

## EVOLUCIÓN ANUAL DEL CONTENIDO DE TANINOS DEL BREZO (*ERICA VAGANS*) Y RELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS INDICATIVOS DE SU VALOR NUTRITIVO

G. Hervás\*, N. Mandaluniz\*\*, L.M. Oregui\*\*,  
A.R. Mantecón\*, P. Frutos<sup>1,\*</sup>

\* Estación Agrícola Experimental (CSIC). Apdo. 788,  
24080 León, España

\*\* NEIKER. Granja Modelo Arkaute, Apdo. 46,  
01080 Vitoria-Gazteiz, España

### RESUMEN

Este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de estudiar el contenido de taninos de *Erica vagans*, su variación a lo largo del año y su relación con otros parámetros indicativos del valor nutritivo de este arbusto. Para ello, se realizaron cinco muestreos en el Parque Natural de Gorbeia: mayo, julio, agosto y septiembre de 2001 y enero de 2002 y se analizó su composición química y las características de producción de gas in vitro, en presencia y ausencia de polietilenglicol (PEG; como indicativo del efecto negativo de los taninos sobre la producción de gas e, indirectamente, sobre la fermentación ruminal). El contenido de taninos, elevado en términos generales, fue más alto en las muestras más jóvenes de *Erica vagans*, con un valor medio de prácticamente el 12% de la MS (expresado en equivalentes de ácido tánico), se mantuvo en los muestreos de julio y agosto y decreció en los dos siguientes hasta llegar a un valor mínimo del 5,7% en las muestras de enero ( $P < 0,01$ ). Los mayores contenidos de cenizas y PB se observaron en mayo, en tanto que los contenidos de FND, FAD y LAD fueron más elevados al final de la estación de pastoreo ( $P < 0,001$ ). El ritmo fraccional de producción de gas (*c*) mostró una tendencia ( $P < 0,10$ ) a ser más bajo en los dos primeros muestreos y más alto en el de enero, mientras que el tiempo de retraso (*L*) mostró la tendencia contraria, lo cual concuerda con la evolución del contenido de taninos. Ni a tiempos cortos, ni a tiempos muy largos de incubación in vitro se observaron correlaciones significativas entre el contenido de taninos, determinado químicamente, y las diferencias entre los tratamientos "sin" y "con" PEG. Las correlaciones más altas entre estos datos se obtuvieron a tiempos de incubación medios (20, 25 y 30 horas;  $P < 0,05$ ).

**Palabras clave:** Arbustos, *Erica vagans*, Fermentación ruminal, Polietilenglicol, Producción de gas, Taninos.

### SUMMARY

ANNUAL EVOLUTION OF TANNIN CONTENT OF CORNISH HEATH (*ERICA VAGANS*) AND ITS RELATIONSHIP WITH OTHER NUTRITIVE VALUE INDICATORS

This work was carried out with the aim of studying the tannins content of *Erica vagans*, its variation along the year and its relationship with other indicators of the

---

1. Autora a la que debe dirigirse la correspondencia (p.frutos@eae.csic.es).

nutritive value of this shrub. Shoots were harvested in Gorbeia Natural Park in May, July, August and September 2001 and January 2002. Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics, in the presence or absence of polyethylene-glycol (PEG; as an indicator of tannins detrimental effects on gas production and, indirectly, on ruminal fermentation), were evaluated. Tannins content, which was high in general, was greater in the samples collected in May, with an average value of approx. 12% DM (expressed in tannic acid equivalents), did not change in July and August samplings and decreased up to a minimum value of 5.7% in samples gathered in January ( $P < 0.01$ ). The highest contents of ash and crude protein were observed in May, while contents of neutral detergent fibre, acid detergent fibre and acid detergent lignin increased throughout the grazing season ( $P < 0.001$ ). The fractional rate of gas production ( $c$ ) showed a tendency ( $P < 0.10$ ) to be lower in samples collected in May and July and higher in those collected in January, whereas the lag time ( $L$ ) showed the opposite trend, which is in agreement with the evolution of the tannins content. Neither at short nor at long incubation times, significant correlations between tannins content (determined by a chemical assay) and differences in *in vitro* gas production between treatments "without" and "with" PEG were observed. The best correlations between these parameters were obtained when incubations lasted for 20, 25 and 30 hours ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** Shrubs, *Erica vagans*, Ruminal fermentation, Polyethylene-glycol, Gas production, Tannins.

## Introducción

La utilización de los pastos de montaña, mediante un sistema de transterminancia valle-monte, es una de las características de los sistemas de producción tradicionales del País Vasco (URARTE *et al.*, 1989; OREGUI *et al.*, 1997). Tanto en el caso del ovino, como del vacuno y el equino, el uso de estas zonas se realiza mediante pastoreo, en un régimen mixto y no dirigido (RUIZ *et al.*, 1998). En estas condiciones, se ha observado que el ganado vacuno incorpora una cantidad significativa de arbustos, principalmente brezo (*Erica vagans*) a la dieta (MANDALUNIZ *et al.*, 2000). Esto sucede fundamentalmente en la segunda mitad del período de pastoreo, a partir de agosto-septiembre, coincidiendo con la reducción en la producción herbácea (ALBIZU *et al.*, 1999).

En general, las especies arbustivas que constituyen el matorral son alimentos fibro-

sos con un contenido relativamente alto de proteína bruta (JONES y WILSON, 1987; ÁLVAREZ DEL PINO, 2002; FRUTOS *et al.*, 2002). Sin embargo, a pesar de su potencial como fuente de alimento, la mayor parte de los arbustos contienen cantidades elevadas de compuestos secundarios, tales como los taninos, que, *a priori*, se habrían desarrollado en las plantas como un mecanismo de defensa frente a su consumo excesivo por los herbívoros (PALO y ROBBINS, 1991).

Los taninos son un grupo muy complejo de compuestos fenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en numerosas especies vegetales generalmente consumidas por los rumiantes (McLEOD, 1974). Desde el punto de vista químico es difícil conseguir una definición rigurosa, debido a su gran diversidad estructural. En general, su principal característica funcional es la capacidad para unirse a las proteínas, aunque también pueden hacerlo a otras moléculas, tales como

polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, iones metálicos, etc. (MUELLER-HARVEY y McALLAN, 1992). En este sentido, podría considerarse un tanino “cualquier compuesto fenólico de suficiente peso molecular y que contenga suficientes grupos hidroxilo para formar complejos con proteínas y otras macromoléculas” (VAN SOEST, 1994).

Aunque inicialmente se pensó que los taninos ejercían efectos necesariamente negativos sobre los animales que los consumían, los trabajos más recientes (básicamente de la década de los 90 y posteriores; por ejemplo AERTS *et al.*, 1999 o BARRY y McNABB, 1999) destacan la importancia de tener en cuenta su contenido en las plantas a la hora de valorar sus efectos. De modo muy general, contenidos elevados reducirían la ingestión voluntaria, la degradación de la fibra, la digestibilidad de la dieta, etc., en tanto que contenidos moderados de taninos podrían ejercer efectos beneficiosos sobre los animales que los consumen, tales como reducir la degradación de la proteína de la dieta y conseguir así un mayor aporte de aminoácidos al intestino delgado o prevenir la aparición de timpanismo (McMAHON *et al.*, 1999; FRUTOS *et al.*, 2000; HERVÁS *et al.*, 2000; HERVÁS *et al.*, enviado).

