



INIA  
Instituto Nacional  
de Investigaciones  
Agrícolas

# Zootecnia Tropical

ISSN: 0798 - 7269

AÑO 23 VOL. 23 No. 3 2005

---

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS - VENEZUELA

---

# ZOOTECNIA TROPICAL

Revista Trimestral  
del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas  
Maracay, Venezuela

[www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zooindex.htm](http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zooindex.htm)

INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGACIONES  
AGROPECUARIAS

EL Comité Editorial de la Revista Zootecnia Tropical agradece el apoyo financiero otorgado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) para la edición de este número.

Esta revista esta incluida en la colección Scielo Venezuela  
([www.scielo.org.ve](http://www.scielo.org.ve))



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS  
REVISTA ZOOTECNIA TROPICAL

Dr. Prudencio Chacón  
PRESIDENTE

Dr. Jesús Salazar  
GERENTE GENERAL

Dra. Tania Rodríguez  
GERENTE INVESTIGACIÓN

Dr. Ignacio Entrena  
GERENTE (E) NEG. TECNOLÓGICA

COORDINACIÓN EDITORIAL ZOOTECNIA TROPICAL

Dr. José L. Gil  
EDITOR JEFE

Dr. Nestor E. Obispo  
EDITOR ASISTENTE

Ing. M.Sc. Freddy Espinoza  
ASESOR

Rosa Terán  
SECRETARIA

COMITÉ EDITORIAL

Dr. Thais Díaz (FCV-UCV)

Dra. Susmira Godoy (INIA)

Dr. José Alió (INIA)

Dr. Orlando Guenni (FAGRO-UCV)

COMITÉ EDITORIAL ASOCIADO

Dr. Carlos Lascano (Colombia)

Dr. Rainer Schultze-Kraft (Alemania)

Dra. Alicia Rabasa (Argentina)

Dr. Manuel Fondevilla (España)

Dr. Lee McDowell (EEUU)

Dr. Alcidez De Amorin (Brasil)

Dr. Julio Lee (Cuba)

Dr. Rony Tejos (Venezuela)

Dr. Rodolfo Vaccaro (Venezuela)

Dr. Ricardo Bitter (Venezuela)

Dr. Armando Fuentes (Venezuela)

M Sc. Julio Rodríguez (Venezuela)

Dra. Josefina Combellas (Venezuela)

Dirigir correspondencia a:

ZOOTECNIA TROPICAL. INIA, Apartado Postal 2103. Maracay 2101, estado Aragua, Venezuela. Direcciones electrónicas: [zootrop@inia.gob.ve](mailto:zootrop@inia.gob.ve)  
[jjgil@inia.gob.ve](mailto:jjgil@inia.gob.ve) [nobispo@inia.gob.ve](mailto:nobispo@inia.gob.ve)

VALOR DE LA SUSCRIPCIÓN<sup>1</sup>:

VENEZUELA (Bs.)

EXTERIOR (US \$)

Un año: 18.000,00

One year: 40.00

Dos años: 35.000,00

Two years: 75.00

Ejemplar: 5.000,00

<sup>1</sup> Incluye gastos de manejo y envío por vía terrestre para Venezuela y correo marítimo para el Exterior



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS  
REVISTA ZOOTECNIA TROPICAL

Dr. Prudencio Chacón  
PRESIDENTE

Dr. Jesús Salazar  
GERENTE GENERAL

Dr. Tania Rodríguez  
GERENTE INVESTIGACIÓN

Dr. Ignacio Entrena  
GERENTE (E) NEG. TECNOLÓGICA

COORDINACIÓN EDITORIAL ZOOTECNIA TROPICAL

Dr. José L. Gil  
EDITOR JEFE

Dr. Nestor E. Obispo  
EDITOR ASISTENTE

Ing. M.Sc. Freddy Espinoza  
ASESOR

Rosa Terán  
SECRETARIA

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Thais Díaz (FCV-UCV)

Dra. Susmira Godoy (INIA)

Dr. José Alió (INIA)

Dr. Orlando Guenni (FAGRO-UCV)

COMITÉ EDITORIAL ASOCIADO

Dr. Carlos Lascano (Colombia)

Dr. Rainer Schultze-Kraft (Alemania)

Dra. Alicia Rabasa (Argentina)

Dr. Manuel Fondevilla (España)

Dr. Lee McDowell (EEUU)

Dr. Alcidez De Amorin (Brasil)

Dr. Julio Lee (Cuba)

Dr. Rony Tejos (Venezuela)

Dr. Rodolfo Vaccaro (Venezuela)

Dr. Ricardo Bitter (Venezuela)

Dr. Armando Fuentes (Venezuela)

M Sc. Julio Rodríguez (Venezuela)

Dra. Josefina Combellas (Venezuela)

Dirigir correspondencia a:

ZOOTECNIA TROPICAL. INIA, Apartado Postal 2103. Maracay 2101, estado Aragua, Venezuela. Direcciones electrónicas: [zootrop@inia.gov.ve](mailto:zootrop@inia.gov.ve)  
[jgil@inia.gov.ve](mailto:jgil@inia.gov.ve) [nobispo@inia.gov.ve](mailto:nobispo@inia.gov.ve)

VALOR DE LA SUSCRIPCIÓN<sup>1</sup>:

VENEZUELA (Bs.)

