

Taninos en la Nutrición de Rumiantes en Colombia

Memorias del Taller sobre taninos realizado el 18 de mayo 2004

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia
Instituto de Ciencia Animal, ETH Zurich, Suiza

Editores:

Hans-Dieter Hess y Julia Gómez



Tabla de Contenido		Página
Objetivo Principal		1
Objetivos específicos		1
Conferencistas invitados		1
Programa		2
Proyecto de investigación: Potencial de leguminosas forrajeras con taninos en explotaciones ganaderas de pequeños productores		3
<i>Tassilo Tiemann</i>		
Metodologías más usadas para cuantificar taninos condensados		9
<i>Patricia Avila y Rolando Barahona</i>		
Un sistema <i>in vitro</i> para evaluar los efectos de los taninos en la degradación de la proteína bajo condiciones ruminales y abomasales		15
<i>Juan Carulla y Martha L. Pabón</i>		
Algunos métodos y técnicas espectroscópicas aplicables en el análisis químico y estructural de taninos vegetales		20
<i>Bárbara Moreno-Murillo</i>		
Efecto del ambiente y del genotipo en la composición y actividad biológica de los taninos presentes en leguminosas		25
<i>Carlos Lascano</i>		
Degradabilidad ruminal <i>in situ</i> del follaje de arbustivas tropicales y su potencial como fuente de proteína no degradable en rumen		39
<i>Luis Alfonso Giraldo, Wilyer de Jesús García y Juan Carlos López</i>		
Cuantificación de taninos condensados e identificación de QTLs asociados a su acumulación en frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).		43
<i>Gina Viviana Caldas y Matthew Blair</i>		
Contenido de taninos de especies arbóreas nativas e introducidas con potencial forrajero en el Piedemonte Amazónico Colombiano		47
<i>Matilde Cipagauta y Jaime E. Velásquez</i>		
Evaluación de la descomposición del follaje de especies arbustivas promisorias forrajeras para zonas de ladera de Cauca y Valle del Cauca		52
<i>Freddy Antonio Parra</i>		
Efecto de la fertilización con elementos menores y azufre sobre la calidad nutricional del forraje de <i>Desmodium ovalifolium</i> CIAT 13651 en un suelo Oxisol de la Altillanura colombiana		58
<i>Otoniel Pérez, Raúl Antonio Pérez y Oscar Pardo</i>		

Objetivo principal

Resumir el estado de arte de la utilización de especies forrajeras ricas en taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia.

Objetivos específicos

- Reunir investigadores y técnicos (eventualmente productores) colombianos con experiencia en el tema
- Presentar modelos y metodologías utilizados en los diferentes laboratorios
- Presentar resultados recientes de trabajos de investigación y de transferencia
- Definir y priorizar futuras líneas de investigación
- Presentar el proyecto actual de ETH-CIAT-Universidad Nacional-CORPOICA
- Vincular otros actores al proyecto para garantizar la disseminación del conocimiento generado

Conferencistas invitados

- **ETH:** Tassilo Tiemann (Estudiante de Doctorado)

- **CIAT:**
 - Carlos Lascano
 - Patricia Avila
 - Gina Viviana Caldas

- **CORPOICA:**
 - Rolando Barahona (Bogotá)
 - Fernando Rodríguez (Bogotá)
 - Freddy Parra (Popayán)

- **Universidad Nacional Sede Bogotá:**
 - Juan Carulla
 - Marta Pabón
 - Bárbara Moreno
 - Javier Cortés

- **Universidad Nacional Sede Medellín:** Alfonso Giraldo

- **Universidad de la Amazonía:** Jaime E. Velásquez

Programa		
	Tema	Responsables
08:30	Llegada e inscripción de participantes	Julia Gómez, CIAT
09:00	Bienvenida e introducción al taller	Carlos Lascano, CIAT
09:15	Presentación y expectativas de los participantes	Todos
09:45	Proyecto de investigación Potencial de leguminosas forrajeras con taninos en explotaciones ganaderas de pequeños productores (ETH-CIAT-Universidad Nacional-CORPOICA)	Tassilo Tiemann, ETH-CIAT
10:00	Métodos para la cuantificación y la caracterización de taninos condensados en leguminosas tropicales	Patricia Avila (CIAT) y Rolando Barahona (CORPOICA)
10:30	Café	
10:45	Un modelo <i>in vitro</i> para estimar los efectos de taninos condensados sobre la digestión de la proteína en rumiantes	Juan Carulla y Martha Pabón, Universidad Nacional, Bogotá
11:00	Algunos métodos y técnicas espectroscópicas aplicables en el análisis químico y estructural de taninos vegetales	Bárbara Moreno, Universidad Nacional, Bogotá
11:15	Efecto de genotipo y ambiente en la composición y actividad biológica de taninos presentes en leguminosas tropicales	Carlos Lascano, CIAT
11:45	Efectos de los taninos en la degradabilidad <i>in situ</i> e <i>in vitro</i> de la proteína en forrajes tropicales	Alfonso Giraldo, Universidad Nacional, Medellín
12:15	Almuerzo	
13:30	Efectos de taninos en fríjol sobre la biodisponibilidad de nutrientes	Gina Viviana Caldas, CIAT
14:00	Resultados de evaluaciones de taninos en leguminosas del Piedemonte Amazónico Colombiano	Jaime Velásquez (Universidad de la Amazonía) y Matilde Cipagauta (CORPOICA-Macagual)
14:30	Descomposición en bolsas de nylon sobre el suelo de cinco leguminosas promisorias	Freddy Parra, CORPOICA-Popayán
15:00	Café	
15:15	Definir futuras líneas de investigación (qué hacer?)	Todos
16:15	Priorizar líneas de investigación y tratar de vincular nuestro proyecto con las líneas priorizadas	Todos
17:15	Cómo vincular a otros actores al proyecto?	Todos
17:45	Conclusiones y clausura del taller	Carlos Lascano, CIAT
18:15	Refrigerio y partida de participantes	

Proyecto de investigación

Potencial de leguminosas forrajeras con taninos en explotaciones ganaderas de pequeños productores

Tassilo Tiemann

Institute of Animal Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Center/LFW, CH-8092 Zurich, Switzerland, tassilo.tiemann@inw.agrl.ethz.ch

INTRODUCCIÓN

Los rumiantes son una alternativa de inversión e ingreso monetarios para los pequeños y medianos productores en los países en vías de desarrollo. En los últimos 20 años se ha observado un aumento significativo en la demanda por productos de origen animal de alta calidad, estimulada por el crecimiento de la población, la urbanización y los mayores ingresos de los habitantes. Entre 1983 y 1993 la ganadería aumentó a una tasa anual de 5% y se espera que se mantenga igual en los próximos 20 años (Delgado *et al.*, 1999). El mejoramiento de la producción no solamente garantiza el suministro de carne y leche a la población sino que también resulta en mayores ingresos para los productores en el campo y en una reducción de la migración en regiones urbanas y suburbanas.

Los problemas más importantes que los pequeños productores tienen que enfrentar son la pobre calidad y la baja disponibilidad de forrajes. En este sentido, las leguminosas arbustivas tienen un papel importante como fuente de proteína y energía, inclusive en la época seca (Raaflaub y Lascano, 1995) cuando la productividad y calidad forrajera de las gramíneas son muy bajas (Hess *et al.*, 2002).

No obstante, muchas de estas leguminosas contienen concentraciones variables de

taninos condensados (TC) que pueden tener efectos benéficos, perjudiciales o hasta tóxicos para los rumiantes. Aunque es posible utilizar leguminosas con altos niveles de TC en mezcla con otras de bajo contenido de estos compuestos, es necesario entender previamente los factores que determinan el tipo y la concentración de TC antes de desarrollar prácticas de alimentación que permitan su mejor aprovechamiento.

OBJETIVOS

General

El propósito general de este proyecto es desarrollar sistemas de alimentación más eficientes basados en leguminosas arbustivas con altos niveles de TC, contribuyendo al mejoramiento de la productividad de la ganadería y al alivio de la pobreza en fincas de pequeños productores en zonas tropicales. Se realizará un estudio del efecto de la nutrición vegetal sobre la acumulación de TC en leguminosas y el impacto de los taninos en los procesos de nutrición ruminal. Igualmente, se evaluará el valor como fuentes de N de las heces de los animales que reciben leguminosas con TC.

Se diseñarán estrategias de alimentación usando mezclas de leguminosas forrajeras con contenidos de taninos contrastantes para superar las limitaciones de suministro de proteína en la alimentación de rumiantes.

Específicos

En una primera fase se evaluarán las relaciones entre la fertilidad de los suelos y el valor nutricional de leguminosas tropicales seleccionadas. Se dará especial énfasis a la evaluación de las concentraciones y características de TC de estas especies.

En los siguientes ensayos, se evaluarán *in vitro* los efectos de los TC con características químicas contrastantes sobre la degradación de proteínas y la eficacia de la fermentación ruminal usando el GTT ('gas pressure transducer technique') y Rusitec ('rumen simulation technique'). Además se estimará la liberación de proteína simulando las condiciones en el abomaso. Con base en estas observaciones se diseñarán ensayos *in vivo* para evaluar sistemas que permitan mitigar los efectos negativos de altas concentraciones de TC en las especies de leguminosas seleccionadas para alimentación de rumiantes. Estos resultados se obtienen evaluando los efectos de mezclas de leguminosas con niveles variables de TC sobre la digestión y utilización de proteína y sobre los parámetros de la fermentación ruminal, además, estimando los efectos de las mezclas sobre el consumo de forraje y la producción de leche.

En ensayos posteriores se evaluará el efecto de las leguminosas seleccionadas sobre las

características químicas y biológicas de los suelos y el valor como fuente de N de las heces de los rumiantes alimentados con dichas leguminosas.

Se espera que al finalizar este proyecto sea posible medir ex ante el impacto económico de los resultados en explotaciones de pequeños productores de la región.

METODOLOGÍA

En cooperación con el Proyecto de Gramíneas y Leguminosas Forrajeras del CIAT se seleccionaron tres leguminosas con niveles altos de TC y un número igual con niveles bajos de TC, teniendo en cuenta sus contenidos de proteína cruda y digestibilidad, requisitos de fertilidad de suelos y demanda de agua (Cuadro 1). Como forraje con alto contenido de fibra se utilizará *Brachiaria dictyoneura*.

Como testigo sin TC se utiliza *Vigna unguiculata* (Caupi). El follaje de *Leucaena leucocephala* se usará como modelo de un forraje con medianos niveles de TC y buen valor nutritivo. Las especies forrajeras multipropósito *C. argentea*, *C. calothyrsus*, *F. macrophylla* y *L. leucocephala* que tienen diferentes contenidos y propiedades de taninos (Barahona, 1999) serán cultivadas por 2 años en un Oxisol ácido de baja fertilidad en Matazul (Llanos Orientales de Colombia)

Cuadro 1. Especies de leguminosas seleccionadas y algunas de sus características forrajeras.

Especia	Proteína cruda (%)	Digestibilidad (%)	TC (nivel/impacto)
<i>Calliandra calothyrsus</i>	15-20	25-40	Alto/variable
<i>Flemingia macrophylla</i>	15-30	35-55	Variable/medio-alto
<i>Leucaena leucocephala</i>	12-25	65-85	Medio
<i>Cratylia argentea</i>	18-30	60-65	Muy bajo
<i>Desmodium velutinum</i>	—	—	Sin
<i>Vigna unguiculata</i>	14-21	>80	Sin

FUENTE: Peters *et al.* 2003.

y en un Mollisol (fértil) en CIAT-Palmira. La composición química, los parámetros de la fermentación ruminal *in vitro* y la concentración, tipo y propiedades químicas de los taninos se determinarán en muestras de hojas y tallos cosechadas al finalizar las épocas seca y lluviosa. Además, se harán comparaciones de la actividad biológica de los TC en muestras frescas y secas para cuantificar los cambios debidos al tratamiento poscosecha. Las especies serán plantadas en ambos sitios con tres repeticiones al comienzo de la época de las lluvias, al mismo tiempo, se hará una caracterización de los suelos. En experimento 1 (suelo de baja fertilidad en Matazul) los tratamientos de fertilización serán: (1) nivel bajo de fertilización y (2) nivel alto de fertilización. En el segundo experimento (dos suelos de fertilidad contrastante en Matazul y Palmira) los tratamientos serán: (1) nivel alto de fertilización; (2) nivel alto con bajo P y (3) nivel alto con bajo S. La cosecha se hará tanto al finalizar la época seca como la lluviosa, cosechando las primeras 5 hojas completamente desarrolladas de ramas en crecimiento. Las muestras serán liofilizadas, molidas y conservadas a 20°C hasta su posterior análisis.

En el tejido vegetal se analizarán las concentraciones de C, P, N, K, S, Ca, Mg, taninos condensados, composición de monómeros y peso molecular. Se medirán: la abundancia natural de ¹⁵N en leguminosas y en gramíneas en la misma parcela para estimar la fijación biológica de N en las leguminosas mediante el método descrito por Boddey *et al.* (2000). Al comienzo del ensayo y al finalizar cada época seca y de lluvias se medirá el N en forma mineralizada en los suelos. Para determinar si los taninos pueden modificar la actividad y la diversidad de los microorganismos, cada 2 años se

medirán los contenidos de C y N en el horizonte superior del suelo.

La extracción de los TC se hará con butanolo/HCl (Terril *et al.*, 1992) y las proporciones de prodelfinidin, procyanidin y propelargonindinen en TC solubles serán determinadas por HPLC (Mueller-Harvey *et al.*, 1987). La capacidad de los taninos para fijar proteínas será analizada por difusión radial (Hagerman, 1987). El peso molecular de los TC será determinado por medio de HPLC modificado (Barahona, 1999).

La dinámica de la fermentación de las leguminosas con altos niveles de taninos será evaluada en combinación con gramíneas tropicales y Caupi por medio de la técnica GTT (Theodorou *et al.*, 1994). El sustrato consistirá en una gramínea (*Brachiaria dictyoneura*) y mezclas de leguminosas con proporciones variables de taninos. En un experimento preliminar se determinará la cantidad de PEG (una sustancia con alta afinidad a TC) requerida para inactivar TC en cada una de las leguminosas seleccionadas. Las combinaciones contrastantes de leguminosas, PEG y gramíneas permitirá obtener diferentes proporciones de TC y nutrientes para estudiar los efectos de tales diferencias en la cantidad y calidad de la producción de gas.

La degradabilidad de proteína y fibra y la liberación de proteína bajo condiciones simulando el abomaso y los parámetros de la fermentación ruminal se determinará utilizando sistemas *in vitro*. Además, se controlará la relación entre taninos y proteína para estimar el impacto de esta característica en las variables observadas. De la misma manera, se relacionarán la proporción de los monómeros y el peso molecular con los parámetros medidos anteriormente.

Para la exploración extensiva de combinaciones de leguminosas con niveles contrastantes de taninos y cultivadas en ambos sitios se utilizará la técnica Rusitec desarrollada por Czerkawski y Breckenridge (1977) y mejorada por Machmüller *et al.* (1998, 2002). Esta técnica permite medir varios parámetros de la fermentación ruminal, entre ellos: producción y proporciones molares de ácidos grasos volátiles, producción de gases fermentativos, pH, concentración de nitrógeno amoniacal y la degradación aparente de la materia orgánica, nitrógeno y fibra. Además se analizarán las poblaciones microbianas. Las combinaciones a evaluar serán definidas teniendo en cuenta los resultados de los experimentos con GTT.

De acuerdo con los resultados *in vitro* se definirán las composiciones detalladas para evaluar los efectos de los forrajes con altos niveles de taninos, Caupi y mezclas de ambos conjuntamente con una gramínea de baja calidad (*Brachiaria*) *in vivo*. Utilizando ovejas fistuladas alojadas en jaulas metabólicas se medirán los cambios en las poblaciones de bacterias celulolíticas y proteolíticas, la eficiencia de la síntesis microbiana de proteína y flujo de proteína al duodeno, además del consumo de forraje. En un ensayo con vacas en pasturas asociadas con estas leguminosas se medirá la producción de leche. Utilizando cámaras respiratorias se medirán las pérdidas energéticas en heces, orina, temperatura corporal y producción de gas metano en ovejas que consumen gramíneas de baja calidad sola o en combinación con leguminosas.

Utilizando un modelo, se evaluará el efecto de la alimentación con leguminosas con altos niveles de taninos sobre la composición de las heces de animales y su valor como

fertilizante nitrogenado. En cada dieta los tratamientos serán: Dos porciones de forraje como se hizo en los ensayos de alimentación (25 mg Ntotal/kg suelo y 50 mg Ntotal/kg suelo); dos dosis de heces (25 mg Ntotal/kg suelo y 50mg Ntotal/kg suelo) y cinco dosis de N en forma de NO₃NH₄. El contenido de materia seca de las partes vegetales aéreas y su contenido en N será medido después de 1, 2 y 3 meses del experimento. Las heces serán utilizadas con suelos de Matazul y Palmira para medir en macetas la producción de *B. decumbens*.

Para la evaluación ex ante se utilizará información disponible en la base de datos de forrajes del CIAT (Barco *et al.*, 2002). Estas informaciones serán después relacionadas con el Sistema de Información Geográfico (SIG) usando una metodología de soporte desarrollada recientemente (O'Brien *et al.*, 2002a y 2002b). Este sistema permite relacionar factores biofísicos, socioeconómicos y de manejo con datos de identidad de sitios específicos para especies forrajeras. La intención de esta herramienta de soporte de decisiones es reducir dudas y así facilitar informaciones relevantes y exactas sobre sitios donde las nuevas alternativas de alimentación podrían ser introducidas.

LITERATURA CITADA

- Barahona, R. 1999. Condensed tannins in tropical forage legumes: their characterisation and study of their nutritional impact from the standpoint of structure-activity relationships. Ph.D. Thesis, Department of Agriculture, The University of Reading. 353 p.
- Barco, F., Franco, M.A., Franco, L.H., Hincapié, B., Lascano, C., Ramírez, G. and Peters, M. 2002. Forrajes Tropicales, Base de Datos de Recursos Genéticos Multipropósito, Versión 1.0 (CD-Rom). CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), Cali, Colombia.

- Boddey, R.M., Peoples, M.B., Palmer, B. and Dart, P.J. 2000. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **57**:235-270.
- Czerkawski, J.M. and Breckenridge, G. 1977. Design and development of a long-term rumen simulation technique (RUSITEC). *British Journal of Nutrition* **38**:371-384.
- Delgado, C., Rosegrant, M., Steinfeld, H., Ehui, S. and Courtois, C. 1999. *Livestock to 2020: the next food revolution*. Food, Agriculture and the Environment Paper 28. IFPRI, Washington, DC, USA.
- Hagerman, A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannins in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology* **13**:437-439.
- Hess, H.D., Kreuzer, M., Nösberger, J., Wenk, C. and Lascano, C.E. 2002. Effect of sward attributes on legume selection by oesophageal fistulated and non-fistulated steers grazing a tropical grass-legume pasture. *Tropical Grasslands*, **36**:227-238.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Wanner, M. and Kreuzer, M. 1998. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation *in vitro* (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology* **71**:117-130.
- Machmüller, A., Soliva, C.R. and Kreuzer, M. 2002. *In vitro* ruminal methane suppression by lauric acid as influenced by dietary calcium. *Canadian Journal of Animal Science* **82**:233-239.
- Mueller-Harvey, I., Reed, J.D., and Hartley, R.D. 1987. Characterization of phenolic compounds including flavonoids and tannins of ten Ethiopian browse species by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **39**:1-14.
- O'Brien, R., Cook, S., Peters, M. and Corner, R. 2002a. Targeting forages to niches at farm scale using GIS, socio-economic data and expert knowledge. Paper presented at the 6th Annual Conference on Precision Agriculture and Other Precision Resources Management, July 14-17 2002, Minneapolis, Minnesota, USA.
- O'Brien, R., Corner, R., Peters, M. and Cook, S. 2002b. A GIS-Based decision support tool for targeting biophysical and socio-economic niches in tropical agriculture. In: Whigham, P.A. (ed) *Proceedings of the 14th Annual Colloquium of the Spatial Information Research Centre, University of Otago, December 3-5 2002*. Dunedin, Wellington New Zealand. pp.111-120.
- Peters, M., Franco, L.H., Schmidt, A., Hincapiè, B., 2003. *Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica*. Publicación CIAT no. 333.
- Raaflaub, M. and Lascano, C.E. 1995. The effect of wilting and drying of intake rate and acceptability by sheep of the shrub legume *Cratylia argentea*. *Tropical Grasslands* **29**:97-101.
- Terrill, T.H., Rowan, A.M., Douglas, G.B. and Barry, T.N. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrated meals and cereal grains. *Journal of Science Food and Agriculture* **58**:321-329.

Cronograma de actividades												
Actividad	2004				2005				2006			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Capacitación e información para el Staff involucrado en el proyecto												
Capacitación para estudiantes												
Producto 1: Definición de las relaciones entre el estado nutritivo de las plantas y la calidad del forraje												
1.1.1 Producción de leguminosas												
1.1.2 Extracción y caracterización de taninos en las plantas												
1.2.1 Evaluación <i>in vitro</i> de la degradabilidad de la proteína ruminal y pasante bajo condiciones simulando el abomaso												
1.2.2 <i>In vitro</i> assessment of rumen fermentation (CIAT: Tassilo Tiemann)												
Producto 2: Combinaciones apropiadas de leguminosas con taninos y forrajeras libres de taninos para mejorar el suministro de proteína y la eficiencia de la fermentación ruminal												
2.1 Confirmación de la contribución de mezclas de leguminosas en el mejoramiento de la fermentación ruminal, flujo de proteína duodenal y absorción de N en ovejas												
2.2 Cuantificación de la contribución de las mezclas de leguminosas para mejorar la producción y calidad de la leche												
2.3 Determinación de los efectos del suministro de mezclas de leguminosas en la energía metabolizable y en la utilización de N en ovejas												
2.4 Evaluación de los efectos del suministro de mezclas de leguminosas en la población microbiana en el rumen												
2.5 Evaluación del valor como fertilizantes de las heces de animales alimentados con mezclas de leguminosas												
Producto 3: Definición de la utilidad y posibilidades de las nuevas estrategias de alimentación derivadas del proyecto												
3 Evaluación ex-ante del impacto de las nuevas tecnologías basadas en las leguminosas probadas, teniendo en cuenta su aplicabilidad, productividad animal e ingreso para los productores												
Talleres de trabajo y seminarios												

Metodologías más usadas para cuantificar taninos condensados

Rolando Barahona¹ y Patricia Ávila²

¹Programa de Fisiología y Nutrición Animal, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, rbarahona@corpoica.org.co

² Proyecto de Gramíneas y Leguminosas, CIAT, Cali, Colombia, pavila@cgiar.or

ANTECEDENTES

Algunas leguminosas herbáceas y arbustivas evaluadas por el Proyecto de Gramíneas y Leguminosas tienen un bajo valor nutritivo, debido a la presencia de taninos condensados. Para el avance en la selección de plantas forrajeras por contenidos de taninos, se precisa entender sus efectos en relación con la digestibilidad y degradación de la proteína y la fibra. Dado que la investigación en taninos condensados se ha llevado desde diferentes puntos de vista y con diferentes propósitos, existe un gran número de técnicas analíticas para la extracción, cuantificación y caracterización de taninos descritas en la literatura. Por tal motivo se requiere documentar los protocolos empleados para cuantificar y caracterizar estos compuestos químicos.

En este documento se resume la información sobre la metodología utilizada en el Laboratorio de Forrajes -CIAT para cuantificar taninos condensados solubles e insolubles (método de butanol-HCl, Terrill, et al. 1992, modificado por Barahona, R. 1999), estimar su capacidad para ligar proteína (método de difusión radial utilizando Sero Albúmina Bovina, BSA, Hagerman, A.E. 1987) y para caracterizar su composición monomérica (pro-cianidin, pro-delfinidin y pro-pelargonidin utilizando cromatografía líquida (HPLC), Barahona, R. 1999.).

También se incluye el método de Barahona, R. (1999) para determinar el peso molecular de taninos condensados que se va a establecer próximamente en el laboratorio.

Método para la estimación de Taninos Condensados: solubles e insolubles (Terrill, et al. 1992, modificado por Barahona R. 1999)

1. Reactivos:

Solución extractora (taninos solubles):

Acetona 70%

Agua 30%

Acido ascórbico 0.1%

Éter dietílico

Reactivo de color : butanol-HCl (95-5%)

Reactivo de blancos:butanol-H₂O (95-5%)

2. Procedimiento:

a. Extracción y cuantificación de taninos solubles

Forraje por duplicado en tubos de punta

10 ó 15 mg según taninos en muestra

Solución extractora, adicionar 2.5 ml

Éter dietílico, adicionar 2.5 ml

Tapar y agitar en vortex, por 2 veces cada tubo

Retirar la capa superior (acetona + éter), preferiblemente con vacío o pipeta pasteur

Repetir pasos anteriores

Evaporar remanente de acetona-éter de los tubos (puede ser en horno a no más de 30°C ó en concentrador de muestras)

Llevar a 5 ml con agua destilada

Mezclar y centrifugar 3500 rpm x 10-15 min

Recuperar el sobrenadante y conservar el residuo para la parte de insolubles.