El experimento que aquí se describe se llevó a cabo para estudiar el contenido de taninos de la especie arbustiva con más presencia en la zona de estudio, *Erica vagans*, su variación a lo largo del año y su relación con otros parámetros indicativos de su valor nutritivo.

## Material y métodos

### Recogida de muestras

La recogida de muestras se llevó a cabo en una zona de pastos comunales del Parque

Natural del Gorbeia (País Vasco), denominada Aldamiñape, entre mayo de 2001 y enero de 2002. Esta zona se encuentra entre 820-1.090 m de altitud, presenta un tercio de su superficie cubierta por arbolado y el resto corresponde a un pasto de puerto dominado por *Agrostis capillaris* y *Festuca gr rubra*. Varias áreas de estos pastos se encuentran invadidas, en distintas proporciones, por brezo (*Erica* spp.), argoma (*Ulex europaeus*) y helecho (*Pteridium aquilinum*). Una mayor descripción de las características y disponibilidad vegetal de la zona ha sido realizada por ALBIZU *et al.* (1999).

Los muestreos, cinco en total, se distribuyeron a lo largo del año en función del estado fenológico de los arbustos: (i) mayo de 2001, cuando los arbustos contaban con un 90% de brotes verdes en su superficie, (ii) julio de 2001, cuando contaban con, aproximadamente, entre un 5 y un 10% de botones florales, (iii) agosto de 2001, cuando los arbustos contenían entre el 10 y 20% de flores, (iv) septiembre de 2001, momento en que el 80% de las flores estaban muertas y (v) enero de 2002, con el 100% de las flores muertas y la planta en estado de latencia.

En cada uno de los muestreos detallados en el párrafo anterior, se tomaron dos muestras (que serían usadas como réplicas en los análisis estadísticos). Cada uno de estas dos muestras, estaba compuesta por 3-5 individuos. Las muestras se recogieron, mediante corte con tijera, de la parte supuestamente ramoneable de los arbustos, que correspondió, aproximadamente, a los 2-4 cm del extremo apical de las ramas. Una vez recogidas, las muestras se trasladaron al laboratorio, donde fueron inmediatamente congeladas a -30°C y posteriormente liofilizadas. A continuación, cada una de estas fracciones se molió en un molino de martillos provisto de una malla de 1 mm de diámetro de paso.

## Análisis químicos

Los análisis de cenizas y nitrógeno Kjeldahl se realizaron de acuerdo con los procedimientos descritos por la AOAC (1999). Los contenidos de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se determinaron en un analizador de fibra Ankom<sup>220</sup>, siguiendo los principios básicos de la técnica de GOERING y VAN SOEST (1970).

El contenido de taninos de cada muestra se determinó según el método del Folin-Ciocalteu, descrito por Makkar que permite la determinación del contenido de taninos totales, gracias a la oxidación de todos los compuestos fenólicos que produce el reactivo Folin-Ciocalteu. De modo muy resumido, el procedimiento (MAKKAR *et al.*, 1993) fue el siguiente. Después de varios lavados de aproximadamente 200 mg de muestra (siempre por triplicado) con una solución de éter dietílico y ácido acético, para eliminar los pigmentos y lípidos de las muestras, se extrajeron los fenoles totales con 10 ml de acetona al 70%, se trataron con reactivo Folin-Ciocalteu y su absorbancia se leyó en un espectrofotómetro a 725 nm. Este extracto contiene todos los fenoles, es decir, tanto los taninos como los fenoles de bajo peso molecular (fenoles simples). A continuación, dicho extracto se trató con polivinilpirrolidona, que provoca la precipitación de los taninos, quedando en el sobrenadante solamente los fenoles simples a los que, a su vez, se añadió el reactivo Folin-Ciocalteu y se leyó su absorbancia. La cantidad de taninos totales es la diferencia entre los valores de fenoles totales y fenoles simples de cada muestra, y se expresa en "g de equivalentes de ácido tánico/100 g MS", ya que este compuesto (ácido tánico, Merck) fue el estándar utilizado para los análisis.

## Producción de gas y degradación ruminal in vitro

Como parámetros indicativos del proceso de degradación ruminal de las muestras de *Erica vagans*, se estudiaron las características de producción de gas in vitro, utilizando para ello la técnica descrita por MAURICIO *et al.* (1999).

Tres alícuotas de aproximadamente 500 mg de cada muestra de *E. vagans* se pesaron en botellas de suero de 125 ml. El día anterior al comienzo de la prueba de producción de gas, se preparó el medio de incubación (McDOUGALL, 1948), del cual se dosificaron 40 ml en cada una de las botellas. Éstas se cerraron y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta que 6 horas antes de la dosificación del inóculo ruminal se calentaron a 39,5°C.

El inóculo ruminal para las incubaciones (10 ml por botella) se obtuvo de cuatro ovejas adultas de raza Merina, fistuladas en el rumen y alimentadas *ad libitum* con un heno de alfalfa (materia seca (MS) = 889 g/kg; proteína bruta (PB) = 169 g/kg MS; FND = 448 g/kg MS). El fluido ruminal se recogió antes de que las ovejas recibieran la comida de la mañana (8.00 h) y, una vez filtrado a través de 2 capas de gasa, se transportó al laboratorio en un termo precalentado y gaseado con CO<sub>2</sub>. En el laboratorio, el inóculo se volvió a filtrar, a través de otras dos capas de gasa y en condiciones de anaerobiosis, y se introdujo en un baño de agua a 39-40°C. Los 10 ml de fluido ruminal se inyectaron en cada botella por medio de agujas que permitían la salida del gas producido en la inyección. A continuación, se retiraron las agujas y las botellas se introdujeron en un incubador a 39,5°C.

Las lecturas de presión se realizaron a las 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 36, 48, 72, 96 y 120 horas post-incubación. Para ello, se utilizó un transductor de presión T443A (BAILEY &

MACKEY, Reino Unido) conectado a una salida visual (Data Track Process Instruments 223, Reino Unido). Las botellas se agitaron individualmente después de cada lectura. A partir de los valores de presión obtenidos, corregidos tanto para la cantidad de materia orgánica (MO) incubada como para la producción de gas de las botellas control (blancos con medio de incubación e inóculo ruminal pero sin alimento), se estimó el volumen de gas producido mediante la utilización de una ecuación de regresión lineal entre el volumen y la presión (FRUTOS *et al.*, 2002): volumen (ml) = 5,3407 × presión (psi).