EXTERIOR (US \$)

Un año: 18.000,00

One year: 40.00

Dos años: 35.000,00

Two years: 75.00

Ejemplar: 5.000,00

<sup>1</sup> Incluye gastos de manejo y envío por vía terrestre para Venezuela y correo marítimo para el Exterior

## ZOOTECNIA TROPICAL

ISSN: 0798 - 7269 Dep. Legal: pp. 198302AR214  
Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela  
Sitio Web: [www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zooindex.htm](http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zooindex.htm)

### COMITÉ *Ad hoc*

Los artículos publicados en ZOOTECNIA TROPICAL son sometidos a un proceso  
de  
**Arbitraje Científico Externo**

### BOARD OF SCIENTIFIC REVIEWERS

Articles published in ZOOTECNIA TROPICAL are submitted to  
**Scientific Reviewers**

**ZOOTECNIA TROPICAL** / (FONAIAP). Instituto de  
Investigaciones Agrícolas. Vol. 1 N° 1-2. 1983

Continuación a partir de 1983 de la Serie Zootécnica de  
la revista *Agronomía Tropical*, Vol. 29 N° 6, 1979

### INDIZACIÓN

C.A.B. International (U.K.), IICA-CIDIA (Costa Rica), Royal Tropic Institute (Tropag & Rural, Holanda), AGRIS (FAO-Roma), LATINDEX (México), Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias (UNAM, México), MEDIATHEK (Alemania), UCH (México), REVENCYT (Venezuela), Base de Datos REVIS (CATIE, Costa Rica), Base de Datos RISPAL (CATIE, Costa Rica) y Base Agrícola Venezolana (FONAIAP, Venezuela), Bionline (Canadá), Scielo (Venezuela).

### SE ACEPTA EL INTERCAMBIO CON OTRAS REVISTAS

Exchange requested      Wir bitten um austausch      On demande l'échange

Gradiremmo cambio      Deseamos permuta

Tiraje: 500 Ejemplares

Esta publicación se imprime en papel libre de ácido, cumpliendo con los requisitos mínimos de la American Standard for Information Sciences - Permanence for paper for printed library materials, ANSI Z39.48 - 1984.

## SUMARIO Vol. 23 No. 3

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- CABELLO A., MARTÍNEZ Z., VILLEGAS L., FIGUERA B., MARCANO L., GÓMEZ A. y VALLENILLA O. Fauna acompañante del camarón como materia prima para la elaboración de productos pesqueros ..... 217
- GONZÁLEZ A., MENDOZA J., AROCHA F. y MÁRQUEZ A. Mortalidad y rendimiento por recluta de la curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en el medio Orinoco de Venezuela.....233
- VASQUEZ R., BASTARDO A. y MUNDARAIN I. K. Ensayo de toxicidad aguda CL50-96h con acetato de cadmio y parámetros hematológicos en el híbrido cultivado *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomus* ..... 249
- GARCÍA D. E. y MEDINA M. G. Metodologías para el estudio de compuestos polifenólicos en especies forrajeras: Un enfoque histórico ..... 261
- HERNÁNDEZ R. y PONCE P. Efecto de tres tipos de dieta sobre la aparición de trastornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian ..... 299
- ROJAS H., CORONADO L. y HURTADO E. Evaluación de la suplementación proteica durante el crecimiento post destete de corderos a pastoreo ..... 317
- NAVARRO R. D., RIBEIRO P. O., SHIGUEKI Y. G., DA SILVA M. E. C. e SANTOS L. C. Efeito do hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona nos índices somáticos de *Rana catesbeiana* ..... 325

## TABLE OF CONTENTS Vol. 23 No. 3

## Scientific Articles

- CABELLO A., MARTÍNEZ Z., VILLEGAS L., FIGUERA B., MARCANO L., GÓMEZ A., and VALLENILLA O. By-catch shrimp as raw material for the processing of fish products ..... 217
- GONZÁLEZ A., MENDOZA J., AROCHA F., and MÁRQUEZ A. Mortality and yield by recruit of the river curvinata *Plagioscion squamosissimus* in middle Orinoco river in Venezuela ..... 233
- VASQUEZ R., BASTARDO A., and MUNDARAIN I. K. Test of acute toxicity CL50-96h with cadmium acetate and hematological parameters in the farmed hybrid *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus* ..... 249
- GARCÍA D. E. and MEDINA M. G. Methodologies for the study of polyphenolic compounds in forage species: A historic approach ..... 261
- HERNÁNDEZ R. and PONCE P. Effect of three diet types on the appearance of metabolic dysfunctions and their relationship with alterations in milk composition of Holstein Friesian cows ..... 299
- ROJAS H., CORONADO L., and HURTADO E. Evaluation of proteins supplementation during the post weaning growth in grazing lambs ..... 317
- NAVARRO R. D., RIBEIRO P. O., SHIGUEKI Y. G., DA SILVA M E. C., and SANTOS L. C. Effect of hormone 17- $\alpha$ -metil-testosterone on the index somatic of *Rana catesbeiana* ..... 325

