoarios más diversificada, lo cual podría explicar el efecto visto para el análisis de comportamiento ingestivo en cada una de las especies de bovinos.

Degradabilidad in-situ de la materia seca (MS).

Los datos obtenidos sobre el efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre la degradabilidad *in-situ* de la materia seca en dos grupos genéticos, se presentan en la Tabla 5. No se observó efecto significativo ($P > 0,05$) por nivel ni por genética, para las variables de fracción rápidamente soluble (a); fracción potencialmente degradable (b) y tasa horaria de degradación de la fracción potencialmente degradable ($c \cdot h^{-1}$). De igual forma, no fue observado efecto significativo para la degradabilidad Potencial (a+b) (DP), así como, para la porción no degradada (100-DP) (Ind).

Tabla 5. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre la degradabilidad in-situ de la materia seca en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Nivel				Media	EPM	Probabilidad		
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G
Parámetros (%)											
A	17,66	16,99	18,1	16,6	17,4	17,2	17,32	0,3009	0,3930	0,2763	0,5354
b	64,60	68,27	66,8	66,9	67,5	64,5	66,43	0,8383	0,5289	0,1246	0,7233
c (h^{-1})	0,040	0,047	0,04	0,05	0,04	0,04	0,043	0,0021	0,3017	0,1145	0,6443
D. efectiva (%/h)											
De (0,02)	59,83	64,26	63,4	63,7	61,6	59,5	62,04	0,8839	L=0,0021	0,0536	0,1445
De (0,05)	45,70	49,53	48,8	49,4	46,8	45,5	47,62	0,8583	L=0,0112	0,0630	0,3140
De (0,08)	38,73	41,84	41,4	41,7	39,5	38,5	40,29	0,7529	0,0854	0,0681	0,3984
DP (%)	82,26	85,26	84,9	83,5	84,9	81,7	83,76	0,7063	0,2559	0,1282	0,7737
Ind (%)	17,74	14,74	15,1	16,5	15,1	18,3	16,24	0,7063	0,2559	0,1282	0,7737

a = Fracción rápidamente soluble; b = Fracción potencialmente degradable (Fracción degradada en el tiempo); c = Tasa horaria de degradación de la fracción potencialmente degradable; De = Degradabilidad efectiva en las tasas 2, 5 y 8 (%/h); DP = Degradabilidad Potencial (a+b); Ind = Porción no degradada (100-DP); N*G = Interacción Nivel*Genética.

Los parámetros de degradación efectiva ruminal de la materia seca en las tasas de 0,02, 0,05 y 0,08 % por hora, indican el porcentaje de nutrientes que son liberados en rumen, por la degradación de los componentes de la materia seca, que realizan los microorganismos del rumen, con respecto a las tasas de degradación establecidas, de 0,02% por hora, para las fracciones menos degradables, 0,05% para las fracciones medianamente degradables y 0,08% para las fracciones rápidamente degradables; Los resultados fueron significativos ($P < 0,05$), para las tasas de 0,02 y 0,05%, en este caso hubo un efecto lineal decreciente para nivel de inclusión de taninos condensados en las dos tasas, demostrando una menor degradación efectiva a medida que se aumentó el nivel de inclusión de TC. Esto indica que a medida que se incrementa la adición de taninos, se disminuye la degradación ruminal de la materia seca del alimento, por la reducción de la actividad microbiana, de la liberación y disponibilidad de los nutrientes de la dieta en rumen, parámetros estos, esenciales para la producción de energía y proteína para los animales. Además, la mayor concentración de taninos en la dieta resulta en incremento de la tasa de pasaje para las fracciones menos degradables. Este efecto, probablemente fue debido a la afinidad existente entre los taninos y los nutrientes de la dieta, evitando su degradación en rumen. Algunos autores publicaron que los taninos tienen la capacidad de disminuir la digestibilidad de los carbohidratos, principalmente hemicelulosa, celulosa, almidón y pectinas (Waghorn y Shelton, 1995).

pH del líquido ruminal.

El pH ruminal es un parámetro influenciado por la composición, tipo y cantidad de la dieta que se le es ofrecida al animal, la frecuencia de alimentación, la proporción de carbohidratos estructurales y no estructurales, las proteínas presentes en la ración, como también, la producción de AGCC, manteniendo el pH en un rango entre 5,5 a 6,9, ideal para el funcionamiento óptimo del rumen en la fermentación de los alimentos. De acuerdo a lo anterior, para los valores obtenidos en el efecto de la inclusión de 4 niveles de taninos sobre el pH ruminal en dos grupos genéticos (Tabla 6), se observó efecto significativo ($P < 0,05$) para todas las variables tanto para nivel de inclusión como para genética.

Hubo efecto lineal decreciente ($P < 0,05$) para las variables de pH, expresado en media, mínimo y máximo, lo que indica que a medida que aumentó el nivel de inclusión de taninos, el pH fue disminuyendo, encontrando de esta forma, un menor valor de pH para el nivel de taninos de 1,5% del total de la materia seca, en relación a los demás tratamientos. Por otro lado, hubo efecto cuadrático para las variables de Tiempo de pH (min/d), menores a 6,0 y 6,2, donde cabe mencionar que el efecto significativo obtenido pudo haber sido atribuido tanto al efecto del nivel de inclusión de TC, como al efecto de genética. Se puede decir que para el nivel de inclusión de taninos de 0,5%, el tiempo en que el pH permaneció menor a 6,0 y 6,2 fue menos en relación a los demás tratamientos, observando que el nivel de inclusión de 1,5% aumentó el tiempo de permanencia de un pH más bajo a nivel ruminal.