Retirar una alícuota de 0.3 ml de sobrenadante en tubos de rosca con tapa y adicionar 1.8 ml de butanol-HCl(5%).

Hervir a 95°C por 70 minutos

Enfriar en agua fría o con hielo, por 5 minutos

Leer contra muestras blanco a 550 nm

b. Utilización de muestras como blanco

Incluir 2 o 3 muestras de más para ser usadas como blanco tanto para la parte de taninos solubles como insolubles. El tratamiento de las mismas debe ser igual al de las muestras para análisis, pero en vez de utilizar Butanol-HCl (5%) se utiliza como reactivo de blancos butanol-H₂O (5%). Centrifugar las muestras blanco después de hervidas por 10 min a 3500 rpm.

c. Cuantificación de taninos insolubles o ligados

A los tubos con el residuo una vez recuperado todo el sobrenadante, se les debe eliminar el remanente de sobrenadante, lo cual puede hacerse dejando los tubos boca abajo sobre una gradilla con una toalla de papel en la base y en la nevera por al menos 1 o 2 horas o con el concentrador de muestras o incluyendo las gradillas en horno por 20 min a baja temperatura (40 °C).

Al residuo final de la extracción incluyendo el residuo de las muestras blanco:

Adicionar agua destilada 0.7 ml

Adicionar butanol-HCl o Butanol-H₂O 4.2ml

Hervir 70 min

Enfriar en hielo o agua fría

Agitar en vortex suavemente

Trasvasar a eppendorf de 1.5 ml

Centrifugar en microcentrífuga a, 14000 rpm x 5 min

Leer en colorímetro contra muestra blanco a 550 nm

d. Preparación de estándares

Se requiere obtener una curva estándar a partir de taninos purificados de la misma muestra, haciendo diluciones 1:10 a partir de una concentración de tanino purificado conocida. La solución stock y las diluciones se harán con agua destilada.

Método de Difusión Radial para medir astringencia en taninos condensados (Hagerman, A.E. 1987)

1. Reactivos:

- Agarosa 1%, Tipo I (Sigma A-6013) punto de gel 36°C
- Sero Albúmina Bovina –BSA, 0.1% (Sigma A-6793) fracción V, (15.8%N)
- Solución de hidróxido de sodio (4N): se pesan 8 g de NaOH, se disuelven en aproximadamente 40 ml agua destilada, completando el volumen a 50 ml de agua.
- Buffer acetato (pH:5.0, 0.05M) con 10.6 mg de ácido ascórbico, agregar 2.85 ml de ácido acético, en aproximadamente 800 ml de agua destilada, adicionar 10.6 mg de ac. ascórbico. Ajustar el pH de la solución a 5.0 con la solución de hidróxido de sodio 4N, ajustando el volumen a un litro.

2. Procedimiento:

- a. Preparación de las cajas de petri. Pesar 2.5 g de agarosa en 250 ml de la solución buffer acetato, se coloca con un magneto sobre un plato caliente, dejar hervir y reposar la solución a baño maría (45°C).

- b. Simultáneamente a la preparación del agar, se debe diluir 250 mg de BSA en 20 ml de solución buffer a baño maría (37°C). Finalmente esta solución se adiciona al agar previamente reposado, sin dejarlo enfriar. Esta mezcla rinde aproximadamente para 17-20 cajas petri (diámetro 8.5 cm)
- c. La mezcla (solución buffer + agar + BSA) está lista para iniciar la dosificación controlada (9.5 ml/caja petri) quedando una película uniforme. Dejar secar, estas cajas pueden ser almacenadas por 2-3 semanas en el refrigerador, sin perder sensibilidad a la reacción.
- d. Proceder a abrir los orificios en el agar, con un sacabocado de 5 mm de diámetro, retirar la película del agar con una aguja (se pueden distribuir 6 orificios/caja) midiendo la altura de cada anillo, numerando (1.1, 1.2, 1.3)/muestra. Se miden con un calibrador o pie de rey.
- e. Agregar el extracto del forraje, 8 microlitros (usando micropipeta) en cada orificio. Una vez listas las cajas se incuban a 30°C durante 48 a 96 horas. Finalmente medir el diámetro de los anillos formados. La cantidad de tanino es proporcional al cuadrado del diámetro (el diámetro del anillo formado es proporcional a la cantidad de proteína precipitada).
- f. *Preparación del extracto de forraje.* Pesar 1 g de muestra molida, seca a 60 °C. adicionar la solución extractora (Acetona al 70%+ ac. ascórbico 1%) en una cantidad de 5 ml por muestra. Después poner los elermeyers sobre un plato en movimiento por 70 minutos. Filtrar (fibra de vidrio) y obtener el extracto, luego centrifugar (14 rpm) por 5 minutos. Se refrigeran los extractos, para posterior inyección en el agar.

Determinación del contenido de antocianidinas (Cianidin – Delfinidin – Pelargonidin) en taninos condensados (Barahona, R. 1999)

Al ser hidrolizados en ácido, los taninos condensados liberan pigmentos de antocianidinas de coloración rojiza, principalmente cianidin y y delfinidin (Hagerman y Butler, 1989). La estructura de los taninos condensados varía de acuerdo a la naturaleza de los enlaces entre unidades de polímeros del flavan y la estereoquímica del anillo. El tipo de estos polímeros es de gran importancia, ya que el grado de polimerización y la distribución espacial de las unidades monoméricas, influyen la formación de complejos con otras moléculas (Hemingway et al. 1983; Muller-Harvey y Mcallan, 1992). El grado de polimerización de los TC no es constante y el peso molecular varía entre especies de plantas.

1. Equipo y materiales:

Cromatógrafo líquido, marca Shimadzu CL 10A que consta de:
 Auto inyector SIL-10A
 Bombas (2) LC 10AS
 Detector UV/VIS SPD 10AV
 Controlador SCL 10^a
 Horno para columna CTO 10^a

2. Reactivos:

Metanol grado HPL (J.T. Baker, 9093-68)
 Agua grado HPLC (J.T. Baker, 4218-03)
 Ácido acético glacial grado HPLC (J.T. Baker, 9515-03)
 Estándar-Cianidin (APIN07194-C): 322.7 g/mol=PM
 Estándar-Delfinidin (APIN04410-D): 338.7 g/mol=PM
 Estándar-Pelargonidin (APIN09174-P): 336.7 g/mol=PM
 Columna Nova Pack C18 de 8x 10 cm

3. Variables cromatográficas:

Longitud de onda: 520 nm
Temperatura del horno: Ambiente
Flujo: 2 ml/minuto
Fase binaria: Bomba A-metanol (60%)
Bomba B-Ácido acético al 5% (40%)
Presión máxima: 200 kgf/cm²
El análisis de los datos es realizado con un Software Class vp, ver 7.2

4. Preparación de la muestra:

Proviene de un protocolo de purificación de TC (butanol-HCL) quedando en tubos de ensayo evaporados. Se redisuelve cada muestra con 1 ml de metanol, se centrifuga para luego tomar una alícuota con micropipeta. Se deposita en un vial de 2 ml, para posterior inyección (20 microlitros)

5. Preparación de estándares:

Se prepara una solución madre de 50 ppm (500 µg de cada tanino/25 ml de metanol). A partir de ésta se preparan soluciones estándares con rangos de concentración entre 0.78, 1.56, 3.125, 6.25 y 25 ppm (µg/ml). Utilizando la ecuación para el cálculo:
 $Conc1 \times Vol1 = Conc2 \times Vol2$

Concentración 1: concentración madre
Concentración 2: concentración deseada
Volumen 1: Volumen del balón aforado 1
Volumen 2: Volumen del balón aforado 2

6. Identificación Cromatográfica:

Tiempos de retención:
Cianidin: 3.76 minutos
Delfinidin: 4.62 minutos
Pelargonidin: 5.68 minutos

Ecuación de la recta para TC-solubles ($Y = a + \beta * \text{Concentración}$)
C: $Y = 1421.49 + 41387.88 * \text{Conc.}$ $r = 0.997$
D: $Y = 629.32 + 30985.64 * \text{Conc.}$ $r = 0.997$
P: $Y = (-)1240.99 + 32237.64 * \text{Conc.}$ $r = 0.996$

Ecuación de la recta para TC-insolubles
($Y = a + \beta * \text{Concentración}$)

C: $Y = 34678.03 + 58473.8 * \text{Conc.}$ $r = 0.998$
D: $Y = 25049.6 + 46613.14 * \text{Conc.}$ $r = 0.990$
P: $Y = (-)65666.8 + 110484.0 * \text{Conc.}$ $r = 0.999$

Método recomendado para la determinación del peso molecular de taninos condensados sin derivatizar (Barahona, R.1999).

Características como peso molecular, flexibilidad conformacional y solubilidad en agua pueden fuertemente influenciar la habilidad de los taninos para precipitar proteínas (Spencer et al. 1988). Se ha sugerido que compuestos fenólicos de bajo peso molecular forman enlaces inestables con las proteínas, mientras que aquellos con alto peso molecular son ineficientes como taninos (Salunkhe et al., 1990). Aun mas, los taninos condensados que están ligados al substrato parecen ser mas efectivos para inhibir la degradación microbiana de los forrajes que aquellos presentes en forma soluble (Barahona, R. 1999). Por ello es importante incluir determinaciones de peso molecular en aquellos estudios nutricionales en donde se incluyan plantas forrajeras taniníferas.

Reactivos:

Bromuro de Litio (5 mg/ muestra)
Dimetilformamida (5 ml/ muestra para disolver los taninos)

Cromatografía:

Aplicación: HPLC

Columnas: Dos PLGel 5µm 500Å (300x7.5 mm, Polymer Laboratories, UK), en serie.

Eluente: 100% dimetilformamida conteniendo 0.1% (w/v) lithium bromide a un flujo de 0.5 ml min⁻¹. (30 ml por muestra)

Detector: Índice refractivo

Generación de curva Standard: Estándares de glicol de polietileno de pesos moleculares

entre 440 y 22800 Dalton (Polymer Laboratories, UK).

Software: GPC6000 chromatography data system (version PR2; Jones Chromatography, UK).

En este protocolo se disuelven en duplicado 10 mg de taninos condensados purificados en 5 ml de una solución de 0.1% bromuro de litio en dimetilformamida. Una alícuota de 100 µl de la solución resultante se inyecta en un equipo de HPLC que tenga dos columnas PLGel 5µm 500Å (300x7.5 mm) en serie. Las muestras se eluyen de la columna usando 100% dimetilformamida conteniendo 0.1% (w/v) bromuro de litio a un flujo de 0.5 ml min⁻¹ a temperatura ambiente (25°C). Un detector índice refractivo (BioRad) se usa para la detección de los taninos condensados. La curva de calibración es obtenida usando estándares de glicol de polietileno (Polymer Laboratories, UK) de pesos moleculares entre 440 a 22800 Dalton.

Protocolo alternativo para la determinación del peso molecular de los derivados de peracetato de los taninos condensados (Williams et al. 1983).

Para la preparación de los peracetatos, se disuelven en duplicado 10 mg de taninos condensados purificados en 2.5 ml de una solución 1:1 (v/v) de piridina: anhídrido acético y la mezcla resultante se deja a temperatura ambiente por una noche. Cinco ml de agua destilada se agregan lentamente y la mezcla deja enfriar antes de centrifugar a 2500 rpm por 10 min. El sobrenadante resultante se descarta y el pellet (peracetatos de taninos condensados) se lava os veces con otros 5 ml de agua seguida de centrifugación y recuperación del pellet. Los peracetatos se secan (aire). Antes de la inyección, los peracetatos se disuelven en 2 ml de tetrahidrofuran y 25 ml de la solución

resultante se inyectan en el HPLC que tenga dos columnas PLGel 5µm 500Å (300x7.5 mm) en serie. Las muestras se eluyen de la columna usando 100% tetrahidrofuran aun flujo de 1 ml min⁻¹. Un detector UV se usa para la detección de los peracetatos a 260 nm. La curva de calibración es obtenida usando estándares de poliestireno de pesos moleculares entre 162 a 22000 Dalton (Polymer Laboratories, UK).

Reactivos:

Piridina (1.25 ml/ muestra)

Anhídrido acético (1.25 ml/ muestra)

Agua destilada para lavado del precipitado (peracetatos)

Tetrahidrofuran (2 ml / muestra para disolver los peracetatos)

Cromatografía:

Aplicación: HPLC

Columnas: Dos PLGel 5µm 500Å (300x7.5 mm, Polymer Laboratories, UK) en serie.

Eluente: 100% tetrahidrofuran a un flujo de 1 ml min⁻¹. (30 ml por muestra)

Detector: UV, 260 nm

Generación de curva Standard: Estándares de polistereno de pesos moleculares entre 162 y 22000 Dalton (Polymer Laboratories, UK).

Software: GPC6000 chromatography data system (version PR2; Jones Chromatography, UK).

LITERATURA CITADA

- Barahona, R. 1999. Condensed tannis in tropical forage legumes: their characterisation and study of their nutritional impact from the standpoint of structure-activity relationships. Ph.D. Dissertation. Department of Agriculture. The University of Reading United Kingdom.
- Hagerman, A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannins in plants extracts. Journal of Chemical Ecology. **13**:437-449

- Hagerman, A. E. and Butler, L.G. 1989. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal of Chemical Ecology*. **15**: 1795-1810.
- Hemingway, R.W. McGraw, G.W. Karchesy, J. J., Foo, L.Y. and Porter, L.J. 1983. Recent advances in the chemistry of condensed tannins. *Journal of Applied Polymer Science: Applied Polymer Symposium*. **37**, 967-977.
- Salunkhe, D.K., Chavan, J.K. and Kadam, S.S. 1990. *Dietary tannins: Consequences and remedies*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Fla.
- Spencer, C.M., Cai, Y., Martin, R., Gaffney, S.H., Goulding, P.N., Magnolato, D., Lilley, T.H. and Haslam, E. 1988. Polyphenol complexation—some thoughts and observations. *Phytochemistry*. **27**: 2397-2409.
- Terrill, T.H. ; Rowan, A.M.; Douglas, G.B. and T.N. Barry. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentration in forage plants, protein concentrate meals and cereal grain. *Journal of the Science Food and Agriculture*. **58**:321-329.
- Williams, V.M., Porter, L.J. and Hemingway, R.W. 1983. Molecular weight profiles of proanthocyanidins polymers. *Phytochemistry*. **22**: 569-572.

Un sistema *in vitro* para evaluar los efectos de los taninos en la degradación de la proteína bajo condiciones ruminales y abomasales

Juan Carulla¹ y Martha L. Pabón²

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, jecarullaf@unal.edu.co

²Departamento de Química, Facultad de Ciencias, mlpabonr@unal.edu.co

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

INTRODUCCIÓN

Los taninos son compuestos fenólicos de alto peso molecular que contienen principalmente grupos hidroxilos y en algunos casos (carboxilos) que forman complejos fuertes con proteínas y otras macromoléculas bajo condiciones particulares. Los taninos se dividen en dos clases, taninos hidrolizables y taninos condensados. Aunque hay diferencias químicas entre ellos, todos son compuestos fenólicos y pueden precipitar la proteína. La capacidad de ligar proteínas por los taninos (astringencia) se ha considerado como un elemento importante para predecir sus efectos en sistemas biológicos. La afinidad de los taninos por las proteínas varía dependiendo de sus características químicas y de las condiciones fisicoquímicas del sistema. Por lo tanto, es importante estudiar estas interacciones utilizando condiciones similares a las del sistema en estudio. En este caso, el sistema digestivo de los rumiantes (rumen y abomaso). Hay tres tipos de ensayos de precipitación de proteínas para determinar la astringencia de los taninos. Un grupo de métodos estiman la cantidad de taninos precipitados con una proteína estándar como la albúmina de suero bovino (Hagerman y Butler, 1978), el segundo grupo mide la cantidad de proteína en el complejo tanino-proteína (Hagerman y Butler, 1980; Martín y Martín, 1983; Asquith y Butler, 1985). En el tercer método, la cantidad de proteína

presente en un extracto vegetal crudo se mide indirectamente por la habilidad del tanino para precipitar la albúmina de suero bovino (método de difusión radial). El tanino difunde en un gel que contiene la proteína con la formación de un precipitado tanino proteína en forma de disco. El área del precipitado es proporcional a la cantidad de taninos en el extracto (Hagerman, 1987). Las desventajas de estos métodos para evaluar el efecto o las propiedades de los taninos en los rumiantes son: a) los tipos de proteína utilizados que en muchos casos no constituyen parte de la dieta del rumiante, b) las condiciones del sistema no se asemejan a las condiciones del sistema digestivo del rumiante.

En el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional se ha desarrollado una metodología para evaluar el efecto de los taninos sobre la degradación de las proteínas en condiciones que simulan el rumen y el abomaso, adicionando los taninos a un sistema de fermentación *in vitro* como el sugerido por Tilley y Terry (1963). Este método ha sido ensayado con diferentes tipos de proteínas y taninos y muestra sensibilidad a la interacción de estos componentes dependiendo de su naturaleza química y la relación tanino-proteína. Su correlación con condiciones *in vivo* aun no ha sido estudiada.

EL MÉTODO

En tubos plásticos de centrifuga de 100 ml se colocan 0.5 g de proteína o forraje y se adiciona el tanino en la concentración deseada solubilizado en 5 ml de buffer McDougall sin úrea. Se deja en reposo durante 12 horas a 39°C para que la proteína y el tanino interactúen y luego se adicionan sobre la mezcla tanino-proteína 5 ml de fluido ruminal-buffer McDougall sin úrea en relación 1:4. Los tubos se gasifican con CO₂, se tapan y se incuban por 48 horas, con agitación regular. Después de este tiempo de incubación se sacan el primer grupo de tubos para el análisis de amonio y digestibilidad ruminal (DIVMSr) Adicionalmente, un segundo grupo de tubos que han sido incubados como los anteriores se someten a una incubación en pepsina por 24 horas adicionales, adicionando a cada tubo 6 ml de HCl 7% p/v y 2 ml de solución acuosa de pepsina al 5%. El contenido de cada tubo se filtra al vacío y se determina la degradación de materia seca (DIVMSa).

El método se ha utilizado para evaluar: a) Diferencias entre taninos y su relación con diferentes proteínas (Gonzalez y col., 1998, Gonzalez y col, 2002), b) diferencias en la estructura química de compuestos similares con diferente grado de reactividad (Velásquez *et al.*, 2002) y c) variaciones en la respuesta del método a la relaciones tanino/proteína debidos a cambios en la dieta (flora microbial) de los animales donantes de fluido (datos sin publicar). Para el primer caso (a) se evaluaron tres taninos comerciales semipurificados, Quebracho (*Schinopsis* spp.) Acacia (*Acacia* spp.) y Castaño (*Castanea* spp.), dos recursos alimenticios , ryegrass y torta de soya y proteínas, rubisco y proteína de soya (Gonzalez *et al.*, 2002, Fajardo,1998). Estos se han estudiado en diferentes relaciones tanino/proteína. Para el

segundo caso (b), el método se probó con el compuesto mayoritario aislado y purificado del extracto de quebracho el cual se modificó estructuralmente por los métodos de acetilación y metilación buscando reducir su astringencia. Este compuesto se identificó por RMN¹³C, RMN¹H, FAB ,UV e IR. Por último, el efecto de las características del fluido ruminal en el sistema (c) se evaluó incubando torta de soya en diferentes relaciones de tanino-proteína y con diferentes fluidos provenientes de animales suplementados con o sin taninos.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

El método es sensible a:

1. Tipo de proteína y de tanino

El método es sensible a la naturaleza química de los taninos pues ha mostrado el efecto de esta sobre la cantidad de materia seca degradada después de 48h de incubación con fluido ruminal (DIVMSr), la digestibilidad *in vitro* de la materia seca después de incubación con fluido ruminal por 48hr con adición posterior de pepsina y 24h adicionales de incubación (DIVMSa) y en los niveles de amonio al las 48hr cuando se han adicionado taninos en concentraciones similares pero de diferentes plantas (Cuadro 1). El método ha mostrado mayor sensibilidad en DIVMSr, DIVMSa y concentraciones de amonio utilizando torta de soya como sustrato que utilizando ryegrass. Adicionalmente, se han requerido niveles más altos de taninos en relación a la proteína para observar las diferencias en amonio y de DIVMS en este último sustrato (Cuadro 1).

La diferencia en la respuesta a los taninos dependiendo del sustrato sugiere que *in vivo*, este tipo de comportamientos entre tanino y proteína se dan y confirma lo observado en

Cuadro 1. Efecto del tipo de proteína y de tanino sobre los niveles de amonio y DIVMS (%) bajo condiciones ruminales y abomasales.

Tratamiento	Relación Tanino/proteína	NH ₃ (mg/dl)		DIVMS Rumen %		DIVMS Abomaso %	
		Acacia	Castaño	Acacia	Castaño	Acacia	Castaño
Ryegrass	0	21.7	21.7	72.1	72.1	74.0	74.0
Tanino/Ryegrass (%)	30.8	15.7	17.9	58.5	66.2	65.4	67.7
Torta de soya	0	67.2	67.2	71.3	71.3	88.4	88.4
Tanino/Torta de soya (%)	15.4	46.7	26.1	63.8	45.1	78.6	84.4

otro tipo de pruebas que sugieren que la interacción entre tanino y proteína depende tanto de la naturaleza química y concentración de los taninos como de la concentración y naturaleza de la proteína. Adicionalmente, realza la importancia de realizar pruebas con sustratos similares a los incluidos en la dieta del rumiante. Es importante anotar que cada sustrato (torta de soya y ryegrass) clasificaría los taninos usado en esta prueba de acuerdo a su grado de astringencia en diferente orden. Mientras con torta de soya el tanino con mayor astringencia sería el castaño pues presento los mayores efectos sobre la DIVMSa, DIVMSr y amonio; con ryegrass el tanino con mayor astringencia sería el de acacia (Cuadro 1). Aunque estas diferencias en la clasificación de la astringencia de los taninos por el método podrían catalogarse como una debilidad del mismo, son realmente una fortaleza pues indican que el método es sensible a la naturaleza química del tanino y del sustrato.

La bondad del método para detectar diferencias en la astringencia de compuestos químicamente similares fue estudiada usando extracto crudo de taninos de quebracho, su extracto en acetato de etilo (mezcla de taninos), el compuesto mayoritario (compuesto aislado y purificado), sus derivados acetilado y metilado. En este caso,

la prueba se usó solo determinando la concentración de amonio como parámetro de medida del efecto de los taninos. La prueba mostró que a medida que se purificaba el compuesto, la actividad biológica aumentaba ya que se disminuía la producción de amonio. Cuando el compuesto mayoritario se acetilo y metilo que disminuye sus grupos reactivos y por tanto su astringencia, las concentraciones de amonio aumentaron (Cuadro 2).

Cuadro 2. Niveles de amonio (mg/dl) por incubación *in vitro* de la torta de soya en presencia de diferentes extractos y compuesto del quebracho.

Tratamiento	NH ₃ (mg/dl)
Torta de soya	20
Quebracho	17
Extracto AcOEt	15
Compuesto mayoritario	14
Compuesto acetilado	16
Compuesto metilado	19

2. Relación tanino:proteína

El método ha mostrado sensibilidad a los cambios en la relación tanino proteína. Sin embargo, la respuesta del método a las variaciones de esta no ha sido lineal. En los niveles bajos de relación tanino-proteína los

La relación mínima de tanino-proteína para observar diferencias varía con el sustrato y con la naturaleza del tanino. Nuestras pruebas

indicarían que se requiere como mínimo un 15% de taninos en relación a la proteína de soya y un 30% taninos en relación a la proteína de ryegrass (Cuadros 3-4). Los trabajos que se han realizado en nuestro laboratorio con proteínas puras (rubisco y proteína de soya) no nos han permitido hacer conclusiones generales sobre sustratos puros pues se usaron niveles muy bajos de taninos y los efectos de la prueba fueron poco consistentes (Fajardo, 1998).

3.1. Tiempo de incubación

En ensayos preliminares estudiamos las diferencias que se presentaban en los niveles de amonio en este sistema cuando la torta de soya era incubada por cortos periodo de tiempo (12 y 24 h). Aunque el sistema mostraba disminuciones en amonio con la adición de efectos de los taninos en la fermentación no son evidentes. taninos estas no eran significativamente diferentes debido a altas variaciones en los niveles de amonio entre tubos (repeticiones). Al aumentar los

tiempos de incubación las variaciones entre repeticiones se hicieron menores y la concentración total de amonio aumentó lo que permite ver con mayor claridad los efectos de las diferentes fuentes de taninos. Algunos investigadores han criticado el tiempo de incubación por considerarlo muy largo en relación al tiempo de permanencia de las proteínas en el rumen.

