

## Efecto de los taninos de *Albizia lebbekoides* en la fermentación *in vitro* del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) durante el período seco

R. Rodríguez, D. Alfonso, A. Oramas y Y. Hernández

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana  
Correo electrónico: rrodríguez@ica.co.cu

Para evaluar el efecto de los taninos de la leguminosa arbustiva *Albizia lebbekoides* en la fermentación *in vitro* del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), cuando se usa como suplemento para la época de seca, se determinó la producción de gas *in vitro* hasta las 72 h, los parámetros cinéticos de la fermentación, según el modelo exponencial  $Y = D \cdot \{1 - \exp[-C \cdot (\text{Hora} - L)]\}$  y el residuo no fermentado para estimar la degradabilidad aparente de la materia seca. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial (4 x 2), donde el factor A fue la dieta evaluada: pasto estrella (100 %), albizia (100 %), pasto estrella + albizia (15 %) y pasto estrella + albizia (30 %), y el B la inclusión de polietilenglicol para inactivar los taninos, para un total de ocho tratamientos. La fermentación de los forrajes mostró que a partir de las 12 h, la producción de gas del pasto estrella fue mayor que la de la leguminosa ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, en los tratamientos donde se mezclaron las dos especies vegetales no se afectó la producción de gas respecto al pasto estrella, excepto entre las 12 y 24 h de incubación para el nivel de inclusión de 30 %. El potencial de producción de gas de albizia (38.7 mL) fue mucho menor que el del pasto estrella (88.4 mL) y al elevar el nivel de inclusión de la leguminosa, se redujo el potencial y la tasa fraccional de producción de gas de la dieta. La fase Lag mostró tendencia a disminuir, a medida que se incrementó el nivel de inclusión de la leguminosa (de 40.1 para pasto estrella a 32.3 en pasto estrella+albizia 30%). La degradabilidad aparente de la materia seca disminuyó según se incrementó el nivel de inclusión de la leguminosa. Se concluye que la inclusión de dos niveles de *Albizia lebbekoides* no afectó la fermentación de la dieta basada en *Cynodon nlemfuensis*, excepto al nivel de 30 %, entre las 12 y 24 h de incubación. Sin embargo, sí se afectaron los indicadores cinéticos potencial de producción de gas, tasa fraccional y fase Lag. Los taninos afectaron la producción de gas e influyeron en los parámetros cinéticos de la fermentación.

Palabras clave: *Albizia lebbekoides*, *Cynodon nlemfuensis*, producción de gas, taninos

Las leguminosas arbóreas tropicales tienen estructuras fibrosas más digestibles y altos contenidos de proteínas y minerales, por lo que se pueden utilizar como suplementos proteicos en sistemas ganaderos con alimentación basada en pastos. Además, aportan nutrientes y mejoran las características físico-químicas del suelo, brindan sombra a los animales y servicios medioambientales, como la captura de carbono de la atmósfera (Milera *et al.* 2006) y la reducción de la emisión de gases que, como el metano, tienen efecto invernadero (Ramírez-Restrepo y Barry 2005).

En el período seco, la disponibilidad de pastos tropicales disminuye, y el uso de estas leguminosas es de mayor importancia para la alimentación del ganado. La especie más extendida en los sistemas ganaderos es *Leucaena leucocephala* (Lam.), aunque existen muchas otras que potencialmente se podrían emplear como suplemento al pasto base (Rodríguez 2004 y Raghuvansi *et al.* 2007).

La *Albizia lebbekoides*, como otras especies de leguminosas arbóreas, tiene alto contenido de compuestos secundarios con propiedades antinu-tricionales, fundamentalmente taninos condensados, que limitan su uso como alimento animal (Rodríguez *et al.* 2006). Frecuentemente, la técnica de producción de gas *in vitro* se combina con un agente inactivador de taninos como el polietilenglicol (PEG) para evaluar la actividad de taninos en la fermentación ruminal de árboles y arbustos tropicales (Ben Salem *et al.* 2005 y Makkar 2005). La afinidad de los taninos al PEG es mayor que las de las otras moléculas presentes en la solución de incubación y el sustrato fermentado, por lo que los taninos son inactivados

y el tratamiento con PEG funciona como un control «libre de taninos» (Muetzel y Becker 2006).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los taninos de *A. lebbekoides* en la fermentación *in vitro* del pasto *Cynodon nlemfuensis*, cuando se emplea como suplemento para la época de seca.