Tabla 6. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre el pH ruminal en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Nivel				Media	EPM	Probabilidad		
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G
pH/día											
Media	6,14	6,51	6,48	6,47	6,27	6,15	6,33	0,0501	L=0,0001	0,0324	0,0046
Mínimo	5,61	5,96	5,87	5,96	5,75	5,55	5,78	0,0706	L=0,0069	0,0595	0,0502
Máximo	6,63	6,89	6,83	6,86	6,72	6,64	6,76	0,0400	L=0,0007	0,0231	0,0121
Tiempo de pH, min/d											
< 5,8	285,0	16,9	53,8	32,5	187,5	330,0	150,9	52,57	L=0,0066	0,0102	0,0235
< 6,0	528,7	56,3	222,5	118,8	323,8	505,0	292,5	66,28	C=0,0279	0,0107	0,0061
< 6,2	830,6	172,5	423,8	288,8	547,5	746,3	501,6	80,78	C=0,0105	0,0045	0,0068

N*G = Interacción Nivel*Genética.

En general, los valores obtenidos se encuentran dentro del rango ideal de pH ruminal, lo que indica que la fermentación ruminal se llevó a cabo sin afectar la funcionalidad del rumen, promoviendo el desarrollo óptimo de la microbiota ruminal. De igual forma, el efecto significativo para los resultados obtenidos tanto para pH/día como para tiempo (Tabla 6) en relación a los niveles de tanino, puede atribuirse probablemente a una mayor producción de AGCC en el nivel de 1,5%, ya que de acuerdo a lo reportado por Volpi Lagreca et al. (2013), la concentración total de AGCC, aumenta a medida que se incrementa el nivel de taninos en la dieta, reflejándose a su vez, en una disminución del pH ruminal. Sin embargo, esto solo puede corroborarse con futuros estudios en los que se determine la producción de AGCC. En contraposición, otros autores como Makkar et al. (1995), Martínez et al., (2006) y Beauchemin et al., (2007), mencionan que la inclusión de taninos en la dieta disminuye la producción de AGCC. Entre tanto, Carulla et al., (2005); Benchaar et al., (2008); Krueger et al., (2010), indican que no han encontrado ningún efecto. Es importante aclarar que estos efectos son dependientes del tipo de tanino, del origen, la pureza y la cantidad del mismo, lo que resalta la importancia de continuar realizando

estudios con taninos, para determinar su acción en el rumen.

Fue observado efecto significativo ($P < 0,05$) para genética para todas las variables analizadas (pH/día y Tiempo de pH, min/d), obteniendo en este caso, valores de pH y tiempo inferiores, en los animales *Bos Taurus* en relación a los *Bos indicus*. Esta variación es producto de las diferencias anatómicas y fisiológicas de las dos especies, donde los animales *Taurus* poseen un mayor tamaño físico y por ende un consumo de alimento elevado para suplir con sus requerimientos, en comparación a los animales *Indicus* que participaron en el experimento, los cuales eran pequeños y consumían menor cantidad de alimento por día.

En la ilustración 1, se muestra como el pH desciende a sus valores mínimos entre 5,5 y 6,0 a las 4 horas post-alimentación. De acuerdo a esto, se puede decir que el pH ruminal se mantuvo equilibrado en los picos de fermentación y no afectó el funcionamiento del rumen, evitando de esta forma, trastornos en el animal. Esta ilustración, indica las variaciones de pH en 24 horas, siendo que las dos flechas representan el momento de suministro de la alimentación. Por otro lado, cabe resaltar que los taninos al ser ingeridos se unen con proteínas y forman

el complejo tanino-proteína (Hagerman et al., 1992), por ende, en numerosos estudios se ha demostrado que el metabolismo de la proteína es alterado en rumiantes, como resultado de

esta reacción. Los datos de pH que fueron obtenidos, se encontraron en los rangos de 3,5 a 7,0, por lo cual se puede asumir que se dio la formación de dichos complejos

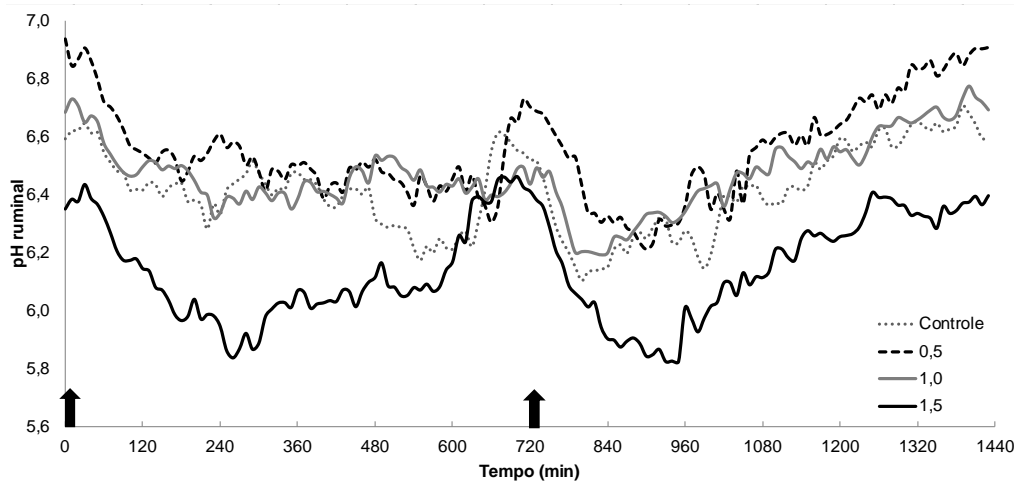


Ilustración 1. Valores medios de pH ruminal medidos a través de la metodología de medición continua en bovinos alimentados con diferentes niveles de inclusión de taninos.