A las 120 horas post-incubación, se midió también la desaparición de sustrato (MS y MO) para estimar la degradación ruminal de las muestras incubadas. Para ello, se detuvo la fermentación mediante la introducción de las botellas en una cámara de congelación (-20°C) durante aproximadamente 15 minutos. Transcurrido este tiempo, las muestras se filtraron en crisoles de porosidad 1 (100 - 160 µm; Pyrex, Reino Unido), con la ayuda de una bomba de vacío y un baño de ultrasonidos cuando éste fue necesario. La desaparición de la MS (DMS) se estimó mediante el secado de los crisoles en una estufa de aire forzado a 100°C durante 24 horas y la desaparición de la MO (DMO) mediante la incineración de éstos en un horno-mufla a 550°C durante 6 horas.

### Producción de gas en presencia y ausencia de PEG

Como método alternativo al análisis químico (cuantitativo) de taninos, se utilizó la técnica de producción de gas en ausencia y presencia de polietilenglicol (PEG). La diferencia en la producción de gas entre las incubaciones "sin" y "con" este agente, es una medida indirecta de la inhibición de la fermentación ruminal causada por los taninos (SILANIKOVE *et al.*, 1996).

El procedimiento fue el mismo descrito en el apartado anterior, con la única diferencia de que, además de los 500 mg de sustrato, en las botellas se pesaron también 1.000 mg de PEG (Fluka Biochemika). Estas incubaciones ("con" PEG) se llevaron a cabo a la vez que aquellas "sin" PEG, usando el mismo inóculo ruminal, compartiendo incubadores, etc.

### Análisis estadístico

Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo exponencial descrito por FRANCE *et al.* (2000):  $G = A \times (1 - e^{-(c \times (t-L))})$ , siendo  $G$  la tasa de producción de gas en el tiempo  $t$ ,  $A$  la producción total de gas,  $c$  el ritmo fraccional de producción de gas y  $L$  el tiempo de retraso (*lag time*).

Para la realización de los ajustes matemáticos se utilizó el procedimiento NLIN (Nonlinear Regression) del programa estadístico SAS (SAS, 1989).

La degradabilidad efectiva en el rumen (DER) de la MS y el ritmo medio de fermentación (RMF) se calcularon de acuerdo con las ecuaciones descritas por FRANCE *et al.* (2000):  $DER = (c \times DMS / (c + Kp)) \times e^{-(Kp \times L)}$  y  $RMF = A \times c / (2 \times \ln 2 + c \times L)$ , considerando un ritmo de paso del rumen al abomaso ( $Kp$ ;  $h^{-1}$ ) de 0,0208.

Todos los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de acuerdo con el siguiente modelo:  $Y_{ij} = \mu + A_i + \epsilon_i$ , siendo  $Y_{ij}$  la variable dependiente,  $\mu$  la media,  $A_i$  el efecto debido a la fecha de muestreo y  $\epsilon_i$  el error residual.

En todos los casos, el análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando el procedimiento GLM (General Linear Models) del programa estadístico SAS (SAS, 1989). Las comparaciones entre medias se realizaron mediante el test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Para el análisis de correlación (correlación de Pearson) entre los contenidos de taninos y otros parámetros de composición química, degradación ruminal o diferencias entre los tratamientos "sin" y "con" PEG se utilizó también el programa estadístico SAS (SAS, 1989).

En cambio, los contenidos de FND, FAD y LAD fueron menores en estas muestras y mayores al final de la estación de pastoreo ( $P < 0,001$ ). En ninguno de estos casos, los valores de las muestras recogidas en enero de 2002 fueron significativamente diferentes de las recogidas en septiembre de 2001.

## Resultados

### Composición química

El contenido de cenizas y de PB fue significativamente superior en las muestras recogidas en el primer muestreo ( $P < 0,01$ ; cuadro 1).

El contenido de taninos totales (TT), de forma más o menos paralela al de fenoles totales, fue más elevado en las muestras de *Erica vagans* recogidas en mayo (119 g de equivalentes de ácido tánico/kg MS) y significativamente inferior en las de septiembre y enero (85 y 57 g de equivalentes de ácido tánico/kg MS, respectivamente;  $P < 0,01$ ).

Cuadro 1. Composición química (g/kg MS) de las muestras de *Erica vagans* recogidas en diferentes momentos del año

Table 1. Chemical composition (g/kg MS) of *Erica vagans* harvested in May, July, August, September and January

	Mayo	Julio	Agosto	Septiembre	Enero	eed (gl = 5)	Nivel de significación
MO	967 <sup>b</sup>	975 <sup>a</sup>	973 <sup>a</sup>	972 <sup>a</sup>	977 <sup>a</sup>	1,2	**
PB	134 <sup>a</sup>	85 <sup>b</sup>	84 <sup>b</sup>	78 <sup>b</sup>	75 <sup>b</sup>	6,9	**
FND	306 <sup>c</sup>	350 <sup>b</sup>	370 <sup>b</sup>	455 <sup>a</sup>	450 <sup>a</sup>	8,1	***
FAD	236 <sup>d</sup>	268 <sup>c</sup>	287 <sup>b</sup>	355 <sup>a</sup>	349 <sup>a</sup>	4,4	***
LAD	139 <sup>b</sup>	154 <sup>b</sup>	159 <sup>b</sup>	198 <sup>a</sup>	192 <sup>a</sup>	5,1	***
FT	135 <sup>a</sup>	127 <sup>ab</sup>	133 <sup>a</sup>	101 <sup>ab</sup>	79 <sup>b</sup>	11,8	*
TT	119 <sup>a</sup>	107 <sup>ab</sup>	108 <sup>ab</sup>	85 <sup>bc</sup>	57 <sup>c</sup>	8,2	**

(MO) materia orgánica.

(PB) proteína bruta.

(FND) fibra neutro detergente.

(FAD) fibra ácido detergente.

(LAD) lignina ácido detergente.

(FT) fenoles totales

(TT) taninos totales.

(eed) error estándar de la diferencia; gl, grados de libertad.

(\*) =  $P < 0,05$ .

(\*\*) =  $P < 0,01$ .

(\*\*\*) =  $P < 0,001$ .

(<sup>a, b, c, d</sup>) Valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

## Producción de gas y degradación ruminal in vitro

Las curvas de producción de gas in vitro de las muestras de *Erica vagans* recogidas en los diferentes muestreos realizados a lo largo del año, aparecen en la figura 1a. Cuando los datos brutos de producción de gas se ajustaron al modelo exponencial descrito por FRANCE *et al.* (2000), no se encontró ninguna diferencia entre muestreos en la producción acumulada de gas (parámetro A;  $P > 0,10$ ; ver cuadro 2). El ritmo fraccional de producción de gas ( $c$ )

mostró una tendencia ( $P < 0,10$ ) a ser más bajo en los dos primeros muestreos (mayo y julio) y más alto en el de enero. Por su parte, el tiempo de retraso (*lag time*;  $L$ ) mostró la tendencia contraria, es decir, que el número de horas fue mayor en los dos primeros muestreos y luego fue descendiendo ( $P < 0,10$ ).

La desaparición de MS y MO fue significativamente superior en las muestras recogidas en mayo ( $P < 0,01$ ) y no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras recogidas en los otros cuatro muestreos.

