

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

**MARIANA VASQUEZ ISAZA  
CÓDIGO:150-211-144**

**NESTOR ENRIQUE ACOSTA PEREZ  
CÓDIGO:150-211-101**

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE ZOOTECNIA  
FUSAGASUGÁ  
2015**

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

Proyecto de grado opción investigación,  
como requisito parcial para la obtención  
del título de Zootecnista

**MARIANA VASQUEZ ISAZA**  
CÓDIGO:150-211-144

**NESTOR ENRIQUE ACOSTA PEREZ**  
CÓDIGO:150-211-101

Director

**LAURA ALEXANDRA ROMERO SOLÓRZANO**  
Zootecnista, MSc. en Nutrición y Producción Animal.

Codirector

**PAULO HENRIQUE MAZZA RODRÍGUES**  
Médico Veterinario, MSc en Nutrición y Producción Animal  
PhD en Ciencia Animal y Forrajes

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**PROGRAMA DE ZOOTECNIA**  
**FUSAGASUGÁ**  
**2015**

NOTA DE ACEPTACIÓN

---

Jurado  
Dr Juan De Jesús Vargas Martínez  
Zootecnista  
MSc. en Producción Animal

---

Jurado  
Dr John Alexander Moreno Sandoval  
Zootecnista  
MSc. en Ciencias Agrarias

## DEDICATORIA

A Dios por darme la fuerza y voluntad en mi vida.

A mis padres, GLADYS y GILBERTO por darme la vida y la posibilidad de estudiar e impulsarme a conseguir todos mis logros en lo que llevo de vida. Les agradezco de corazón no solo por el apoyo sino por la gran paciencia que me han tenido en mis 22 años de vida, ustedes han sido el mayor apoyo en mi vida.

A mi tía, LUZ MARÍA por enseñarme lo importante que es el estudio en la vida y ayudarme a formar como una mujer que mira más allá de su nariz. Muchas gracias tía, eres una mujer que inspira superación.

A mi primo, ANDRÉS FELIPE, gracias Pipe, fuiste mi hermano y mi modelo a seguir, muchas gracias por todas tus palabras de aliento, siempre sabias que decir para que yo tomara la mejor decisión y pudiera continuar.

A mi querida y paciente orientadora, la Profesora LAURA ALEXANDRA ROMERO SOLÓRZANO, mi profe muchas gracias, sin su ayuda este trabajo no hubiese sido posible, gracias por esas clases, acompañamientos, regaños y tinticos, le agradezco toda la ayuda que me ha dado en mi formación como profesional y como persona.

A toda mi familia por el apoyo brindado durante mi vida y etapa de formación académica.

En especial dedico este trabajo a mi madre MERCY PEREZ, quien siempre ha confiado en mí, me ha ayudado a cumplir mis metas y ha sido cómplice de mis sueños, además de enseñarme a vivir y de darme la vida misma.

A mi hermano Henry Guillermo Acosta Perez, Guille a usted que siempre ha estado ahí para colaborarme y nunca ha dejado de creer en mí.

A todas y cada una de las personas que de una u otra forman contribuyeron con mi formación profesional, entre clases, discusiones y trabajos.

Por ultimo esto es dedicado a cada uno de los seres vivientes, en especial a aquellos de los que obtenemos beneficio alguno.

## AGRADECIMIENTOS

De corazón le agradecemos

A Dios por darnos la fuerza y voluntad para superar todos los obstáculos que se nos presentaron y lograr las diferentes metas en nuestras vidas.

A nuestra orientadora la Profesora LAURA ALEXANDRA ROMERO SOLÓRZANO, por permitirnos ser sus orientados y por enriquecer nuestra vida profesional y personal, profe usted nos ayudó de más!, muchas gracias por toda su paciencia y colaboración en la realización de nuestra pasantía y trabajo de grado. Profe mil y mil gracias por todo su apoyo, comprensión y conocimiento, se convirtió en un modelo a seguir!!

Al Profesor PAULO HENRIQUE MAZZA RODRIGUES, muchas gracias por permitirnos acompañar el experimento, por dejarnos ser parte de ese gran equipo de trabajo que tiene (O PESSOAL DOS FISTULADOS), gracias por el gran apoyo y ayuda que nos brindó en Brasil.

A nuestro jefe FLAVIO PERNA JUNIOR, gracias por el conocimiento, orientación en campo, paciencia con el idioma, por la ayuda que nos dio en la realización de nuestro trabajo de grado, Perna você ajudou de mais!! Muito obrigados.

A una gran persona, profesional y amiga DIANA CAROLINA ZAPATA VASQUEZ, mano muchas gracias, usted fue un ángel Colombiano en tierra extranjera, fue la mejor compañía que pudimos tener en Brasil, mano de corazón la queremos mucho y la admiramos.

Al Señor GILMAR E. BOTTEON, por el cuidado de las vaquitas, por las charlas en el establo, por las bananas verdes, estamos más que agradecidos por toda la ayuda que nos brindó cuando se estaba realizando el experimento.

Al equipo de trabajo de los fistulados (Roberta, Liz, Ricardo, Eduardo y Flavia) les agradecemos por todos los conocimientos, ayuda y apoyo que nos dieron durante la realización del experimento y durante la estadía en Brasil.

A las vaquitas (Lambe-Lambe, Gusanita, Carol, Paloma, Caroço, Darling, Borracha y Jacira) sin su ayuda no hubiese sido posible realizar el experimento.

Y por supuesto "Gracias Pachamama", por darnos todos los medios suficientes para estar aquí.

## TABLA DE CONTENIDO

Página

1.	INTRODUCCIÓN .....	11
2.	OBJETIVOS .....	13
2.1	Objetivo general .....	13
2.2	Objetivos específicos .....	13
3.	REVISIÓN DE LITERATURA .....	14
3.1	Raza .....	14
3.1.1	Raza Holstein .....	14
3.1.2	Raza Nelore .....	15
3.2	Consumo de materia seca .....	15
3.3	Taninos .....	16
3.3.1	Efecto de taninos sobre el consumo de materia seca .....	17
3.4	Comportamiento ingestivo .....	17
3.4.1	Efecto de taninos sobre el comportamiento ingestivo .....	18
3.5	Degradabilidad ruminal .....	18
3.5.1	Efecto de taninos sobre la degradabilidad ruminal .....	19
3.6	Parámetros de fermentación ruminal .....	20
3.6.1	pH ruminal .....	20
3.6.2	Microorganismos .....	20
4.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	22
4.1	Animales e instalaciones .....	22
4.2	Tratamientos y diseño experimental .....	22
4.3	Manejo nutricional y/o periodo experimental .....	23
4.4	Parámetros de evaluación .....	24
4.4.1	Consumo de materia seca (CMS) .....	24
4.4.2	Análisis bromatológico .....	25
4.4.3	Comportamiento ingestivo .....	25
4.4.4	Determinación de la degradabilidad ruminal .....	25
4.4.5	Determinación de pH del líquido ruminal .....	26
4.4.6	Conteo total y diferencial de protozoarios ruminales .....	26
4.5	Análisis estadístico .....	27
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
5.1	Consumo de materia seca .....	28
5.2	Comportamiento Ingestivo .....	29
5.3	Degradabilidad in-situ de la materia seca (MS) .....	31
5.4	pH del líquido ruminal .....	32
5.5	Protozoarios ruminales .....	34
6	CONCLUSIONES .....	37
7	RECOMENDACIONES .....	38
8	BIBLIOGRAFÍA .....	39