Los datos obtenidos del efecto de los niveles de TC y de genética de los animales mostraron un desvío de la cuadrática ($P < 0,05$) en el análisis de interacción (Ilustración 2), indicando de este modo, que los valores obtenidos se encuentran influenciados por el nivel de TC y por las diferencias de especie entre *Bos taurus* y *Bos indicus*. Para lograr explicar esta interacción es necesario separar el efecto de los niveles de TC sobre los dos tipos de genética. Para tal, fue observado que la especie *Bos indicus* no presentó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los valores de pH para los 4 tratamientos y se muestra un efecto constante con un valor de pH medio de 6,51 y un tiempo de pH $< 6,0$ de 56,25 (min/d). En contraposición, el efecto de los cuatro niveles de TC sobre los animales *Bos taurus* fue significativo ($P = 0,0071$) mostrando desvío de la cuadrática para el pH medio representado

por $Y = 6.2475 + 1.5658x - 2.9350x^2 + 1.467x^3$ y para tiempo de pH $< 6,0$, min/d $Y = 380.0 - 1552.5x + 3915.0x^2 - 1100.0x^3$; indicando que el pH de los animales aumentó al suministrar TC con nivel de 0,5% y disminuyó el tiempo de permanencia del pH abajo de 6 y al aumentar este nivel a 1% hubo una caída de pH mientras que el tiempo de pH debajo de 6 aumento dando el efecto cuadrático, con la adición de un nivel de 1,5% de TC se generó un valor constante, de este modo obteniendo un valor $R^2 = 0.4351$ para pH medio y $R^2 = 0.4582$ para el tiempo debajo de 6; los cuales indican que el comportamiento del pH ruminal, se atribuye en un 43% (para pH medio) y un 45% (para tiempo de pH $< 6,0$, min/d) al efecto de tratamiento.

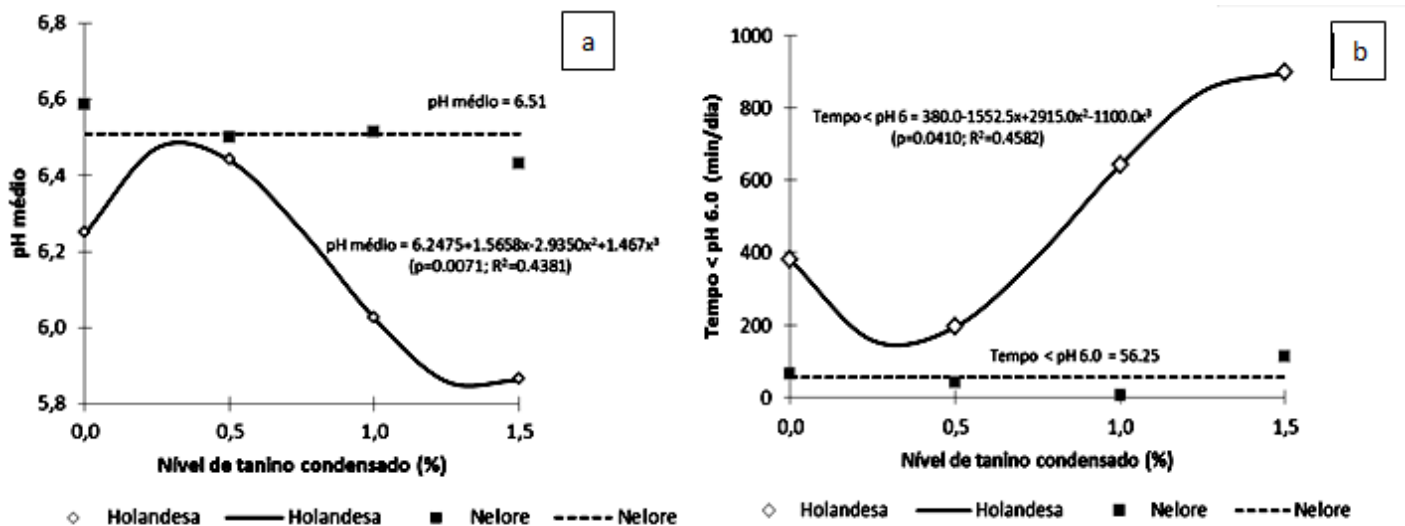


Ilustración 2. Interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para los valores pH medio (a) y de tiempo < pH 6,0 (min / día) (b).