Cuadro 2. Parámetros cinéticos de producción de gas ( $A$ ,  $c$  y  $L$ ), ritmo medio de fermentación (RMF; ml/h), degradabilidad efectiva en el rumen (DER; g/kg) de la MS y desaparición, tras 120 h de incubación ruminal in vitro, de materia seca (DMS, g/kg) y de materia orgánica (DMO) de las muestras de *Erica vagans*, recogidas en diferentes momentos del año

Table 2. Kinetic gas production parameters ( $A$ ,  $c$  and  $L$ ), average gas production rate (RMF; ml/h), effective dry matter degradability (DER; g/kg) and dry matter and organic matter disappearance (DMS and DMO) after 120 h of in vitro incubation of *Erica vagans* harvested in May, July, August, September and January

	Mayo	Julio	Agosto	Septiembre	Enero	eed (gl = 5)	Nivel de significación
A	152	136	93	94	101	22,7	NS
$c$	0,029	0,024	0,038	0,038	0,046	0,0056	†
$L$	4,77	5,38	4,28	3,35	2,34	0,877	†
RMF	2,63	1,80	2,04	2,14	2,87	0,314	†
DER	231	175	228	205	233	17,2	†
DMS	444 <sup>a</sup>	380 <sup>b</sup>	387 <sup>b</sup>	342 <sup>b</sup>	356 <sup>b</sup>	13,9	**
DMO	437 <sup>a</sup>	379 <sup>ab</sup>	368 <sup>b</sup>	335 <sup>b</sup>	349 <sup>b</sup>	14,7	**

(A) producción acumulada de gas (ml/g MO).

( $c$ ) ritmo fraccional de producción de gas ( $h^{-1}$ ).

( $L$ ) tiempo de retraso (*lag time*, h).

(eed) error estándar de la diferencia.

(gl) grados de libertad.

(NS) = no significativo ( $P > 0,10$ ).

(†) =  $P < 0,10$ .

(\*\*) =  $P < 0,01$ .

(<sup>a, b</sup>) Valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

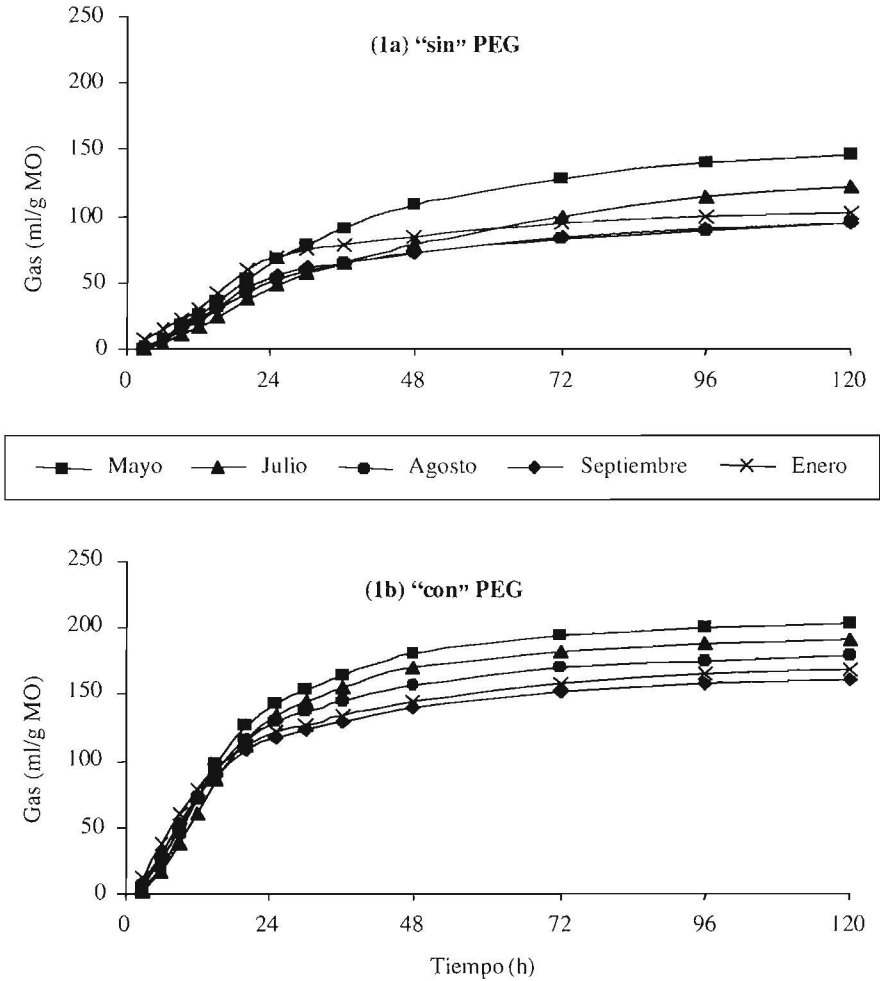


Figura 1. Cinéticas de producción de gas in vitro de las muestras de *Erica vagans*, recogidas en diferentes momentos del año, e incubadas en ausencia (1a) y presencia (1b) de polietilenglicol (PEG).  
Figure 1. Cumulative gas production profiles from the in vitro fermentation of *Erica vagans* harvested in May, July, August, September and January, and incubated "without" (1a) and "with" (1b) polyethylene-glycol (PEG).

**Producción de gas en presencia y ausencia de PEG**

Cuando se compararon los datos de los parámetros de producción de gas in vitro en

presencia y ausencia de PEG (ver figuras 1 y 2 y cuadro 3) se comprobó que éstos eran claramente superiores en todos los casos cuando las incubaciones se habían realizado en presencia de PEG, con la excepción del tiempo de retraso, que era inferior.



Las diferencias entre los parámetros obtenidos de los ajustes de los datos de producción de gas en las incubaciones “sin” y “con” PEG no mostraron variaciones estadísticamente significativas entre muestreos ( $P > 0,10$ ). En el caso de las diferencias en los datos brutos de producción acumulada de gas (dG) a los distintos tiempos de incu-

bación, se observaron diferencias significativas en las medidas realizadas en el rango de tiempos entre las 15 y las 48 horas. Para no sobrecargar el artículo con demasiada información, en el cuadro 3 únicamente aparecen, a modo de ejemplo, los datos correspondientes a  $dG_{12}$ ,  $dG_{25}$ ,  $dG_{48}$  y  $dG_{120}$  horas de incubación.