## LISTA DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1. Esquema del diseño experimental en dos cuadrados latinos 4 x 4 .....	22
Tabla 2. Esquema de análisis de varianza para diseño en cuadrado latino 4 x 4 replicado con tratamientos estructurados en niveles. ....	23
Tabla 3. Ingredientes y composición química de la dieta basal experimental .....	23
Tabla 4. Efecto de la inclusión de cuatro diferentes niveles de taninos sobre el consumo de materia seca en dos grupos genéticos. ....	28
Tabla 5. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre el comportamiento ingestivo en dos grupos genéticos. ....	29
Tabla 6. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre las tasas de ingestión, rumiación y masticación en dos grupos genéticos. ....	30
Tabla 7. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre la degradabilidad in-situ de la materia seca en dos grupos genéticos.....	31
Tabla 8. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre el pH ruminal en dos grupos genéticos. ....	32
Tabla 9. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre protozoarios ruminales en dos grupos genéticos.....	35

## LISTA DE ILUSTRACIONES

	<b>Pagina</b>
Ilustración 1. Esquema de manejo experimental.....	24
Ilustración 2. Valores medios de pH ruminal medidos a través de la metodología de medición continua en bovinos alimentados con diferentes niveles de inclusión de taninos.....	33
Ilustración 3. 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).....	34
Ilustración 4. Interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para el conteo total de protozoarios (x103/mL). .....	36

## 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 lineal 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 número de eventos rumiando, se observó respuesta lineal 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 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. Efecto lineal 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  $747 \pm 61.31$  and  $427 \pm 44.83$  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.

**Keywords:** Cattle, feeding behavior, degradability, protozoa, condensed tannins.

## 1. 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 ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), considerados como gases de efecto invernadero, al igual que el óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), 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.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la inclusión de taninos como aditivo alimenticio sobre el comportamiento ingestivo, la degradabilidad y parámetros de fermentación ruminal en dos grupos genéticos de bovinos.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la inclusión de taninos en la dieta sobre el consumo de materia seca de bovinos de la raza Nelore y Holstein.
- Identificar el efecto de las dietas experimentales sobre el comportamiento ingestivo en bovinos de dos grupos genéticos.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de taninos sobre la degradabilidad ruminal de la materia seca de la dieta.
- Verificar el efecto de las dietas experimentales sobre parámetros de fermentación ruminal tales como, pH y protozoarios ruminales.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Raza

Bavera (2000) define el concepto de raza como un grupo de animales domésticos que es separado o diferenciado de una población por sus diferentes características morfológicas y fisiológicas, las cuales indican que son individuos que poseen un origen común, pero a su vez se diferencian de su especie por sus rasgos particulares en su exterior y su producción, individuos que tienen la cualidad de transmitir dichos rasgos a su descendencia. Según Rodero y Herrera (2000), la formación de las razas tiene dos mecanismos. El primero es de carácter genético, el cual incluye un proceso de micro-evolución donde interactúan para así crear una variabilidad, procesos como las mutaciones, el aislamiento sexual, la divergencia evolutiva de stock y la selección natural; estos generan una serie de características únicas como conformación fenotípica y adaptabilidad a diferentes situaciones, cabe resaltar que estos procesos son propios del animal y no cuentan con la intervención del ser humano. El segundo, es un mecanismo que cuenta con una intervención antropológica, tiene procesos como la domesticación y la selección natural, los cuales buscan obtener una mayor cantidad de beneficios del animal.

Las razas bovinas presentan una serie de características morfológicas y fisiológicas únicas las cuales se definen como el tipo racial. Lo que compete a características morfológicas hace referencia a: Piel, pelo, color, cuernos, musculatura, todo aquello que haga referencia a los factores que son físicamente visibles. Por lo contrario, lo referente a características fisiológicas hace referencia a: temperamento, producción de leche, grasa butirométrica, glóbulos grasos de la leche, color de la leche, peso vivo, veteado, fertilidad, facilidad al parto, adaptación, resistencia a enfermedades, aptitud materna, aumento diario de peso, conversión alimenticia, entre otros (Bavera, 2000).

Las razas bovinas presentan una particularidad que las definen aún más que el tipo racial y es que provienen de dos especies diferentes. Los animales que llevan sangre de *Bos taurus* de origen europeo, los cuales provienen de zonas templadas y dan origen a la mayoría de las razas modernas productoras de leche especializada. Y *Bos indicus* de origen indo paquistanó, que incluye a bovinos provistos de una joroba, que es un tejido carnosos sobre la cruz además de poseer una gran papada. Estos últimos son animales que resisten a temperaturas elevadas, parasitismo sin llegar a reducir su producción, lo cual los hace animales rústicos, capaces de adaptarse mejor a diferentes situaciones que los *Bos taurus* (Zeballos, 2010).

##### 3.1.1 Raza Holstein.

También conocida como holandesa o frisona, es una raza perteneciente al grupo de los *Bos taurus*. Originaria de dos provincias de Holanda, Frisia occidental y País Bajo del Norte, es la raza que produce la mayor cantidad de leche. Esta tiene características como ser la más pesada entre el grupo de razas lecheras, presenta dos variables del color de pelaje: El manchado blanco y el blanco con rojo; presenta cuernos, cuerpo anguloso, amplio, descarnado, cuello largo descarnado, bien implantado, capacidad corporal relativamente grande en proporción al tamaño; barril profundo y medianamente ancho, cinchera grande, ubre de gran capacidad y buena forma, fuertemente adherida; pezones medianos y colocación en cuadro y a plomo muy bien irrigada (Gasque, 2010).