### Materiales y Métodos

El pasto *Cynodon nlemfuensis* (pasto estrella) y la leguminosa arbórea *A. lebbekoides* (albizia) se recolectaron durante el período seco en las áreas experimentales del Instituto de Ciencia Animal (ICA), ubicado en San José de las Lajas, Cuba, a 22° 58'N y 82° 09'W. Se recolectaron fundamentalmente hojas y tallos jóvenes de la gramínea, y hojas y pecíolos de ejemplares de albizia con varios años de establecimiento en el Arboretum del Instituto. El material vegetal se secó a 60 °C durante 72 h, se molió en molino de martillo a tamaño de partícula de 1 mm y se conservó adecuadamente en bolsas de nailon selladas. En la tabla 1 se muestra la composición química de las especies que se evaluaron.

Table 1. Composición química de los forrajes incubados (% de la MS)

Indicador	Pasto Estrella	Albizia
MO	96.8	93.0
N	9.7	28.6
FND	72.9	48.1
FAD	37.9	31.3

Se empleó la técnica *in vitro* de producción de gas en botellas de vidrio, descrita por Theodorou *et al.* (1994) y modificada por Rodríguez *et al.* (2008). Se incubó 1 g de las muestras en botellas de 100 mL selladas. Como inóculo se empleó una mezcla del contenido ruminal de dos toros canulados en rumen, que consumían *ad libitum* forraje de gramíneas y tenían libre acceso a agua.

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial (4 x 2). El modelo factorial correspondió a los factores dieta (4) e inactivación o no de los taninos (2), para un total de ocho tratamientos. Se consideró cada botella como una unidad experimental. Para el análisis de varianza se utilizó el paquete Infostat (Balzarini *et al.* 2001), y cuando hubo diferencias ( $P < 0.05$ ) las medias de los tratamientos se compararon por la dócima de Duncan (1955).

Las dietas evaluadas fueron pasto estrella (100 %), albizia (100 %), pasto estrella + albizia (15 %) y pasto estrella + albizia (30 %). Para determinar el efecto de los taninos, las dietas se incubaron solas o con 0.5 g de PEG de peso molecular 6000 (PEG-6000), para ocho tratamientos en total. También se incubaron cuatro botellas sin sustrato como blancos.

La producción de gas acumulada se midió en las botellas a las 2, 6, 12, 24, 36, 48, y 72 h. Al finalizar la incubación, se abrieron las botellas y el contenido se filtró, previamente pesado, a través de un papel de filtro de filtración rápida.

Los análisis químicos de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y proteína bruta (PB) se realizaron según AOAC (1995). La fibra neutro detergente (FND) y la fibra ácido detergente (FAD) se determinaron según el procedimiento de van Soest *et al.* (1991).

Para estimar la cinética de la fermentación *in vitro*, la producción de gas acumulada se ajustó iterativamente al modelo propuesto por Krishnamoorthy *et al.* (1991):

$$Y(t) = D * \{1 - \text{Exp}[-c * (t-L)]\}$$

Donde:

Y = Producción de gas acumulada (mL g<sup>-1</sup> MO incubada) a un tiempo de incubación t (h)

D = Potencial de fermentación del tratamiento en las condiciones de incubación (asíntota de la curva, mL g<sup>-1</sup> MO incubada)

c = Ritmo fraccional de fermentación (h<sup>-1</sup>)

L = fase Lag de la fermentación (h)

Se determinó la desaparición aparente de la MS (DAIVMS) como la diferencia entre la MS incubada y el residuo sólido de la fermentación.