Protozoarios ruminales

En la tabla 7 se presentan los valores medios del conteo total y diferencial de protozoarios en bovinos de dos grupos genéticos alimentados con diferentes niveles de inclusión de taninos. No fueron observadas diferencias significativas ($P>0,05$) en las variables analizadas cuando comparados los efectos por nivel de inclusión. Entre tanto, para la población de *Dasytricha*, tanto por mL como en porcentaje, fue observado efecto significativo ($P<0,05$) por genética, siendo mayor en animales *Bos indicus* en comparación a animales *Bos taurus*. Efecto similar fue observado para el género de los *Isotricha* cuando observado en porcentaje, siendo que animales Nelore presentaron mayor proporción de este género en relación a animales Holstein. La predominancia de los géneros *Dasytricha* e *Isotricha* se genera en dietas a base de caña de azúcar (Valdez et al., 1977), en rumiantes que se encuentran en condiciones de pastoreo o consumiendo forrajes y henos (Williamms y Coleman, 1991). En este caso, el aumento de estos géneros para los animales *Bos indicus* puede

atribuirse al hecho de estos animales, tener la capacidad de degradar más carbohidratos estructurales por sus condiciones fisiológicas ruminales naturales, al ser estos animales que convencionalmente se crían a pasto.

En un estudio realizado por Franzolin y Franzolin (2000) con animales *Bos indicus*, reportaron una mayor concentración de protozoarios del género *Isotricha* y *Dasytricha* y una menor concentración de *Diplodiniinae*, resultados similares a los datos obtenidos en el presente experimento, por lo cual, se puede decir que la genética del animal es un factor que marca una diferencia en las poblaciones de protozoarios ruminales. En este caso, animales *Bos indicus* presentan una mayor cantidad de protozoarios degradadores de fibra, precisamente por su mayor rusticidad y porque son animales que fisiológicamente nacen con una población microbiana que tiene la habilidad de degradar carbohidratos estructurales, como se mencionó anteriormente, por las condiciones de cría (sistemas extensivos) de estos animales, que los hace más hábiles para digerir forrajes de baja calidad, a diferencia de animales *Bos*

taurus, que son más exigentes en cuanto a calidad de la dieta.

De acuerdo a Sanabria (2008), las poblaciones de protozoarios en rumen no solo dependen del tipo de dieta que ingiere el animal, sino también de la edad fisiológica, por lo cual en animales con una mayor edad, las poblaciones

de protozoarios son más estables, lo que podría explicar la diferencias encontradas en el presente experimento, donde se observó que animales *Bos taurus* presentaron mayor cantidad de protozoarios (Total, $\times 10^3/\text{mL}$) en relación a animales *Bos indicus*, lo que puede ser debido a que estos últimos eran animales más jóvenes.

Tabla 7. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre protozoarios ruminales en dos grupos genéticos.

Variables	Genética		Nivel				Media	EPM	Probabilidad			
	<i>Taurus</i>	<i>Indicus</i>	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G	C*Tempo
Protozoario ($\times 10^3/\text{mL}$)												
<i>Dasytricha</i> .	6,52	13,09	13,41	8,33	7,89	7,35	9,28	0,7004	0,1969	0,0012	0,5243	0,3965
<i>Diplodiniinae</i> .	4,69	4,06	5,91	4,39	4,02	3,39	4,43	0,3886	0,3554	0,7117	0,9100	0,3382
<i>Entodinium</i> .	482,4	470,2	532,4	465,6	454,7	455,3	477,3	13,827	0,2179	0,4877	0,0441	0,8010
<i>Isotricha</i>	0,68	1,42	1,41	1,03	0,57	0,96	0,99	0,1372	0,2463	0,3411	0,5829	0,0346
Total	494,3	488,7	553,1	479,4	466,7	467,0	491,9	13,909	0,1740	0,5480	0,0408	0,7289
Protozoario (%)												
<i>Dasytricha</i>	1,46	3,40	2,73	1,82	2,09	2,38	2,27	0,2128	0,8297	0,0247	0,5643	0,6237
<i>Diplodiniinae</i>	1,11	0,72	1,07	0,93	0,93	0,85	0,94	0,0839	0,9207	0,6419	0,9803	0,5421
<i>Entodinium</i>	97,3	95,8	95,9	97,0	96,8	96,9	96,6	0,2214	0,7213	0,0223	0,4260	0,3917
<i>Isotricha</i>	0,13	0,35	0,25	0,21	0,13	0,31	0,22	0,0351	0,5386	0,0379	0,7757	0,0438

N*G = Interacción Nivel*Genética; C*Tempo = Interacción de la combinación de cada Nivel para cada Genética con el tiempo de colecta (0, 3, 6, 9 y 12h).

Efecto contrario y significativo ($P < 0,05$) fue observado para la población de protozoarios del genero *Entodinium*, cuando observado en porcentaje, siendo este, mayor en animales *Bos taurus* en comparación a animales *Bos indicus*. Similar a lo mencionado anteriormente, en este caso el aumento de este género para animales *Bos taurus* se atribuye a las condiciones fisiológicas de estos, al ser animales que en la actualidad se basan en una cría de sistemas intensivos, es decir, donde se suministra raciones totalmente mezcladas, basadas en una relación específica de voluminoso concentrado, que resulta en aumento de esta población de protozoarios. Fonty et al., (1984) y; Romero et al., (2012), indican que el género *Entodinium* es pionero en predominar en pH entre 6,0 a 6,5, valores

estos, obtenidos en el presente experimento. Por otro lado, existen autores que mencionan que al adicionar concentrados en la dieta, en el conteo total de protozoarios se logra observar hasta un 90% de la población de protozoarios de este género (Hungate, 1966).