### 3.1.2 Raza Nelore.

Esta raza tiene sus orígenes en la India en los distritos de los cuales proviene su nombre, donde por cuestiones religiosas no son destinados a la producción pecuaria, se caracterizan por ser de un aspecto vigoroso con una gran desarrollo muscular y corporal. En comparación con otros animales del grupo de los *Bos indicus*, su cabeza no es tan ancha, son de cara larga, con una frente ancha y un morro fino, cráneo de perfil rectilíneo; ojos grandes de forma elíptica, con expresión de mansedumbre; orejas de tamaño mediano; cuernos cortos, gruesos y puntiagudos en el macho; en las hembras, ligeramente inclinados hacia atrás. La raza Nelore es la que presenta los cuernos más pequeños de todas las razas cebuínas. El cuello es corto y grueso, con papada grande y suelta que se inicia en la garganta y termina a la entrada del pecho. Giba de buen tamaño, sobre todo en los machos, en los que tiene forma de riñón. Tórax bien desarrollado y profundo; dorso y lomos rectos; grupa caída con cuartos bien llenos y carnosos; cola fina y larga. El color varía del blanco al gris plateado, incluyendo manchados negros, presentando hocico, piel que bordea los ojos, orejas, cuernos, cola y pezuñas negros. Los machos de color gris acerado, presentan tonos más oscuros en cabeza, cuello, espalda y grupa. Son animales de temperamento tranquilo, gustan de la compañía del hombre y responden bien al buen trato. Es una raza que se encuentra ampliamente distribuida en Brasil, México, Venezuela, Colombia, Centro América, etc. (Gasque, 2010).

### 3.2 Consumo de materia seca.

El consumo de materia seca (CMS) es la cantidad de alimento consumido durante un periodo de tiempo por parte de un animal lo cual resulta ser el principio más significativo para el desarrollo productivo de los bovinos (ganancia de peso y producción de leche), seguido de su eficiencia para asimilarlo y metabolizar los nutrientes de dicho alimento. El CMS está regulado por una serie de factores físicos, metabólicos y sus interacciones, entre el animal (raza, sexo, edad, salud, tamaño, peso, estado fisiológico), las características del alimento (palatabilidad, digestibilidad, cantidad de nutrientes), los factores ambientales (temperatura, humedad relativa, fotoperiodo) y de manejo (Tarazona et. al., 2012).

Existen dos teorías que explican cómo algunos de los factores anteriormente mencionados se integran para regular el CMS. La primera es la teoría del llenado físico, relacionada con la cantidad de forraje que llega al rumen y el tamaño de partícula de la misma, la cual puede causar distensión en el retículo-rumen, en caso de que la ingestión de forraje se base en pastos de mala calidad, lignificados o con un tamaño de partícula superior al que se puede considerar como fibra efectiva. Cuando se ocasiona este tipo de llenado, ello es consecuencia del estímulo de mecanorreceptores, que transmiten un mensaje al sistema nervioso central, motivo por el cual resulta un cese de la ingesta (Tahir, 2008). Al mismo tiempo, el llenado físico es regulado, por la velocidad de desaparición de la digesta que se encuentra dentro del rumen y el paso hacia el abomaso. Esta velocidad de desaparición de la digesta depende del tiempo de digestión, absorción y de retención del alimento en el rumen y de la tasa de pasaje del mismo, parámetros estos, que a su vez dependen de las propiedades físicas y químicas del forraje (Haro, 2002). Por otro lado, existe una segunda teoría donde el consumo es regulado por mecanismo químicos, donde la ingestión de alimentos provoca cambios en el cuerpo. Estos cambios son monitoreados por el cerebro y es así como de acuerdo a la composición de la dieta, los nutrientes absorbidos y el metabolismo ruminal, se liberan factores químicos que son en última instancia quienes regulan el consumo (Haro, 2002). Los metabolitos que tienen efecto en la regulación del consumo son glucosa, propionato, ácidos grasos libres y algunos aminoácidos como leucina. Estos metabolitos son oxidados en el hipotálamo y producen la disminución de la secreción del neuropéptido tirosina (NPY), el cual estimula el apetito (Relling y Mattioli, 2007).

### 3.3 Taninos.

Los taninos son compuestos fenólicos presentes en un grupo diverso de plantas, con pesos moleculares desde 500 a 20000 Daltons, (Mueller y Harvey, 1999). Estos componentes se clasifican en dos grupos, taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC). Los TC son los más estudiados y usados en la alimentación animal debido a su composición, menor toxicidad y beneficios para las producciones bovinas. Estos, poseen una importante afinidad por moléculas como carbohidratos, en especial la hemicelulosa, pero su mayor beneficio es presentado por su capacidad de evitar la rápida degradación de la proteína en el rumen y por ende las elevadas pérdidas energéticas por la generación de amonio y  $\text{NO}_2$ , que generan desperdicio de una gran parte del nitrógeno proteico ingerido (Broderick et al., 1991).

La formación de mencionado complejo tanino-proteína es originada por varias interacciones según Kumar y Singh (1984).

- Hidrofóbicas: son reversibles e independientes del pH, y se producen entre el anillo aromático del compuesto fenólico y las regiones hidrofóbicas de la proteína.
- Puentes de hidrógeno: son reversibles y dependientes del pH y se dan entre los radicales hidroxilo de los grupos fenólicos y el oxígeno del grupo carbonilo y amida del enlace peptídico de las proteínas.
- Enlaces covalentes: son irreversibles y se producen por la oxidación de los polifenoles a quinonas y la consecuente condensación con el grupo nucleofílico de la proteína.
- Disociación de los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos: se producen sólo a un pH altamente básico.

Los taninos y las proteínas interactúan principalmente con puentes de hidrogeno y reacciones hidrofobas. Varios autores mencionan que primero se realiza una reacción hidrófoba entre las fracciones alifáticas del fenol y de la proteína, después se forman los puentes de hidrogeno sobre los grupos hidroxilo del fenol y los carbonilos de la proteína (McMahon et al., 2000) y luego, se estabilizan los complejos formados por medio de las fuerzas de van der Waals (Haslam, 1994).

Los TC son complejos estructuralmente de oligómeros y polímeros de unidades flavonoides (flavan-3-ol, flavan-3,4-diol y biflavanes), unidos por enlaces carbono-carbono que no pueden ser degradados por enzimas anaerobias presentes en rumen; se encuentran comúnmente en plantas como leguminosas, más exactamente en las vacuolas de las células y en las paredes celulares (Márquez y Suárez, 2008).

Para el estudio realizado se utilizó extracto de *Acacia mearnsii* o mejor conocida como acacia negra, una especie nativa de Australia que ha sido introducida y cultivada en Latinoamérica para la obtención de taninos, usados principalmente para trabajos de curtido, producción de vinos y en los últimos años para alimentación animal (Avila, 2013). Como aditivo, se han llevado a cabo varios experimentos con rumiantes, como el desarrollado por Carulla et al. (2005), en el cual se determinó que el tanino reduce la concentración de nitrógeno amoniacal en la excreción urinaria y liquido ruminal en las dietas que contenían extracto de tanino en relación a las dietas sin suplementación de TC de *Acacia mearnsii* en corderos. En otra investigación científica realizada por Grainger et al. (2009), utilizaron extracto tanífero de *Acacia mearnsii* en dosis de 0,9% y 1,5% del consumo estimado de materia seca, en bovinos de leche. Los autores observaron que el tanino redujo significativamente la emisión de gas metano y la excreción de nitrógeno, en cuanto a la producción de leche esta disminuyó, debido a la baja digestibilidad del forraje y al consumo de materia seca que se vio reducido.