## Resultados y Discusión

Se encontró interacción entre los factores dieta e inactivación de taninos por inclusión de PEG para la producción de gas acumulada ( $P < 0,05$ ) en todos los horarios de muestreo (tabla 2). La fermentación de los forrajes solos mostró que albizia produjo más gas en las primeras dos horas de incubación que el pasto estrella. A las seis horas, no hubo diferencias entre albizia y pasto estrella, pero a partir de las 12 h la producción de gas de la gramínea fue mayor que la de la leguminosa ( $P < 0.05$ ), duplicándola a las 48 h de incubación. Los tratamientos donde se combinaron las dos especies vegetales no afectaron la producción de gas con respecto al pasto base, excepto a las 12 y 24 h de incubación, cuando se sustituyó la gramínea por 30 % de albizia.

El tratamiento de pasto estrella + PEG incrementó la producción de gas, con respecto al forraje incubado solo, en todos los tiempos de incubación. Igual comportamiento mostró el tratamiento de albizia + PEG, respecto a la leguminosa sin PEG, a partir de las 24 h de incubación. Los tratamientos donde se combinaron ambos forrajes no mostraron diferencias, excepto cuando el nivel de inclusión de la leguminosa fue de 30 %, donde al incluir PEG se incrementó la producción de gas entre las 12 y 24 h.

Tabla 2. Efecto de la interacción entre las dietas evaluadas y la inclusión o no de PEG en la producción de gas *in vitro* (mL g<sup>-1</sup> MO incubada).

Tratamiento	Inclusión de PEG	Horas					
		2	6	12	24	48	72
Albizia	No	12.9 <sup>c</sup>	21.2 <sup>bc</sup>	25.7 <sup>a</sup>	28.4 <sup>a</sup>	34.8 <sup>a</sup>	37.4 <sup>a</sup>
	Sí	11.8 <sup>bc</sup>	19.7 <sup>abc</sup>	27.9 <sup>ab</sup>	37.7 <sup>b</sup>	48.5 <sup>b</sup>	54.7 <sup>b</sup>
Pasto estrella	No	9.3 <sup>a</sup>	18.8 <sup>ab</sup>	33.4 <sup>c</sup>	64.3 <sup>d</sup>	80.6 <sup>cd</sup>	87.3 <sup>cd</sup>
	Sí	12.0 <sup>bc</sup>	22.1 <sup>c</sup>	38.5 <sup>d</sup>	73.3 <sup>e</sup>	92.8 <sup>e</sup>	101.7 <sup>e</sup>
Pasto estrella + Albizia (15%)	No	10.8 <sup>abc</sup>	19.7 <sup>abc</sup>	32.6 <sup>bc</sup>	63.7 <sup>d</sup>	83.6 <sup>d</sup>	92.5 <sup>d</sup>
	Sí	10.5 <sup>ab</sup>	18.7 <sup>ab</sup>	31.4 <sup>bc</sup>	62.6 <sup>d</sup>	82.7 <sup>d</sup>	90.5 <sup>cd</sup>
Pasto estrella + Albizia (30%)	No	10.4 <sup>ab</sup>	18.2 <sup>a</sup>	27.6 <sup>ab</sup>	53.7 <sup>c</sup>	73.7 <sup>c</sup>	83.2 <sup>c</sup>
	Sí	10.1 <sup>ab</sup>	19.4 <sup>abc</sup>	31.7 <sup>bc</sup>	60.4 <sup>d</sup>	80.0 <sup>cd</sup>	89.2 <sup>cd</sup>
EE (±)		1.34	2.17	7.42	11.05	19.17	23.12
Significación		*	*	*	*	*	*

Las letras se corresponden a diferencias significativas entre medias de una misma columna ( $P < 0.05$ ) \*  $P < 0.05$

La presencia de taninos se asocia con menor disponibilidad biológica de varios nutrientes (Makkar *et al.* 1995) porque forman complejos con las proteínas, la fibra y otras macromoléculas e iones metálicos mediante puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas, enlaces iónicos y enlaces covalentes (Schofield *et al.* 2001). La unión del PEG con los taninos libera esos nutrientes, y estos pueden ser fermentados por los microorganismos ruminales.