A pesar de no haber observado diferencia significativa tanto por nivel como por genética para el total de protozoarios, fue observada interacción (ilustración 3) entre estos, mostrando una reducción del total de protozoarios a medida que se fue aumentando el nivel de inclusión de taninos para los animales *Bos indicus*, lo que resultó en una disminución del pH ruminal (tabla 6), cuando suministrado un nivel de taninos de 1,5%. Lo anterior, refleja que la disminución del pH

ruminal influyó en la disminución del total de protozoarios. Cabe mencionar que, el efecto de los taninos condensados en las poblaciones microbianas depende de la afinidad relativa de taninos condensados para la alimentación vs. proteína microbiana. La afinidad de los taninos condensados para protozoos y metanógenas puede ser particularmente

importante debido al papel simbiótico que estas poblaciones tienen sobre la producción de metano (McAllister et al., 1996)

La ilustración 3, explica la interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para el conteo total de protozoarios ($\times 10^3/\text{mL}$).

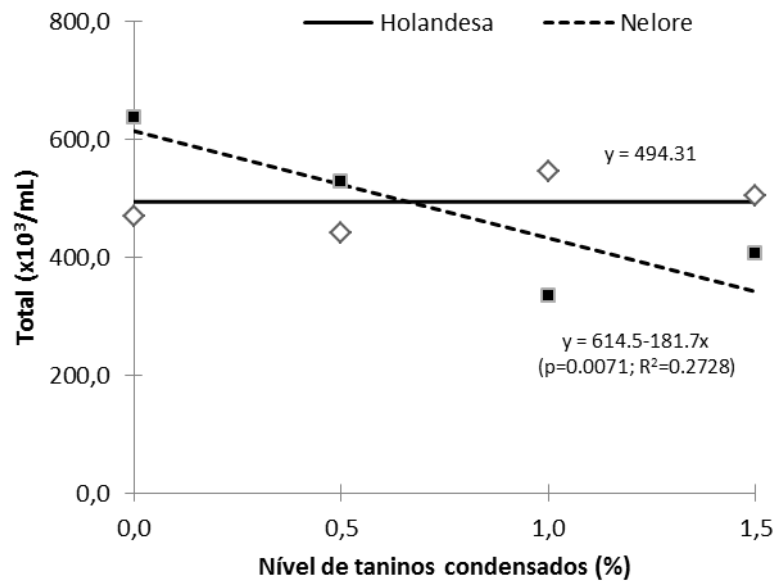


Ilustración 3. Interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para el conteo total de protozoarios ($\times 10^3/\text{mL}$).

La interacción presentada fue dada para el nivel de inclusión de 0,5% de TC, donde las dos líneas se cruzan mostrando que en ese momento el número total de protozoarios fue similar para las dos razas. Al ser separadas las interacciones y a medida que fue aumentando el nivel de inclusión de taninos hubo un efecto lineal negativo en el conteo total de protozoarios para animales *Bos indicus*, contrario a lo observado para animales *Bos taurus*, donde no fue observado efecto significativo y en donde se muestra un leve aumento del total de protozoarios. Interacción semejante fue encontrada para el género *Entodinium* ($\times 10^3/\text{mL}$), ya que el mismo representa el 97,6% del conteo total.

Conclusiones

Los niveles de taninos condensados (0.5, 1.0 y 1.5 %) utilizados en la dieta, no afectaron el consumo de materia seca en ninguna de las dos razas (Nelore y Holstein), indicando de este modo que niveles debajo de 1.5% de inclusión no afectan el consumo voluntario de alimentos en bovinos. Por otro lado, las diferencias observadas en el consumo de materia seca entre las dos razas, se debieron al tamaño, peso y requerimientos nutricionales de cada grupo genético.

Las variables de comportamiento ingestivo, comiendo, bebiendo y en ocio no se vieron afectadas por los niveles de inclusión de los taninos condensados, entre tanto, las variables

de rumia y masticación aumentaron a medida que el nivel de inclusión de taninos aumentó, debido a la menor degradación de la materia seca que se presentó y la disminución de protozoarios ruminales observada.

La población de protozoarios y el pH ruminal fueron afectados por la adición de taninos condensados en la dieta de bovinos. De acuerdo a esto, se observó que a medida que fue aumentado el nivel de inclusión de taninos de 0,5 a 1,5% en la dieta, la población total de protozoarios y el pH disminuyeron, así como, se aumentó el tiempo de permanencia de este último en valores más bajos a 6,2 con la adición más alta de tanino en la dieta. Entretanto, el pH ruminal permaneció dentro de los rangos fisiológicos normales.

Los niveles de taninos condensados influyeron en los parámetros de degradabilidad de la materia seca. De acuerdo a esto, para las variables de degradabilidad efectiva en tasas de 0,02 y 0,05% por hora, se observó una menor degradación a medida que se aumentó el nivel de inclusión de taninos condensados, limitando la liberación de nutrientes en el rumen.

Recomendaciones

Es necesario seguir estudiando el efecto que tienen los taninos en la nutrición de rumiantes, ya que estos representan una gran ventaja en la producción, puesto que pueden modificar la digestibilidad de la dieta, los parámetros de fermentación ruminal y además poseen un efecto potencial de mitigación en la producción de gases efecto invernadero, lo que puede resultar en una mejora de la productividad de los animales, generando menores pérdidas económicas.