### 3.3.1 Efecto de taninos sobre el consumo de materia seca.

Existen muchos factores que afectan el consumo de materia seca por parte del animal, factores tales que pueden llegar a aumentarlo, por ejemplo, cuando un animal se encuentra ante una demanda energética mayor, producida por un estado fisiológico como la lactación, así también existen factores que pueden llegar a disminuirlo o limitarlo, los cuales en su mayoría se encuentran relacionados con las características del alimento que les es ofrecido. Los taninos son compuestos secundarios presentes en una gran cantidad de plantas, los cuales representan una ventaja nutricional en las actuales producciones bovinas, como la protección de la proteína evitando su degradación en rumen, aumentando su valor biológico cuando esta llegue al duodeno, también previene la formación de espuma en rumen, así evitando el timpanismo.

Los taninos en su mayoría se encuentran disponibles para los animales en plantas forrajeras, de las cuales las más representativas son las leguminosas; estas sustancias son compuestos secundarios, producidos como mecanismo de defensa contra los herbívoros y patógenos (Márquez y Suárez, 2008). Autores como Ojeda y Cáceres, (1998). Señalan que estos metabolitos secundarios tienen acción antinutricional, ya que disminuyen el consumo de materia seca por parte del animal, además de la digestibilidad de los nutrientes. La característica más conocida que genera esta acción, es la astringencia que generan los taninos en la boca por la precipitación de la mucoproteína salival, generando un sabor amargo, lo cual genera una disminución considerable en la palatabilidad de las raciones que cuentan con una inclusión generosa de taninos (Van Soest, 1994).

El efecto de los taninos sobre el consumo de alimento depende la concentración de tanino en la inclusión dietaria, los niveles moderados de taninos son  $< 50 \text{ g / kg MS}$ , según lo reportado por (Barry y Duncan, 1984; Silanikove et al., 1994); la inclusión de niveles más elevados de taninos  $> 50 \text{ gr/Kg MS}$ , reduce significativamente el consumo voluntario de alimento y la degradación de la materia orgánica, generando menor ingestión de energía metabolizable. Waghorn y Shelton (1995) indicaron que la adición de 55 gr de TC por kg de MS, reduce el consumo de alimento en ovejas; esto es producto de la baja palatabilidad de la dieta, al estar constituida por valores elevados en taninos, los cuales poseen un sabor amargo, así limitando la ingestión de materia seca.

Por otra parte, Pordomingo et al., (2004) demostró que la adición de TC al 1% modula el consumo y la conversión energética, alcanzando pesos similares a dietas con inclusión de monesina, permitiendo mayor ganancia de peso sin presentar incidencia de acidosis, ratificando la importancia del uso de TC como una alternativa natural frente a aditivos sintéticos como los ionóforos.

Forbes, (1995) indica que dentro de los principios del consumo de materia seca. "cualquier cosa que le cause malestar (disconfort) a un ser vivo reduce el consumo de materia seca". En este caso, cuando el nivel de inclusión de taninos es elevado, el animal va a disminuir el consumo total por la acción astringente que causa.

### 3.4 Comportamiento ingestivo.

Los bovinos, como un gran número de animales comen para satisfacer sus requerimientos, primordialmente en lo que se refiere a energía y proteína, dichos requerimientos pueden ser afectados por hechos tales como el ambiente, estado fisiológico, estado productivo, cantidad, calidad y palatabilidad del alimento ofrecido, acontecimientos que afectan directa o indirectamente el consumo de materia seca del animal (Castillo, 2007). El comportamiento ingestivo de un bovino, puede llegar a indicar correlación con el estado fisiológico interno del animal y la homeostasis que este mantiene tanto la interna como la que desarrolla con el medio que lo rodea, por lo cual, el conocimiento de dicha etología representa un aspecto importante en las producciones pecuarias, ya que además de generar una idea del CMS por parte del animal, estima el tiempo que el animal pasa alimentándose, procesos

de rumia, tasa de bocado y otros parámetros, que generan una idea sobre la productividad del bovino (Penning y Rutter, 2004). El comportamiento ingestivo se define como los tiempos que el animal pasa comiendo, bebiendo, rumiando y en estado de ocio, la medición de dichos tiempo se realiza de una forma visual, donde un evaluador indica los diferentes eventos o tiempos (Provenza, 1992). El tiempo de alimentación y bebida es influenciado por la cantidad y calidad del alimento ofrecido, de igual modo que el tiempo de rumia y ocio, pero se pueden en algunos momentos ver afectados por factores como el estrés térmico, lesiones a nivel bucal, manejo, entre otros. Por lo cual, esta medición es de carácter subjetiva.

### 3.4.1 Efecto de taninos sobre el comportamiento ingestivo.

Como se ha mencionado, la calidad de la dieta que es suministrada al animal condiciona la cantidad o porción que es ingerida por este, sumando a esto, que los bovinos son animales que tienen un sentido del gusto bien desarrollado, por lo cual se tornan selectivos en el momento de consumir las diferentes dietas, por lo tanto, la palatabilidad de la dieta y sus componentes juega un papel importante en el comportamiento ingestivo por parte del animal. Los taninos son sustancias poco palatables por el hecho de que son sustancias astringentes, causando un amargor indeseable y sequedad intensa, con lo cual se disminuye la aceptación del alimento (Lasa, et al., 2010). El mayor o menor efecto de los taninos en la palatabilidad, depende del nivel inclusión de estos en las dietas, por lo cual, cuando se logran niveles óptimos de inclusión en la dietas, el comportamiento ingestivo no se verá afectado en una gran proporción y sumando el modo en que se suministra el alimento, partiendo del hecho de proporcionar las raciones mezcladas, de este modo enmascarando el sabor desagradable del tanino con ayuda de un alimento altamente palatable, cuando tanto el nivel de inclusión del tanino como el la cantidad de alimento ingerido por el animal es adecuada, se consiguen una gran cantidad de ventajas, tales como proteger las proteínas de la degradación ruminal y aumentando la cantidad de proteína disponible en el intestino, de este modo aumentando su valor nutricional, controlando las poblaciones de parásitos como helmintos y evitando el padecimiento de trastornos metabólicos como el timpanismo (Getachew, 1999).

La inclusión de altos niveles de taninos en la dieta genera una reducción en el consumo de alimento por su efecto astringente, así mismo, los taninos disminuyen la tasa de fermentación en rumen, generando una sensación de llenado (Márquez y Suárez, 2008). Por lo cual el animal pasará un menor tiempo comiendo y posiblemente un mayor tiempo bebiendo, con el objetivo de conseguir reducir el efecto de amargor que se produce en la boca, por hecho de la formación de precipitado de la mucoproteína salival.