4. Características del fluido ruminal

Una de las inquietudes cuando se trabajan métodos *in vitro* con inoculos es la variabilidad que estos presentan debido a la dieta y/o al animal donante. Al utilizar fluido ruminal proveniente de ovejos alimentados con forraje y suplementados con torta de soya que contenía diferentes relaciones tanino/proteína, los niveles de amonio después de la incubación de torta de soya tratada (relación tanino proteína 11.4%) o sin tratar difirieron levemente entre dietas pero mostraron claramente las diferencias entre soya incubada con o sin taninos (Cuadro 5).

Cuadro 3. Efecto del tipo y nivel de taninos adicionados a Ryegrass sobre niveles de amonio, y DIVMS (%) bajo condiciones ruminales y abomasales.

Relación tanino/proteína %	NH ₃ (mg/dl)		DIVMS %			
	Acacia	Quebracho	Rumen		Rumen + Abomaso	
			Acacia	Quebracho	Acacia	Quebracho
0	22	22	72	72	74	74
7.7	21	22	67	67	67	68
15.4	20	22	66	63	66	63
30.8	16	22	58	61	65	66

Cuadro 4. Efecto del tipo y nivel de taninos adicionados a torta de soya sobre niveles de amonio, y DIVMS (%) bajo condiciones ruminales y abomasales.

Relación Tanino/proteína %	NH ₃ (mg/dl)		DIVMS %			
	Acacia	Castaño	Rumen		Rumen + Abomaso	
			Acacia	Castaño	Acacia	Castaño
0	67	67	71	71	88	88
3.8	59	52	67	62	87	87
7.6	57	42	67	59	87	88
15.2	47	26	64	45	79	84

Cuadro 5. Efecto de la alimentación con torta de soya tratada con castaño sobre la concentración *in vitro* de amonio¹.

Substrato	Relación tanino/proteína en el suplemento			
	0%	3.8%	7.6%	11.4%
	NH ₃ – mg / dl			
Torta tratada	24.2 ^{b*}	23.7 ^{b*}	25.6 ^{ab*}	26.1 ^{a*}
Torta sin tratar	39.6 ^{a*}	36.6 ^{b*}	36.9 ^{b*}	40.5 ^{a*}

¹Sánchez (resultados sin publicar).

^{a, b}Letras diferentes representan diferencias significativas (P<0.05) entre columnas.

* Indica diferencias significativas (P<0.05) entre filas.

DIGESTIÓN ABOMASAL

Nosotros hemos sugerido que en la diferencia digestibilidad *in vitro* de la MS(DIVMS) de la primera fase de digestión del método (Incubación con fluido) y de la segunda (Incubación en pepsina) nos podría indicar el comportamiento del complejo tanino-proteína en condiciones que simulan las del abomaso. La diferencia entre las dos digestibilidades la hemos llamado *proteína digestible en el abomaso*. El aumento o disminución de esta digestibilidad debido a los taninos en relación a la proteína digestible del sustrato sin taninos nos indicarían los efectos positivos o negativos que tienen estos compuestos a nivel abomasal. Las ensayos que hemos realizado muestran que los efectos negativos que tienen los taninos sobre la digestibilidad en el rumen no siempre son compensados por un aumento en la digestibilidad en pepsina (Cuadros 3 y 4). Sin embargo, nuevamente el método muestra diferencias entre tipos de taninos.

CONCLUSIONES

El método de incubación *in vitro* desarrollado por Tilley y Terry (1963) y adaptado por nosotros para estudiar las interacciones entre taninos y proteínas ha mostrado sensibilidad a diferencias entre taninos, su concentración con relación a la proteína, así como a las características de los sustratos.

LITERATURA CITADA

Asquith, T.N. y Butler L.G. 1985. Use of dye-labeled protein as spectrophotometric assay for protein

precipitants such as tannins. *J Chem Ecol* **11**: 1535-1544.

Fajardo, C., Pabón, M.L. y Carulla, J. 1998. *Estudio de la interacción in vitro entre proteínas de origen vegetal y taninos*. Tesis. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.

Gonzalez, S., Pabón, M.L. y Carulla, J. 1998. *Efecto de tres fuentes de taninos en la fermentación ruminal in vitro de torta de soya y ryegrass (Lolium spp)*. Tesis. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.

Gonzalez, S., Pabón, M.L. y Carulla, J. 2002. Effects of tannins on *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. *Arch Latinoam Prod Anim* **10**: 97-101.

Hagerman, A.E. y Butler, L.G. 1978. Protein precipitation methods for the quantitative determination of tannins. *J Agric Food Chem* **26**: 809-812.

Hagerman, A.E. y Butler, L.G. 1980. Determination of protein in tannin-protein precipitates. *J Agric Food Chem* **28**: 944-947.

Hagerman, A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J Chem Ecol* **13**: 437-449.

Martin, J.S. y Martin, M.M. 1983. Tannin assays in ecological studies: lack of correlation between phenolics, proanthocyanidins and protein-precipitating constituents in mature foliage of six oak species. *Oecologia* **84**:205-211.

Tilley, J.M.A y Terry, R.A. 1978. Two stage technique for the *in vitro* digestion. *Br. Grass Soc.* **18**:104-111.

Velazquez, C., Suarez, M., Pabón, M. y Carulla, J. 2002. Hydrogen bonds in the binding of some polyphenols from Quebracho (*Schinopsis spp.*) to soybean meal protein under *in vitro* ruminal conditions. *Arch Latinoam Prod Anim* **10**: 171-174.

Algunos métodos y técnicas espectroscópicas aplicables en el análisis químico y estructural de taninos vegetales

Bárbara Moreno-Murillo

Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Apartado Aéreo 27586, Bogota DC, Colombia, bmorenom@unal.edu.co

OBJETIVO

Este trabajo pretende resumir brevemente los principales métodos aplicados en la actualidad en la caracterización química y la elucidación estructural de los taninos vegetales.

INTRODUCCIÓN

Los taninos constituyen un amplio grupo de metabolitos secundarios fenólicos de naturaleza compleja y amplia distribución en el reino vegetal; su presencia ha sido reportada en Gimnospermas y Angiospermas y en estas son más comunes en las Dicotiledóneas que en las Monocotiledóneas. Los taninos son de gran importancia por sus propiedades fisicoquímicas, de las cuales dependen sus efectos y aplicaciones. Químicamente los taninos son mezclas de polifenoles formados por algunas unidades monoméricas reconocidas y se clasifican en dos grandes grupos con base en la identidad de los núcleos fenólicos que los forman y el tipo de unión entre ellos, como taninos hidrolizables y taninos condensados. A la primera clase pertenecen los derivados del ácido gálico (1) y sus ésteres con la glucosa los cuales hidrolizan con facilidad para producir los ácidos fenólicos y el azúcar. Los taninos condensados denominados proantocianidinas, son polímeros de unidades derivadas de los flavonoides (flavan-3-oles, como catequina (2) y epicatequina (3)) ó flavan-3,4-dioles como leucocianidina (4) entre otros. Esta presentación incluye un

resumen sobre los procedimientos más útiles en la extracción, separación, purificación e identificación estructural de los oligómeros ($n = 2-10$) que conforman los taninos. La figura 1 incluye las formulas estructurales de algunos de los compuestos mencionados en este trabajo.

PROPIEDADES Y CLASIFICACIÓN

Los taninos se distinguen por los siguientes aspectos: astringencia, solubilidad en agua derivada de la interacción polifenol-polifenol (IPP), peso molecular (PM) (500-5000 daltons), estructura química con 12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de PM y su capacidad par formar complejos con otras macromoléculas como carbohidratos, alcaloides, proteínas y saponinas entre otras, de las cuales dependen sus aplicaciones en alimentos y bebidas, fitoterapia, industria de pieles y defensa química y pigmentación en plantas.(Haslam y Cie, 1994).

La clasificación de los taninos se fundamenta en dos características químicas estructurales: a) ésteres y derivados del ácido gálico y el ácido hexahidroxidifenico (5) con la D-glucosa, los cuales constituyen los taninos hidrolizables (TH), los cuales en su mayoría son derivados del intermediario β -1,2,3,4,6-pentagalactil-D-glucosa (6). Los derivados del ácido hexahidroxi-difénico se consideran

formados por acoplamiento oxidativo de ésteres gálicos vecinos sobre una unidad de galoiol D-glucosa. Estas reacciones permiten la formación de galotaninos (7), elagitaninos (8), dímeros trímeros y oligómeros de éstos (9), de gran complejidad debido a su variedad estructural. Los taninos condensados (TC) o proantocianidinas poseen como unidad fundamental la catequina (3) con diversos patrones de sustitución y oxidación (Porter, 1994), los cuales generan las denominadas unidades diméricas T, M, J y B con un solo enlace interflavonoide y las unidades tipo A con doble unión interflavonoide (10).

ANÁLISIS QUÍMICOS

La cantidad y tipo de taninos producida por las plantas varía considerablemente dependiendo de la especie, accesión, tejido, estado de desarrollo y factores ambientales por tanto para el estudio de sus efectos sobre otros organismos se requiere de su cuantificación.

Preparación de muestras

Las muestras frescas deben ser liofilizadas, procedimiento mejor que congelar o secar en estufa y se sugiere extraer sin descongelar la muestra. Para el secado en estufa se aconseja usar temperaturas $> 40^{\circ}\text{C}$ para inactivar enzimas oxidantes y $< 60^{\circ}\text{C}$ para evitar polimerización y daños por calentamiento. Las muestras deben almacenarse en frío en lugar oscuro, deben cortarse en partes pequeñas y congelarse con nitrógeno líquido. Luego deben extraerse con solvente frío y almacenar a -4°C .

Extracción

Los taninos se extraen con soluciones acuosas de solventes orgánicos: acetona- agua (70:30) se considera más efectivo que las mezclas alcohólicas. En muchas plantas hay fracciones de taninos que no son extraíbles

(insolubles hasta 50%). Para antocianidinas lábiles aciladas se han reportado métodos de extracción con etanol o metanol acidulados con ácidos débiles como acético, tartárico o cítrico, en lugar de HCl, de uso amplio en trabajos previos. (Strack y Wray, 1996). Durante la extracción las antocianidinas se pueden ver afectadas por factores como pH, temperatura, oxígeno, luz, enzimas, azúcares y copigmentos.

Purificación – Métodos cromatográficos.

La separación y purificación de las proantocianidinas es esencial para la preparación de estándares adecuados. En general se aplican métodos cromatográficos clásicos como la cromatografía en capa delgada CCD, y cromatografía en columna. A nivel analítico y preparativo la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE/HPLC) en fases normal y reversa es una técnica estándar para análisis cuantitativo y semipreparativo. Para estudios sistemáticos, la elaboración de los perfiles cromatográficos de las muestras ahorra tiempo y costos en un rango amplio de aplicaciones. Sin embargo la CLAE no resuelve todos los problemas y se requiere de la optimización de los parámetros que afectan los tiempos de retención de las proantocianidinas (PA) en especial cuando se utiliza la fase reversa (RP-C-18 y RP-C-8) para evitar la superposición de las señales. La polaridad y la estereoquímica de los antocianidinas son factores claves para la separación en los materiales de fase reversa más comunes, como la gel de sílice modificada. Los factores de separación incluyen: patrón de sustitución de los núcleos básicos (grupos OH y OCH_3); naturaleza, número y posición de los residuos de azúcares presentes y el grado de acilación con ácidos hidroxycinámicos y similares. Entre otras técnicas la cromatografía en columna por permeación en gel (CPG) sobresale como la más eficiente, la cual utiliza fases como el

Sephadex LH-20, TSK-HW40, Diaion HP-20 y otras; esta técnica permite la separación por exclusión por tamaño molecular. Además se aplica cromatografía centrífuga (locular), de partición y de goteo en contracorriente. La CLAE acoplada a detectores con arreglo de diodos (DAD) es uno de los avances más importantes de la década de los 90. En este método, la muestra se escanea cada cierto número de milisegundos generando datos espectrales en el rango UV-VIS, calculando la absorción máxima y realizando un análisis comparativo de la pureza de la señal. Así mismo recientemente la CLAE permite la separación de oligómeros de flavan-3-oles hasta decámeros, especialmente cuando se acopla en forma directa a espectrómetros de masas (EM) con técnicas de ionización suave como se indica más adelante (Glassgen *et al.*, 1992; Lazarus *et al.*, 1999)

Los ensayos químicos de los taninos se dividen en colorimétricos, gravimétricos, de precipitación de proteínas y mixtos y en general todos y cada uno tienen ventajas y desventajas.

Análisis colorimétricos

Estos ensayos incluyen:

- a) Método de Folin-Dennis y sus modificaciones, con ácido fosfomolibdico en medio básico para determinación de fenoles solubles totales (TH, PA).
- b) Método de vainillina HCl: es específico para taninos condensados; la vainillina reacciona con los sustituyentes en posición meta del anillo A de los núcleos flavanos formando un cromóforo cuya intensidad de absorción es proporcional al número de estas unidades monoméricas, con catequina como patrón de referencia.
- c) Ensayo con butanol -HCl: Especifico para TC; este método involucra la depolimerización ácido catalizada de los

TC en alcohol butílico para formar antocinidinas de color rojo las cuales se pueden detectar espectrofotométricamente. La formación de dímeros y trímeros causa desviación por menor valor. La combinación de los ensayos b) y c) permite medir el grado de polimerización de las PA; el ensayo b) mide el número de moléculas y el ensayo c) mide el número total de residuos de flavan3-oles.

- d) Ensayo de Rodanina: Es específico para galotaninos, se basa en la hidrólisis para liberar ácido gálico; la reacción del ácido gálico y la rodanina produce un color intenso el cual se puede medir por espectrofotometría.
- e) Ensayo del Wilson and Hagerman es específico para elagitaninos: la muestra se somete a hidrólisis para liberar ácido elágico el cual con el nitrito de sodio produce una solución coloreada (Waterman y Mole, 1994).

Ensayos gravimétricos

Los más utilizados incluyen:

- a) El método gravimétrico con Yterbio, el cual determina los taninos solubles presentes en extractos de plantas; el yterbio trivalente precipita los polifenoles selectivamente. Como ventaja no requiere de estándares, y el precipitado se disuelve fácilmente en ácido oxálico para formar una solución de polifenoles y un precipitado de oxalato de yterbio. no es muy reproducible en plantas con bajos contenidos de taninos.
- b) Método gravimétrico con polivinilpirrolidona (PVP) el cual también determina solo taninos solubles.
- c) Método gravimétrico con el sistema detergente el cual usa el residuo del ácido detergente y el residuo neutro cuya diferencia mide los taninos.

d) Ensayo de precipitación de proteínas el cual se relaciona con las propiedades biológicas de los taninos y se denomina ensayo de difusión radial el cual se basa en a formación de complejos entre taninos y seroalbúmina de bovino en agar. Se miden círculos de difusión opacos por precipitación de los taninos y requiere de estándares para la cuantificación; el ácido tánico es el más utilizado y los resultados se expresan en equivalentes de ácido tánico. Los métodos mixtos combinan las ventajas de cada uno y utiliza estándar interno disminuyendo las diferencias observadas en los coeficientes de extinción.

ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL

Métodos químicos

La secuenciación de las proantocianidinas se continúa realizando con base en las rupturas total y parcial, por las reacciones de tiólisis (con fenilmetanotiol) en etanol como solvente y a temperaturas moderadas (50° C) (Porter, 1996)

Métodos espectroscópicos

El rápido desarrollo en instrumentación tanto en resonancia magnética nuclear (RMN) como en espectrometría de masas (EM) ha permitido la identificación de moléculas complejas como la de la ternatina 1-A de *Clitoria ternatea*. Los avances en RMN de ¹H y ¹³C tanto en 1 y 2 dimensiones (2D) en solución, es uno de los métodos más útiles en elucidación estructural así como la espectroscopía de correlación homonuclear, heteronuclear y total (COSY, NOESY, TOCSY, HMBQ y HMBC etc.) proporcionan estructuras no ambiguas y permite la identificación fácil de patrones de sustitución, configuración y conformación, número y naturaleza de residuos de carbohidratos, sistema aromático y agliconas. (Agrawal,

1989; Strack y Wray, 1996). La espectroscopia Ultravioleta con reactivos de desplazamiento ofrece información valiosa desde el punto de vista estructural. En espectrometría de Masas (EM) las técnicas de ionización suave como FAB-MS, API-MS, ESI-MS y MALDI-TOF son los métodos más apropiados para la determinación de los pesos moleculares de las PA; la introducción del ion-spray (IS-MS) también produce iones moleculares de notable intensidad y rango hasta 2200 daltons. La combinación con tandem MS (MS-MS) permite la determinación de las agliconas y combinada con CLAE proporciona un método sensible para análisis de mezclas complejas. Las alternativas de electroespray y termosprays también son de amplio uso e interés. La aplicación de la difracción por rayos X permite establecer la estereoquímica de las antocianidinas y sus conformeros más estables.

RESULTADOS

Se incluirán algunos resultados obtenidos en el estudio de los polifenoles de algunas plantas nativas tales como los biflavonoides de *Salpichroa diffusa* y *Clusia guaviarensis*; glicosilflavonoles y glucosilflavonoles de *Salpichroa tristis*, (Moreno-Murillo *et al.*, 2001), ácido galico, galicina y otros derivados tipo 3-O-L- α -rhamnosilflavonoles obtenidos del extracto de hojas de *Alchornea glandulosa* así como del estudio del extracto soluble en acetato de etilo del quebracho del cual se aisló el compuesto mayoritario identificado como fisetinidol-(4 \rightarrow 8)-catequina-(6 \rightarrow 4) fisetinidolinol (9) (Velásquez *et al.*, 1998).

LITERATURA CITADA

- Agrawal, P.K., Bansal, M.C., Porter L.J. y Foo, L.Y. 1989. *Carbon 13-NMR of Flavonoids*. Elsevier Amsterdam, 432 pp.
- Glassgen, W.E. Wray, V., Strack, D., Metzger J.W. y Seitz H.U. 1992. *Phytochemistry* **31**: 1593-1595.

Haslam, E. 1982. Proanthocyanidins. En: Harborne, J.B. y Mabry, T.J. (eds.) *The Flavonoids Advances in Research*. Chapman and Hall, London, UK, pp. 417-447.

Haslam, E. 1993. Polyphenols - phytochemical chameleons. En: Van Beek, T.A. y Breteler, H. (eds.) *Phytochemistry and Agriculture. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*. Clarendon Press, pp. 214-252.

Haslam, E. y Cai, T. 1994. Plant polyphenols (Vegetable Tannins): Gallic acid metabolism. *Natural Products Report* **15**: 41-66.

Lazarus, S., Adamson G.E., Hammerstone J.F. y Schmitz H.H. 1999. High performance liquid chromatography/mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in foods and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**: 3693-3701.

Moreno-Murillo, B., Fajardo, V. y Suárez M. 2001. Cytotoxic activity of some South American species. *Fitoterapia* **72**: 680-685.

Porter, L.J. 1996. Flavans and proanthocyanidins. En: Harborne, J.B. (ed.) *The Flavonoids Advances in Research since 1986*. Chapman and Hall, London, UK, pp. 23-55.

Velásquez, C.M., Pabón M.L. y Suárez M. 1998. *Constituyentes mayoritarios de un extracto comercial de quebracho (Schinopsis balansae) y su capacidad para proteger la proteína de la degradación ruminal*. Trabajo de Grado, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Waterman P.G. y Mole S. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications Oxford, UK.

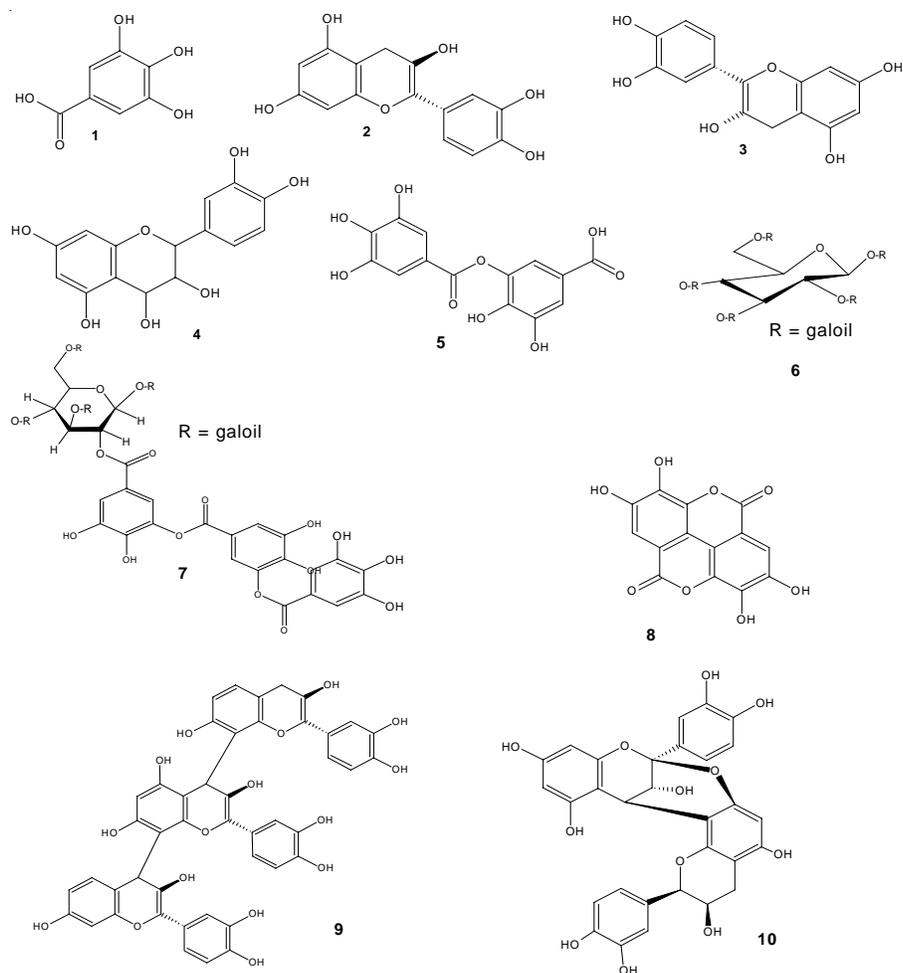


Figura 1

Efecto del ambiente y del genotipo en la composición y actividad biológica de los taninos presentes en leguminosas

Carlos E. Lascano

Coordinador del Proyecto Gramíneas y Leguminosas Tropicales, CIAT, c.lascano@cgiar.org

RESUMEN

En numerosos estudios se ha demostrado el efecto que los factores del medio ambiente tienen sobre la calidad de las gramíneas y leguminosas forrajeras tanto de clima templado como tropical. Entre estos factores se encuentran la luz, la temperatura, la distribución de las lluvias y las condiciones fisicoquímicas del suelo, que influyen en la composición y la digestibilidad de los forrajes que crecen en áreas contrastantes.

Igualmente se ha demostrado el efecto de la época del año en el crecimiento del forraje, el comportamiento de las especies en pastoreo y el desempeño de los animales. Sin embargo, no existen estudios recientes sobre la influencia de los cambios en los factores edafoclimáticos en la calidad del forraje de leguminosas con niveles variables de taninos condensados (TC). Los taninos son compuestos secundarios importantes en algunas especies de leguminosas forrajeras de zonas templadas y tropicales, adaptadas a suelos ácidos de baja fertilidad natural. En este documento se resumen las principales propiedades de los TC y sus efectos en la calidad del forraje de algunas leguminosas y se hace una revisión de los trabajos publicados sobre el efecto de los factores edafoclimáticos en la acumulación de TC en leguminosas de zonas templadas y tropicales. Los resultados experimentales bajo condiciones controladas indican que sólo la temperatura alta puede aumentar significativamente la acumulación de TC en algunas leguminosas de zonas templadas, por

ej., en *Lotus pedunculatus*; pero no en otras como *L. corniculatus*. No obstante, el efecto de la temperatura baja o alta en la acumulación de TC en la planta es considerablemente mayor cuando es acompañada de factores adversos del medio ambiente como sequía, concentración de CO₂ y deficiencia de nutrientes en el suelo. Las deficiencias de minerales en el suelo pueden elevar la concentración de TC y afectar el valor nutritivo total de las leguminosas sólo cuando son de tal magnitud que afectan el crecimiento de la planta. La fertilidad del suelo y las condiciones de clima no sólo afectan la concentración de TC sino también su composición de monómero y su peso molecular, tal como se pudo observar en especies de leguminosas tropicales bien adaptadas a suelos ácidos infértiles. La importancia de estos resultados desde el punto de vista de la nutrición animal no es del todo bien entendida, aunque aparentemente los TC en leguminosas forrajeras no son una entidad química uniforme, ya que pueden cambiar por efecto de factores edáficos y climáticos. Finalmente, se demuestra que es necesario investigar alternativas para mejorar el valor nutritivo de las leguminosas con taninos adaptadas a suelos ácidos, mediante la selección de genotipos con menos TC y/o a través de la manipulación bajo condiciones controladas de factores de medio ambiente tales como la fertilidad del suelo. Para lograr este objetivo es necesario entender bien cómo dichos factores afectan la acumulación de

TC, su estructura química y actividad biológica, y cómo se relacionan estos cambios con el consumo de forraje, la digestibilidad, la utilización de N y, finalmente, al desempeño animal.