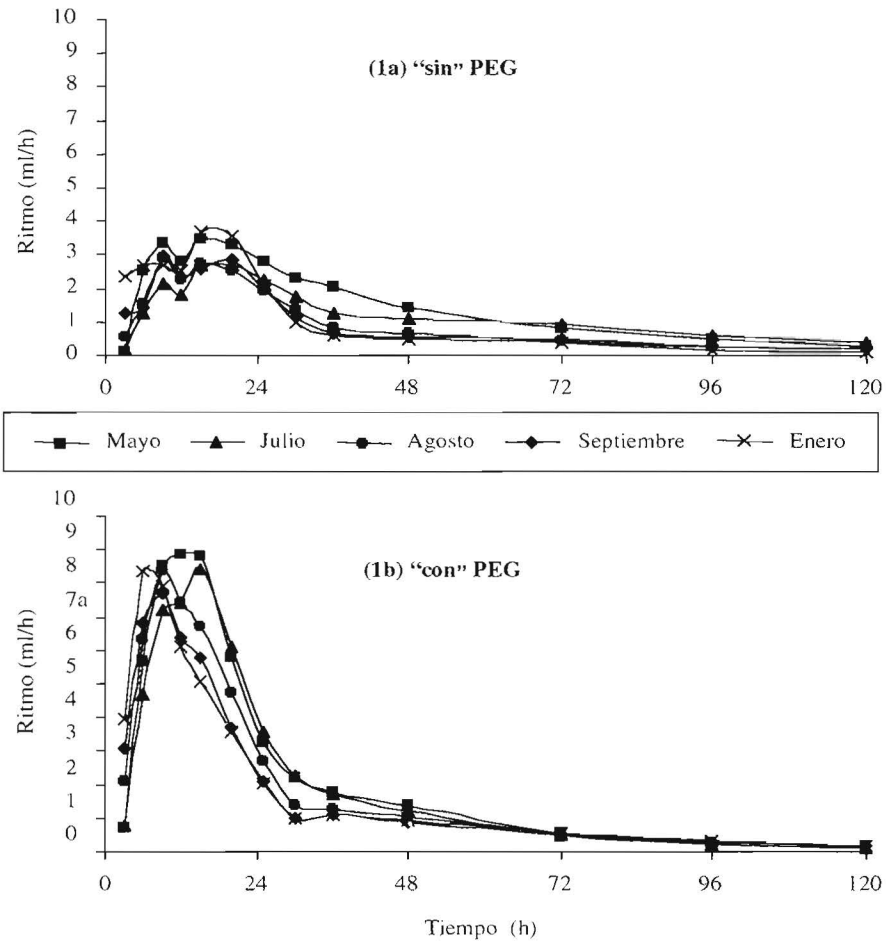


Figura 2. Ritmo de producción de gas in vitro de las muestras de *Erica vagans*, recogidas en diferentes momentos del año, e incubadas en ausencia (2a) y presencia (2b) de polietilenglicol (PEG).  
 Figure 2. Rate of gas production from the in vitro fermentation of *Erica vagans* harvested in May, July, August, September and January, and incubated "without" (2a) and "with" (2b) polyethylene-glycol (PEG).

Cuadro 3. Valores de la diferencia entre el tratamiento “sin” PEG y el tratamiento “con” PEG en los parámetros de la cinética de producción de gas: diferencias en la producción total de gas (dA, ml/g MO), en el ritmo fraccional de producción de gas (dc, h<sup>-1</sup>) y en el tiempo de retraso (dL, h) y diferencias en la producción acumulada de gas a las 12 (dG<sub>12</sub>), 25 (dG<sub>25</sub>), 48 (dG<sub>48</sub>) y 120 (dG<sub>120</sub>) horas de incubación de las muestras de *Erica vagans*, recogidas en diferentes momentos del año

Table 3. Values of the difference between “without” and “with” PEG treatments in the kinetic gas production parameters: differences in total gas production (dA; ml/h), fractional rate of gas production (dc, h<sup>-1</sup>) and lag time (dL, h) and differences in the cumulative gas production after 12 (dG<sub>12</sub>), 25 (dG<sub>25</sub>), 48 (dG<sub>48</sub>) y 120 (dG<sub>120</sub>) hours of in vitro incubation of *Erica vagans* harvested in May, July, August, September and January

	Mayo	Julio	Agosto	Septiembre	Enero	eed (gl = 5)	Nivel de significación
dA	-48	-52	-81	-62	-62	16,7	NS
dc	-0,031	-0,035	-0,022	-0,022	-0,013	0,0078	NS
dL	0,45	0,62	1,30	1,36	1,05	0,947	NS
dG <sub>12</sub>	-44,9	-44,0	-50,9	-48,0	-48,3	4,48	NS
dG <sub>25</sub>	-75,4 <sup>bc</sup>	-85,0 <sup>c</sup>	-77,5 <sup>bc</sup>	-62,5 <sup>ab</sup>	-52,2 <sup>a</sup>	4,20	**
dG <sub>48</sub>	-72,5 <sup>abc</sup>	-91,7 <sup>c</sup>	-84,8 <sup>bc</sup>	-68,3 <sup>ab</sup>	-60,0 <sup>a</sup>	5,34	**
dG <sub>120</sub>	-57,7	-68,1	-84,4	-66,3	-66,8	9,82	NS

(eed) error estándar de la diferencia.

(gl) grados de libertad.

(NS) = no significativo (P > 0,10).

(\*\*) = P < 0,01.

(<sup>a, b, c</sup>) Valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P < 0,05).

### Análisis de correlación

En el análisis de correlación se observó que el contenido de taninos mostró una correlación significativa y positiva con el contenido de PB (r = 0,6336; P < 0,05) y negativa con los de FND, FAD y LAD (r = -0,8482, -0,8092 y -0,8441, respectivamente; P < 0,01).

Cuando se analizó la correlación con los diferentes parámetros indicativos de la fermentación ruminal estudiados en este trabajo, sólo se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre el contenido

de taninos y las DMS y DMO (r = 0,6508 y 0,6409; P < 0,05), el ritmo fraccional de degradación c (r = -0,6301; P < 0,05) y el tiempo de retraso (r = 0,8397; P < 0,01).

El contenido de taninos no mostró correlación estadísticamente significativa con ninguna de las diferencias, entre los tratamientos “sin” PEG y “con” PEG, en los parámetros matemáticos de producción de gas. Únicamente en el caso de la diferencia en el parámetro c (dc) se encontró una tendencia (r = -0,5915; P < 0,10). Así mismo, el contenido de taninos (en equivalentes de ácido tánico) sólo se correlacionó de modo significativo (P < 0,05) y consistente con las

diferencias en la producción acumulada de gas a tiempos de incubación de 15, 20, 25, 30, 36 y 48 h ( $r = 0,7062; 0,8346; 0,8019; 0,7580; 0,6853$  y  $0,6463$ , para  $dG_{15}$ ,  $dG_{20}$ ,  $dG_{25}$ ,  $dG_{30}$ ,  $dG_{36}$  y  $dG_{48}$ , respectivamente).

### Discusión

El contenido de PB de *Erica vagans* osciló entre el 13,4% de las muestras recogidas en mayo y el 7,5% de las recogidas en enero. Todos estos valores fueron relativamente superiores a los encontrados en otras ericáceas (*Erica arborea*, *E. australis* o *Calluna vulgaris*; FRUTOS *et al.*, 2002), pero inferiores a los presentados por diversas leguminosas arbustivas (ÁLVAREZ DEL PINO, 2002). Sus contenidos más bajos según avanzaba el estado fenológico de las plantas coinciden con lo descrito en la mayoría de los trabajos encontrados en la literatura (PAPANASTASIS, 1993). Aunque en este trabajo no se analizó el contenido de N-FND, es interesante señalar que un porcentaje importante del relativamente alto contenido de PB de los arbustos podría estar ligado a la pared celular, lo cual limitaría significativamente su aprovechamiento por los rumiantes (WILSON, 1994). En un estudio realizado por RAMOS (2002) con 11 especies arbustivas recogidas en dos momentos del año, se indica que la proporción de PB encontrada en forma de PB-FND abarcó desde un 14 hasta un 32%, en el muestreo del mes de enero; y desde un 6 hasta un 21%, en el del mes de junio.