El grado en que los taninos puedan llegar a afectar el comportamiento ingestivo del animal, dependerá en mayor medida de los niveles y modo de inclusión de estos en la ración diaria, cuando los taninos son enmascarados por algún elemento de la dieta, se espera que el comportamiento ingestivo no se vea afectado por la palatabilidad de dichos polifenoles, cuando se suministran altos niveles de taninos en la ración diaria se puede llegar a producir una intoxicación al animal, más aun cuando se trata de animales estabulados, los cuales no tiene opción de seleccionar los alimentos que ingieren.

De acuerdo a lo anterior, los efectos negativos o positivos de los taninos en lo referente al comportamiento ingestivo en bovinos, se encuentra limitado en mayor medida por los niveles de inclusión de estos en la dieta que se le es ofrecida al animal.

### 3.5 Degradabilidad ruminal.

El rumen es un sistema anaerobio, que posee una microbiota ruminal constituida por bacterias, *Archaea metanogénicas*, protozoarios y hongos, estos microorganismos son los encargados de fermentar y degradar los alimentos que componen la dieta como polisacáridos y proteínas; esto es llevado a cabo por medio de

enzimas microbiales y como resultado de la degradación de estos sustratos por la fauna ruminal, se obtienen productos como ácidos grasos de cadena corta (principalmente acetato, propionato y butirato), proteína microbiana, vitaminas del complejo B, los cuales son útiles para las funciones biológicas y productivas del animal, al mismo tiempo, se generan compuestos inútiles e inclusive nocivos como son el gas metano, dióxido de carbono, amonio y nitritos (Weimer, 1998).

Estas poblaciones ruminales son producto del sustrato que contiene la dieta, además de una serie de condiciones óptimas que le brinda el animal al interior del rumen como pH, temperatura y humedad, además de la adición de soluciones buffer, remoción de ácidos y gases generados en rumen, favoreciendo el desarrollo constante de la microbiota (Owens & Goetsch, 1993), así es que la degradabilidad ruminal esta mediada por el tipo de dieta y los microorganismos que se generen en rumen.

### 3.5.1 Efecto de taninos sobre la degradabilidad ruminal.

La presencia de taninos en la dieta de bovinos, reduce generalmente la degradabilidad de las proteínas, indicando que los TC pueden usarse para mejorar la utilización del nitrógeno (McMahon et al., 2000; Min et al., 2001). A la vez, también se ha observado efecto sobre los carbohidratos, principalmente hemicelulosa, celulosa, almidón y pectinas (Leinmuller et al., 1991).

El efecto que los taninos ejercen sobre la degradabilidad, está sujeto a la concentración y estructura de los mismos. Barry y McNabb (1999), reportan que concentraciones cerca de 3 o 4% de la materia seca, proporcionan un nivel más elevado en la absorción de aminoácidos en intestino, mientras que proporciones más altas entre 6 a 12% MS reducen el consumo y limitan la eficiencia del proceso digestivo (Frutos et al., 2002). Es decir que los taninos realizan un efecto depresor de la degradabilidad de las proteínas aumentando la proteína no degradable en rumen y por ende reduciendo la formación de amonio y metano (Ramírez-Restrepo y Barry, 2005).

La capacidad de los taninos de evitar la degradación de las proteínas se basa en su capacidad para formar enlaces de hidrógeno que son estables entre pH 3,5 y 8,0 (aproximadamente). Estos complejos estables en rumen se disocian a pH inferiores a 3,5 como en abomaso (pH 2,5- 3) y cuando el pH supera los 8 en duodeno, lo que explica el por qué no puede ser degradada la proteína en rumen (Mueller Harvey y McAllan, 1992).

Barry y Duncan (1984), indican que los taninos reducen la digestibilidad de los nutrientes de los alimentos, demostrado en el incremento de la excreción fecal de nitrógeno a medida que aumenta el contenido de taninos en la dieta. Esto se explica debido a que los taninos de la dieta, incrementan las secreciones de proteínas endógenas (glicoproteínas salivares, moco, enzimas digestivas y células del intestino, (Waghorn, 1996). De este modo, el aumento del nitrógeno en heces fecales puede corresponder a un aumento del nitrógeno metabólico fecal, de origen microbiano, más que a una menor cantidad de proteína de la dieta absorbida a nivel intestinal (Hervás et al., 2001).

La baja tasa de degradabilidad proteica en rumen, se suple con el aumento de la digestibilidad intestinal, debido a que el pH intestinal es  $>8,0$ , donde el complejo formado por tanino-proteína es disociado (Frutos et al., 2002). Los taninos también logran bloquear o disminuir la acción de algunas bacterias ruminales, lo que hacen es una privación del sustrato, evitando que las enzimas microbiales puedan degradarlas (McAllister et al., 1994; Aharoni et al., 1998). Scalbert (1991), determinó que los TC oxidados efectúan una acción tóxica sobre las *Archaea metanogénicas*, afectando la permeabilidad de las membranas o generando un déficit nutricional, lo que por consiguiente originará un control en los microorganismos ruminales en cuanto a su reproducción y crecimiento; por ende se verá modificada la degradabilidad de los nutrientes. Se considera que la unión formada entre proteína-tanino en el rumen es reversible, lo cual

significa que la proteína no degradada que llega al duodeno esta liberada a la acción de enzimas digestivas (Jones y Mangan, 1977).

### **3.6 Parámetros de fermentación ruminal.**

Los rumiantes a diferencia de los monogástricos, se caracterizan por tener la capacidad de degradar carbohidratos estructurales y fuentes de nitrógeno no proteico, a través de procesos de fermentación ruminal, este proceso, es regulado por parámetros fundamentales que mantienen en equilibrio el ecosistema del rumen, lo que permite la degradación de dichos componentes nutricionales. Para mantener dicho ecosistema estable y anaerobio, existen unos parámetros tales como: osmolaridad, temperatura, anaerobiosis, tiempo de retención, aporte constante de sustratos, producción de ácidos grasos de cadena corta y pH ruminal (Lier y Regueiro, 2008).

#### **3.6.1 pH ruminal.**

Son varios los factores que intervienen en el pH del rumen, la naturaleza de la dieta suministrada es el principal factor determinante en las fluctuaciones del pH ruminal (Araujo y Vergara, 2007). Por otro lado, el balance entre las cantidades de ácidos y bases producidas, la velocidad con que ocurre esa producción y la eficiencia de absorción de los mismos, forman la base del pH ruminal (Lier y Regueiro, 2008).