INTRODUCCIÓN

Las plantas forrajeras están sometidas a los cambios del medio ambiente, los cuales conjuntamente con la madurez fisiológica, pueden causar efectos significativos en su calidad. Estas plantas crecen normalmente en ambientes con diferentes grados de estrés que, a su vez, pueden conducir a grandes variaciones en el rendimiento y en la calidad del forraje a través del tiempo. Los estados de estrés ocurren cuando los factores del medio ambiente no son ideales para el crecimiento y desarrollo de la planta, por ej., temperaturas bajas o altas, deficiencias o exceso de agua, exceso de sombra y deficiencia de nutrientes en el suelo.

La mayoría de los estudios sobre las relaciones medio ambiente-plantas forrajeras se ha concentrado en los efectos de la temperatura, la tensión del agua, la luz y los nutrientes sobre el crecimiento y la calidad de las gramíneas, y en menor grado, de las leguminosas (Wilson, 1982; Buxton y Casler, 1993; Buxton y Fales, 1994). Una conclusión importante de estos estudios sugiere que normalmente la temperatura tiene un mayor efecto en la digestibilidad de las leguminosas que otros factores del medio ambiente, principalmente por su efecto en las hojas, la proporción de tallos, el aumento en la fracción de la pared celular no-digestible y en la reducción proporcional de los carbohidratos no-estructurales. La sombra, en la mayoría de los casos, perjudica la producción de forraje de gramíneas y leguminosas, pero tiene escasos e

inconsistentes efectos en la calidad. El efecto de la sequía en la calidad del forraje es normalmente bajo e inclusive puede ser positivo, si la severidad del estrés en la biomasa aérea no es alta. El efecto de los nutrientes en el suelo en la calidad del forraje, principalmente de leguminosas, es relativamente pequeño. Se ha encontrado que la aplicación de fertilizantes nitrogenados favorece una mayor producción de MS y de proteína cruda. La aplicación de azufre y calcio en suelos deficientes en estos minerales puede aumentar la digestibilidad del forraje a través de diferentes mecanismos. La corrección de la deficiencia de azufre mediante fertilización o suplementación directa a los animales puede aumentar la digestibilidad del forraje debido a una mejor fermentación en el rumen. Cuando el calcio se aplica como fertilizante aparentemente ocurre un mejoramiento en la digestibilidad debido a los cambios en la composición de la pared celular de las plantas.

Se ha demostrado, también, que existen varios factores del medio ambiente que afectan los atributos de calidad de las leguminosas forrajeras con niveles variables de taninos condensados (TC), compuestos secundarios importantes en algunas especies de leguminosas forrajeras de zonas templadas y tropicales. Algunos estudios publicados recientemente muestran que existen factores edafoclimáticos específicos que tienen un marcado efecto en la producción de forraje y la calidad de las leguminosas con taninos.

En este documento se resumen los efectos tanto positivos como negativos de los TC en la nutrición de rumiantes y se analizan las respuestas en producción y calidad de varias especies de leguminosas forrajeras de zonas templadas y tropicales al estrés debido a cambios en el medio ambiente. Se plantean, igualmente, las necesidades de investigación

futura, derivadas de la nueva información disponible sobre las diferencias en la composición de taninos en algunas leguminosas forrajeras tropicales.

LIMITACIONES DE ALGUNAS LEGUMINOSAS FORRAJERAS TROPICALES

En las regiones tropicales algunas especies de leguminosas leñosas y herbáceas que han mostrado buena adaptación a suelos ácidos de baja fertilidad también han mostrado que acumulan niveles variables de TC (Lascano *et al.*, 1995; Jackson *et al.*, 1996). Es bien conocido que leguminosas leñosas como *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* y *Erythrina* spp. pueden mejorar significativamente las ganancias de peso vivo animal y la producción de leche cuando se usan como suplemento proteínico en sistemas de corte y acarreo o en pastoreo (Izham *et al.*, 1982; Saucedo *et al.*, 1980; Suarez *et al.*, 1987; Vargas *et al.*, 1988). Sin embargo, estas especies no se adaptan bien a suelos ácidos con niveles altos de aluminio, que son comunes en grandes áreas de América tropical (Argel y Maass, 1995).

EFFECTO DE LOS TANINOS CONDENSADOS EN LEGUMINOSAS FORRAJERAS

Los metabolitos secundarios conocidos como taninos condensados (TC) se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Muller-Harvey y McAllan (1992) en una revisión encontraron que aproximadamente el 80% de las dicotiledóneas perennes leñosas y el 15% de las dicotiledóneas herbáceas anuales contienen taninos. Estos compuestos secundarios son polifenoles producidos por las plantas como parte de la cadena del ácido shikímico y tienen la habilidad de mezclarse con las proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas

(Muller-Harvey y McAllan, 1992). Los taninos se han dividido en dos grupos con base en su origen químico: hidrolizables y condensados. Los primeros son polímeros de ácidos fenólicos (gálico, hexahidroxidifénico y/o sus derivados) y los condensados son polímeros de falvan-3-ol que producen antocianidinas bajo condiciones de degradación ácida (Fahey y Jung, 1989).

Se supone que los complejos formados entre los TC y otras moléculas, como las proteínas, son reversibles (hidrófobos y/o enlaces de hidrógeno) o irreversibles por la oxidación de los compuestos fenólicos que reactivan las quinonas (Fahey y Jung, 1989). Los complejos reversibles son estables e insolubles a un pH entre 3 y 7, pero son liberados a un pH más bajo que 3 ó mayor que 8 (Jones y Mangan, 1977). Esta propiedad de los TC para ligar las proteínas a un pH neutro y liberarlas a valores de pH bajo ha llevado a muchos investigadores a pensar que podría ser una herramienta útil para reducir la degradación de la proteína en el rumen siendo posible incrementar, de esta manera, el flujo y la absorción de N no amoniacal en el intestino delgado. Esto ha sido demostrado experimentalmente por Waghorn *et al.* (1987) con *L. corniculatus* suministrado a rumiantes. Además, algunas de las propiedades de los TC presentes en leguminosas han sido asociadas con la prevención de procesos inflamatorios en rumiantes (Gutek *et al.*, 1974; Ross y Jones, 1974; Chiquette *et al.*, 1989). Existe, por otro lado, evidencia experimental que indica que las altas concentraciones de TC presentes en algunas leguminosas de zonas templadas y tropicales pueden tener efectos negativos en la digestibilidad y el consumo del forraje aprovechable (Donnelly y Anthony 1983; Barry y Duncan, 1984; Barry y Manley, 1984; Terrill *et al.*, 1989; Barahona *et al.*, 1997).

Los efectos positivos y negativos de los TC presentes en leguminosas forrajeras han sido relacionados con su concentración en las hojas y tallos aprovechables de la planta y pueden, a su vez, variar con las especies (Jackson *et al.*, 1996; Lowther *et al.*, 1987), partes de la planta (Foo *et al.*, 1982; Barahona *et al.*, 1997), genotipos dentro de especies (John y Lancashire, 1981; Schultze-Kraft y Benavides, 1988), madurez de la planta (Lees *et al.*, 1995) y factores del medio ambiente (Barry y Forss, 1983; Fales 1984; Anuraga *et al.*, 1993). La variación en el nivel de TC asociada con genotipos y condiciones del medio ambiente sugiere que existen posibilidades para regular la acumulación de estos compuestos mediante la selección o mejoramiento, o a través de leguminosas identificadas en nichos específicos que favorecen la baja concentración de taninos en el forraje aprovechable por los animales.

A continuación se presentan brevemente los resultados experimentales del efecto de los factores del medio ambiente en la acumulación de TC y en los cambios en otros indicadores de calidad en leguminosas forrajeras de zonas templadas y tropicales.

EFFECTO DEL MEDIO AMBIENTE EN LA CALIDAD DE LEGUMINOSAS CON TANINOS

Las investigaciones publicadas sobre el efecto del medio ambiente en la calidad del forraje de leguminosas con taninos, se caracterizan porque: (1) el trabajo se ha limitado a pocos géneros y especies cultivadas en zonas templadas y a un reducido número de leguminosas tropicales, y (2) las variables de respuesta se han limitado principalmente a las mediciones de la concentración de TC, N, niveles de fibra y digestibilidad y, en algunos casos, a la

medición del consumo de forraje y/o producción animal.

En las zonas templadas la investigación para medir los efectos del medio ambiente y del suelo en la calidad del forraje de leguminosas con TC se ha hecho principalmente con especies de *Lotus* (*L. corniculatus* y *L. pendunculatus*), *Onobrychis viciifolia* y *Lespedeza cuneata*. En el caso de las leguminosas tropicales, el trabajo se ha limitado al estudio de los efectos del medio ambiente sobre la calidad de las leguminosas con taninos *Desmodium heterocarpon* subsp. *ovalifolium* (herbácea), bien conocida bajo su nombre anterior de *Desmodium ovalifolium*, y en un menor grado con *Calliandra calothyrsus* (arbustiva).

Leguminosas de zonas templadas

Efecto de la temperatura. Los resultados de estudios previos mostraron que la concentración de TC en las leguminosas de zonas templadas aumenta a medida que avanza la época de crecimiento, lo que estuvo asociado con el incremento de la temperatura promedio del día y la reducción de la precipitación (Donnelly, 1959). Sin embargo, en estudios de campo fue imposible aislar los efectos confundidos de la temperatura del día y la precipitación durante la época de crecimiento y la senescencia simultánea de las plantas. En otros estudios, en los que la temperatura se asoció con los cambios en la concentración de TC en las leguminosas, las respuestas observadas se confundieron con la intensidad de la luz. Para evitar los efectos confundidos de los factores del medio ambiente en la calidad del forraje de leguminosas con TC se realizaron algunos estudios bajo condiciones controladas en invernadero.

Fales (1984) estudio el efecto de temperaturas bajas y altas controladas en los atributos de

calidad de genotipos de *L. cuneata* con contenidos bajo y normal de TC, y Lees *et al.* (1994) realizaron estudios similares en clones de *L. pedunculatus* con bajo, medio y alto contenido de TC. Los resultados en el Cuadro 1 muestran que la concentración de TC en el tejido foliar de ambas especies de leguminosa aumentó con la temperatura. En las hojas de genotipos de *L. cuneata* con contenidos de tanino normal y bajo, la concentración de TC fue, respectivamente, 10 y 2 unidades porcentuales mayor a temperatura alta que a temperatura baja. El aumento en la concentración de TC en *L. Pedunculatus* debido a la temperatura varió desde 3 hasta 5 unidades porcentuales.

En los experimentos de Lees *et al.* (1994) con *L. Pedunculatus* la concentración de TC aumentó con el tiempo en las plantas sometidas a dos regímenes de temperatura, pero el incremento fue considerablemente más rápido y permaneció más alto en las plantas cultivadas a 30 °C que a 20 °C. Se observó que el rebrote de las plantas cultivadas con temperaturas más bajas era vigoroso, mientras que el de las plantas cultivadas a temperaturas mayores presentaba síntomas de estrés por calor (senescencia de hojas inferiores, área foliar reducida, tallos alargados y abundancia de inflorescencia) y por deficiencia de nutrientes en el suelo. El lento crecimiento después del corte de las plantas expuestas a temperatura alta no estuvo acompañado por un aumento en la concentración de TC que, de hecho, era más bajo que en el rebrote de las plantas expuestas a temperaturas más bajas, lo que sugiere niveles bajos de almacenamiento de carbohidratos en las raíces antes del corte.

Temperatura y humedad en el suelo. En muchas regiones del mundo la baja humedad en el suelo constituye un factor importante de estrés que limita la producción de biomasa de

las plantas forrajeras. En las regiones tropicales las condiciones de estrés por sequía están normalmente asociadas con temperaturas ambientales relativamente altas. En Australia, Anaruga *et al.* (1993) en estudios en cámara de crecimiento encontraron que las temperaturas altas, en oposición a las bajas, aumentaron la concentración de TC en *L. pedunculatus*, mientras que tuvieron un efecto pequeño en los niveles de estos compuestos en *L. corniculatus* (ver Cuadro 1). Así mismo, observaron que el estrés por humedad en el suelo indujo una mayor acumulación de TC en las hojas de *L. pedunculatus* a medida que la temperatura aumentaba, lo que iba acompañado de una reducción en la producción de forraje.

Temperatura, CO₂ y humedad en el suelo. Carter *et al.* (1999) estudiaron el efecto de temperaturas contrastantes en combinación con diferentes concentraciones de CO₂ y regímenes de riego en la acumulación de TC y otros parámetros de calidad de tres genotipos de *L. corniculatus*. Los resultados de estos experimentos (Cuadro1) mostraron que el nivel de TC aumentó en todos los genotipos que tenían el doble de concentración de CO₂, no obstante, al aumentar la temperatura de crecimiento se redujeron los niveles de TC. El estrés por sequía tuvo un efecto menor que la temperatura en la acumulación de TC, aunque causó una reducción en el nivel de TC en las hojas. La combinación de los efectos de temperatura alta, CO₂ bajo y sequía produjo una acumulación más baja de TC en *L. corniculatus*.

Como se discutió previamente, *L. pedunculatus* produjo una acumulación más alta de TC cuando se sometió a temperaturas altas, que cuando se sometió a temperaturas bajas (Anaruga, 1993; Lee *et al.*, 1994).

Estos resultados no concuerdan con los de Carter *et al.* (1999) quienes en *L. corniculatus* encontraron que la acumulación de TC aumentaba como respuesta a los efectos combinados de baja temperatura y alta concentración de CO₂, independientemente de la humedad en el suelo. En otros estudios se había encontrado que: la temperatura baja y el estrés por humedad tenían un efecto limitado en la acumulación de TC en *L. corniculatus* (Anaruga *et al.*, 1993), los niveles de TC eran inherentemente más altos en *L. pedunculatus* que en *L. corniculatus* (Lowther *et al.*, 1997) y, la estructura química de los TC era diferente entre ambas especies de *Lotus* (McNabb *et al.*, 1997).

En consecuencia, aparentemente la acumulación de TC en las leguminosas de zonas templadas como respuesta a la temperatura es variable y posiblemente dependiente de la especie y genotipo, por lo menos en el caso de *Lotus*. Las especies con bajos niveles inherentes de TC (por ej., *L. corniculatus*) parece que no responden o sólo acumulan ligeramente más TC cuando se cultivan en condiciones de bajas temperaturas; mientras que las especies con altos niveles inherentes de TC (por ej., *L. pedunculatus*; *L. cuneata*) parece que invariablemente acumulan más taninos cuando crecen en temperaturas altas. También es evidente que el efecto combinado de factores del medio ambiente como temperatura, CO₂, y humedad y deficiencias de nutrientes en el suelo tienen un efecto mayor en la acumulación de TC de leguminosas de zonas templadas, más que cualquier factor en forma aislada. La severidad del estrés debido a condiciones del medio ambiente también podría tener un efecto significativo en la producción de biomasa y en la acumulación de TC en el

tejido aprovechable de las leguminosas de zonas templadas.

Existen pocos estudios del impacto que tienen los cambios en los factores del medio ambiente sobre los parámetros de calidad del forraje diferentes de la acumulación de TC. Carter *et al.* (1999) en *L. corniculatus* observaron una relación negativa entre la concentración de TC mayor que 2.5% a 3% de MS y la tasa inicial de producción de gas durante la fermentación *in vitro* con microorganismos del rumen. También encontraron que la digestibilidad de esta leguminosa aumentaba con la sequía y la temperatura alta, pero disminuía cuando aumentaba la concentración de CO₂. Se espera, también, que los cambios en los niveles de TC en las leguminosas forrajeras, inducidos por la combinación de temperatura y estrés de humedad, afecten el consumo de forraje (Barry y Duncan, 1984; Terrill *et al.*, 1989). La baja concentración de TC en *L. corniculatus* se ha asociado con la reducción en la digestibilidad de N, pero no con el aumento aparente de la absorción de aminoácidos esenciales en ovejas (Waghorn *et al.*, 1987). En contraste, los mayores niveles de TC en *L. pedunculatus* también han resultado en una reducción en la digestibilidad del N, aunque sin afectar la absorción de aminoácidos en el intestino bajo de ovejas (Waghorn *et al.*, 1994).

Fertilidad del Suelo. La baja fertilidad del suelo es, sin duda, la principal limitante para el crecimiento adecuado de cultivares mejorados de leguminosas forrajeras comerciales, particularmente en regiones tropicales donde existen extensas áreas con suelos ácidos. Por esta razón, se ha dado gran énfasis a la evaluación y selección de leguminosas con adaptación a estas condiciones (Argel y Maass, 1995). Los suelos ácidos son también comunes en ciertas

regiones templadas de E.U., Nueva Zelanda y Australia donde se le ha dado importancia a la selección de leguminosas adaptadas a estos suelos (Donnelly y Anthony, 1970; Scott y Charlton, 1983).

Con frecuencia algunos agricultores mencionan que el ganado consume primero las leguminosas con TC bien fertilizadas o cuando se cultivan en suelos de alta fertilidad. Esta evidencia empírica motivó la investigación tendiente a evaluar el efecto de los fertilizantes en la concentración de TC y en la aceptabilidad del ganado por forrajes provenientes de leguminosas de zonas templadas y tropicales con niveles variables de taninos. Como se mencionó anteriormente estos estudios se han desarrollado sólo en algunas especies como *L. cuneata*, *Lotus* spp., *D. ovalifolium* y *C. calothyrsus*.

En un trabajo previo, realizado en el sur de Estados Unidos, se encontró que la concentración de TC en *L. cuneata* disminuyó cuando las plantas se cultivaron en macetas en invernadero en un suelo arcilloso fertilizado con K. Sin embargo, esta reducción de TC debida a la fertilización con K sólo se observó después de 3 años, cuando las plantas control mostraban síntomas extremos de deficiencia de este nutrimento y la producción era significativamente menor (Wilson, 1951).

En Nueva Zelanda también se han realizado estudios para determinar cómo las aplicaciones de fertilizantes influyen en los niveles de TC en *L. pedunculatus* y *L. corniculatus* cultivados en suelos ácidos (Barry y Forss, 1983; Lowther *et al.*, 1987). En estudios de campo se encontró que el nivel de TC en *L. pedunculatus* cv. Prados Maku disminuyó significativamente de 8-11% para 2-3% de MS cuando la leguminosa se cultivó en un suelo de alta fertilidad, en

contraste con los resultados obtenidos en un suelo ácido sin la aplicación de fertilizante (Barry y Forss, 1983). Sin embargo, también se observó que la aplicación combinada de fósforo y azufre como fertilizante a *L. pedunculatus* cultivado en suelos ácido redujo la concentración de TC a una concentración entre 4% y 5% de la MS y aumentó la producción de biomasa. La relación negativa entre el nivel de TC y la producción de la planta sólo fue evidente durante los 15 meses siguientes a la aplicación del fertilizante, como lo indicaron las mediciones posteriores que mostraron aumentos en la producción de la planta debido al efecto del fertilizante residual, aunque por razones aún no entendidas no se observaron efectos en el nivel de TC.

Lowther *et al.* (1987) en Nueva Zelanda al estudiar en condiciones de campo el efecto de la fertilización con azufre en la concentración de TC en diferentes genotipos de *L. corniculatus* y en *L. pedunculatus* cv. Prado Maku encontraron, como era de esperar, mayor concentración de TC en *L. pedunculatus* (6%-10% de la MS) que en *L. corniculatus* (0.1%-4% de la MS), independiente de la fertilización con azufre. Al aumentar la aplicación de 20 a 50 kg/ha de azufre se triplicó la producción de *L. pedunculatus*, pero no hubo un efecto consistente en la acumulación de TC como era de esperar de acuerdo con las observaciones anteriores (Barry y Forss, 1983). Estos resultados probablemente estuvieron asociados con la aplicación subóptima de azufre, ya que se encontró que la concentración de este nutriente en las plantas fertilizadas se encontraba en el límite (0.12%) de una deficiencia, inclusive con la dosis alta. En el mismo estudio, la variación en los niveles de TC en *L. corniculatus* estuvo más asociada con el tipo de planta que con el nivel de fertilización de azufre. El

nivel más alto de TC (4%) se encontró en el genotipo erecto y estaba por debajo del rango (8%-11%) en el cual los TC afectan el consumo voluntario, la digestibilidad y la utilización de N por los rumiantes (Barry y Duncan, 1984).

Las evidencias en esta revisión indican que el aumento de la concentración de TC en las leguminosas de zonas templadas sólo ocurre cuando las deficiencias de nutrientes en el suelo son de tal magnitud que afectan el crecimiento de la planta. Parece, además, que la fertilidad del suelo tiene un efecto mínimo en el cambio de la concentración de los TC de leguminosas con niveles bajos de taninos, como se demostró con los genotipos de *L. corniculatus* evaluados en Nueva Zelanda.

Leguminosas tropicales

Hasta ahora sólo se han hecho esfuerzos limitados en investigación para conocer el efecto de los factores del medio ambiente en la concentración de TC y otros parámetros de calidad de las leguminosas tropicales. Esto se debe, probablemente, a la baja utilización de las leguminosas por los productores en las regiones tropicales.

A continuación se presenta un resumen de los resultados obtenidos por investigadores en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia, en estudios sobre los efectos de la fertilidad del suelo y la aplicación de fertilizantes en el nivel de TC y otros parámetros de calidad de *D. ovalifolium* y más recientemente de *C. calothyrsus*, dos especies de leguminosas con niveles altos de TC bien adaptadas a suelos ácidos (Jackson *et al.*, 1996).

Efecto de la fertilización. A comienzo de la década de 1980, las observaciones con ganado en pasturas de solo *D. ovalifolium* en los Llanos Orientales de Colombia indicaron

una marcada preferencia de los animales por el forraje donde antes habían caído accidentalmente cantidades relativamente grandes de fertilizante. Esta observación motivó el establecimiento de un ensayo de campo con el objeto de comparar los parámetros de calidad y aceptabilidad de forraje por los animales, en función de la aplicación de fertilizante (P + Ca; P + Ca + K; P + Ca + K + S; más un control sin fertilizante). Los resultados mostraron una escasa diferencia en la producción de forraje con la combinación de P, Ca y K en el fertilizante, pero cuando se aplicó S a la mezcla la producción casi se duplicó (Lascano y Salinas, 1982). El aumento en la producción de biomasa con el fertilizante combinado se asoció con una reducción de 9 unidades porcentuales en catequinas equivalentes, una medida indirecta de TC, y un aumento en 0.5 unidades porcentuales de N en el tejido foliar. Se encontró, también, un aumento significativo de S (de 0.09% a 0.15%), K (0.62%-0.75%) y en menor grado de P (0.12%-0.15%) en el tejido foliar. Un hallazgo sorprendente fue que los animales pastaban preferentemente las áreas donde se había aplicado S y sólo cuando el forraje en oferta en las parcelas fertilizadas con S era limitado los animales pastaban en áreas fertilizada con P + Ca + K. También se observó que en las parcelas testigo y en aquellas que sólo recibieron Ca y P el pastoreo era sumamente limitado.

Para probar aún más la hipótesis de que el S estaba involucrado en la calidad nutritiva y en la aceptabilidad de *D. ovalifolium* se realizó un segundo experimento en los Llanos Orientales de Colombia (Salinas y Lascano, 1983). En este caso se aplicaron combinaciones de fertilizante con y sin S y se llevaron a cabo mediciones durante 8 meses —incluyendo una época de lluvias de 6 meses y una época seca de 2 meses— de la

producción y calidad del forraje y de la preferencia de los animales. Los resultados confirmaron las observaciones anteriores que mostraban que la producción de forraje era superior cuando se aplicaba S en combinación con otros nutrientes (P + Ca + K + Mg), lo que estaba asociado con menos TC y más N y S en el tejido foliar. Las observaciones en ambas épocas indicaron que los animales pasaban más tiempo pastando en las parcelas donde se había agregado S (86% del tiempo activo) que donde no se había aplicado (14% del tiempo activo). Se demostró, en consecuencia, que la fertilización con S mejora la ganancia de peso vivo de animales que pastan una mezcla de *Brachiaria decumbens*-*Desmodium ovalifolium* en los Llanos Orientales de Colombia, posiblemente debido a un mayor consumo y a la calidad de la leguminosa (Pérez, 1997).

El efecto positivo de la fertilización con S en combinación con otros nutrientes en la reducción de los niveles de TC y en el mejoramiento del valor forrajero total de las leguminosas tropicales con taninos está muy relacionado con los hallazgos de Barry y Forss (1983) en Nueva Zelanda con *L. pedunculatus* cultivado en un suelo ácido. Tanto *D. ovalifolium* como *L. pedunculatus* tienen niveles propios altos de TC y la reducción de taninos en las leguminosas en ambos trabajos estuvo asociada con el incremento en la producción de forraje y el contenido de N en el tejido foliar. En consecuencia, parece que el valor nutritivo de las leguminosas con taninos cultivadas en suelos ácidos es, en gran parte, una función de las deficiencias de minerales importantes (por ej., S y P) en el suelo.