El contenido de cenizas mostró una evolución similar al de PB, con un valor significativamente más elevado en las muestras correspondientes a los brotes más tiernos (PAPANASTASIS, 1993). Por el contrario, tal y como cabría esperar, todos los datos relati-

vos a la pared celular (FND, FAD y LAD) mostraron la tendencia contraria, es decir, que sus valores se incrementaron significativamente al avanzar la madurez de los arbustos, lo cual reduce la utilización digestiva de estas especies leñosas por los animales (WILSON, 1994). A este punto contribuye especialmente la alta lignificación de la pared celular, con valores de LAD que superaron el 19% de la MS total cuando las muestras se recogieron en septiembre y enero. En general, este alto contenido de lignina, junto con otros factores como la presencia importante de compuestos secundarios, confiere a las ericáceas una baja calidad nutritiva en comparación con otras especies arbustivas, tales como las leguminosas (ÁLVAREZ DEL PINO, 2002).

El contenido de taninos, elevado en términos generales, fue significativamente más alto en las muestras más jóvenes de *Erica vagans*, con un valor medio de prácticamente el 12% de la MS (expresado en equivalentes de ácido tánico), se mantuvo en los muestreos de julio y agosto y decreció en los dos siguientes hasta llegar a un valor mínimo del 5,7% en las muestras tomadas en enero.

Los taninos, fundamentalmente los condensados, se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y, en general, su representación es mayor en las especies leñosas que en las herbáceas (McLEOD, 1974; BERNAYS *et al.*, 1989). No obstante, existen variaciones muy amplias no sólo entre especies sino incluso entre individuos de la misma especie, ya que la síntesis de taninos puede verse influida por numerosos factores, tales como el clima, grado de madurez de los tejidos, exposición a fitopatógenos o herbívoros, etc. (BATE-SMITH, 1973; SWAIN, 1977; IASON *et al.*, 1995). Sería quizás conveniente señalar aquí que el muestreo se realizó en una zona relativamen-

te pequeña del Parque Natural de Gorbeia y que no pueden descartarse pequeñas diferencias con individuos de otras zonas debidas a diferencias en la altitud, climatología, etc.

La mayor parte de los trabajos de investigación describen evoluciones del contenido de taninos similares a las observadas en este estudio. Así por ejemplo, BATE-SMITH (1973) y KOUPAI-ABYAZANI *et al.* (1993) encontraron mayor contenido de taninos condensados en las hojas jóvenes que en las hojas maduras de la leguminosa *Onobrychis viciifolia*, al igual que DUARSA *et al.* (1992) en *Lotus pedunculatus* y *L. corniculatus*. Sin embargo, también existen datos que indican lo contrario (e.g., IASON *et al.*, 1995).

Una cuestión importante a tener en cuenta es que la variación temporal del contenido de taninos de una planta puede deberse al efecto solapado de distintos factores, tanto externos (condiciones ambientales) como de la propia planta (estado fenológico). El contenido de taninos es mayor en los órganos de más valía para la planta, lo que se ha interpretado como una estrategia de defensa para evitar que éstos sean consumidos por insectos o herbívoros (BARRY, 1989; SWAIN, 1977). En este sentido, las flores o las hojas más jóvenes, según la especie (ÁLVAREZ DEL PINO, 2002) tienen normalmente más taninos que los tallos. En el caso concreto de la *Erica vagans*, no se realizó una separación morfológica de las distintas partes de la planta (hojas, flores y tallos). Sin embargo, los resultados indican que la acumulación de taninos probablemente fue similar en las hojas jóvenes y en las flores, ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los contenidos de las muestras recolectadas en mayo, julio y agosto.

Este mayor contenido de taninos en las muestras recogidas en estos meses y su reducción en las de septiembre y enero, con

mayor proporción de pared celular, explicaría su correlación positiva con el contenido de PB y negativa con los contenidos de FND, FAD y LAD. Es interesante señalar, no obstante, que en numerosos trabajos se han observado correlaciones positivas entre el contenido de taninos condensados y el contenido de lignina ya que ambos comparten la ruta biosintética del ácido siquímico (MUELLER-HARVEY y McALLAN, 1992).

La evolución de los parámetros de producción de gas (ver cuadro 2) fue consistente con la evolución de la composición química explicada anteriormente. Aunque se observaron valores de producción de gas más altos en las muestras de *Erica vagans* recogidas en mayo, las diferencias no alcanzaron el nivel de significación estadística exigido para ser considerados superiores a los de los otros muestreos. El ritmo fraccional de producción de gas (*c*) mostró una tendencia ( $P < 0,10$ ) a ser más bajo en las muestras recolectadas en mayo y julio y más elevado en las de enero. En el tiempo de retraso (*L*) se observó la tendencia contraria ( $P < 0,10$ ). Estos datos, que serían difícilmente explicables en función de los contenidos de proteína y pared celular, podrían quizás responder al efecto de los taninos. Posiblemente, uno de los efectos más conocidos de estos compuestos fenólicos sea su reducción de la fermentación ruminal, debido principalmente a las limitaciones que imponen al proceso de adhesión microbiana a las partículas del alimento (McALLISTER *et al.*, 1994) y a un significativo enlentecimiento de la degradación debido a la inhibición de la actividad de los microorganismos ruminales (McLEOD, 1974; FRUTOS *et al.*, 2000; HERVÁS *et al.*, 2000). Esta explicación se encontraría también apoyada por las correlaciones significativas encontradas entre el contenido de taninos y los parámetros *c* ( $P < 0,05$ ) y *L* ( $P < 0,01$ ).

El ritmo medio de fermentación (RMF) y la degradabilidad efectiva en el rumen (DER) de la MS mostraron una tendencia estadística ( $P < 0,10$ ) a ser diferentes entre muestreos, si bien es complicado explicar su evolución (ver cuadro 2) y, por consiguiente, saber exactamente a qué fue debido. El contenido de taninos no presentó ninguna correlación significativa con dichos parámetros, de modo que no cabe esperar que las variaciones de RMF y DER puedan ser explicadas por diferencias en el contenido de estos compuestos. Las reducciones de la DMS y la DMO según avanzaron los muestreos se explicarían fácilmente en función de la maduración de los tejidos (WILSON, 1994), que se refleja en la correlación negativa entre el contenido de pared celular (FND) y estos parámetros ( $r = 0,90$  y  $0,91$  respectivamente para DMS y DMO,  $P < 0,001$ ). Esta reducción de la DMS y DMO con la madurez de las plantas, junto con la correlación negativa entre el contenido de taninos y el de pared celular, podrían explicar la correlación positiva de los taninos con la DMS y DMO, que, de otra forma, resultaría bastante incoherente.