La continua producción de AGCC hace que el pH ruminal sea normalmente ácido. Cabe mencionar que el pH ruminal se encuentra dentro del rango fisiológico entre 5,5 a 6,9; cuando los AGCC, abandonan el retículo-rumen, esto permite que el pH vuelva a elevarse. Por otro lado, cuando el pH modifica su rango normal la depresión motora es grave, con atonía ruminal a pH superior a 7 e inferior a 5 (Relling y Mattioli, 2007). Fuera de los rangos normales de pH se favorece el desarrollo de otros microorganismos que alteran el patrón metabólico del rumen y ocasionan disturbios metabólicos al rumiante (Relling y Mattioli, 2007). Existen diversos mecanismos metabólicos de regulación de este parámetro, por parte del rumiante, dentro de estos se encuentra el proceso de salivación, proceso importante ya que a través de saliva, la cual posee un pH de 8,1 a 8,3 se logra elevar el pH ruminal. Debido a su influencia como factor alcalinizante, su producción depende de procesos como la rumia (regurgitación y remasticación).

##### **3.6.1.1 Efecto de taninos sobre pH ruminal.**

Los taninos no generan un efecto significativo sobre el pH ruminal, pero este es indispensable para la formación del complejo proteína-tanino, el cual genera el beneficio de "Bypass", presentándose este hecho de una forma estable a un pH entre 3,5 y 7. Valores de pH superiores a 8 o inferiores a 3,5 disocian rápidamente el complejo (Araujo, 2008).

#### **3.6.2 Microorganismos.**

El proceso de fermentación ruminal es realizado por diferentes tipos de microorganismos (M.O) a los que el rumiante aloja en sus divertículos estomacales y los cuales dependen del tipo de sustrato que llega al rumen. De esta forma, existe una simbiosis entre los microorganismos ruminales y el animal, siendo que, en el caso de los rumiantes, estos aportan a los microorganismos condiciones anaeróbicas, de humedad, temperatura, sustratos y remoción de metabolitos para en buen desarrollo de la microbiota ruminal. En el caso de los microorganismos, son estos quienes realizan los procesos de digestión, absorción y síntesis de nutrientes para el aprovechamiento de los mismos por parte de los rumiantes. En general, la digestión fermentativa depende del normal desarrollo de los M.O que la realizan. Por esta razón, el rumiante crea y mantiene a nivel retículo-ruminal condiciones ideales para su crecimiento y multiplicación, convirtiéndose en un "gigantesco medio de cultivo líquido". Los M.O responsables de la digestión fermentativa incluyen

bacterias, *Archaeas metanogénicas*, protozoos y hongos (Relling y Mattioli, 2007). Los M.O que sobresalen son las bacterias por su habilidad para degradar diferentes sustratos, por otro lado, existen también protozoarios los cuales no son primordiales para la digestión en el rumen, sin embargo, se ha visto que los rumiantes pueden sobrevivir sin la presencia de estos en ciertas condiciones, entre tanto, tienen un papel significativo en la digestión de almidones, los hongos son también una de las especies de microorganismos presentes en el retículo-rumen los cuales tienen una función importante en la digestión de las paredes celulares de los vegetales, sobre todo en aquellos de baja calidad (Lier y Regueiro, 2008).

### 3.6.2.1 Protozoarios Ruminales.

Todos los protozoos ruminales son anaerobios estrictos. La mayoría de las especies son ciliados y flagelados (Blanco, 1999). Se han identificado dos géneros de protozoarios el primero son los pertenecientes al orden Holotricos, familia Isotrichidae (géneros *Isotricha* y *Dasytricha*) y el segundo orden son los Entodinomorfos pertenecientes a la familia Ophryoscolecidae (géneros *Entodinium*, *Epidinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium* y *Polysplatron*) (Arcos, et al, 2007). Son muy versátiles en su capacidad para degradar y fermentar una amplia gama de sustratos (celulosa, hemicelulosa, pectina, almidón, azúcares solubles y lípidos). No obstante, hay diferencias entre los géneros por su especificidad a los sustratos (Blanco, 1999). Se pueden resaltar ciertas características de cada género, como los *Holotricos* quienes presentan la propiedad de asimilar azúcares solubles y transformar una parte de éstos en polisacáridos de reserva, que almacenan en una estructura similar al almidón. Por otro lado, el orden Entodinomorfos ingieren pequeñas partículas de alimento y las engloban o se adhieren a fragmentos grandes (Arcos et. al., 2007).

### 3.6.2.2 Efecto de taninos sobre protozoarios ruminales.

Existen pocos estudios que demuestren el efecto específico que causan los taninos sobre los protozoarios, autores como Araujo (2008) señalan un efecto adverso sobre las poblaciones de protozoarios ruminales, haciendo que estas disminuyan significativamente, pero no señalan con exactitud sobre qué tipo de protozoo se da este hecho o como se presenta. McSweeney et al., (2001) mencionan que los taninos son inhibidores del crecimiento microbiano, también indican que no se ha determinado con exactitud el mecanismo por el cual afectan a estas poblaciones. Por otro lado, Patra y Saxena, (2011) y Anmut et. al., (2008) expusieron que ante altos niveles de taninos en las dietas con inclusiones de 50, 101 y 151 g/kg de MS se reduce el número de estos en caprinos. Bhatta et al (2009) afirmaron que cuando se incluyen los dos tipos de taninos en la ración (TH y TC) se genera una mayor actividad antiprotozoaria. Aharoni et al., (1998) señalan el efecto de privación de sustrato que generan los taninos en rumen, al formar la precipitación de las enzimas microbianas, de este modo impidiendo la unión a los nutrientes, lo cual lleva a una disminución de las poblaciones microbianas en general. Scalbert (1991), menciona que el efecto que los taninos generan sobre las poblaciones de protozoarios varía y depende del tipo de taninos utilizado, su origen y el nivel de inclusión de estos en la dieta. Por lo anterior, se podría decir que los taninos tienen un efecto defaunador sobre la poblaciones protozoarias, sin embargo, en el estudio realizado por Zapata et. al., (2013), indican un aumento en la población de protozoarios del género *Diplodinium*, cuando se usó una dieta con inclusión de taninos 100 g / animal / día.

La poca información que existe sobre el efecto exacto de los taninos sobre las diferentes poblaciones de protozoarios ciliados del rumen, hace meritorio un estudio más a fondo de este hecho, puesto que los taninos generan una serie de beneficios en la nutrición y productividad de los rumiantes, por otro lado los protozoarios hacen parte de la importante población microbiana del rumen, generando beneficios en la digestión de diferentes elementos dietarios.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 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  $427 \pm 44$  kg y  $747 \pm 61$  kg, respectivamente. Los animales fueron mantenidos en un establo cubierto, con comederos de cemento y bebederos automáticos.

### 4.2 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 (Tabla 1). 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 lineal, cuadrática y desvío de la cuadrática, conforme presentado en la tabla del análisis de varianza (Tabla 2).