Fertilidad del suelo y época del año. Para entender mejor el efecto de la fertilidad del suelo en la concentración de TC y otros

parámetros de calidad de *D. ovalifolium* se llevó a cabo un proyecto colaborativo financiado por BMZ que involucró la Universidad de Hohenheim (Alemania), IGER (Reino Unido) y el CIAT (Colombia) en sitios contrastantes de Colombia (Schmidt *et al.*, 1997). Para el efecto, se estableció una colección central de 18 accesiones de *D. ovalifolium* con dos niveles de fertilizante, en seis sitios representativos de los ecosistemas de sabanas, márgenes del bosque húmedo, laderas húmedas y subhúmedas. El hallazgo más importante en este estudio fue que los efectos combinados de la fertilidad del suelo y el clima tenían un impacto mayor en la calidad del forraje que el genotipo de la planta. En esta ocasión, sólo se presenta un resumen de los resultados obtenidos en dos sitios de sabana, caracterizados por tener suelos infértiles muy ácidos y texturas contrastantes (arenoso y franco).

Aunque la producción y la calidad del forraje de *D. ovalifolium* sembrado en el ecosistema de sabanas variaron por efecto de la fertilización y la época del año, es importante resaltar que el efecto del fertilizante fue considerablemente mayor. En la época de lluvias, la producción de biomasa aumentó entre 1 y 7 veces con la aplicación de fertilizante, lo que estuvo asociado con la reducción en la concentración de TC, el aumento en los niveles de N en las hojas y una mejor digestibilidad. Igualmente, durante la época seca la producción de forraje de la leguminosa fue superior en las parcelas fertilizadas y, de nuevo, estuvo asociada con menores niveles de TC, mayor contenido de N en la hoja y una digestibilidad más alta.

En otros ecosistemas las diferencias en la producción de forraje de la leguminosa debidas a la fertilización fueron menos dramáticas que en el sitio de sabana y no estuvieron asociadas con cambios notorios en

los niveles de TC y N en la hoja, ni en la digestibilidad, posiblemente como resultado de la mejor fertilidad de los suelos y una época seca menos pronunciada en los sitios donde se realizaron los ensayos. Sin embargo, los resultados en sitios más húmedos (márgenes del bosque) caracterizados por la alta precipitación durante el año indicaron un marcado efecto de las propiedades físicas del suelo en la acumulación de TC (Salamanca *et al.*, n.p.). Es posible que la baja disponibilidad de oxígeno en el suelo, como resultado del pobre drenaje interno, ocasionó un escaso desarrollo radicular lo que, a su vez, afectó la absorción de nutrientes y el desarrollo de la planta. Por tanto, una vez más, parece que en ambas tipos de leguminosas —templadas y tropicales— los cambios en la acumulación de TC debidos a factores del medio ambiente sólo son evidentes cuando los factores de estrés impuestos afectan considerablemente el crecimiento de la planta.

Otro hallazgo importante en los estudios con *D. ovalifolium* fue que el nivel de fertilización no sólo afectó la concentración de TC sino también su composición de monómeros (Barahona *et al.*, n.p.). Por ejemplo, los TC de plantas cultivadas en los suelos arenosos de sabana bajo condiciones de fertilización baja tenían una relación cianidina:pelargonidina más alta que aquellos de plantas cultivadas en el mismo suelo pero con un nivel más alto de fertilización. Otra observación importante fue que los pesos moleculares de los TC también variaron con las condiciones del medio ambiente y las estimaciones de estos pesos estuvieron positivamente correlacionadas con la tasa de digestión en las fases tempranas de fermentación (Barahona *et al.*, n.p.). La importancia desde el punto de vista de la nutrición de estos resultados no es bien conocida, pero parece que los TC en las

leguminosas tropicales son una entidad química uniforme, ya que pueden cambiar con los factores edáficos y climáticos.

Fertilidad del suelo y genotipo

Los estudios previos habían mostrado diferencias en la composición química del forraje aprovechable de dos procedencias (San Ramón-CIAT 22310 y Patulul-CIAT 22316) de la leguminosa leñosa *Calliandra calothyrsus* (Calliandra) cosechadas en dos sitios en Colombia con suelos de fertilidad contrastante (Vertisol y Ultisol). Un hallazgo importante, que concuerda con los resultados obtenidos en el Reino Unido, fue que la estructura química (proporción de procianidina:prodelfinidina) de la fracción del TC extractable era variable entre las procedencias de Calliandra, independientemente del sitio de cultivo. Los taninos extractables de la procedencia Patulul-CIAT 22316 comprendían principalmente subunidades de procianidina, mientras que la fracción de tanino en la procedencia San Ramón estaba compuesta en su mayoría de subunidades de prodelfinidina.

Para definir aún más la importancia biológica de la diferencia en la estructura química de los taninos en las procedencias de Calliandra, se llevó a cabo un ensayo con ovejas provistas de cánulas ruminal y duodenal, que fueron alojadas en jaulas metabólicas y alimentadas con forraje de esta leguminosa secado al sol y cosechado en sitios con fertilidad de suelo contrastante. Se asignaron seis ovejas de pelo tipo africano a cada uno de los cuatro tratamientos: T1: procedencia San Ramón cultivada en Quilichao con suelos infértiles, T2: procedencia Patulul cultivada en Quilichao, T3: procedencia San Ramón cultivado en Palmira con suelos fértiles, y T4: procedencia Patulul cultivada en Palmira, dispuestos en un diseño reversible simple no-balanceado.

Los resultados mostraron que el consumo y la digestibilidad de la MS de Calliandra fueron más altos ($P < 0.05$) con la procedencia San Ramón que con la procedencia Patulul. El consumo también fue más alto ($P < 0.05$) con las procedencias cosechadas en el sitio con suelo fértil que en el sitio con suelos ácidos. Los valores absolutos y relativos del N ruminal sobrepasante en ovejas fueron mayores ($P < 0.05$) con la procedencia San Ramón que con la procedencia Patulul, lo que es consistente con los resultados de laboratorio sobre la astringencia de taninos. Así, por primera vez se tiene evidencia que la estructura química de los TC en leguminosas tropicales puede tener un efecto en la utilización de N por los rumiantes.

Estos resultados concuerdan con los observadas en trabajos con leguminosas de zonas templadas. En un trabajo previo con *Lotus* spp. se había encontrado que la reactividad de los TC aumentaba con el aumento en la relación del finidina:cianidina (Jones *et al.*, 1976). Los resultados posteriores mostraron que los TC en *L. pedunculatus* fueron más eficientes para reducir la degradación *in vitro* del Rubisco por los microbios del rumen que los TC de *L. Corniculatus*, lo cual fue relacionado con las diferencias en la composición del monómero de los TC en las dos especies de leguminosas (McNabb *et al.*, 1997). De esta manera, la importancia biológica de las diferencias en la composición del monómero y el peso molecular de los TC en leguminosas forrajeras que son afectadas por la especie y los factores del medio ambiente, puede estar relacionada con la forma como los taninos interactúan con las proteínas, y si este fuera el caso, existiría un impacto significativo en la utilización de N por los rumiantes.

DESAFÍOS FUTUROS PARA LA INVESTIGACIÓN

El valor de las especies forrajeras para el productor ganadero depende, en gran parte, de su capacidad para elaborar productos animales lo que, a su vez, está relacionado con la cantidad y calidad del forraje en oferta. En las regiones tropicales la ganancia de peso vivo animal y la producción de leche pueden disminuir significativamente por el uso de pasturas basadas solamente en gramíneas (Toledo, 1985). Las pasturas de solo gramíneas establecidas en áreas con suelos ácidos de baja fertilidad natural se degradan con el tiempo, si no se aplican fertilizantes o si se usan especies susceptibles a limitaciones bióticas. Este proceso de degradación se refleja parcialmente en la pérdida de la productividad de la gramínea y en la invasión de malezas, lo que afecta la capacidad de carga y el desempeño de los animales.

El uso de leguminosas es una alternativa posible para minimizar en el corto y largo plazo la degradación de la calidad y la cantidad de biomasa en la pastura y, así, aumentar la producción del ganado (Lascano y Estrada, 1989; Lascano y Avila, 1991). Lo anterior es debido a que la mayoría de las leguminosas tropicales tiene un valor nutritivo superior al de las gramíneas y a través de la fijación simbiótica de nitrógeno que realizan pueden mejorar la producción y la calidad de la gramínea acompañante, a la vez que mejoran la fertilidad del suelo. Sin embargo, la incorporación de leguminosas en los sistemas ganaderos en las áreas marginales es un proceso lento debido, en parte, al hecho de que algunas especies disponibles bien adaptadas a suelos ácidos de baja fertilidad (por ej., *D. ovalifolium*; *C. calothyrsus*; *Flemingia macrophylla*) aparentemente tienen baja utilidad debido a las altas concentraciones de TC. Por esta

razón, es necesario investigar en alternativas para mejorar el valor forrajero de las leguminosas adaptadas a los suelos ácidos, mediante la selección de genotipos con menos TC y/o a través de la manipulación de los factores del medio ambiente como la fertilidad del suelo.

LITERATURA CITADA

- Anuraga, M., Duarsa, P., Hill, M.J. y Lovett, J.V. 1993. Soil moisture and temperature affect condensed tannin concentration and growth in *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus*. *Aust. J. Agric. Res.* **44**: 1667-1681.
- Argel, P.J. y Maass, B.L. 1995. Evaluación y adaptación de leguminosas arbustivas en suelos ácidos e infértiles de América tropical. En: Evans, D.O. y Szott Lawrence, T. (eds.). *Nitrogen fixing trees for acid soils*. Turrialba, Costa Rica. NFTA y CATIE. p. 215-236.
- Armstrong, C.S. 1974. Grasslands Maku' tetraploid lotus (*Lotus pedunculatus* Cav.). *New Zealand J. Exp. Agric.* **2**: 333-336.
- Barahona, R., Lascano, C.E., Cochran, R., Morrill, J. y Titgemeyer, E.C. 1997. Intake, digestion, and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. *J. Anim. Sci.* **75**: 633-1640.
- Barry, T.N. y Duncan, S.J. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. I. Voluntary intake. *British J. Nutr.* **51**: 485-491.
- Barry, T.N. y Forss, D.A. 1983. The condensed tannin content of vegetative *Lotus pedunculatus*, its regulation by fertilizer application and effects on protein solubility. *J. Sci. Food Agric.* **34**: 1047-1056.
- Barry, T.N. y Manley, T.R. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British J. Nutr.* **51**: 493-504.
- Buxton, D.R. y Casler, M.D. 1993. Environmental and genetic effects on cell-wall composition and digestibility. En: Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D. y Ralph, J. (eds). *Forage cell wall structure and digestibility*. Madison, WI: ASA, CSSA & SSSA. p. 685-714.
- Buxton, D.R. y Fales, S.L. 1994. Plant environment and quality. En: Fahay, G.C. Jr., Collins, M., Mertens, D.R. y Moser, L.E. (eds). *Forage quality, evaluation and utilization*. Lincoln, NE: ASA, CSSA & SSSA. p. 155-199.
- Carter, E.B., Theodorou, M.K. y Morris, P. 1999. Responses of *Lotus corniculatus* to environmental changes. 2. Effect of elevated CO₂, temperature and drought on tissue digestion in relation to condensed tannin and carbohydrate accumulation. *J. Sci. Food Agric.* **79**:1431-1440.
- Chiquette, J., Cheng, K.J., Rode, L.M. y Milligan, L. P. 1989. Effect of tannin content in two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) on feed digestibility and rumen fluid composition in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* **69**: 1031-1039.
- Donnelly, E.D. 1959. The effect of season, plant maturity and height on the tannin content of *Sericea lespedeza*, *L. cuneata*. *Agron. J.* **51**: 71-73.
- Donnelly, E.D. 1981. Registration of AU LOTAN *Sericea lespedeza*. *Crop Sci.* **21**: 474.
- Donnelly, E.D. y Anthony, W.B. 1970. Effect of genotype and tannin on dry matter digestibility in *Sericea lespedeza*. *Crop Sci.* **10**: 200-202.
- Donnelly, E.D. y Anthony, W.B. 1983. Breeding low-tannin sericea. III. Variation in forage quality factors among lines. *Crop Sci.* **23**:982-984.
- Fahey, Jr. G.C. y Jung, H.G. 1989. Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. En: Ehelke P.R. (ed.). *Toxicants of plant origin*, vol. IV. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Fales, S.L. 1984. Influence of temperature on chemical composition and *in vitro* dry matter disappearance of normal- and low-tannin *Sericea lespedeza*. *Can. J. Plant Sci.* **64**: 637-642.
- Foo, L.Y. y Porter, L.J. 1980. The phytochemistry of proanthocyanidin polymers. *Phytochemistry* **19**: 1747-1754.
- Foo, L.Y., Jones, W.T., Porter, L.J. y Williams, V.M. 1982. Proanthocyanidin polymers of fodder legumes. *Phytochemistry* **21**: 933-935.
- Gutek, L.N., Goplen, B.P., Howarth, R.E. y Mcarthur, J.M. 1974. Variation of soluble proteins in alfalfa, sainfoin and birdsfoot trefoil. *Crop Sci.* **14**: 495-499.
- Houston, M. 1993. Biological diversity, soils and economics. *Science* **262**: 676-1680.

- Izham, A., Eng, P.K., y Ajit, S.S. 1982. Grazing assessment of *Leucaena* grown with *Brachiaria decumbens* and native pastures. *MARDI (Malaysian Agricultural Research and Development Institute) Research Bulletin* **10**: 409-417.
- Jackson, F.S., Barry, T.N., Lascano, C.E. y Palmer, B. 1996. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. *J. Sci. Food Agric.* **71**: 103-110.
- John, A. y Lancashire, J.A. 1981. Aspects of the feeding and nutritive value of *Lotus* species. *Proc. New Zeal. Soci. Animal Prod.* **45**: 125-127.
- Jones, W.T. y Mangan, J.L. 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis vicifolia* Scop.) with fraction/leaf protein and with submaxillary mucroprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food and Agric.* **28**: 126-136.
- Jones, W.T., Broadhurst, R.B y Lyttleton, J.W. 1976. The condensed tannin of pasture legume species. *Phytochemistry* **15**: 1407-1409.
- Lascano, C.E. y Avila, P. 1993. Milk yield of cows with different genetic potential on grass-legume tropical pastures. En: *Proceedings of the XVII International Grassland Congress*, New Zealand and Australia. p. 2006-2007.
- Lascano, C.E. y Estrada, J. (1989) Long-term productivity of legume-based and pure grass pastures in the Eastern Plains of Colombia. En: *Proceedings of the XVI International Grassland Congress*, pp. 1177-1178. Nice, France.
- Lascano, C.E. y Salinas, J.G. 1982. Efecto de la fertilidad del suelo en la calidad de *Desmodium ovalifolium*. *Pasturas Tropicales-Boletín Informativo* **7**: 4-5.
- Lascano, C.E., Maass, B.L. y Keller-Grein, G. 1995. Forage quality of shrub legumes evaluated in acid soils. En: Evans, D.O. y Szott Lawrence, T. (eds.). *Nitrogen fixing trees for acid soils*. Turrialba, Costa Rica. NFTA y CATIE. p. 228-236..
- Lees, G.L., Gruber, M.Y. y Suttill, N.H. 1995. Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development. *Can. J. Botany* **73**: 1540-1547.
- Lees, G.L., Hinks, C.F., y Suttill, N.H. 1994. Effect of temperature on condensed tannin accumulation in leaf tissues of big trefoil (*Lotus uliginosus* Schkuhr). *J. Sci. Food Agric.* **65**: 415-421.
- Lowther, W.L. 1980. Establishment and growth of clovers and lotus on acid soils. *New Zeal. J. Exp. Agric.* **8**: 131-138.
- Lowther, W.L., Manley, T.R., y Barry, T.N. 1987. Condensed tannin concentrations in *Lotus corniculatus* and *L. pedunculatus* cultivars grown under low soil fertility conditions. *New Zeal. Agric. Res.* **30**: 23-25.
- Mcnabb, W.C., Aerts, R.J., Brand, A., Peters, J.S., Foo, Y.L. y Waghorn, G.C. 1997. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus* on digestion of rubisco in the rumen. En: *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress*. Winnipeg, Manitoba y Saskatoon, Canada. Section 8. p. 8-9.
- Muller-Harvey, I. y Mcallan, A.B. 1992. Tannins, their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechn.* **1**: 151-217.
- Pérez, R.A. 1997. Adaptación, comportamiento agronómico y potencial de *Desmodium ovalifolium* en la Orinoquía Colombiana. En: Schmidt, A. y Schultze-Kraft, R. (eds.). *Desmodium ovalifolium – La conocemos? Memorias del Primer Taller de Trabajo del Proyecto: La interacción genotipo con el medio ambiente en una colección seleccionada de la leguminosa forrajera tropical* *Desmodium ovalifolium*. 19 de marzo de 1996. Documento de trabajo no. 171, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. p. 35-42.
- Ross, M.D. y Jones, W.T. 1974. Bloat in cattle, XL. variation in flavanol content in *Lotus*. *New Zeal. J. Agric. Res.* **17**: 191-195.
- Salinas, J.G. y Lascano, C.E. 1983. La fertilización con S mejora la calidad de *Desmodium ovalifolium*. *Pasturas Tropicales-Boletín Informativo* **5**: 1-6.
- Saucedo, G., Alvarez, J. F., Jimenez, N. y Arriaga, A. 1980. *Leucaena leucocephala* como suplemento para la producción de leche en pastos tropicales con ganado doble propósito. *Prod. Anim. Trop.* **5**: 40-44.
- Schmidt, A., Lascano, C.E., Maas, B.L. y Schultze-Kraft, R. 1997. An approach to define G × E interaction in a core collection of *Desmodium ovalifolium*. En: *Proceedings of the XVIII International Grassland Congress*. Winnipeg and Saskatoon, Canada. p. 1-60.

- Schultze-Kraft, R. y Benavides, G. 1988. Germplasm collection and preliminary evaluation of *Desmodium ovalifolium* Wall. *CSIRO Division of Tropical Crops and Pastures Genetic Resources Communications* **12**: 1-20.
- Scott, D. y Charlton, J.F.L. 1983. Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) as a potential dryland herbage legume in New Zealand. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* **44**: 98-105.
- Scott, R.S. y Mills, E.C. 1981. Establishment and management of Grasslands Maku lotus in acid-low fertility tussock grasslands. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* **42**: 131-141.
- Suárez, S., Rubro, J., Franco, C., Vera, R., Pizarro, E.A. y Amézquita, M.C. 1987. *Leucaena leucocephala*: Producción y composición de la leche y selección de ecotipos con animales en pastoreo. *Pasturas Tropicales* **9**: 11-17.
- Terrill, H.T., Windham, W.R., Hoveland, C.S. y Amos, H.E. 1989. Forage preservation method influences on tannin concentration, intake and digestibility of *Sericea lespedeza* by sheep. *Agron. J.* **81**: 435-439.
- Toledo, J.M. 1985. Pasture development for cattle production in the major ecosystems of the American lowlands. En: *Proceedings of the XV International Grassland Congress*. Kyoto, Japan. p. 74-78.
- Vargas, A., Romero, F., Borel, R. y Benavides, J. 1988. Evaluación del forraje de poro (*Erythrina poeppigiana*) como suplemento protéico para toretos en pastoreo. CATIE; Turrialba, Costa Rica. *Agroforesteria no. 2*.
- Waghorn, G.C., John, A., Jones, W.T. y Shelton, I.D. 1987. Nutritive value of *Lotus corniculatus* L. containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* **47**: 25-30.
- Waghorn, G.C., Shelton, I.D., McNabb, W.C., y Cutcheon, S.N. 1994. The effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *J. Agric. Sci.* **123**: 109-119.
- Williams, V.M., Porter, L.J. y Hemingway, R.W. 1983. Molecular weight profiles of proanthocyanidins polymers. *Phytochemistry* **22**: 569-572.
- Wilson, C.M. 1955. The effect of soil treatments on the tannin content of *Lepedeza sericea*. *Agron. J.* **47**: 83-86.
- Wilson, J.R. 1982. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. En: Hacker, J.B. (ed.). *Nutritional limits to animal production from pastures*. Farnham, UK, CAB. p.111-131.

Degradabilidad ruminal *in situ* del follaje de arbustivas tropicales y su potencial como fuente de proteína no degradable en rumen

Luis Alfonso Giraldo Valderrama¹, Wilyer de Jesús García Arboleda² y Juan Carlos López Mesa.²

¹ Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, conisilvo@epm.net.co

² Estudiantes de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, wdgarcia@unalmed.edu.co y jclopez5@unalmed.edu.co

INTRODUCCIÓN

La proteína no degradable en rumen (PNDR) es aquella que escapa a la degradación por la microbiota ruminal, siendo considerada una parte de la proteína de mucho peso para las vacas, cuando se trata de producir leche en altas cantidades y de buena calidad, puesto que su digestibilidad puede estar entre 55 y 75% dependiendo del tipo de forraje, aportando aminoácidos que llegan al intestino delgado y pueden ser absorbidos como tales (Carro, 2001).

La PNDR puede ser incrementada mediante la suplementación con forrajes de leguminosas arbóreas (Leng, 1997). Por otro lado, la PNDR depende del tipo de forraje, de la tasa de degradación ruminal (K_d) y de la tasa de pasaje de las partículas sólidas por el rumen (K_p), siendo considerados dos aspectos críticos (Volden 1999).

En las zonas lecheras de clima frío de Antioquia se ha evidenciado que la suplementación con el follaje de la leguminosa *Acacia decurrens*, tiene potencial para la suplementación proteica en la producción de leche reemplazando parte del suplemento basado en concentrados, sin afectar la cantidad y la calidad de la leche (Fernández y Zapata, 1999; Agudelo y Restrepo 2001).

Se ha evidenciado en investigaciones anteriores efectuadas en nuestros sistemas de

producción de clima frío con vacas de alta producción, que el forraje de la *A. decurrens* posee taninos, 2% de polifenoles totales (Fernández y Zapata, 1999). Los taninos son polifenoles que interactúan con las proteínas del rumen y la protegen de la degradación microbiana (Tanner *et al.*, 1994; McNabb *et al.*, 1996; Aerts *et al.*, 1999; Salawu *et al.*, 1999).

Sobre estas bases, se planteó como objetivo estimar la PNDR del follaje de varias arbóreas como fuentes de suplementación proteica orientadas a suplementar vacas Holsteín en pastoreo de forraje de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*).

METODOLOGÍA

La salida del rumen de las fracciones indigeribles de los forrajes depende de dos procesos relacionados entre sí: la reducción de tamaño de las partículas y la tasa de pasaje de las partículas pequeñas a través del orificio retículo-omasal. La porción digerible de la pared celular puede desaparecer del rumen por digestión (K_d) y pasaje (K_p) (Ellis *et al.*, 1982).

Para estimar la tasa de pasaje (K_p) de un forraje por el tracto digestivo del rumiante, se utilizan los marcadores de partículas, uno de los más utilizados es el cromo, el cual forma enlaces coordinados muy estables con agua y

materiales orgánicos, lo que es ventajoso en la preparación de la fibra mordantada (Udén *et al.*, 1980), la cual es utilizada como vehículo para el cromo. Con este procedimiento de laboratorio se mordantó fibra de pasto kikuyo, lo cual representó 1.5 mg de Cr/kg de peso vivo (PV), suministrando una dosis de 30 g de fibra mordantada/animal/día para animales de 250 kg de PV. La cuantificación posterior de la concentración de Cr en las heces se efectuó con espectrofotómetro en heces recolectadas en el siguiente horario: 4, 8, 16, 24, 40, 48, 64, 88, 96, 120 y 136 horas, datos que fueron ajustados a un modelo bi-exponencial propuesto por Matis y Ellis (1972). Esta técnica se ha empleado para estimar la K_p en distintas razas de ganado bovino y con diferentes calidades de forraje.

Para estimar la tasa de digestión (K_d) se utiliza la técnica de la bolsa de nylon descrita por Orskov y McDonald (1979), utilizando procedimientos estandarizados y probados por el laboratorio BIORUM, de la Universidad Nacional Sede Medellín (BIORUM, 2003).

RESULTADOS

No hubo diferencias entre las razas BON y Holstein en la velocidad de paso del pasto kikuyo, estas velocidades son bastante rápidas, en parte debido al bajo contenido de pared celular [51.5% fibra en detergente neutro (FDN)] y alto contenido de humedad.

Cuadro 1. Promedio de la velocidad de paso (% /hora) para el pasto kikuyo en dos razas bovinas.