Para lograr determinar y conocer el efecto de los taninos en los bovinos es necesario medir más variables de fermentación ruminal, así como, la digestibilidad y excreción de nutrientes, en los cuales se enfoque la

producción y pérdida de energía, proteína y gases, con la finalidad de complementar la literatura existente y lograr comprender la acción de los taninos en bovinos.

Se recomienda realizar estudios con una inclusión de taninos más alta determinando las mismas variables medidas en el presente experimento.

BIBLIOGRAFÍA

Aharoni Y.; Gilboa N. y Silanikove N. (1998). Models of suppressive effect of tannins. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. *Animal Feed Science and Technology*, 71, 251-267.

Animut G.; Puchala R. y Goetsch A. L. (2008). Methane emissions by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from lespedeza. *Animal Feed Science and Technology*, v.144, p.212-227.

AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.

Araujo F. O. (2008). Factores antinutricionales en los alimentos para ganado vacuno Capítulo XXXIV Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito.

Araujo O. y Vergara J. (2007). Propiedades físicas y químicas del rumen, XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA, Cusco, Perú.

Arcos J. L.; Lopez R.; Bernabé A.; Hoffman J. A. (2007). La actividad microbiana en la fermentación ruminal y el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista Temas de Ciencia y Tecnología*. No. 32. Vol 11. 51-62.

Avila S. (2013). Fermentación ruminal y digestibilidad en bovinos recibiendo dietas

con y sin adición de extracto tánico de acacia mearnsii, tesis para obtención de maestría en ciencia animal, universidad federal de Santa María, Brasil.

Barry T. N. y 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. y McNabb W. C. (1999). The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. Br. J. Nutr. 81:263 - 272.

Barry T. N.; McNeill D. M. y McNabb W. C. (2001). Plant secondary compounds; their impact on nutritive value and upon animal production. Pages 445-452 in Proc. XIX Int. Grass. Conf., Sao Paulo, Brazil.

Bavera G. A. (2000). Definición y formación de las razas bovinas. Curso de Producción Bovina de Carne, FAV UNRC.

Beauchemin K. A.; McGinn S. M.; Martínez T. F; y McAllister T. A. (2007). Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. J. Anim. Sci. 85, 1990-1996.

Benchaar C.; McAllister T. A. y Chouinard P. Y. (2008). Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or

Yucca schidigera saponin extracts. J. Dairy Sci. 91, 4765-4777.

Bhatta R.; Uyeno Y.; Tajima K.; Takenaka A.; Yabumoto Y.; Nonaka I.; Enishi O.; Kurihara M. (2009). Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on

methanogenic archaea and protozoal populations. J. Dairy Sci. 92, 5512-5522.

Blanco M. R.; (1999), Bacterias ruminales, Supervisión: Med. Vet. Oscar E Rivera, www.produccion-animal.com.ar, Argentina.

Broderick G. A.; Wallace R. J. y Orskov E. R. (1991). Control of rate and extent of protein degradation. In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima (Eds.), pp. 541-592. Academic Press. Elsevier (Reino Unido).

Carulla J. E.; Kreuzer M.; Machmuller A. y Hess H. D. (2005). Supplementation of Acacia mearnsii tannins decrease methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. Aust. J. Agric. Res. 56: 961-970.

Castillo G. E. (2007). Comportamiento ingestivo en ganado bovino de doble propósito Profesor, Producción y Aprovechamiento de Forrajes, adscrito al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la FMVZ-UNAM. Email: ecastleg@servidor.unam.mx.

CIAT, (2002). Annual report 2002, Project IP-5, Tropical Grasses and Legumes: De Agricultura Tropical). Cali, Colombia.

Dehority B. A. (1993). Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa. Florida: CRC Press Inc., 96 p.

FEDNA, (2005). Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno, XXI curso de especialización FEDNA, Madrid, España.

- Fonty G.; Jouany J. P.; Senaud J. (1984), The evolution of microflora, microfauna and digestion in the rumen of lambs from birth to 4 months. *Canadian Journal of Animal of Sciences*, v. 64, p. 165.
- Forbes J. M. (1995). Voluntary food intake and diet selection in farm animals. CAB International. Oxon, UK. 2, 3, 4 and 9 Ch.
- Franzolin R. y Franzolin M. H. T. (2000). População de protozoários ciliados e degradabilidade em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. *Revist da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v.29, n. 6, p. 1853-1861.
- Frutos P.; Hervás G.; Ramos G.; Giráldez F. J.; Mantecón A. R. (2002). Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology*, v. 95 n. 3, p. 215-226.
- Gasque G. R. (2010). Enciclopedia bovina. Universidad Autónoma Nacional De México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Getachew G. (1999). Tannins in tropical multipurpose tree species: Localization and quantification of tannins using histochemical and approaches and the effect of tannins on in vitro rumen fermentation. 186p. Dissertation (M.S)- Universiat Hohenheim.
- Grainger T.; Clarke M. J.; Auldist K. A.; Beauchemin S. M.; McGinn G. C.; Waghorn y Eckard R. J. (2009). Potencial use of of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, p. 241-251.
- Hagerman A. E.; Robbins C. T.; Weerasuriya Y.; Wilson T.C; McArtur C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *J. Range Manage.* 45, 57-62.
- Haro J. M. (2002). Consumo Voluntario de Forraje por Rumiantes en Pastoreo, *Acta Universitaria*, vol. 12, núm. 3, Universidad de Guanajuato, México.
- Haslam E. (1994). Complexation and oxidative transformation of polyphenols. *Polyphenols*, 94, Palma de Mallorca (España), May 23-27. Ed. INRA, Paris 1995 (Les Colloques, nº 69).
- Hervás G.; Álvarez M. C.; Giraldez F. J.; Mantecón A. R.; Frutos P. (2001). Effect of two types of tannin, in the presence or absence of PEG, on in vitro rumen fermentation in goats. *Proc of the 9th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates*, Hammamet (Tunisia), 8-10 November. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, INRAT (Tunisia), p.57.
- Hungate R. E. (1966). The rumen and its microbes. New York: academic press, 533 p.
- INTA. (2003). Nutrición y Alimentación, Requerimientos de la Vaca de Cría, estación experimental, colonia Benitez, Chaco Argentina.
- IPCC. (2006). Intergovernmental Panel on Climate Change. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Chapter 10: Emissions from Livestock and Manure Management, Chapter 10: Emissions from Livestock and Manure Management, Vol. 14, P. 1-89, disponible en línea, <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>.
- Johnson k. y Johnson D. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal Animal science*, Vol. 73, p. 2483-2492.