Tabla 1. Esquema del diseño experimental en dos cuadrados latinos 4 x 4

	Cuadrado 1 Raza Holstein				Cuadrado 2 Raza Nelore			
Animal	1	2	3	4	5	6	7	8
Periodo I	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Periodo II	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1
Periodo III	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2
Periodo IV	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3

Tabla 2. Esquema de análisis de varianza para diseño en cuadrado latino 4 x 4 replicado con tratamientos estructurados en niveles.

Causas de variación	Grados de libertad
Tratamientos	3
Linear	[ 1 ]
Cuadrática	[ 1 ]
Desvío de la cuadrática	[ 1 ]
Periodo	3
Animal dentro de cuadrado	6
Cuadrado	1
Residuo	18
Total	31

#### 4.3 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 3.

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 3. Ingredientes y composición química de la dieta basal experimental

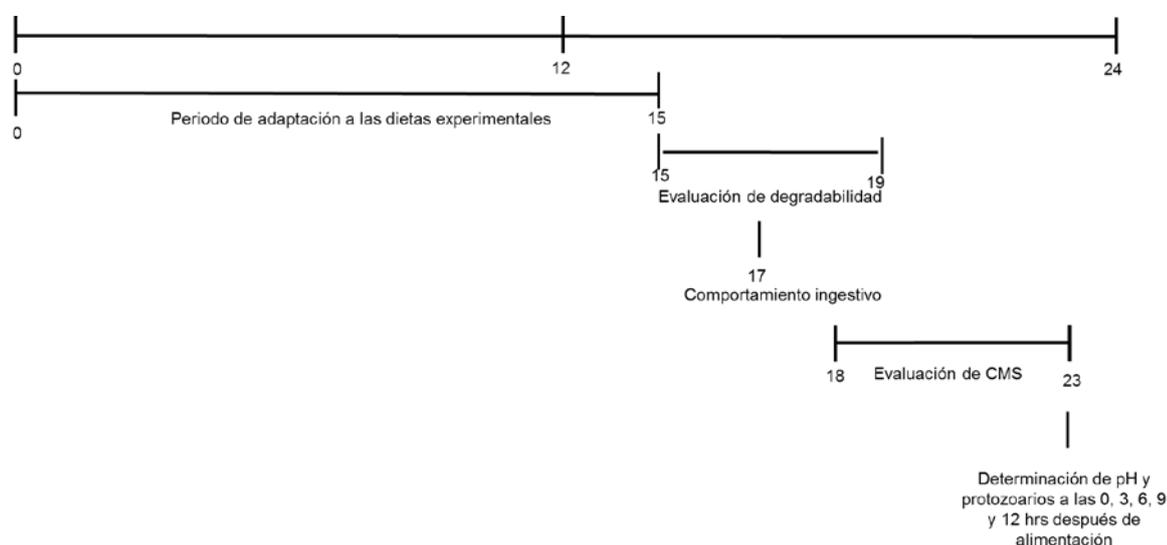
Ingredientes (% MS)	Dietas			
	Control	TAN 0,5	TAN 1,0	TAN 1,5
Ensilaje de maíz	50,5	50,5	50,5	50,5
Maíz en grano molido	32,8	32,8	32,8	32,8
Harina de soya	12,7	12,7	12,7	12,7
Tanino <sup>1</sup>	0,0	0,5	1,0	1,5
Caulin	1,5	1,0	0,5	0,0
Sal común	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento mineral <sup>2</sup>	2,0	2,0	2,0	2,0
<b>Composición bromatológica<sup>3</sup></b>				
Materia seca <sup>2</sup> (%)	50,03	50,03	50,03	50,03
PB <sup>2</sup> (% MS)	14,00	14,00	14,00	14,00

PDR <sup>3</sup> (% PB)	65,30	65,30	65,30	65,30
PNDR <sup>3</sup> (% PB)	34,70	34,70	34,70	34,70
FDN <sup>2</sup> (% MS)	29,90	29,90	29,90	29,90
FDNe <sup>3</sup> (% MS)	26,50	26,50	26,50	26,50
FDA <sup>2</sup> (% MS)	17,30	17,30	17,30	17,30
CNE <sup>3</sup> (% MS)	46,10	46,10	46,10	46,10
ALMIDON <sup>3</sup> (% MS)	39,30	39,30	39,30	39,30
MM <sup>2</sup> (% MS)	4,50	4,50	4,50	4,50
Ca <sup>2</sup> (% MS)	1,46	1,46	1,46	1,46
P <sup>2</sup> (% MS)	0,45	0,45	0,45	0,45
EE <sup>2</sup> (%MS)	3,10	3,10	3,10	3,10
NDT <sup>3</sup> (% MS)	66,90	66,90	66,90	66,90
ELI <sup>3</sup> (Mcal/día)	1,52	1,52	1,52	1,52

<sup>1</sup>Extracto vegetal con 73% de taninos condensados, <sup>2</sup>Suplemento 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, 0,015x10<sup>7</sup> ufc de sacharomices <sup>3</sup> Estimado segundo el programa Spartan Dairy Ration Evaluator/Balancer, versión 3.0.3.

La ilustración 1 muestra el protocolo de colecta en días para cada uno de los parámetros a evaluar.

### Ilustración 1. Esquema de manejo experimental.



## 4.4 Parámetros de evaluación.

### 4.4.1 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).

#### **4.4.2 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.

#### **4.4.3 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.

#### **4.4.4 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.

#### **4.4.5 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 probé 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).

#### **4.4.6 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*).

#### 4.5 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 lineal cuadrática y desvío de la cuadrática.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 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 4. 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 4. 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 <sup>0,75</sup> )	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.

## 5.2 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 5.

**Tabla 5. 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%			Nível	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
Comiendo	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 linear 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 9) (*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 6. 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 6. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre las tasas de ingestión, rumiación y masticación 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
<b>Tasa de ingestión</b>											
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
<b>Tasa de rumiación</b>											
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
<b>Tasa de masticación</b>											
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.

### 5.3 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 7. 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 7. 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
<b>Parámetros (%)</b>											
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
<b>D. efectiva (%/h)</b>											
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).