Raza de bovino	Velocidad de paso	n
BON	6.925 a	6
Holstein	6.525 a	4

Promedio con igual letra no difieren ($P < 0.05$)

La tasa de degradación de los alimentos en el rumen está influenciada por diversos factores que involucran relación forraje:concentrado, consumo de materia seca y el contenido de FDN entre otros. En el Cuadro 2 se muestran los parámetros de la cinética de la degradación ruminal del pasto kikuyo y del follaje de acacia, mostrando variaciones importantes entre los parámetros, debido posiblemente a características físico químicas intrínsecas de cada forraje.

La proteína soluble y la potencialmente degradable es mayor en el pasto kikuyo que en la acacia. La velocidad de degradación de la proteína en rumen es mayor en el kikuyo que en la acacia, lo cual le permite a esta última hacer aportes más prolongados. Por otro lado, los aportes de PNDR son mayores en la acacia debido posiblemente a que los taninos pueden proteger a las proteínas vegetales de su degradación en rumen (Aerts *et al.*, 1999; Salawu *et al.*, 1999).

Cuadro 2. Estadísticas descriptivas de parámetros de la cinética de la degradación ruminal de la MS del pasto kikuyo en dos razas bovinas.

Parámetro		Kikuyo	Acacia
A ¹	Prom.	23.70±0.85	8.52±1.14
	C.V.	3.59	13.45
B ²	Prom.	54.69±4.07	30.73±2.40
	C.V.	7.45	7.80
C ³	Prom.	0.036±0.0042	0.022±0.0066
	C.V.	11.40	29.39
TM ⁴	Prom.	19.01±2.12	32.66±9.39
	C.V.	11.19	28.74
DE ⁵	Prom.	53.75±1.80	21.42±0.61 ⁷
	C.V.	3.35	2.87
PNDR ⁶	Prom.	28.15±1.80	40.57±0.61
	C.V.	3.89	0.78

1. A = Solubilidad inicial (%). 2. B = Porcentaje máximo de degradación (%). 3. C = Tasa de degradación (%/h). 4. TM = Tiempo medio de degradación (h). 5. DE = Degradabilidad efectiva (%). 6. PNDR = Proteína no degradable en rumen (%). 7. Fenoles totales 0.43; Fenoles libres 0.18; Taninos 0.21 como % de la MS; n=3; Adaptado de Agudelo y Restrepo (2001).

Cuadro 3. Parámetros de la cinética ruminal de la proteína cruda. Fracción soluble (*a*), fracción potencialmente degradable (*b*), tasa de degradación (K_d), tiempo de retraso *-lag time-* (*l*), degradación potencial (*DP*), degradación efectiva (*DE*) y tiempo medio de degradación (*TM*)

Forraje	a (%)	b (%)	K_d (%/h)	l (h)	DP (%)	DE (4%)	PND (%)	DE (5%)	PND (%)	DE (6%)	PND (%)	TM (h)
Arboloco	27.6	61.3	0.052	7.2	88.9	51.4 ²	48.6	49.1 ²	50.9	47.2 ²	52.8	13.3
Botón de oro	27.8	69.8	0.072	4.7	97.5	59.8 ²	40.2	57.2 ²	42.8	54.9 ²	45.1	9.7
Chachafruto	42.5	35.2	0.047	-	77.7	61.5 ¹	38.5	59.5 ¹	40.5	57.9 ¹	42.1	14.8
Confrey	38.4	49.3	0.029	19.6	87.7	50.1 ²	49.9	48.7 ²	51.3	47.5 ²	52.5	23.9
Morera	30.1	69.3	0.056	-	99.4	70.5 ¹	29.5	66.6 ¹	33.4	63.5 ¹	36.5	12.4
San Joaquín	1.9	94.0	0.061	-	95.8	58.5 ¹	41.5	53.4 ¹	46.6	49.2 ¹	50.8	11.4

¹ Ørskov y McDonald (1979), $DE = a + [(b * K_d)/(K_d + K_p)]$.

² Spanguero *et al.* (2003), $DE = a + [(b * K_d)/(K_d + K_p)] * e^{-K_d * l}$.

Adaptado de Cuartas y Naranjo (2004).

Al evaluar otros recursos forrajeros arbustivos como fuentes de proteína no degradable en rumen y que podrían ser utilizados en sistemas de producción de leche de altura, se encuentran grandes variaciones entre especies (Cuadro 3).

En general la degradación ruminal de la proteína de estos follajes resulta en una liberación lenta de nitrógeno amoniacal, favoreciendo la fermentación de las fracciones fibrosas de la ración y además estimulan el crecimiento de la población microbiana (Leng, 1997). Se evidencia el potencial que tienen varios recursos forrajeros de hoja ancha para aportar PNDR, lo cual abre nuevos espacios para indagar y obtener explicaciones a cerca de los componentes de dichas plantas que están afectando la degradación de la PC en rumen como podrían ser los taninos u otros metabolitos secundarios.

Por último, el uso de animales canulados al rumen para estudiar la extensión de la degradación es un procedimiento laborioso, costoso y riesgosos para los operarios e invasivo para los animales. En la Universidad

Nacional Sede Medellín, se ha venido trabajando con la técnica *in situ*, obteniéndose valores confiables, pero es una técnica lenta y con baja capacidad de procesamiento de muestras; por ello se justifica la utilización de procedimientos *in vitro*. Uno de ellos es la Técnica de Producción de Gas (Theodorou *et al.*, 1994) en proceso de desarrollo, estandarización e implementación en nuestro laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Aerts, R., Barry, T. y McNabb, W. 1999. Polyphenols and agriculture: Beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agricultural Ecosystems Environmental* **75**: 1-12.
- Agudelo, M. y Restrepo, C. 2001. Efecto de la utilización de la acacia negra (*A. decurrens*), sobre los niveles de producción y el contenido proteico de la leche en vacas de alto rendimiento. Trabajo de Grado Zootecnia, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- BIORUM 2003. *Manual de Procedimientos. Laboratorio de Biotecnología Ruminal. II Parte Dinámica Digestiva*. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

- Carro, M.D. 2001. La determinación de la síntesis de proteína microbiana en el rumen: Comparación entre marcadores, Una Revisión. *Investigación Agraria Producción y . Sanidad Animales* **16**: 5-27.
- Clark, J. H., Klusmeyer, T. H. y Cameron, M. R. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science* **75**: 2304-2323.
- Cuartas, C. y Naranjo, J. 2004. *Caracterización nutricional de algunos recursos forrajeros para la suplementación de rumiantes en el Trópico alto*. Pasantía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Fernández, J. y Zapata, F. 1999. *Respuesta a la acacia negra (A. decurrens) como suplemento para vacas lecheras en pastoreo*. Trabajo de Grado Zootecnia, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Leng, R. 1997. By pass protein from tree foliages. En: *Tree foliage in ruminant nutrition*. Animal production and health paper 139. FAO, Roma, Italia, pp. 72-86.
- Matis, J.H. y Ellis, W. 1972. Gamma time-dependency in Blaxter's compartment model. *Biometrics* **28**: 597.
- McNabb, W., Waghorn, G., Peters, J. y Barry, T. 1996. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the solubilization and degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (EC 4.1.1.39; Rubisco) protein in the rumen and the sites of rubisco digestion. *British Journal of Nutrition*, **76**: 535-549.
- Ørskov, E. R. y McDonald, I. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (Camb.)* **92**: 499-503.
- Salawu, M., Acamovic, T., Stewart, C., Hvelplund, T. y Weisbjerg, M. 1999. The use of tannin as silage additives; effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. *Animal Feed Science Technology* **79**: 289-300.
- Spanghero, M., Boccalon, S., Gracco, L. y Gruber, L. 2003. NDF degradability of hays measured *in situ* and *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* **104**: 201-208.
- Tanner, G., Moore A. y Larkin, P. 1994. Proanthocyanidins inhibit hydrolysis of leaf proteins by rumen microflora *in vitro*. *British Journal of Nutrition* **71**: 947-958.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., Meallan, A.B. y France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* **48**: 185-197.
- Udén, P., Colucci, P. y Van Soest, P. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal Science Food Agricultural* **31**: 625-632.
- Volden, H. 1999. Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows. *Journal of Animal Science* **77**: 1905-1918.

Cuantificación de taninos condensados e identificación de QTLs asociados a su acumulación en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Gina Viviana Caldas¹, Matthew Blair²

¹ Universidad del valle, Facultad de ciencias, Cali, Colombia

² Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia

INTRODUCCIÓN

Parte del esfuerzo para mejorar la calidad nutricional del fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se ha concentrado en el incremento de la biodisponibilidad de hierro. La biodisponibilidad de micronutrientes se puede ver afectada tanto por promotores, como por factores antinutricionales. Entre los antinutrientes se encuentran los taninos, compuestos fenólicos conocidos por su capacidad de formar complejos con hierro en el lumen gastrointestinal, haciendo el hierro menos biodisponible para su absorción (Brune, 1989) por lo cual una posible alternativa para el mejoramiento en la biodisponibilidad de hierro, es la reducción en el contenido de taninos o su actividad.

Mira y Fernández (2002) realizaron un estudio de la relación estructura-actividad de diferentes tipos de flavonoides para quelación de hierro, encontrando interacción positiva para flavones y el flavanol catechin, siendo el sitio más importante de quelación el grupo catechol. La interacción con iones metálicos ha sido también de interés en el estudio de la actividad antioxidante de los flavonoides. Se encontró que los taninos condensados tienen actividad antioxidante significativa (Beninger y Hosfield, 2003). Los resultados de este y otros estudios, sugieren que, conociendo los genes que controlan la formación de flavonoides y taninos como también el tipo de estructuras y su actividad, es posible a través de mejoramiento seleccionar variedades con un balance positivo entre

actividad antioxidante y efectos antinutricionales. (Beninger y Hosfield, 2003).

La adquisición y acumulación de micronutrientes son rasgos heredables, y dado el efecto de los factores antinutricionales sobre los nutricionales, se hace necesario el estudio de la herencia del contenido de los mismos. En el caso de la acumulación de minerales, el tipo de herencia está influenciado por un conjunto de genes más que estar dominados por un solo gen. Estos rasgos son llamados cuantitativos (o QTLs del inglés “Quantitative Trait Loci”), o sea, loci controladores de características cuantitativas. Los mapas genéticos de marcadores moleculares ofrecen la posibilidad de estudiar este tipo de herencia, es decir, identificar, mapear y medir la magnitud del efecto de los principales factores genéticos involucrados en el control de estas características y, potencialmente, manipular estos factores individualmente durante los procedimientos de selección y recombinación genética (Ferreira, 1998).

OBJETIVO

En este estudio, nuestro objetivo es cuantificar taninos condensados en cinco poblaciones de líneas recombinantes endocriadas (RILs) de fríjol, para realizar análisis de QTLs que permitan determinar los genes envueltos en el contenido de taninos y usar esta información para diseñar una estrategia de reducción de taninos, con el fin

de incrementar la biodisponibilidad de hierro en fríjol.

RESULTADOS

El análisis se basó en cinco poblaciones compuestas de líneas recombinantes endocriadas (RILs) derivadas de cruza simples entre acervos Mesoamericano y Andino y dentro de cada uno de estos acervos (ver Cuadro 1). Estas poblaciones también fueron utilizadas para determinar la herencia de contenido de los minerales hierro y zinc.

En este estudio la testa de cada cultivar fue separada manualmente y posteriormente molida. Esto dado que en fríjol común, como en la mayoría de las leguminosas, los taninos se encuentran principalmente en la testa (Jasman, 1993).

El contenido de taninos condensados solubles e insolubles en testa de fríjol fue estimado usando una modificación del método propuesto por Terrill (1992) y reportado por Barahona (1999), donde muestras por triplicado de 10 mg de testa de cada accesión son extraídas con una mezcla de acetona/ agua/dietileter. La absorbancia debido a la formación de antocianidinas fue estimada mediante modificaciones del método Butanol-

HCl de Porter (1986), también reportado por Barahona (1999). La concentración de taninos condensados en los RILs fue determinada a partir de curvas de calibración realizadas con taninos purificados de la testa de los padres para cada una de las poblaciones. Los datos obtenidos para porcentaje de taninos solubles, insolubles y totales en cada una de las poblaciones se muestran en el Cuadro 2.

En el Cuadro 3 se pueden observar las diferencias en la distribución de taninos condensados totales en las cinco poblaciones estudiadas. Para la población de la cruza DOR364 X G19833 el promedio fue de 29.2%, para G21242 X G21078 21.5%, G14519 X G4825 18.7%, G19839 X G2333 18.7% y BAT93 X JALO EEP 558 11.1%. La mayor amplitud en distribución se puede observar en la cruza G21242 X G21078 con un rango de 5-40% y la mas baja para la cruza G14519 X G4825 con un rango de 10-25%. La variabilidad mas alta fue para la población BAT93 X JALO EEP y la menor variabilidad la presento G14519 X G4825. El contenido de taninos solubles no presentó correlación significativa con el contenido de taninos insolubles en ninguna de las poblaciones estudiadas.

Cuadro 1. Acervo y color de testa para parentales de cinco poblaciones de Fríjol Común (*P. vulgaris*) evaluadas para contenido de taninos condensados.

		Acervo	
Mesoamericano		Andino	
DOR364	Rojo	G19833	Amarillo, rojo
G14519	Café	G21242	Crema, morado
G4825	Crema	G21078	Crema
G2333	Rojo	G19839	Amarillo, negro
BAT93	Crema	JALO EEP558	Crema

Cuadro 2. Frecuencias poblacionales para porcentaje de taninos en 10 mg de testa en cinco poblaciones de fríjol común (*P. vulgaris*).

Tanninos (%)	Frecuencia relativa				
	DOR364 X	G21242 X	G14519 X	G19839 X	BAT93 X
totales	G19833	G21078	G4825	G2333	JALO EEP558
0-5				0.0116	0.3014
5-10		0.0108			0.2055
10-15		0.0538	0.0708	0.0930	0.1233
15-20	0.0337	0.4086	0.6460	0.5581	0.2055
20-25	0.1798	0.2796	0.2832	0.3023	0.1507
25-30	0.3483	0.1720		0.0116	0.0137
30-35	0.2472	0.0645		0.0233	
35-40	0.1573	0.0108			
40-45	0.0337				
solubles					
0-5				0.0116	0.3973
5-10		0.0215	0.0088	0.0465	0.2192
10-15	0.0112	0.2796	0.3540	0.3140	0.1507
15-20	0.1124	0.4301	0.5841	0.5349	0.1370
20-25	0.3258	0.1505	0.0531	0.0698	0.0822
25-30	0.2921	0.1075		0.0233	0.0137
30-35	0.2247	0.0000			
35-40	0.0225	0.0108			
40-45	0.0112				
insolubles					
0-1				0.0116	0.1918
1-2	0.2472	0.0215	0.0088	0.0465	0.3014
2-3	0.3933	0.2366	0.4602	0.4535	0.2055
3-4	0.2135	0.4624	0.4956	0.3837	0.2055
4-5	0.0899	0.2473	0.0354	0.1047	0.0548
5-6	0.0337	0.0323			0.0137
6-7	0.0112				0.0137
7-8	0.0112				0.0137
Individuos	89	93	113	86	74

Cuadro 3. Promedio, desviación estándar, varianza y coeficientes de variación para el contenido de taninos condensados totales en poblaciones de fríjol común (*P. vulgaris*).

	DOR364 X	G21242 X	G14519 X	G19839 X	BAT93 X
	G19833	G21078	G4825	G2333	JALO EEP558
N	89	93	113	86	74
Promedio	29.16	21.53	20.23	18.73	11.13
SD	5.78	5.44	2.46	4.35	7.7
Varianza	33.36	29.57	6.05	18.89	59.34

CONCLUSIONES Y PLANES FUTUROS

Se logró identificar variabilidad genética para contenido de taninos en poblaciones segregantes de frijol común y determinar el porcentaje de taninos condensados solubles e insolubles.

Los siguientes pasos serán: (i) realizar los análisis estadísticos adecuados para encontrar la variabilidad entre accesiones y diferencias entre poblaciones, (ii) determinar el tipo de herencia de los caracteres y (iii) realizar análisis de QTLs buscando asociaciones entre marcadores y acumulación de taninos condensados, por medio del programa Q-Gene (Nelson, 1997), y con el programa QTL Cartographer (Basten, 2001). Los resultados serán comparados con los de Guzmán-Maldonado (2003) quienes identificaron cuatro QTLs asociados con contenido de taninos en frijol común en una población derivada de un cruce entre frijol silvestre y frijol cultivado, encontrando una correlación negativa entre masa de semilla y contenido de taninos, sugiriendo entonces el análisis en testa de frijol y no en grano entero.

LITERATURA CITADA

- Barahona, R. 1999. *Condensed tannins in tropical forage legumes*. Tesis de doctorado, Departamento de Agricultura, Kansas State University, 353 pp.
- Basten, C.J, Weir, B.S y Zeng, B. 2001. Windows QTL Cartographer v1.21.
- Beninger, C. y Hosfield, G. 2003. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed coat color genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7879-7883.
- Brune, M., Rossander, I. y Hallberg, L. 1989. Iron absorption and phenolic compounds: importante of different phenolic structures. *European Journal of clinical nutrition* **43**: 543-558.
- Ferreira, M. y Grattapaglia, D. 1998. *Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético*. EMBRAPA, Brasilia, Brasil.
- Guzman-Maldonado, H., Martinez, O., Acosta, J., Guevara, F. y Paredes, O. 2003. Putative quantitative trait loci for physical and chemical components of common bean. *Crop Science* **37**: 51-60.
- Jansman, A.J.M. 1993. Tannins in feedstuffs for simplestomached animals. *Nutrition Research Reviews* **6**: 209-236.
- Mira, L., Fernandez, T., Santos, M., Rocha, R., Florencio, H. y Jennings, K. 2002. Interaction of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radical Research* **36**, 11:1199-1208.
- Nelson, C. 1997. *Q-Gene. Macintosh software for DNA-Marker-Based genetic Analysis*. Department of Plant Breeding and Biometry, Cornell University, Ithaca Academy, USA.
- Porter, L.J., Hrstich, L.N y Chan, B.G. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*. **25**:223-230.
- Terrill, T.H., Rowan, A.M., Douglas, G.B. y Barry, T.N. 1992 Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **58**: 321-329.

Contenido de taninos de especies arbóreas nativas e introducidas con potencial forrajero en el Piedemonte Amazónico Colombiano

Matilde Cipagauta H¹ y Jaime E. Velásquez R²

¹Corpoica, C.I.Macagual, Km 20 vía Morelia, Florencia, Caquetá, Colombia

² Universidad de la Amazonia, Facultad de Ciencias Básicas, Florencia Caquetá, Colombia,

jaimevere@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En el proceso de búsqueda de fuentes forrajeras para suplementar a los animales en pastoreo, en el piedemonte amazónico se han evaluado algunas especies de leguminosas arbóreas y arbustivas. Algunas de estas especies como *Gliricidia sepium* (matarratón), *Erythrina fusca* (cachimbo), *Codariocalyx gyroides* (cora-cora), *Cratylia argentea*, *Clitoria fairchildiana* (Bohío), *Gmelina arborea* (gemelina) y *Flemingia macrophylla* (Flemingia), se han adaptado a las condiciones climáticas y edáficas de la región. Existen otras especies arbóreas nativas entre las cuales se tiene *Trichantera gigantea* (nacedero) y *Bauhinia tarapotensis* (patevaca o casco de vaca), que presentan un potencial como forrajeras.

El objetivo del presente documento, es presentar los resultados de investigación sobre el potencial de uso de especies, herebáceas, arbóreas y arbustivas, nativas e introducidas, con potencial forrajero para uso en sistemas de producción bovina en el piedemonte amazónico colombiano. Los resultados incluyen aspectos de la calidad nutritiva, factores considerados como antinutricionales con énfasis en taninos, producción y productividad animal de las especies evaluadas.

RESULTADOS

Calidad y producción de especies nativas

En un estudio realizado en siete fincas del Caquetá, con la ayuda de productores, se indagó sobre observaciones de especies consumidas por el ganado bovino en áreas de rastrojos y bosques, con el objetivo de determinar su potencial forrajero. Se tomaron muestras de partes de las especies para su clasificación taxonómica en el Herbario Nacional Colombiano o mediante información secundaria, y para análisis de calidad en el laboratorio. Igualmente, se realizaron evaluaciones *in situ* para determinar el potencial de producción de materia seca, mediante cortes cada 60 días durante un año.

De las 40 especies recolectadas, en el Cuadro 1 se presentan los resultados de calidad de 35 de ellas. En general, entre especies la proteína cruda (PC) varió entre 8.8 y 35.7%; la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) entre 16.9 y 83.1% y los taninos condensados entre 1.2 y 29.3%. El coeficiente de correlación entre los contenidos de taninos condensados y la DIVMS fue de 0.06 y con la PC de 0.60. Entre la DIVMS y la PC, el coeficiente de correlación fue de -0.15.

Cuadro 1. Calidad nutritiva de especies herbáceas, arbustivas y arbóreas nativas con potencial forrajero en el Piedemonte Amazónico Colombiano.

Nombre común	Nombre científico	Tipo	PC (%)	DIVMS (%)	TC (%)	P (%)	Ca (%)
Bambú	<i>Bambusa sp.</i>	herbáceo	12.09	68.22	3.5	0.09	0.43
Clavellina	<i>Brownea ariza Benth</i>	herbáceo	9.66	66.21	10.69	0.11	0.549
Vijao	<i>Calathea lutea (Aubl.) Meyer</i>	herbáceo	24.2	64.62	12.26	0.16	0.284
Platanillo	<i>Heliconia rostrata Ruiz & Pavón</i>	herbáceo	21.54	60.75	17.8	0.14	0.571
Carrasposo	<i>Clibadium surinamense</i>	arbusto	22.77	63.56	1.77	0.158	0.66
Cordoncillo	<i>Piper sp.</i>	arbusto	12.76	56.39	8.7	0.007	0.88
Golgota	<i>Hibiscus rosasinensis</i>	arbusto	11.95	53.57	7.01	0.084	0.69
Venturosa	<i>Lantana trifolis L. s.l.</i>	arbusto	16.57	52.01	1.37	0.14	0.997
Lulo	<i>Solanum rugosum Dunal</i>	arbusto	22.03	42.05	14.62	0.18	0.608
Hymenea	<i>Senna sp.</i>	arbusto	23.06	29.03	20.67	0.15	0.952
Oreja de mico	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	árbol	13.21	83.1	13.57	0.586	0.25
Cuchiyuyo	<i>Trichanthera gigantea</i>	árbol	16.03	80.77	1.96	0.143	3.09
Totumo	<i>Crecentia cujete</i>	árbol	10.65	80.46	7.02	0.004	0.43
Bilibil	<i>Guarea trichinoides</i>	árbol	12.41	71.78	4.62	0.275	0.74
Yarumo	<i>Cecropia membranacea Tr.</i>	árbol	30.63	53.86	29.39	0.24	1.517
Anon	<i>Rollinia cf. Mucosa Baill.</i>	árbol	35.74	49.99	14.19	0.31	0.617
Ficus	<i>Micropholis venulosa (Mart. & Eichl) Pierre</i>	árbol	21.93	48.36	12	0.11	3.129
Patevaca	<i>Bahuinia tarapotensis Benth.</i>	árbol	21.68	47.9	7.06	0.125	1.222
Nacedero 2	<i>Cornutia microcalycina</i>	árbol	15.49	46.02	1.06	0.229	0.86
Chirimoya	<i>Widelia trilobata (L.) Hitch</i>	árbol	12.75	33.2	10.69	0.17	0.853
Balso	<i>Heliocarpus popayanensis</i>	árbol	20.43	29.89	9.89	0.619	0.59
Carbon	<i>Zygia longifolia (Phitecellobium longifolium)</i>	árbol	14.12	17.38	2.11	0.138	0.68
Bejuco	Sin Id. *	herbáceo	12.58	22.36	1.59	0.139	0.64
Maleza #1	Sin Id.	herbáceo	18.69	16.98	3.83	0.105	0.33
Moracea	Sin Id.	herbáceo	14.56	-	3.81	0.27	1.36
Cañaguata	Sin Id.	arbusto	11.86	80.5	1.09	0.139	0.65
Zurumbo	Sin Id.	arbusto	18.31	71.98	4.68	0.164	1.14
Urticaceal	Sin Id.	arbusto	15.97	69.44	1.81	0.311	3.59
Celastracea	Sin Id.	arbusto	12.89	62.68	1.4	0.16	1.3
Aristolochia	Sin Id.	arbusto	17.19	55.89	1.86	0.294	0.67
Verbenacea	Sin Id.	arbusto	11.42	42.79	1.21	0.145	1.34
Cesalpinaceae	Sin Id.	árbol	20.44	59.94	2.62	0.19	0.82
Carrecillo	Sin Id.	árbol	8.85	57.53	1.22	0.131	0.14
Mimosacea	Sin Id.	árbol	10.32	46.72	3.22	0.087	0.65
Maleza #2	Sin Id.	árbol	13.75	45.28	2.45	0.38	0.66

* Sin Id. = Sin identificar taxonómicamente.