La acción del PEG en los taninos libres también puede eliminar o reducir la actividad antimicrobiana de estos compuestos y las afectaciones en las primeras fases del crecimiento de determinados grupos microbianos importantes, como los celulolíticos (McSweeney *et al.* 2001a). El incremento en la adherencia microbiana al alimento y la producción de gas con la inactivación de estos compuestos (Bento *et al.* 2005) pueden estar relacionados con el aumento en la producción de ácidos grasos volátiles, cambios en las proporciones molares en que se producen estos ácidos o con la combinación de ambas cosas (Blümmel y Ørskov 1993). Sin embargo, el estudio del efecto de los taninos en los microorganismos del rumen es muy complejo y pocas veces concluyente, ya que se trata de un ecosistema en el que conviven e interaccionan distintas poblaciones microbianas que pueden diferir, ampliamente, en su grado de tolerancia a estos compuestos (McSweeney *et al.* 2001a y b).

El efecto de los taninos en *A. lebbekoides* ha sido referido en trabajos anteriores (Rodríguez 2004 y Rodríguez *et al.* 2008). Aunque no es usual su estudio, se conoce la presencia de taninos en gramíneas (Herrera 2006) y existen informes de la presencia de estos compuestos en plantas del género *Cynodon* (Muñoz y Gutiérrez 2007), así como de otros metabolitos secundarios activos (Sindhu *et al.* 2009).

En la tabla 3 se muestran los parámetros cinéticos de la fermentación *in vitro* de los ocho tratamientos. El potencial de producción de gas de albizia fue menor que el del pasto estrella, y al incluir la leguminosa, al 15 como al 30 %, se redujo el potencial de producción de gas de la dieta, lo que está relacionado con la sustitución de un material más fermentable por uno menos fermentable (tabla 2). Además, la inclusión de albizia como suplemento mostró una tendencia a disminuir la tasa fraccional de producción de gas, a medida que se incrementó el nivel de inclusión. Estos resultados podrían estar relacionados con los altos contenidos de taninos condensados totales de esta leguminosa (Rodríguez 2004).

La fase Lag tendió a disminuir a medida que se incrementó el nivel de inclusión de la leguminosa. Esta fase Lag se caracteriza por la identificación o

Tabla 3. Parámetros cinéticos de los tratamientos evaluados.

Tratamientos	Inclusión de PEG	Parámetros cinéticos ( $\pm$ EE)			R <sup>2</sup>
		D	c	L	
Albizia	No	38.7 (0.93)	0.034 (0.006)	-16.8 (4.84)	96.7
	Sí	56.6 (0.70)	0.037 (0.003)	-5.3 (1.24)	99.4
Pasto estrella	No	88.4 (0.96)	0.055 (0.004)	1.7 (0.69)	99.3
	Sí	103.3 (1.15)	0.051 (0.003)	1.3 (0.73)	99.4
Pasto estrella + Albizia (15%)	No	94.5 (1.14)	0.047 (0.003)	1.3 (0.78)	99.4
	Sí	92.3 (1.13)	0.049 (0.003)	1.6 (0.77)	99.3
Pasto estrella + Albizia (30%)	No	85.9 (1.21)	0.042 (0.003)	0.8 (0.40)	99.4
	Sí	91.4 (1.07)	0.045 (0.003)	1.0 (0.36)	99.5

reconocimiento, adaptación y preparación de la maquinaria enzimática de los microorganismos para crecer y utilizar el sustrato disponible en una nueva condición ambiental que se le impone (Yoon y Stern 1995). Los bajos valores de la fase Lag en la cinética de fermentación de la leguminosa pueden responder, en parte, a la disponibilidad de nutrientes de fácil fermentación o a una rápida adaptación de los microorganismos al forraje ofrecido. Esto justifica fases Lag muy breves, cercanas a cero, que el paquete informático puede ajustar a valores negativos. Este artificio matemático también se ha constatado en dietas con elevados ritmos fraccionales de fermentación (González-Ronquillo *et al.* 1998 y Rodríguez 2004).