En la actualidad, uno de los principales problemas a los que se enfrentan los investigadores que trabajan con plantas que contienen taninos es el gran número de técnicas y métodos de análisis de taninos existentes (FAO/IAEA, 2000) y la ausencia de uno aceptado internacionalmente que permitiera una comparación directa de los resultados. A este problema hay que añadir, en numerosas ocasiones, la necesidad de un estándar en relación al cual expresar los contenidos (SCHOFIELD *et al.*, 2001). Además, a menudo, la actividad biológica de los taninos está poco o nada correlacionada con su contenido (obtenido éste con un determinado método y expresado en función de un determinado estándar). Diversos autores (e.g. GETACHEW

*et al.*, 2000) han observado que, aunque los taninos condensados son los más abundantes en la naturaleza, el análisis del contenido de taninos totales, mediante el método basado en el empleo del reactivo Folin-Ciocalteu, da lugar a correlaciones más elevadas con los efectos que ejercen los taninos sobre la fermentación ruminal, la utilización digestiva de los alimentos, etc., que las obtenidas cuando se utilizan métodos más complejos de análisis de taninos condensados. En relación con esta mencionada actividad biológica de los taninos, recientemente, diversos investigadores han señalado la conveniencia de utilizar métodos de análisis que más que cuantificar su contenido, determinen su reactividad.

Además de las técnicas basadas en la precipitación de proteínas, con todos sus pros y sus contras (SCHOFIELD *et al.*, 2001), uno de los métodos más utilizados actualmente es el de producción de gas *in vitro* en ausencia y presencia de un agente químico de gran afinidad por los taninos (fundamentalmente el PEG), a los que se une e inactiva (SILANIKOVE *et al.*, 1996). La diferencia en los valores obtenidos en las incubaciones “sin” PEG (taninos activos) y “con” PEG (taninos inactivados) es una medida indirecta de la actividad biológica de estos compuestos; concretamente de su capacidad para reducir la fermentación ruminal (KHAZAAL *et al.*, 1996; FAO/IAEA, 2000). En este trabajo (teniendo en cuenta tanto los resultados relativos a los análisis de varianza como a los de correlación), los mejores resultados se obtuvieron a tiempos de incubación medios (a las 20, 25 y 30 horas). Ni a tiempos cortos, ni a tiempos muy largos se observaron correlaciones significativas entre el contenido de taninos, determinado químicamente, y las diferencias entre los tratamientos “sin” y “con” PEG, indicativas del efecto negativo de los taninos sobre la

producción de gas (e indirectamente sobre la fermentación ruminal). Por otra parte, las diferencias entre tratamientos (“sin” – “con”) en los parámetros obtenidos tras los ajustes matemáticos de los datos brutos de producción de gas tampoco mostraron ni variaciones significativas entre fechas de muestreo (aunque el contenido de taninos sí las presentaba) ni correlaciones significativas con dichos contenidos de taninos.

Estos resultados confirmarían que la técnica de producción de gas in vitro podría ser utilizada como una técnica alternativa de análisis de taninos, útil y sencilla, frente a las técnicas clásicas de determinación química (SILANIKOVE *et al.*, 1996, FAO/IAEA, 2000, ÁLVAREZ DEL PINO, 2002). Por otra parte, coincidiendo con la aseveración de que el efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal es más evidente a tiempos relativamente cortos de incubación (FAO/IAEA, 1999), los resultados de este trabajo sugieren que no merece la pena realizar cinéticas completas de producción de gas, ni ajustar los datos a modelos matemáticos, ya que los mejores resultados parecen obtenerse a partir de los datos brutos de producción acumulada de gas tras aproximadamente 20-24 horas de incubación in vitro.

Por otra parte, los resultados de este trabajo podrían ser útiles para ayudar a explicar resultados previos (MANDALUNIZ *et al.*, 2000; 2001) que indican que la incorporación de ericáceas a la dieta, en el ganado vacuno, se incrementa en la segunda mitad de la estación de pastoreo. No puede descartarse que esta mayor incorporación, que había sido explicada en función de la menor disponibilidad del componente herbáceo en el pasto (ALBIZU *et al.*, 1999), pudiera estar también favorecida por el menor contenido de taninos en *E. vagans* observado en este trabajo. Igualmente, la tendencia a una mayor reducción del peso del ganado vacuno en este

periodo (MANDALUNIZ y OREGUI, 2001), podría estar condicionada por el escaso valor nutritivo del componente arbustivo (*Erica vagans*) de la dieta, tal y como demuestran los valores de composición química y degradación ruminal aquí encontrados.

Estudios in vivo en los que se pudiera examinar el efecto real de los taninos, incorporados en la dieta mediante la ingestión de *Erica vagans*, sobre el comportamiento alimentario y la utilización digestiva, contribuirían a un mejor conocimiento de su importancia en los sistemas extensivos de producción animal basados en el pastoreo.

### Agradecimientos

Durante la realización de este trabajo, Gonzalo Hervás dispuso de una beca de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCyT) y Nerea Mandaluniz de una beca del Departamento de Industria, Comercio y Turismo del Gobierno Vasco.

### Bibliografía

- AERTS, R., BARRY, T.N., McNABB, W.C., 1999. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 75, 1-12.
- ALBIZU, I., MENDARTE, S., BESGA, G., RODRÍGUEZ, M., AMEZAGA, I., ONAINDIA, M., 1999. Estructura de los pastizales de montaña y su relación con el pastoreo. *Actas de la XXXIX Reunión Científica de la S.E.E.P.*, 51-55.
- ÁLVAREZ DEL PINO, M.C., 2002. *Distribución de taninos en tallos, hojas y flores de cuatro especies arbustivas y utilización de distintos métodos y estándares para su análisis*. Tesis de licenciatura. Universidad de León, León (España).