El promedio de producción de materia seca de seis cortes presentó una variación entre 2 y 120 g/planta, dependiendo de la especie. Este amplio rango se debe a factores como tipo de

crecimiento, edad y especie de las plantas evaluadas. Además, la frecuencia de cortes pudo haber limitado la producción de forraje, particularmente de árboles y arbustos, que

podrían requerir un periodo de recuperación mayor a 60 días.

Las observaciones de consumo de algunas de las especies como lulo y guamos, indicadas por los productores, entre otras, pudo deberse a la casualidad y no necesariamente a que tengan un potencial como forrajeras. En un estudio tipo cafetería, sin publicar, realizado en el Centro de Investigaciones Macagual en dos parcelas con muchas de las especies mencionadas, varias de estas no fueron consumidas por el ganado.

Evaluaciones de degradabilidad

En el C.I. Macagual, se evaluó el potencial de degradación *in sacco* de siete especies forrajeras. Por triplicado y dentro del rumen de cada uno de cuatro novillos fistulados, se incubaron 5 g de hojas tiernas y maduras, secadas en estufa a 50° C por 48 h, de bohío (*Clitoria fairchildiana*), cachimbo (*Erythrina fusca*), cratilia (*Cratylia argentea*), flemingia (*Flemingia macrophylla*), melina (*Gmelina arborea*), nacedero (*Trichanthera gigantea*) y patevaca

(*Bahuinia tarapotensis*), durante 0, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Hubo una interacción altamente significativa ($P < 0.01$) entre especies, edad de las hojas y tiempo de incubación. Los resultados de el Cuadro 2 indican que los mayores porcentajes de degradabilidad se obtuvieron con nacedero y melina, en tanto que los menores fueron para flemingia, patevaca y bohío. En general, la degradabilidad *in sacco* aumentó con el tiempo de incubación tanto para hojas tiernas como maduras. Para el bohío, flemingia, nacedero y patevaca, la degradabilidad de las hojas tiernas y maduras fue similar, dentro de especie, y aumentaron en todos los tiempos de incubación, mientras que en cachimbo y cratilia la degradabilidad de las hojas tiernas aumentó entre 0 y 10 unidades porcentuales con relación a las hojas maduras, a medida que aumentaba el tiempo de incubación, hasta las 72 h. En la melina, este mismo incremento en la diferencia se presentó pero para las hojas maduras con relación a las tiernas, hasta las 48 h de incubación.

Cuadro 2. Porcentaje de degradabilidad *in sacco* de siete especies forrajeras arbóreas incubadas a diferentes tiempos en novillos bajo pastoreo de *Brachiaria decumbens*.

Especie	Hojas	Tiempo de incubación (h)					
		0	6	12	24	48	72
Bohío (<i>Clitoria fairchildiana</i>)	Tiernas	17.9	19.4	20.7	21.9	23.7	26.8
	Maduras	19.6	19.7	20.6	21.1	22.5	25.6
Cachimbo (<i>Erythrina fusca</i>)	Tiernas	17.1	26.8	29.4	37.1	42.5	46.3
	Maduras	17.6	21.2	23.8	27.1	31.1	36.1
Cratilia (<i>Cratylia argentea</i>)	Tiernas	24.1	28.6	30.3	32.3	37.9	43.4
	Maduras	21.0	24.3	25.2	25.5	28.6	33.6
Flemingia (<i>Flemingia macrophylla</i>)	Tiernas	17.4	21.0	22.8	23.9	26.5	30.4
	Maduras	17.6	21.8	23.4	25.1	26.8	30.9
Gemelina (<i>Gmelina arborea</i>)	Tiernas	37.8	40.6	42.9	45.1	57.7	73.4
	Maduras	37.9	42.8	45.0	51.2	66.5	74.0
Nacedero (<i>Trichanthera gigantea</i>)	Tiernas	29.4	34.6	37.9	46.4	69.3	88.9
	Maduras	33.5	36.7	39.1	45.7	70.3	85.9
Patevaca (<i>Bahuinia tarapotensis</i>)	Tiernas	18.6	20.1	21.9	24.0	24.7	26.9
	Maduras	17.4	17.8	20.3	21.2	23.6	26.3

Adaptada de Puentes y Sánchez (2002).

En el Cuadro 3 se presentan algunos análisis para estimar la calidad de las especies, tanto en hojas tiernas como maduras. Los contenidos de proteína variaron entre 6.6 y 21.6%; la DIVMS entre 36.1 y 86.4% y los taninos condensados entre 1.7 y 26.8%. Hubo una correlación de 0.40 entre taninos condensados y la DIVMS y de 0.36 con la degradabilidad *in sacco* a las 48 h. Entre taninos y PC, la correlación fue 0.01, y para la DIVMS y la PC de 0.60.

Evaluaciones de productividad animal

En un experimento bajo pastoreo alterno de *Brachiaria humidicola* solo o asociada con *Desmodium heterocarpon* (*D. ovalifolium*), las novillas que rotaron en la asociación ganaron 21% más que aquellas en pastoreo de *B humidicola* solo (Galindo y Rivera, 2000). Igualmente, Sanabria y Pabón, (1999) reportaron un aumento del 8% en la producción de leche en vacas pastoreando una asociación de *B. decumbens* y *D. ovalifolium* comparadas con las que solo pastorearon *B. decumbens*, en dos fincas del Caquetá. Los promedios de producción se presentan en el Cuadro 4.

En dos trabajos con vacas doble propósito, sin embargo, cuando se suplementaron con caña más *Codariocalix gyroides* (Collazos y Duque, 1998) o con pasto imperial más *C. gyroides* (Camacho y Roncancio, 1997), no se presentaron aumentos en la producción de leche (Cuadro 4) cuando la leguminosa constituía entre el 0 y el 50 % del suplemento.

En ambos trabajos, las vacas consumieron menos de 1 kg de *C. gyroides* lo cual pudo haber influido en la falta de efecto en la producción, contrario a lo que pudo haber sucedido en los dos trabajos previamente mencionados, donde los animales pudieron haber tenido la oportunidad de seleccionar una dieta más rica y posiblemente haber tenido un mayor consumo de leguminosa.

Los bajos consumos de *C. gyroides* posiblemente se debieron al poco acostumbramiento de los animales a la leguminosa y no al contenido de factores antinutricionales. Como se observa en el Cuadro 5, el contenido de taninos varió entre 3.1 y 14.2, con valores intermedios para el *D. ovalifolium*.

Cuadro 3. Análisis bromatológico de la materia seca de siete especies forrajeras arbóreas con edades de corte de 90 días, relacionadas con la degradabilidad (48 h) *in situ* de las mismas especies, incubadas en novillos bajo pastoreo de *Brachiaria decumbens* en Caquetá (Cipagauta *et al.* 2002).

Especie	Hojas	P.C. (%)	F.C. (%)	DIVMS (%)	Degradabilidad <i>in situ</i> 48h (%)	TC (%)
Bohio	Tiernas	18.18	26.07	37.46	23.73 ± 0.95	4.78
(<i>Clitoria fairchildiana</i>)	Maduras	17.05	25.98	42.19	22.52 ± 0.66	2.56
Cachimbo	Tiernas	21.64	11.00	59.06	42.56 ± 1.65	1.81
(<i>Erythrina fusca</i>)	Maduras	18.05	12.99	48.90	31.14 ± 2.00	2.0
Cratilia	Tiernas	18.11	25.53	49.90	37.96 ± 2.15	1.77
(<i>Crayilia argentea</i>)	Maduras	18.19	25.46	44.72	28.63 ± 1.42	1.75
Flemingia	Tiernas	15.50	24.55	38.04	26.59 ± 1.9	26.83
(<i>Flemingia macrophylla</i>)	Maduras	14.92	25.21	41.69	26.84 ± 1.72	21.35
Gemelina	Tiernas	9.92	19.59	85.35	57.72 ± 6.57	2.45
(<i>Gmelina arborea</i>)	Maduras	6.63	20.18	82.71	66.52 ± 3.50	2.05
Nacedero	Tiernas	13.79	19.46	86.45	69.30 ± 6.44	2.32
(<i>Trichanthera gigantea</i>)	Maduras	13.10	19.62	83.80	70.73 ± 4.62	2.42
Patevaca	Tiernas	15.50	24.91	39.01	24.72 ± 0.85	7.03
(<i>Bauhinia tarapotensis</i>)	Maduras	14.19	24.97	36.18	23.67 ± 1.03	4.42

Cuadro 4. Promedio de ganancia de peso diaria o producción de leche de vacas doble propósito en pastoreo de asociaciones con *Desmodium heterocarpum* o con suplementación de *Codariocalyx gyroides* con dos sistemas de pastoreo y dos tratamientos en el piedemonte amazónico

Manejo	Producción	Leguminosa		Fuente
		+	-	
Pastoreo*	Ganancia de peso (g/animal/día)	525 ^a	411 ^b	Galindo y Rivera, 2000
Pastoreo*	Leche (l/vaca/día)	5.4 ^a	5.0 ^b	Sanabria y Pabón, 1999
Suplemento**	Leche (l/vaca/día)	3.8 ^a	3.8 ^a	Collazos y Duque, 1998
Suplemento**	Leche (l/vaca/día)	5.5 ^a	5.3 ^a	Camacho y Roncancio 1997

Leguminosa acompañante: **D. ovalifolium*, ***C. gyroides*

^{a, b} letras diferentes supraescritas para promedios entre columnas indican diferencia estadística (P<0.05).

Cuadro 5. Promedio de digestibilidad *in vitro* (DIVMS), Proteína Cruda (PC) y porcentaje de taninos solubles e insolubles de *D. heterocarpum* (*D. ovalifolium*) y *Codariocalyx gyroides*.

Especie	PC (%)	DIVMS (%)	TC (%)		Fuente
			solubles	insolubles	
<i>D. ovalifolium</i>	12.8	35.7	4.2	7.2	Sanabria y Pabón, 1999
<i>D. ovalifolium</i>	12.5	34.9	6.3	6.8	Sanabria y Pabón, 1999
<i>D. ovalifolium</i>	11.3	37.3	9.52	6.3	Galindo y Rivera, 2000
<i>C. gyroides</i>	13.9±0.8	28.6±2.6	3.19±1.44	7.06±1.38	Collazos y Duque, 1998
<i>C. gyroides</i>	20.5±0.2	35.4±3.0	14.19±2.44	9.93±0.87	Camacho y Roncancio, 1997

LITERATURA CITADA

- Camacho Trujillo, G.A. y Roncancio Cubillos, R. 1997. *Efecto de la suplementación con Codariocalyx gyroides sobre la producción y calidad de la leche de vacas doble propósito en el piedemonte amazónico*. Trabajo de Grado Zootecnista, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 52 pp.
- Cipagauta Hernández, M., Velásquez, J.E., Puentes Mora, N.I. y Sánchez Rojas, W.N. 2002. Degradabilidad “*in sacco*” de especies arbóreas con potencial forrajero para los sistemas de producción bovina de la amazonia colombiana intervenida. En: *Memorias VI Congreso de Investigadores de la Amazonia*, Florencia, Caquetá, Colombia, 29-31 de octubre de 2002.
- Collazos Lamilla, Eliana y Duque Pérez, G.G. 1998. *Efecto de dos niveles de suplementación con Codariocalyx gyroides y Saccharum officinarum sobre la producción de leche con baja y alta oferta de forraje en vacas doble propósito en el piedemonte caqueteño*. Trabajo de Grado Zootecnista, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 40 pp.
- Galindo Alava, Diana Marcela y Rivera, O.A. 2000. *Evaluación de las ganancias de peso en novillas en la fase de levante bajo pastoreo en praderas con Brachiaria humidicola solo y asociado con Desmodium ovalifolium en el piedemonte caqueteño*. Trabajo de Grado Zootecnista, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 56 pp.
- Morales Vargas, Elsa Mónica y Chaves Moreno, L.C. 1998. *Estudios de degradabilidad “in sacco” en novillos fistulados de dos leguminosas arbóreas y una gramínea adaptadas al piedemonte amazónico colombiano*. Trabajo de Grado Zootecnista, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 44 pp.
- Puentes Mora, N.I. y Sánchez Rojas, W.N. 2002. *Estudio de degradabilidad in sacco de siete especies arbóreas con potencial forrajero para los sistemas de producción bovina del piedemonte caqueteño*. Trabajo de Grado Médico Veterinario y Zootecnista, Universidad de la Amazonía, Florencia, Colombia. 107 pp.
- Sanabria, C.E. y Pabón Ospina, D. 1999. *Efectos de la asociación Brachiaria decumbens Ciat 606 - Desmodium ovalifolium Ciat 350 en producción de leche en dos fincas del piedemonte caqueteño*.

Evaluación de la descomposición del follaje de especies arbustivas promisorias forrajeras para zonas de ladera de Cauca y Valle del Cauca

Freddy Antonio Parra P.

Corpoica, Popayán, fparra@telesat.com.co

INTRODUCCIÓN

Las zonas agroecológicas de Colombia Cx (con una cobertura nacional de 1.407.547 ha), Mc (385.506 ha) y Mg (3.882.330 ha) se caracterizan por compartir la problemática de desertización debido a deforestación, donde la ganadería, con bajos rendimientos debidos a la deficiente calidad de la oferta forrajera y una agricultura de pancoger aparecen como sus principales componentes. Encontrar materiales vegetales que garanticen coberturas, que mejoren la oferta forrajera, especialmente en contenido de nitrógeno, pero bajo condiciones de ramoneo, pues la restricción por capital y baja disponibilidad de mano de obra limitan la adopción de tecnologías de alimentación con patrones de altos costos, así como la determinación de la dinámica de la descomposición de la hojarasca y la liberación del nitrógeno se considera como una importante información de orden práctico para validar la introducción de éstas especies en los sistemas productivos de laderas.

La disponibilidad de material vegetal originario del cinturón tropical del mundo y recogido por la red de investigación de forrajes tropicales liderada por CIAT, permitió seleccionar algunas especies que por su origen o su comportamiento en zonas agroecológicas de cierta similitud en el país permitieran sospechar sobre las bondades encaminadas a suplir la exigencia de baja cobertura y calidad forrajera. Por lo

anteriormente expuesto, se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVO

Suministrar tecnología que contribuya al incremento de la productividad al sistema mixto bovinos-agricultura mediante la introducción y evaluación de la calidad de los follajes de arbustos con potencialidad en zonas de laderas.

Objetivos específicos:

- Determinar las especies arbustivas que mejor se adapten a las zonas de ladera para ser utilizadas en alimentación animal o como abonos verdes.
- Evaluar la tasa de descomposición del follaje arbustivo de los materiales sobresalientes.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación

El trabajo para evaluar la adaptación agronómica de las especies herbáceas y arbustivas se desarrolló en los departamentos del Cauca: Finca Bellavista (Fondo Ganadero del Cauca), municipio de Mercaderes (1°48'N; 77°9'O); zona agroecológica Cx, en un suelo con pH de 6.5; 1.4 de materia orgánica; 4.3 ppm de fósforo; 3.8 de Ca y 1.7 Mg (meq/100 g de suelo). Granja San José Secretaría de Desarrollo Agropecuario del Cauca, localidad denominada Corpopaló,

Santander de Quilichao, (3°10'N; 76°29'O): Mc; pH de 5.8; 3.1 de materia orgánica; 1.3 ppm de fósforo; 6 de Ca y 5 Mg (meq/100 g de suelo); y en el Valle del Cauca: Finca Llanitos, Corregimiento Portugal de Piedras, municipio de Río-frío (4°02'N; 76°21'O): Mc, en un suelo con pH de 5.8; 3.1 de materia orgánica; 5.7 ppm de fósforo; 6.0 de Ca y 5.5 Mg (meq/100 g de suelo) y finca El Porvenir, Vereda Coloradas, Corregimiento de San Antonio, municipio de Sevilla (4°09'N; 76°18'O): Mg suelo con pH de 5.6; 5.7 de materia orgánica; 3.8 de Ca y 1.7 Mg (meq/100 g de suelo).

Estas fincas ubicadas entre 1000 y 1350 msnm con temperaturas promedio entre 20 a 24°C., relieves ondulados - escarpados y pendientes entre 10 y 25%. Las evaluaciones se realizaron en especies de herbáceas: Gramíneas de los géneros *Brachiaria*, (tres ecotipos) *Cynodon* (1), *Hypharrhenia* (1), *Panicum* (1); Leguminosas herbáceas de los géneros *Centrocema* (6), *Arachis* (2), *Desmodium* (2) y leguminosas arbustivas de los géneros *Leucaena* (26), *Cratylia* (4), *Codariocalyx* (3), *Flemingia* (2), *Gliricidia* (1), *Cajanus* (2), *Clitoria* (1), *Sesbania* (2), *Tadehagi* (2), *Erythrina* (2), *Malvaviscus* (1), *Dendrolobium* (2).

Especies arbustivas

Establecimiento: Las plantas se sembraron en bolsas de polietileno con 2 kilogramos de suelo donde permanecieron en vivero durante 3 meses, luego se transplantaron a las parcelas experimentales a una distancia entre plantas de 1.5 m y 2.0 m entre calles. Cada parcela consta de 8 plantas: cuatro centrales para medición y dos a cada extremo para descartar el efecto de bordes.

Evaluaciones de producción de materia seca: Luego del octavo mes posterior al trasplante, se realizó un corte de nivelación a una altura de 120 cm desde el nivel del suelo y nueve semanas después se iniciaron las evaluaciones para determinar la producción de biomasa del material fino (hojas y tallos menores de 6 milímetros de diámetro) expresada en gramos de materia seca por planta

Diseño del experimento

Los tratamientos se asignaron mediante un diseño estadístico de bloques completos al azar, con tres repeticiones: R_i ($i = 1, 2, 3$); mediante arreglo en parcelas divididas, siendo las parcelas principales las accesiones: A_j ($j =$ cambiante dependiendo del sitio experimental) y la subparcela la época: B_k ($k = 1, 2$: Lluvias o sequía), S_{ij} : efecto de la interacción bloque por accesión; bajo el modelo estadístico: $Y_{ijk} = U + R_i + A_j + S_{ij} + B_k + AB_{ik} + E_{ijk}$

Los datos se analizaron siguiendo el procedimiento general de modelos lineales del Programa (SAS, 1989).

Determinación de la degradación del follaje en el suelo

En el sitio Corpopaló, Santander de Quilichao, Cauca, durante (2, 4, 8, 16, 24 semanas) se midió la descomposición del follaje a partir del registro de la pérdida de peso de 15 gramos colocados en bolsa de nylon y simultáneamente se determinó la liberación de nitrógeno de cinco ecotipos de leguminosas arbustivas sobresalientes: *Cratylia argentea*, CIAT 18597 y CIAT 18668; *Flemingia macrophylla* CIAT 17403; *Codariocalyx gyroides* CIAT 33131 y CIAT 13547; se empleó la metodología de bolsas de descomposición, citada por Palm y Sánchez (1990), Thomas y Asakawa (1993) y Cobo (1998).

Análisis químico de las muestras de biomasa
Se determinaron concentraciones de: carbono mediante digestión ácida utilizando el método de colorimetría propuesto por Anderson e Ingram citado por Cobo (1998); nitrógeno total mediante digestión Kjeldahl de destilación y titulación propuesto por Anderson e Ingram, citado por Cobo (1998); lignina determinado por la técnica de detergente ácido, Cobo (1998) y polifenoles solubles mediante extracción con etanol al 50% a 80° C (Walkey y Black, 1934, citado por Thomas y Asakawa, 1993).

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y los promedios se diferenciaron mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey. Para cada una de las especies evaluadas, se realizó un análisis de regresión entre las medias de las variables PSR, NL, lignina, polifenoles, y el tiempo de descomposición. Como los datos mostraron un patrón exponencial, se determinaron las constantes de descomposición y liberación de N (K_d y K_n respectivamente) para cada especie mediante el modelo único exponencial $Wt/Wo = Wo * e^{-kt}$ donde Wt es la cantidad de masa o N inicial Wo remanente a un tiempo “t” (Anderson e Ingram, 1993 citados por Cobo, 1998). También se realizó un análisis de correlación entre los parámetros químicos del material inicial y las

tasas de descomposición y liberación, con la finalidad de explicar los efectos de estos parámetros en cada uno de los procesos evaluados. Los análisis se realizaron mediante los procedimientos GLM, REG y NLIN del sistema estadístico SAS (Statistical Analysis System) con un alpha de 0.05.

RESULTADOS

Determinación de la producción de biomasa
En la información obtenida en Santander de Quilichao, Granja San José, Corpopaló (Cuadro 1), se destacan: *Cratylia argentea* (CIAT 18597 y 18668), con 191 y 157 g de materia seca/planta, respectivamente, valores diferentes ($P < 0.05$) de los reportados por las especies *Codariocalyx giroydes* (CIAT 33131), *Flemingia macrophylla* (CIAT 17403), *Leucaena leucocephala* (CIAT 17503), *Codariocalyx giroydes* (CIAT 13547) y *Leucaena leucocephala* (CIAT 17502 y 17498).

Determinación de la degradación de la materia seca en el suelo y liberación de nitrógeno

En la localidad de Santander de Quilichao, granja San José, en el sitio denominado Corpopaló, durante los meses de enero a junio del año 1999, se determinó la dinámica de la descomposición del follaje de cinco

Cuadro 1. Producción de materia seca de leguminosas arbustivas (gramos/planta) en la localidad de Corpopaló, Santander de Quilichao, Cauca.

Ecotipo	Producción de biomasa (g MS/planta)
<i>Cratylia argentea</i> 18597	191.6 ^a
<i>Cratylia argentea</i> 18668	157.0 ^a
<i>Codariocalyx giroydes</i> 33131	42.0 ^b
<i>Flemingia macrophylla</i> 17403	35.6 ^b
<i>Leucaena leucocephala</i> 17503	28.8 ^b
<i>Codariocalyx giroydes</i> 13547	26.6 ^b
<i>Leucaena leucocephala</i> 17502	21.2 ^b
<i>Leucaena leucocephala</i> 17498	14.9 ^b

Valores con letras iguales no difieren estadísticamente según Tukey, ($P < 0.05$).

leguminosas arbustivas consideradas potenciales de acuerdo a lo observado en las pruebas de producción de biomasa.

Los registros de peso seco residual determinados mediante el uso de la bolsa de nylon se presentan en el Cuadro 2. La descomposición del follaje de *C. argentea* 18597 y 18668 mostró la mayor velocidad entre la octava y la decimosexta semana. En total el 70% y 64% del peso seco se descompusieron respectivamente a diferencia de *Codariocalyx gyroides* y *Flemingia macrophylla* con menores tasas de descomposición afectadas posiblemente por niveles superiores de taninos condensados. Esto indica que la potencialidad del uso del follaje de *C. argentea* como forraje o como aporte de nitrógeno al suelo, puede

complementarse con el uso de materiales de menor velocidad de degradación a nivel de suelo permitiendo mejores niveles de cobertura que en zonas de baja precipitación propiciarían el mantenimiento de la humedad en el suelo durante mayor tiempo.

Los parámetros estadísticos (Cuadro 3) para el intercepto B_0 y para la tasa de descomposición de la materia seca expresada en gramos/semana B_1 , reporta valores mayores de descomposición para los ecotipos de *Cratylia argentea* (18597 y 18668) y bajos valores correspondientes a la velocidad de descomposición de el follaje de los ecotipos de *Codariocalyx giroydes* (CIAT 13547 y 33131) y *Flemingia macrophylla* (CIAT 17403).

Cuadro 2. Peso residual a partir de quince gramos de materia seca determinado en bolsa de nylon del follaje de cinco arbustivas en una ladera de Santander de Quilichao, Cauca.

Ecotipo	Semanas				
	2	4	8	16	24
<i>Cratylia argentea</i> 18597	11.15	9.86	7.59	4.51	4.44
<i>Cratylia argentea</i> 18668	10.60	9.10	7.59	7.15	5.44
<i>Codariocalyx gyroides</i> 13547	12.80	12.00	11.69	11.18	10.60
<i>Codariocalyx gyroides</i> 33131	13.04	12.02	11.28	9.15	8.94
<i>Flemingia macrophylla</i> 17403	11.57	11.53	11.28	9.15	8.70

Cuadro 3. Indicadores estadísticos determinados en el proceso de degradación de cinco leguminosas arbustivas en una ladera de Santander de Quilichao, Cauca (B_0 : intercepto; B_1 : pérdida de peso, g/sem).