#### 5.4 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 8), 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 8. 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
<b>pH/día</b>											
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
<b>Tiempo de pH, min/d</b>											
< 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

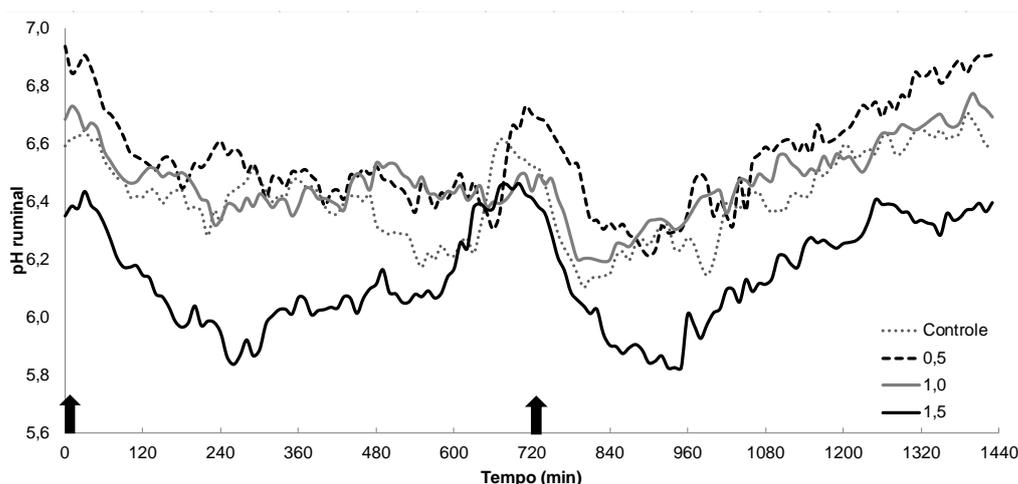
N\*G = Interacción Nivel\*Genética.

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 8) 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 2, 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 2. 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 3), 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  $Y= 6.2475 + 1.5658x - 2.9350x^2 + 1.467 x^3$  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.

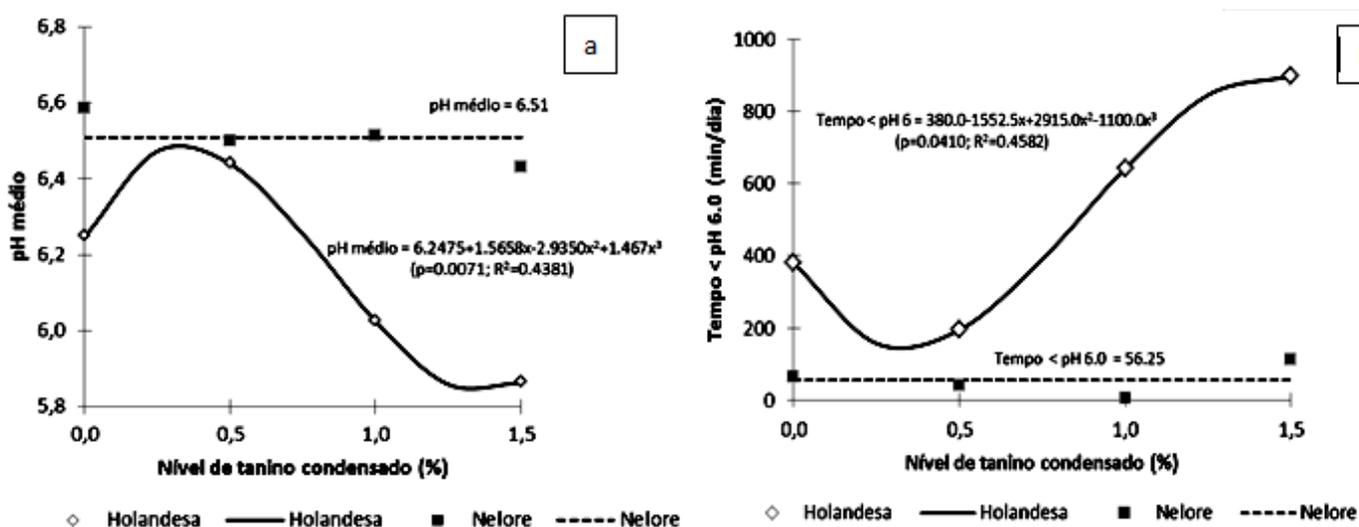


Ilustración 3. Interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para los valores pH medio (a) y de tiempo < pH 6,0 (min / día) (b).

### 5.5 Protozoarios ruminales

En la tabla 9 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 9. Efecto de la inclusión de cuatro niveles de taninos sobre protozoarios ruminales en dos grupos genéticos.**

Variables	Genética		Nivel				Media	EPM	Probabilidad			
	Taurus	Indicus	0%	0,5%	1%	1,5%			Nivel	Genética	N*G	C*Tempo
<b>Protozoario (<math>\times 10^3/\text{mL}</math>)</b>												
<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
<b>Total</b>	<b>494,3</b>	<b>488,7</b>	<b>553,1</b>	<b>479,4</b>	<b>466,7</b>	<b>467,0</b>	<b>491,9</b>	<b>13,909</b>	<b>0,1740</b>	<b>0,5480</b>	<b>0,0408</b>	<b>0,7289</b>
<b>Protozoario (%)</b>												
<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 4) 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 8), 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 4, explica la interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para el conteo total de protozoarios ( $\times 10^3/\text{mL}$ ).

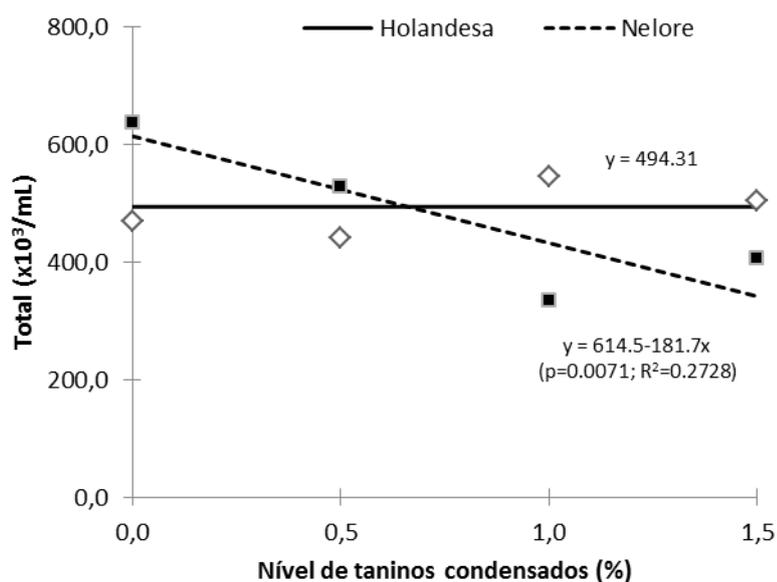


Ilustración 4. Interacción entre niveles de inclusión de tanino condensado y genética para el conteo total de protozoarios ( $\times 10^3/\text{mL}$ ).

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.

## 6 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. Entre tanto, 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.

## 7 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.

## 8 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 tanífero de *acacia mearnsii*, tesis loara 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](http://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](mailto: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. *Revista 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)- Universitat Hohenheim.

Grainger T.; Clarke M. J.; Auld 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; McArthur 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.; Mantecon 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](http://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 McCallan 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). Ruminant 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 tanniferous 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-Lagreca 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 Ruminal Fermentation: A Microbial Ecological Perspective. Journal of Animal Science. Vol. 76. p. 3114-3122.

Williamms 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.