En cuanto a la influencia de la inactivación de los taninos con el PEG en los parámetros cinéticos de la fermentación, los mayores efectos estuvieron en el incremento del potencial de producción de gas (D) en los tratamientos donde se incubaron los forrajes solos. También la tasa fraccional de producción de gas se incrementó con la inclusión del PEG, con excepción de los tratamientos de pasto estrella, con PEG y sin él. Sin embargo, la fase Lag solo mostró tendencia a disminuir con la inclusión del PEG en el pasto estrella, aspecto que coincide con el efecto de los taninos del pasto estrella en la producción de gas a las 2 h de incubación, y podría estar relacionado con la mayor incidencia de estos compuestos secundarios en la fermentación de los nutrientes solubles de la gramínea o en el proceso de colonización inicial de la fracción insoluble del sustrato. El resto de los tratamientos mostraron una tendencia a incrementar su fase Lag, aunque en todos los casos fue menor a las dos horas de incubación.

Trabajos previos reconocen que los taninos reducen la tasa fraccional y el potencial de producción de gas (Makkar *et al.* 1995 y Hervas *et al.* 2000) y que la adición de PEG incrementa ambos indicadores de la

fermentación ruminal (Mbugua *et al.* 2008). Sin embargo, Getachew *et al.* (2008) encontraron que el ácido gálico y el ácido tánico reducen la tasa fraccional de la fermentación, pero incrementan el potencial de producción de gas. Estos autores plantearon que las diferencias en el efecto de los taninos en los parámetros cinéticos se pueden atribuir a las características intrínsecas de los forrajes evaluados. La extensión del efecto de estos compuestos polifenólicos en la fermentación dependerá también de la cantidad y la estructura de los taninos de cada especie vegetal, debido a que la actividad biológica de estos compuestos es dependiente de estos dos aspectos (Patra y Saxena 2009).

No se encontró interacción entre los factores evaluados en la DAIVMS ( $P=0,1305$ ) ni hubo efecto del factor inclusión de PEG ( $P=0,3556$ ). Al inactivar los taninos a través del PEG, se debe incrementar la disponibilidad de nutrientes (MO fermentable) y decrecer la inhibición microbiana que ejercen estos compuestos, lo que sustentaría la suposición de que se debe incrementar la degradabilidad del sustrato. Sin embargo, la falta de respuesta al PEG en la DAIVMS ya ha sido informada por otros autores (Jones *et al.* 2000 y Tiemann *et al.* 2008). Se conoce que los complejos PEG-taninos son insolubles en la mayoría de los solventes convencionales, precipitan con el residuo sólido de la fermentación, afectan las determinaciones gravimétricas y hacen que se subestime el valor real de la desaparición de sustrato por acción de la fermentación microbiana. Según Jones y Palmer (2000), este efecto es mayor en aquellas especies con mayores contenidos de taninos.

En la tabla 4 se muestran las diferencias en DAIVMS de las dietas que se evaluaron ( $P < 0.001$ ). Albizia fue la especie de menor degradabilidad aparente y el pasto estrella la de mayor DAIVMS. Se observó que a medida que se incrementó el nivel del albizia, disminuyó la degradabilidad aparente de la dieta. Rodríguez (2004) informó una baja DAIVMS de albizia a las 24 h de incubación (6.4 %), que en el presente trabajo es consistente con la baja producción de gas y el bajo potencial fermentativo de esta especie (tablas 2 y 3). Además, se debe destacar que en todos los casos la DAIVMS fue baja, lo cual se puede deber a la relación inversa que existe entre los contenidos de FND, lignina y compues-

tos fenólicos con la digestibilidad (Ammar *et al.* 2005 y Sallam *et al.* 2010).

En muchos estudios se asume que existe una relación directa entre la tasa fraccional y extensión de la producción de gas, y la tasa fraccional y extensión de la degradación del forraje. Sin embargo, los conceptos actuales de la nutrición tienen en cuenta que la biomasa microbiana es también un producto de la fermentación, que su proporción no es constante, debido a que depende del rendimiento microbiano por mole de ATP generado durante la fermentación ( $Y_{ATP}$ ), y que existe una relación inversa entre la producción de gas (y por tanto de AGV) y la de biomasa microbiana por unidad de materia orgánica verdaderamente fermentable (Makkar 2005). Por ello, en posteriores trabajos se debe incluir la determinación de la biomasa microbiana, para evitar seleccionar forrajes o dietas en contra de la máxima síntesis de biomasa microbiana.