- Jones W. T. y Mangan J. L. (1977). Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of Sciences, Food and Agriculture*. Vol. 28. p.126-136.
- Krueger W. K.; Gutiérrez-Bañuelos H.; Carstens G. E.; Min B. R.; Pinchak W. E.; Gómez R. R.; Anderson R. C.; Krueger N. A. y Forbes T. D. A. (2010), Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, rumina fermentation, and carcass and non-carcas traits in steers fed a high-grain diet. *Anim. Feed Sci. Tech.* 159, 1-9
- Kumar R. y Singh M. (1984). Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 32, 447-453.
- Lasa J.; Mantecón C. y Gómez M. A. (2010). Utilización de taninos en las dietas de rumiantes. Servicio de Rumiantes de Nuevas Tecnologías de Gestión Alimentaria, S.L. www.produccion-animal.com.ar.
- Leinmüller E.; Steingass H. y Menke, K. H. (1991). Tannin in ruminant feedstuffs. *Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research*, 33, 9-62.
- Lier E. V. y Regueiro M. (2008). Digestión en retículo-rumen, Departamento De Producción Animal y Pasturas. Curso de Anatomía y Fisiología Animal, Montevideo, Uruguay.
- Maekawa M.; Beauchemin K. A.; Christensen D. A. (2002). Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*.
- Makkar H. P.; Blümmel M. y Becker K. (1995). In vitro effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in rumen. *J. Sci. Food Agric.* 69, 481-493.
- Márquez L. D. y Suárez L. A. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria* Nro. 16. Colombia.
- Martínez T. F.; McAllister T. A.; Wang Y. y Reuter T. (2006). Effects of tannic acid and quebracho tannins on in vitro ruminal fermentation of wheat and corn grain. *J. Sci. Food Agric.* 86, 1244-1256.
- McAllister A. T.; Okine E. K.; Mathison G. W.; Cheng K. J. (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 76, p. 231-243.
- McAllister T. A.; Bae H. D.; Yanke L. J.; Cheng K. J. y Muir A. (1994). 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.
- McMahon L. R.; McAllister T. A.; Berg B. P.; Majak W.; Acharya S. N.; Popp J. D. (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.; McNeill D. M.; Krause D. O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91: 83-93.
- Min B. R. y Hart S. P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *J. Anim. Sci.* 81:E102-E109. Optimizing genetic diversity for multipurpose use. CIAT (Centro Internacional).

- Min B. R.; Attwood G. T.; McNabb W.C. y Barry T. N. (2001). Effect of condensed tannins on proteolytic bacterial populations in the rumen and on nitrogen flow to the abomasum of sheep. *Journal of Animal Science*, 79, Suppl. 1, 163.
- Moya D.; Mazzenga A.; Holtshausen L.; Cozzi G.; Gonzalez L. A.; Calsamiglia S.; Gibb D. G.; Mcallister T. A.; Beauchemin K. A.; Schwartzkopf-Genswein K. (2011). Feeding behavior and ruminal acidosis in beef cattle offered a total mixed ration or dietary components separately. *Journal Animal Science*, v. 89, p. 520-530.
- Mueller y Harvey. (1999). Tannins: their nature and biological significance. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding*. J.C. Caygill and I. Mueller- Harvey (Eds.), pp. 17-70. Nottingham University Press (Reino Unido).
- Mueller; Harvey y Mcallan A. B. (1992). Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*, Vol. 1 (Morrison I.M., ed.). JAI Press Ltd., London (UK), pp. 151-217.
- Neto A.; Azambuja E.; Mizubuti I.; Pereira E.; Cunha G.; Ferreira L.; Alves M. y Bumbiers V. (2011), Desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore confinados recebendo dietas de alto teor de concentrado com diferentes níveis de tanino, *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 32, n. 3, p. 1179-1190.
- Ojeda F. y Cáceres O. (1998). Valor nutritivo, factores antinutricionales y tóxicos en leñosas forrajeras para la alimentación animal. En: *Sistemas silvopastoriles en la ganadería tropical*. Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. pp. 1-14.
- Ørskov E. R.; Hovell F. D.; Deb; Mould F. (1980). Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. *Prod. Animal Trop.*, n.5, p.213.
- Owens F. N. y Goetsch A. L. (1993). Ruminal Fermentation. In: Church, D.C. (Ed). *The Ruminant animal. Digestive Physiology and Nutrition*. USA. Waveland Press Inc.
- Patra A. K y Saxena J. J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Sci Food Agric*.
- Penning P. D. y Rutter S. M. (2004). Ingestive behaviour. In: Penning PD, editor. *Herbage Intake Handbook - 2nd ed*. Reading: British Grassland Society:151-175.
- Pordomingo A. J.; Juan N. A. y Azcarate M. P. (2003). Effect of condensed-tannins addition to a corn-sunflower meal based feedlot diet. *J. Anim. Sci.* 81(1):215.
- Pordomingo A. J.; Volpi Lagreca G.; Stefanazzi I. N.; Pordomingo A. B. (2006). Efecto de la inclusión de taninos versus monensina y de soja cruda en dietas basadas en grano entero, sin fibra larga en engorde de vaquillonas a corral. *Boletín de Divulgación Técnica, EEA Anguil*, n. 90.
- Pordomingo A. J; Volpi Lagreca G.; Orienti W. y Welsh R. (2004). Evaluación del agregado de taninos en dietas de distinto nivel energético en vaquillonas para carne. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 24(1):67.
- Provenza F. D. (1992). Mechanisms of learning in diet selection with reference to phytotoxicosis in herbivores. *J Range Manage* 45:36-45.
- Ramírez-Restrepo C. A. y Barry T. N. (2005). Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving

- sustainable productivity in grazing ruminants. *Anim. Feed Sci. & Tech.* 120:179-201.
- Relling A. E. y Mattioli G. A. (2007), Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes, Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.L.P.
- Rodero E. y Herrera M. (2000). El concepto de raza un enfoque epistemológico. Unidad de Etnología. Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba. Avda. Medina Azahara.
- Romero L.; Rodrigues P.; Marino C.; Pinedo L.; Martins M.; Cassiano E. (2014). Effect of energy sources on the apparent total tract digestibility and excretion of nutrients by bovine cattle. *Rev. MVZ Córdoba* 19(2):4072-4085.
- Sanabria G. C. (2008), Influencia del contenido de taninos condensados sobre poblaciones microbiales del ecosistema ruminal monitoreadas por PCR – TR, Corpoica.
- SAS. Statistical Analysis System [CD-ROM]. (2010), Versión 9.3. Cary, NC, USA: SAS Inst, Inc. Savoy, v. 85, n. 5, p. 1165-117.
- Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30:3875-3883.
- Silanikove N.; Nitsan Z. y 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.
- Tahir M. N. (2008). Voluntary feed intake by dairy cattle, Department of Agricultural Research for Northern Sweden.
- Tarazona A. M.; Ceballos M. C.; Naranjo J. F.; Cuartas C. A. (2012). Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*.
- Tiemann T. T.; Lascano C. E.; Kreuzer M. (2008). the ruminal degradability of fibre explains part of the low nutritional value and reduced methanogenesis in highly tanniniferous tropical legumes. *Journal of the science of food and agriculture*. V88 p 1794-1803.
- Valdez R. E.; Alvarez F. J.; Ferreiro H. M.; Guerra F.; Lopez J.; Priego A.; Blackburn, T.H.; Leng, R. A.; Preston T. R. (1977). Rumen function in cattle given sugar cane, *Tropical Animal Production*, V. 2, p. 260-272.
- Van Soest J. P. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Comstock Publ. Assoc., Cornell Univ. press, Ithaca, NY.
- Villar B.; Tobias C.; Arévalo L.; Perna F.; Romero L. A.; Araújo T.; Mazza P. H. (2012). Metodologia para mensuração contínua do pH ruminal, *Anais da 49a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia A produção animal no mundo em transformação Brasília*.
- Volpi-Lagrecia G.; Alende M.; Pordomingo A.; Babinec F. y Ceron M. (2013), Engorde de bovinos a corral: Efectos de monensina y de dos niveles de taninos condensados de quebracho sobre el comportamiento productivo, la fermentación ruminal y la degradabilidad in situ de la materia seca y de la proteína, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Anguil, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Patobiología, Castelar, Buenos Aires, Argentina Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Agronomía, *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 33 (2): 65-77 (2013)

Waghorn G. (1996). Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. Proc of the 1996 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting, Lethbridge, Canada (Rode L.M., ed.). pp. 175-194.

Waghorn G. C. y Shelton I. D. (1995). Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* value of ryegrass (*Lolium perenne*) fed to sheep. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, 125, 291- 297.

Weimer P. J. (1998). Manipulating Ruminant Fermentation: A Microbial Ecological Perspective. *Journal of Animal Science*. Vol. 76. p. 3114-3122.

Willianms A. G. y Coleman G. S. (1991), *The rumen protozoa*. London: Springer-Verlag, 441 p.

Zapata V. D.; Perna J. F.; Romero S. L.; Orlandi C. E.; Furlan M.; Arevola L. P.; Tobias M. C.; Mazza R. P. H. (2013) efeito de

aditivos alimentares sobre pH ruminal e a contagem total e diferencial de protozoários. Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP1, Universidad Cooperativa de Colombia – VI Simpósio de Pós-Graduação e Pesquisa em Nutrição e Produção Animal – VNP – FMVZ – USP.

Zeballos H. R. (2010). Origen del bovino. Razas. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Producción Animal. Zootecnia.