	<i>Cratylia argentea</i>				<i>Codariocalyx giroydes</i>				<i>F. macrophylla</i>	
	18597		18668		13547		33131		17403	
B_0	2.77	P<0.001	2.54	P<0.001	2.59	P<0.001	2.70	P<0.001	2.56	P<0.001
B_1	-0.41	P<0.01	-0.24	P<0.01	-0.07	P<0.01	-0.16	P<0.01	-0.10	P<0.1

En el Cuadro 4, se observa el comportamiento de la liberación de nitrógeno durante veinticuatro semanas, medidas en bolsas de descomposición, encontrándose los máximos valores en los ecotipos de *Cratylia argentea* (CIAT 18597 y 18668) superiores al 60 % de liberación en la decimasexta semana, aclarando que los valores no son acumulativos y que no todo el nitrógeno se puede considerar como disponible para las plantas (Cobo, 1998), pues las pérdidas debidas a lixiviación, volatilización, y/o denitrificación o ser inmovilizado por la biota edáfica o simplemente entrar en la fracción orgánica del suelo (Venlauwe *et al.*, 1997, citado por Cobo, 1998)

Al correlacionar la liberación de nitrógeno se encontró, para la pérdida de peso de la materia seca (r: -0.634, P<0.001), para el contenido de carbono (r: -0.316, P<0.01) y para contenido de lignina, para la proporción carbono/nitrógeno y para la proporción (lignina+ polifenoles)/ nitrógeno valores bajos de correlación.

CONCLUSIONES

Los materiales evaluados, tanto las especies herbáceas como las arbustivas en general mostraron bajos rendimientos agronómicos, de consumo y calidad comparados con los reportes disponibles para otras zonas agroecológicas del país, pero se debe tener

presente que son especies de origen tropical evaluadas en altitudes hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar que además en las pruebas agronómicas de adaptación donde han sido probadas han recibido manejo agronómico intensivo en el sentido de haber recibido fertilización inicial, al momento de la siembra y fertilizaciones de mantenimiento, aspecto que no fue practicado en el presente trabajo de evaluación de la adaptación del que trata éste informe debido a que el sistema productivo denominado “ganadería de doble propósito” GDP, no asimilaría éste tipo de prácticas por involucrar costos adicionales que el sector ganadero ni cultural ni económicamente maneja.

Al proponer mediante la validación de éstos materiales su introducción a sistemas productivos de laderas, especialmente de especies que garanticen coberturas vegetales y reciclaje de nutrientes limitantes como el nitrógeno, para cubrir terrenos expuestos al deterioro debido a aplicación de cargas animales manejadas con criterios de sobrepastoreo, de monocultivo de gramíneas con bajos o nulos retornos de nutrientes, puede considerarse un importante aporte a la búsqueda de soluciones para reordenar el uso de los suelos y en la realidad productiva generar modelos de pastoreo en mezclas

Cuadro 4. Porcentaje de nitrógeno libre determinado en bolsa de nylon en cinco leguminosas arbustivas en Corpopaló, Santander de Quilichao, Cauca.

Ecotipo	Semanas de degradación de la materia seca del follaje				
	2	4	8	16	24
<i>Cratylia argentea</i> 18597	35.9	48.0	55.9	79.0	85.0
<i>Cratylia argentea</i> 18668	42.9	58.4	55.9	72.5	75.7
<i>Codariocalyx giroydes</i> 13547	11.2	27.6	3.0	14.8	29.9
<i>Codariocalyx giroydes</i> 33131	9.1	45.7	-9.8	0.8	21.5
<i>Flemingia macrophylla</i> 17403	41.7	45.0	59.7	46.4	61.2

multiestrata, que para el caso de las laderas del trópico medio de las cordilleras central y occidental puede considerarse un importante avance.

La adopción de tecnologías relacionadas con pasturas, como tal, está relacionada con la orientación del modelo económico que define a la ganadería como un mecanismo de inversión; bajo éste contexto la expectativa de adopción no debe girar estrictamente con base en la oferta de tecnología, aclarando que especies como *Brachiaria dictyoneura* (CIAT 6133), *Centrocema macrocarpum* (CIAT 5713) produjeron resultados sobresalientes en laderas de Riofrío y Sevilla, zonas agroecológicas Cx y Mg extrapolables a dominios de recomendación semejantes y en el caso de las leguminosas arbustivas: *Leucaena leucocephala* (CIAT 17466 y 17495), *Cratylia argentea* (CIAT 18676 y 18516) en la zona agroecológica Cx con reportes de nitrógeno de mediana velocidad de degradación en el suelo, para el caso de *C. argentea* y medianos valores de proteína cruda que de no existir éstas difícilmente se tendrán disponibles en las fincas de productores de laderas.

Materiales como *Codariocalyx giroydes* y *Flemingia macrophylla*, de lenta degradación asociada a niveles de fenoles en sus hojas, podrían también ser aportantes a la sostenibilidad pues manejan en forma coevolutiva mecanismos para protegerse del ataque de plagas, cubrir durante mayor tiempo el suelo con hojarasca para el caso con reporte de

lenta descomposición y racionalizar el proceso de ramoneo mediante regulación estacional de fenoles en su composición química, podrían mediante condiciones de transferencia apropiada y en concurso con los gremios de productores e instituciones convertirse en el inicio del cambio de paradigmas referentes a la ganadería existente como monocultivo de gramíneas.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los agricultores participes de los municipios de Sevilla, Riofrío (Valle del Cauca), Santander de Quilichao, Mercaderes (Cauca); a PRONATTA (Ministerio de Agricultura de Colombia) su apoyo económico para ejecutar el presente proyecto, a CIAT el apoyo por el suministro de semillas básicas, a CORPOICA por el apoyo logístico y administrativo de los recursos y a los auxiliares de investigación participantes.

LITERATURA CITADA

- Cobo, J.G. 1998. *Abonos verdes como fuente de nitrógeno en un agroecosistema tropical de ladera en Colombia*. Tesis de maestría, CATIE, Turrialba, Costa Rica, 87 pp.
- Palm, C.A. y Sanchez, P.A. 1990. Descomposition and nutrient release of the leaves of three tropical legumes. *Biotropica* **22**: 330-338
- SAS, 1989. *SAS ISTAT user's Guide*, Versión 6, 4th Edition. Cary, NC, 846 pp.
- Thomas, R. y Asakawa, N.M. 1993. Descomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. *Soil Biology and Biochemistry* **25**: 1351-1361.

Efecto de la fertilización con elementos menores y azufre sobre la calidad nutricional del forraje de *Desmodium ovalifolium* CIAT 13651 en un suelo Oxisol de la Altillanura colombiana

Otoniel Pérez López¹, Raúl Antonio Pérez Bonna² y Oscar Pardo Barbosa¹

¹Programa Nacional de Fisiología y Nutrición Animal, Corpoica, Centro de Investigaciones La Libertad, km 21 vía Puerto López, Villavicencio, Meta, Colombia, operez@corpoica.org.co, opardo@corpoica.org.co

²Especialista en pastos y forrajes, Cra. 45 no. 49b-22, Villavicencio, Meta, Colombia

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de praderas productivas y persistentes en suelos ácidos y con baja fertilidad de la Altillanura colombiana ha sido en muchos casos limitada por la escasez de alternativas forrajeras, en particular de leguminosas adaptadas a estas condiciones.

Durante los últimos 20 años, la evaluación conjunta entre el ICA, CIAT y Corpoica, en diferentes ecosistemas de Colombia, ha encontrado que *Desmodium ovalifolium* es una leguminosa con buena adaptación a las condiciones de clima y suelo predominantes, alta producción de biomasa, buena capacidad de asociación con gramíneas forrajeras mejoradas y rápida cobertura del suelo; características agronómicas indispensables en los componentes de sistemas de producción agrícolas y ganaderos, bien sea para la protección del suelo y rehabilitación de praderas degradadas, o como fuente de alimentación para el ganado (Pérez *et al.*, 2002).

Tanto resultados de investigación como el uso actual por productores, indican que *Desmodium ovalifolium* es una leguminosa con un gran potencial para ser utilizada como fuente de forraje o cobertura por su adaptación a suelos de baja fertilidad, tolerancia a pastoreo intenso y sombra, crecimiento estolonífero y productividad. No obstante, las concentraciones

de taninos pueden limitar el consumo y la digestibilidad del forraje y como consecuencia afectar el comportamiento animal en praderas con *D. ovalifolium*.

Schmidt (2001) observó que la interacción genotipo por ambiente determinan el comportamiento agronómico y la calidad forrajera de la leguminosa. La distribución de la precipitación fue uno de los factores determinantes sobre el desarrollo, producción y calidad de forraje. La respuesta de *D. ovalifolium* a la aplicación de nutrientes como fósforo, zinc, boro y manganeso fue notoria en términos de calidad del forraje. De otra parte, en condiciones de laboratorio, la concentración de taninos fue mas afectada por la textura del suelo que por la fertilización, sin embargo, microelementos como boro y zinc posiblemente influyen en el contenido de taninos y su reactividad biológica.

Considerando los resultados preliminares, sobre un suelo Oxisol franco, en el C.I. Carimagua se evaluó el efecto de 18 tratamientos de fertilización que incluyeron la aplicación general de 165 - 25 - 50 - 27 kg/ha de Ca, P, K y Mg, respectivamente y niveles variables de B, Zn y S para determinar su efecto sobre la producción y calidad del forraje de *D. ovalifolium* CIAT 13651.

OBJETIVO

Determinar el efecto de la aplicación de azufre y elementos menores (boro, zinc) sobre los parámetros de producción y calidad nutricional del forraje [proteína cruda (PC), fibra en detergente neutro (FDN), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), taninos condensados (TC), taninos condensados libres (TCL)] de *Desmodium ovalifolium* CIAT 13651.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el C.I. Carimagua, localizado a 320 km al noreste de Villavicencio (meta), a 4°30' latitud norte y 71°19' longitud oeste, sobre un terreno de topografía plana a 150 msnm, con temperatura promedio de 26° C, humedad relativa media de 77% y precipitación promedio anual de 2083 mm. El suelo clasificado como Oxisol se caracterizó por presentar textura franca, con bajos contenidos de fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y materia orgánica; altos contenidos de aluminio y baja CIC.

El ensayo se inició en mayo del 2001 con la siembra de parcelas de 16 m² (4x4 m) con *D. ovalifolium* ciat 13651 y la aplicación de 18 tratamientos de fertilización distribuidos en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Antes de la siembra se aplicó e incorporó en forma general una fertilización básica con cal dolomítica 300 kg/ha (Ca 90, Mg 27), roca fosfórica 250 kg/ha (P 25, Ca 75) y cloruro de potasio 100 kg/ha (K 50).

Para la siembra se aplicó al voleo el equivalente a un (1) kg/ha de semilla en mezcla con las fuentes de azufre (flor de azufre, 85% de S), zinc (óxido de zinc, 78% de Zn) y boro (bórax, 15% de B). Los tratamientos de fertilización fueron: T1 = fertilización básica (testigo); T2 = fertilización

básica + B 0.5 kg/ha; T3 = fertilización básica + B 1.0 kg/ha; T4 = fertilización básica + B 1.5 kg/ha; T5 = fertilización básica + Zn 1.0 kg/ha; T6 = fertilización básica + Zn 2.0 kg/ha; T7 = fertilización básica + Zn 3.0 kg/ha; T8 = fertilización básica + S 20 kg/ha; T9 = fertilización básica + S 40 kg/ha; T10 = fertilización básica + S 60 kg/ha; T11 = fertilización básica + B 0.5 - Zn 1.0 - S 20 kg/ha; T12 = fertilización básica + B 0.5 - Zn 1.0 - S 40 kg/ha; T13 = fertilización básica + B 0.5 - Zn 2.0 - S 20 kg/ha; T14 = fertilización básica + B 0.5 - Zn 2.0 - S 40 kg/ha; T15 = fertilización básica + B 1.0 - Zn 1.0 - S 20 kg/ha; T16 = fertilización básica + B 1.0 - Zn 1.0 - S 40 kg/ha; T17 = fertilización básica + B 1.0 - Zn 2.0 - S 20 kg/ha y T18 = fertilización básica + B 1.0 - Zn 2.0 - S 40 kg/ha.

Una vez establecido el *D. ovalifolium*, se estandarizaron las parcelas con guadaña (septiembre/2001) y se inició la fase de evaluación para producción de materia seca y cobertura a 4 y 8 semanas de edad del rebrote y toma de muestras para calidad del forraje a las 8 semanas. Debido a los altos costos de los análisis de laboratorio solo fue posible realizar un muestreo por época (seca y lluviosa) y por tratamiento (18 tratamientos). El análisis de los resultados se hizo mediante estadística descriptiva mediante el programa SPSS 2.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de forraje y cobertura

Durante la época de lluvias, la producción promedio de forraje de *D. ovalifolium* fue de 1416 kg MS/ha, con valores que fluctuaron entre 1070 y 1987 kg/ha sin presentar diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los diferentes tratamientos de fertilización. Los mayores rendimientos se observaron con los tratamientos T18 (1987 kg/ha), T13 (1850 kg/

ha) y T1 (testigo) con 1825 kg/ha; mientras que los valores mas bajos se encontraron con T15 (1070 kg/ha), T16 (1090 kg/ha) y T10 (1100 kg/ha).

En época seca la producción de forraje fue significativamente diferente ($P < 0.05$) entre los tratamientos de fertilización. Los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T9, T12, T13, T17 y T18 presentaron valores (995 a 1873 kg/ha) estadísticamente similares ($P > 0.05$) para producción de forraje, destacándose T18 con 1873 kg/ha que superó levemente al testigo T1 (1695 kg/ha). Los tratamientos con rendimientos significativamente inferiores fueron T14 (492 kg/ha), T16 (745 kg/ha) y T10 (795 kg/ha).

La producción de forraje fue similar a la reportada para la Orinoquia colombiana por Díaz *et al.* (1992) donde los rendimientos de MS de accesiones de *D. ovalifolium* fueron variables entre sitios. En el Piedemonte llanero (2800 a 5000 mm de precipitación anual) fluctuó entre 8.6 y 10.3 t/ha por año y en la altillanura plana (1800 a 2600 mm) entre 5.5 y 8.3 t/ha por año. En la Serranía, con precipitación similar a la Altillanura, la producción de MS varió entre 2.9 y 3.1 t/ha por año.

Las aplicaciones de la fertilización básica con 165 - 25 - 50 - 27 kg/ha de Ca, P, K y Mg, respectivamente, complementada con b 1.0 - Zn 2.0 y S 40 kg/ha permitieron incrementos del 8% en la producción de forraje en relación con el testigo que recibió la fertilización básica. Igual comportamiento observó Pérez (1988; 1999) en condiciones de la Orinoquia colombiana, con suelos bajos en contenido de nutrientes y una saturación de aluminio del 62% en Yopal hasta 94% en Puerto Carreño y con la aplicación de 40, 40, 20 y 15 kg/ha de P, K, Mg y S donde la

producción de MS fue mayor en 35% que con el testigo sin fertilización.

Trabajos realizados por Lascano y Salinas (1982) en un Oxisol del C.I. Carimagua, comprobaron el efecto positivo del azufre en la fertilización, al duplicar la producción de forraje de esta leguminosa (entre 2.0 y 2.8 t/ha de MS), con respecto a los tratamientos de fertilización que no incluyeron azufre (1.4 t/ha de MS).

La cobertura del suelo ofrecida por la leguminosa con los tratamientos de fertilización y dos frecuencias de corte, fue significativamente diferente ($P < 0.05$) durante la época de lluvias con un promedio general del 54.9%. Aunque, los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T11, T12, T13, T15, T16, T17 y T18 con valores que fluctuaron entre 66.9% y 48.1% no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre si para la variable cobertura; T8 (66.9%) y T17 (65.6%) mostraron una cobertura significativamente superior ($P < 0.05$) a T14 (41.9%).

En época seca, la fertilización con niveles variables de B, Zn y S no afectó significativamente ($P > 0.05$) la cobertura de *D. ovalifolium* entre tratamientos con un promedio general de 44.6%. Sin embargo, se observó una cobertura superior para T7, T18 y T1 con 54.4, 55.0 y 53.1%, respectivamente.

Aunque la cobertura de *D. ovalifolium* se puede considerar moderada con diferentes tratamientos de fertilización durante la época seca y lluviosa, en trabajos preliminares se ha observado la excelente cobertura del suelo en plantaciones de caucho y palma africana y el bajo costo de establecimiento de *D. ovalifolium* CIAT 13651, en comparación con el tradicional uso de kudzú, que lo convierten en

una opción para los productores de esta región. También son interesantes los resultados obtenidos con la asociación de este cultivar con *Arachis pinto* CIAT 18744, ya que la combinación de estas dos especies conduce a una cobertura del suelo más estable en las épocas de clima variable que son normales en la región (CIAT, 2001).

Contenido nutricional del forraje

El análisis de calidad del forraje de *D. ovalifolium* CIAT 13651, sometido a diferentes niveles de fertilización con azufre, boro y zinc; permite visualizar estrategias de manejo agronómico de la leguminosa tendientes a superar la limitante de consumo por bovinos, generada por los altos contenidos de taninos condensados en el forraje.

En general, el *Desmodium ovalifolium* presentó un valor nutritivo moderado en comparación con otras leguminosas forrajeras, comportamiento similar reportó Hess (1999) citado por Pérez *et al.* (2002) en relación con el contenido aceptable de PC (>11%) de la leguminosa y su baja digestibilidad (45% a 50%) relacionado principalmente con altos contenidos de taninos, que afectan la degradabilidad de la proteína a nivel ruminal, la digestibilidad de la materia seca y la palatabilidad y el consumo.

Durante la época de lluvia los contenidos de PC del forraje fluctuaron entre 11.3 y 15.7% con un promedio general de 13.4% (± 1.1). una fertilización básica con Ca, P, K y Mg y la adición de B 0.5 - Zn 1.0 - S 20 kg/ha (T11) con 15.7% y B 0.5 - Zn 2.0 - S 20 kg/ha (T13) con 15.1%, superaron en 20.8 y 16.4% respectivamente, la PC del control que fue 13.03%.

En época seca, la concentración promedio de PC en el forraje fue 14.6% (± 1.2),

destacándose los tratamientos T9 y T17 con 16.7%, y T2 y T8 con 15.8% por mayor oferta de PC, superiores en 33.6 y 26.4% al control (12.5%).

En época lluviosa el promedio general de FDN fue del 58.6%. Los tratamientos (T11 y T13) que incluyeron B 0.5 - Zn 1.0 - S 20 kg/ha y B 1.0 - Zn 1.0 - S 40 kg/ha con 56.3% presentaron menor porcentaje de FDN en relación con los demás tratamientos. Mientras que en época seca, la FDN promedio fue 46.2% (± 2.3) y los tratamientos T15, T14 y T16 que incluyeron entre b 0.5 a 1.0, Zn 1.0 a 2.0 y S 20 a 40 kg/ha presentaron el menor contenido con valores entre 42.4 y 44.1% de FDN.

La DIVMS varió entre 28.2 y 44.3% con promedio de 35.9% en invierno, destacándose por mayor DIVMS T7 (Zn 3.0 kg/ha) con 44.3%; T16 (B 1.0 - Zn 1.0 - S 40 kg/ha) con 42.9% y T18 (B 1.0 - Zn 2.0 - S 40 kg/ha) con 42.3%; el testigo (T1) mostró una DIVMS de 33.3%. Durante la temporada seca, la DIVMS media del forraje fue 46.9% (± 4.3) destacándose T11 y T10 con más del 53.5% de DIVMS.

Lascano y Barahona (1996) reportaron que la digestibilidad es baja en accesiones de *D. ovalifolium* con valores que oscilan entre 28 y 50%. Trabajos de Lascano y Salinas (1982) identificaron al azufre como el elemento clave en calidad y consumo de *D. ovalifolium* CIAT 350 en monocultivo.

Contenido de taninos en el forraje

Los contenidos de taninos condensados en *D. ovalifolium* fueron afectados por la distribución de las lluvias, y en menor proporción por la fertilización, confirmando lo encontrado por Schmidt (2001). En la temporada de lluvias, los valores de TC fluctuaron entre 2.79 y 10.05% con un

promedio general de 6.3% (± 1.3), mientras que en época seca los taninos variaron entre 15 y 26% con un promedio de 19.8% (± 2.6), resultados muy inferiores a los encontrados por Lascano y Salinas (1982) que reportan contenidos de taninos en *D. ovalifolium* que pueden variar entre 21.1 y 43%.

Los contenidos de taninos fueron mayores durante época seca en comparación con la época lluviosa, resultados similares observó Toro (1990) en la Altillanura.

Los tratamientos que incluyeron Zn 0.5 kg/ha (2.79% de TC), S 20 kg/ha (4.69% de TC) y S 40 kg/ha (4.89% de TC) presentaron valores inferiores de TC en época de lluvias. Durante el verano el testigo (T1) mostró la menor concentración de taninos con 15%, seguido de los tratamientos T4 (16.1%), T5 (17.3%) y T6 (17.4%).

Los tratamientos que involucraron niveles bajos y moderados de azufre (20 - 40 kg/ha) solo o en mezcla con boro y zinc mostraron una reducción importante para el contenido de taninos en el forraje. Igual comportamiento encontraron Salinas y Lascano (1983). Cuando se utiliza esta leguminosa para la alimentación animal se recomienda la aplicación de 44 kg/ha de S con el objeto de mejorar su calidad y palatabilidad, disminuir el contenido de taninos e incrementar el contenido de N soluble en las hojas.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados no son concluyentes, pero permiten realizar algunas inferencias y confirmar en forma preliminar resultados de investigaciones anteriores, relacionadas con la respuesta en producción y calidad del forraje de *D. ovalifolium* con diferentes tratamientos de fertilización.

Aunque la cobertura de *D. ovalifolium* fue moderada con diferentes tratamientos de fertilización, en trabajos preliminares se ha observado la excelente cobertura del suelo en plantaciones de cultivos permanentes y el bajo costo de establecimiento de *D. ovalifolium* CIAT 13651, en comparación con el tradicional uso de kudzú, que lo convierten en una opción para los productores de esta región.

La leguminosa *D. ovalifolium* representa una alternativa para establecer o rehabilitar pasturas en sabanas bien drenadas por su adaptación, comportamiento productivo y calidad nutricional con el uso de niveles bajos de fertilizantes.

Las aplicaciones de la fertilización básica con 165 - 25 - 50 - 27 kg/ha de Ca, P, K y Mg, respectivamente, complementada con B 1.0 - Zn 2.0 y S 40 kg/ha permitieron incrementos del 8% en la producción de forraje en relación con el testigo que recibió la fertilización básica.

El análisis de calidad del forraje de *D. ovalifolium* CIAT 13651, sometido a diferentes niveles de fertilización con azufre, boro y zinc, permite visualizar estrategias de manejo agronómico de la leguminosa tendientes a superar la limitante de consumo por bovinos, generada por los altos contenidos de taninos condensados en el forraje.

La aplicación de nutrientes como azufre en dosis moderadas (20 - 40 kg/ha) y zinc mejoró la calidad y producción de forraje de *D. ovalifolium* CIAT 13651 y redujo los contenidos de taninos en relación con la fertilización básica.

Desmodium ovalifolium tiene un valor nutritivo moderado en comparación con otras leg

uminosas forrajeras. Los contenidos de taninos fueron mayores durante época seca en comparación con la época lluviosa.

Es necesario realizar investigación básica relacionada con fuentes, niveles e interacciones de nutrientes sobre la producción y calidad del forraje de *D. ovalifolium*.

LITERATURA CITADA

- CIAT. 2001. *Informe Anual de Actividades, Proyecto de Gramíneas y Leguminosas Tropicales*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.
- Lascano, C.E. y Salinas, J. 1982. Efecto de la fertilidad del suelo en la calidad del *D. ovalifolium*. *Pastos Tropicales-Boletín Informativo* 7: 4-5.
- Lascano, C.E. y Barahona, R. 1996. Análisis de calidad en genotipos de *Desmodium ovalifolium*. En: Schmidt, A. y Schultze-Kraft, R. (eds.) *Desmodium ovalifolium – la conocemos? Memorias del 1º taller de trabajo del proyecto “La interacción genotipo con el ambiente en una colección seleccionada de la leguminosa forrajera tropical Desmodium ovalifolium”*, realizado el 19 de marzo de 1996. Documento de trabajo No. 171, CIAT, Cali, Colombia, pp. 53-55.
- Pérez, R. y Acosta, A.E. 1988. *Informe Anual de Actividades, Programa Pastos y Forrajes*. Instituto Colombiano Agropecuario, C.I. La Libertad, Villavicencio, Colombia, 77 pp.
- Pérez, R., Rincón, A., Bueno, G. y Vargas, O.M. 1999. Manejo de praderas en sistemas de producción bovina de la Orinoquia colombiana. En: *Seminario técnico sobre tecnología de producción de leche y carne en regiones del trópico bajo colombiano, Orinoquia y Amazonia*. Corpoica, Villavicencio, Colombia, 27 pp.
- Pérez, R., Rincón, A., Cipagauta, M., Schmidt, A., Plazas, C. y Lascano, C. 2002. *Cultivar Maquenque - Desmodium ovalifolium (Prain.) Ohashi (accesión CIAT 13651): leguminosa para usos múltiples en sistemas agropecuarios en Colombia*. Corpoica. Villavicencio, Colombia - CIAT, Cali, Colombia, 31 pp.
- Schmidt, A. 2001. *Genotype x environment interactions in Desmodium ovalifolium Wall.* Tesis de doctorado, Universidad de Hohenheim, Verlag Grauer, Beuren y Stuttgart, Alemania, 241 pp.