Se concluye que la inclusión de dos niveles de *Albizia lebbekoides* no afectó la fermentación de la dieta a base *Cynodon nlemfuensis*, excepto al nivel de 30 %, entre las 12 y 24 h de incubación. Sin embargo, sí afectó los indicadores cinéticos potencial de producción de gas, tasa fraccional y fase Lag. Los taninos de ambas especies vegetales afectaron la producción de gas e influyeron en los parámetros cinéticos de la fermentación.

## Referencias

- Ammar, H., Lopez, S. & González, J.S. 2005. Assessment of the digestibility of some Mediterranean shrubs by *in vitro* techniques. *Anim. Feed Sci. Tech.* 119: 323
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> Ass. Off. Agric. Chem. Washington, D.C.
- Balzarini, G.M., Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., González, L.A. & Robledo, C.W. 2001. Infostat. Oftware estadístico. Manual de Usuario. Córdoba, Argentina
- Ben Salem, H., Saghrouni, L. & Nefzaoui, A. 2005. Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Anim. Feed Sci. Tech.* 122: 109
- Bento, M.K.L., Acamovic, T. & Makkar, H.P.S. 2005. The influence of tannin, pectin and polyethylene glycol on attachment of 15N-labelled rumen microorganisms to cellulose. *Anim. Feed Sci. Tech.* 122: 41
- Blümmel, M. & Orskov, E. R. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughage in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Tech.* 40: 109
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1
- Getachew, G., Pittrof, W., Putnam, D.H., Dandekar, A., Goyal, S. & De Peters, E.J. 2008. The influence of addition of gallic acid, tannic acid, or quebracho tannins to alfalfa hay on *in vitro* rumen fermentation and microbial protein synthesis. *Anim. Feed Sci. Tech.* 140: 444
- González-Ronquillo, M., Fondevila, M., Barrios Urdaneta, A. & Newman, Y. 1998. *In vitro* gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Anim. Feed Sci. Tech.* 72: 19
- Herrera, R.S. 2006. Fisiología, calidad y muestreos. En: Pastos tropicales. Tomo I. Eds. R.S. Herrera, I.D. Rodríguez & G.J.

Tabla 4. Comportamiento de la DAIVMS (%) de los tratamientos evaluados.

Dieta evaluada	DAIVMS (%)
Albizia	13.8 <sup>a</sup>
Pasto estrella	40.1 <sup>d</sup>
Pasto estrella + Albizia (15%)	37.1 <sup>c</sup>
Pasto estrella + Albizia (30%)	32.3 <sup>b</sup>
EE (±)	0.71
Significación	***

Las letras se corresponden a diferencias significativas entre medias ( $P < 0.05$ ). \*\*\*  $P < 0.001$