- AOAC. 1999. *Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*. 16<sup>th</sup> edition (5<sup>th</sup> revision). AOAC International, Gaithersburg, MD (Estados Unidos).
- BARRY, T.N.. 1989. Condensed tannins: their role in ruminant protein and carbohydrate digestion and possible effects upon the rumen ecosystem. In: *The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion*. J.V. Nolan, R.A. Leng and D.I. Demeyer (Eds.), pp. 153-169. Penambul Books, Armidale, NSW (Australia).
- BARRY, T.N., McNABB, W.C., 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*, 81, 263-272.
- BATE-SMITH, E.C.. 1973. Tannins of herbaceous leguminosae. *Phytochemistry*, 12, 1809-1812.
- BERNAYS, E.A., COOPER DRIVER, G., BILGENER, M., 1989. Herbivores and plant tannins. *Advances in Ecological Research*, 19, 263-302.
- DUARSA, M.A.P., HILL, M.J., LOVETT, J.V., 1992. The distribution of tannins in *Lotus* spp.: variations within plant and stage of maturity. *Proceedings 6<sup>th</sup> Australian Society of Agronomy Conference Armidale*, 446-449.
- FAO/IAEA, 1999. Conclusions and recommendations of the first research co-ordination meeting of the FAO/IAEA co-ordinated research project on 'Use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniniferous tree foliage'. 8-12 Marzo 1999. IAEA, Viena (Austria). [[http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/crp/d3\\_1022.html](http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/crp/d3_1022.html)].
- FAO/IAEA, 2000. *Quantification of tannins in tree foliage*. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Animal Production and Health Sub-Programme. FAO/IAEA Working Document, IAEA, Vienna (Austria). [[http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/crp/d3\\_1022.html](http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/crp/d3_1022.html)].
- FRANCE, J., DIJKSTRA, J., DHANOA, M.S., LÓPEZ, S., BANNINK, A., 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. *British Journal of Nutrition*, 83, 143-150.
- FRUTOS, P., HERVÁS, G., GIRÁLDEZ, F.J., FERNÁNDEZ, M., MANTECÓN, A.R., 2000. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 134, 101-108.
- FRUTOS, P., HERVÁS, G., RAMOS, G., GIRÁLDEZ, F.J., MANTECÓN, A.R., 2002. Condensed tannins content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology*, 95, 215-226.
- GETACHEW, G., MAKAR, H.P.S., BECKER, K., 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, 84, 73-83.
- GOERING, M.K., VAN SOEST, P.J., 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agriculture Handbook*. No. 379. Agricultural Research Service, USDA. Washington (Estados Unidos).
- HERVÁS, G., FRUTOS, P., GIRÁLDEZ, F.J., MANTECÓN, A.R., ÁLVAREZ DEL PINO, M.C. Effect of the administration of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in sheep. *Animal Feed Science and Technology* (enviado).
- HERVÁS, G., FRUTOS, P., SERRANO, E., MANTECÓN, A.R., GIRÁLDEZ, F.J., 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 135, 305-310.
- IASON, G.R., HODGSON, J., BARRY, T.N., 1995. Variation in condensed tannin concentration of a temperate grass (*Holcus lanatus*) in relation to season and reproductive development. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 1103-1112.
- JONES, D.H.I., WILSON, A.D., 1987. Nutritive quality forage. In: *The nutrition of herbivores*. J.B. Hacker and J.H. Ternouth (Eds.), pp. 65-89. Academic Press (Australia).
- KHAZAL, K.A., PARISSI, Z., TSIΟΥVARAS, C., NASTIS, A., ORSKOV, E., 1996. Assessment of phenolics-related antinutritive levels using the *in vitro* gas production technique: a comparison between different types of polyvinylpyrrolidone or polyethylene glycol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 71, 405-414.
- KOUPAI-ABYAZANI, M.R., MCCALLUM, J., MUIR, A.D., BOHM, B.A., TOWERS, G.H.N., GRUBER, M.Y., 1993. Developmental changes in the composition of proanthocyanidins from leaves of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) as determined by HPLC analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 41, 1066-1070.

- MAKKAR, H.P.S., BLÜMMEL, M., BOROWY, N.K., BECKER, K., 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 161-165.
- MANDALUNIZ, N., OREGUI, L.M., 2001. Efecto del estado fisiológico en los rendimientos del ganado vacuno en el PN Gorbeia. *ITEA, Producción Animal*, 22, 445-447.
- MANDALUNIZ, N., ALDEZABAL A., OREGUI L.M., 2000. Comparación interanual de la estrategia alimentaria del ganado vacuno en pastos comunales del macizo de Gorbea (Bizkaia). *Actas de la III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*, 571-579.
- MANDALUNIZ, N., ALDEZABAL, A., OREGUI, L.M., FRUTOS, P., 2001. Implicaciones nutritivas de la expansión de brezales en la alimentación del vacuno en los pastos de montaña del PN Gorbeia. *Actas de la XLI Reunión Científica de la S.E.E.P.*, 513-518.
- MAURICIO, R.M., MOULD, F.L., DHANOA, M.S., OWEN, E., CHANNA, K.S., THEODOROU, M.K., 1999. A Semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedsuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology*, 79, 321-330.
- MCALLISTER, T.A., BAE, H.D., JONES, G.A., CHENG, K.J., 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science*, 72, 3004-3018.
- MCDUGAL, E.I., 1948. Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 43, 99-109.
- MCLEOD, M.N., 1974. Plant tannins - their role in forage quality. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 44, 803-815.
- McMAHON, L.R., MAJAK, W., McALLISTER, T.A., HALL, J.W., JONES, G.A., POPP, J.D., CHENG, K.J., 1999. Effect of sainfoin on in vitro digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. *Canadian Journal of Animal Science*, 79, 203-212.
- MUELLER-HARVEY, I., McALLAN, A.B., 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. In: *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*. Vol. 1. I.M. Morrison (Ed.), pp. 151-217. JAI Press Ltd., Londres (Reino Unido).
- OREGUI, L.M., GARRO, J., VICENTE, M.S., BRAVO M.V., 1997. Estudio del sistema de alimentación en las razas ovinas Latxa y Carranzana: utilización de los pastos comunales y suplementación en pesebre. *ITEA, Producción Animal*, 93A, 173-182.
- PALO, R.T., ROBBINS, C.T., 1991. *Plant defenses against mammalian herbivory*. CRC Press, Inc. Boca Raton (Estados Unidos).
- PAPANASTASIS, V., 1993. Review of papers on woody forage plants. *Herba*, 6, 28-33.
- RAMOS, G., 2002. *Implicaciones de los taninos condensados en la digestión de nutrientes en ovejas y relación con el valor nutritivo de arbustos de zonas de montaña*. Tesis doctoral. Universidad de León, León (España).
- RUIZ R., MANDALUNIZ, N., ALBIZU I., OREGUI, L.M., 1998. The environmental role of traditional farming systems in the Basque Country. In: *Livestock Farming Systems. Integrating animal science into search for sustainability*. D. Gagnaux, R. Daccord, A. Gibon, J.R. Poffet and A.R. Sibbald (Eds.). pp. 97-99. EAAP Publication 97. Wageningen Press (Holanda).
- SAS, 1989. *SAS/STAT: User's guide Int.* (Version 6, 4<sup>th</sup> ed.) SAS Institute Inc., Cary, NC (Estados Unidos).
- SCHOFIELD, P., MBUGUA, D.M., PELL, A.N., 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21-40.
- SILANIKOVE, N., SHINDER, D., GILBOA, N., EYAL, M., NITSAN, Z., 1996. Binding of poly(ethylene glycol) to samples of forages plants as an assay of tannins and their negative effects in ruminal degradation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 3230-3234.
- SWAIN, T., 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology*, 28, 479-501.
- URARIE, E., GABIÑA, J., ARRANZ, F., ARRESE, F., GOROSTIZA, P., SIERRA, I., 1989. Las razas ovinas Latxa y Carranzana. I. Sistemas de producción. *ITEA, Producción Animal*, 84, 7-25.
- VAN SOEST, P.J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant* (2<sup>nd</sup> Edn.). Cornell University Press. Ithaca, New York (Estados Unidos).
- WILSON, J.R., 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, 122, 173-182.

(Aceptado para publicación el 6 de febrero de 2003).