- Febles. Instituto de Ciencia Animal, La Habana. Cuba. pp. 86-87
- Hervas, G., Frutos, P., Serrano, E., Mantecon, A.R. & Giraldez, F.J. 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *J. Agric. Sci.* 135: 305
- Jones, R.J., Meyer, J.H.F., Bechaz, M. & Stoltz, M.A. 2000. An approach to screening potential pasture species for condensed tannin activity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85: 269
- Jones, R.J. & Palmer, B. 2000. *In vitro* digestion studies using <sup>14</sup>C-labelled polyethylene glycol (PEG) 4000: comparison of six tanniniferous shrub legumes and the grass *Panicum maximum*. *Anim. Feed Sci. Tech.* 85: 215
- Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H. & Menke, K.H. 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements *in vitro*. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65: 28
- Makkar, H.P.S. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Anim. Feed Sci. Tech.* 124: 291
- Makkar, H.P.S., Blummel, M. & Becker, K. 1995. *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 69: 481
- Mbugua, D.M., Kiruiro, E.M. & Pell, A.N. 2008. *In vitro* fermentation of intact and fractionated tropical herbaceous and tree legumes containing tannins and alkaloids. *Anim. Feed Sci. Tech.* 146: 1
- McSweeney, C.S., Palmer, B., Bunch, R. & Krause, D.O. 2001a. Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *J. Appl. Microbiol.* 90: 78
- McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., Bunch, R. & Krause, D.O. 2001b. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci. Tech.* 91: 83
- Milera, M.C., Hernández, D., Lamela, L., Senra, A., López, O. & Martín, G. 2006. Sistemas de producción de leche. En: Recursos Forrajeros: Herbáceos y Arbóreos. Eds. Milera, M.C. Ed. Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. pp. 341-376
- Muetzel, S. & Becker, K. 2006. Extractability and biological activity of tannins from various tree leaves determined by chemical and biological assays as affected by drying procedure. *Anim. Feed Sci. Tech.* 125: 139
- Muñoz, G.S. & Gutiérrez, D.M. 2007. Rastreo de taninos en 14 malezas usadas como forrajes en el estado de Querétaro. Memorias del Programa Verano de la Ciencia 2007. Universidad de Querétaro. Disponible: [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/43\\_6UAQMunozTavera.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/43_6UAQMunozTavera.pdf). Consultado: 6 de febrero de 2010.
- Patra, A.H. & Saxena, J. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek* 96: 363
- Raghuvansi, S.K.S., Prasad, R., Mishra, A.S., Chaturvedi, O.H., Tripathi, M.K., Misra, A.K., Saraswat, B.L. & Jakhmola, R.C. 2007. Effect of inclusion of tree leaves in feed on nutrient utilization and rumen fermentation in sheep. *Bioresource Tech.* 98: 511
- Ramírez-Restrepo, C.A. & Barry, T.N., 2005. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Anim. Feed Sci. Tech.* 120: 179
- Rodríguez, R. 2004. Uso de la técnica de producción de gas *in vitro* en la valoración nutritiva de *Leucaena leucocephala*, *Albizia lebbekoides*, *Acacia cornigera* y *Enterolobium cyclocarpum*. Tesis de Maestría. Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana. Cuba
- Rodríguez, R., García, C.C., Oramas, A., Hernández, Y. & Domínguez, M. 2008. Empleo del polietilenglicol y la zeolita para mejorar el valor nutritivo de *Albizia lebbekoides* en condiciones *in vitro*. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 42:259
- Rodríguez, R., Mota, M., Fondevila, M. & de la Fuente, G., 2006. *In vitro* fermentation of four tropical browse legumes: estimation of the effect of tannins by gas production. En: *Herbivores - Assessment of intake, digestibility and the roles of secondary compounds*. Eds. C.A. Sandoval-Castro, F.D. Hovell, J.F.J. Torres-Acosta y A. Ayala-Burgos. BSAS Occasional publication No. 34, Nottingham University Press, Nottingham. UK. Pp. 101-107
- Sallam, S.M.A., Bueno, I.C.S., Godoy, P.B., Nozella, E.F., Vitti, D.M.S.S. & Abdalla, A.L. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12: 1
- Schofield, P., Mbugua, D.M. & Pell, A.N. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 91: 21
- Sindhu, G., Ratheesh, M., Shyni, G.L. & Helen, A. 2009. Inhibitory effects of *Cynodon dactylon* L. on inflammation and oxidative stress in adjuvant treated rats. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 31: 647
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feed. *Anim. Feed Sci. Tech.* 48: 185
- Tiemann, T.T., Avila, P., Ramírez, G., Lascano, C.E., Kreuzer, M. & Hess, H.D. 2008. *In vitro* ruminal fermentation of tanniniferous tropical plants: Plant-specific tannin effects and counteracting efficiency of PEG. *Anim. Feed Sci. Tech.* 146: 222
- Van Soest, P.J. Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583
- Yoon, I.K. & Stern, M.D. 1995. Influence of direct fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: a review. *AJAS.* 8: 533

**Recibido: 16 de junio de 2009**