## Fauna acompañante del camarón como materia prima para la elaboración de productos pesqueros

Ana M. Cabello<sup>1\*</sup>, Zauri Martínez<sup>2</sup>, Liz del V. Villegas<sup>2</sup>, Bertha E. Figuera<sup>1</sup>,  
Luís A. Marcano<sup>1</sup>, Antonio Gómez<sup>2</sup> y Osmilcar Vallenilla<sup>1</sup>

### RESUMEN

La fauna de acompañamiento del camarón está integrada por diversas especies de peces e invertebrados que son capturadas incidentalmente en las pesquerías de arrastre. Estas especies se dividen en comerciales (aquellas que por su tipo y talla pueden venderse en los mercados de consumo fresco o fresco-congelado, como lenguado, corocoro, perlita, curvinata, bagre, etc.) y no comerciales o broza (peces de pequeño tamaño de especies comerciales o no comerciales). Existe una relación broza/camarón de 11:1. La broza puede estar compuesta de hasta 90 especies, de los cuales el 96% son peces, 3% son crustáceos y 1% de otros organismos marinos. El objetivo de este trabajo fue revisar la composición de la broza, su distribución geográfica, características nutricionales y posibles usos para la elaboración de productos pesqueros tradicionales y no tradicionales. La broza fue recolectada, sin ser seleccionada, por observadores científicos a bordo de embarcaciones arrastreras que operaban en la región oriental de Venezuela. En el laboratorio, la broza fue separada por grupo de especies (peces y otros organismos), pero solo los peces fueron utilizados en este trabajo. Todos ellos fueron eviscerados y descabezados manualmente, y deshuesados en una deshuesadora mecánica. El rendimiento obtenido en pulpa fue de 39.2%. Se elaboraron productos tipo hamburguesa, filetes empanizados, pastas y embutidos. Estos fueron de una excelente presentación y al someterse a análisis sensoriales con panelistas entrenados y no entrenados obtuvieron una

---

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, CIAE Sucre-Nueva Esparta. Av. Carúpano, Cumana, estado Sucre, Venezuela. \*Correo electrónico: [acabello@inia.gob.ve](mailto:acabello@inia.gob.ve)

<sup>2</sup> Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Cerro del Medio, Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

altísima aceptación. Lo anterior lleva a concluir que la fauna de acompañamiento del camarón, que hoy no tiene un valor comercial apreciable, puede convertirse en la principal materia prima para la elaboración de productos a base de pulpa de pescado.

Palabras clave: Fauna acompañante, peces, procesamiento, productos.

## Shrimp by-catch as raw material for the processing of fish products

### SUMMARY

Shrimp by-catch is conformed by a diversity of fish and invertebrate species that are incidentally captured in trawling fisheries. These species are divided into commercial (those that because of their kind and size can be sold fresh or fresh-frozen in local markets, like flatfish, grunt, perlita, curvinata or catfish) and non commercial (mainly small fish of commercial or non commercial species). The ratio of non commercial shrimp by-catch (NCBCS) to shrimp is 11:1. The NCBCS can be composed of up to 90 species, of which 96% are fish, 3% crustaceans and 1% other marine organisms. The purpose of this paper was to review the composition of the non commercial by-catch shrimp, its geographical distribution, nutritional characteristics and its possible use as raw material for the elaboration of traditional or non traditional fish products. NCBCS was collected, without sorting, by scientific observers on board of trawling boats operating in eastern Venezuela. In the laboratory, NCBCS was separated by species groups (fish and other organisms); only fish were used for the processing that followed. All fish were manually gutted and headed, and the skin and bones removed using a mechanical processor. The meat yield in this process was 39.2%. Products like hamburger, breaded fillet, pasta, and salami were prepared. They had an excellent presentation and obtained a high acceptance from trained or non trained panels. This lead to the conclusion, that the non commercial by-catch shrimp, which today has little or no commercial value, can become the main raw material for the elaboration of products based on fish meat.

Key words: Shrimp by-catch, fish, processing, product.

## INTRODUCCIÓN

La pesca de arrastre industrial tiene importancia económica por los altos ingresos generados por la comercialización del camarón y otras especies de peces y moluscos. Sin embargo, son conocidos sus efectos sobre la biodiversidad, fondos marinos y captura de gran número de especies no deseables, que se definen como fauna de acompañamiento no comercial (FANC). Su composición varía de acuerdo a: época del año, área de pesca, profundidad, corrientes estacionales, etc. Los reportes sobre la composición de la misma son escasos. La relación broza/camarón fue establecida en 11:1 (Salvin, 1983)-

La fauna de acompañamiento del camarón (FAC) que representa el 86% de las capturas, conformada por especies que tienen una morfología y tallas diferentes. En este grupo se destacan peces de las familias Gerreidae, Lutjanidae, Ophidiidae, Ariidae, Carangidae, Batrachoidae, Clupeidae, Priacanthidae, Sciaenidae, Scombridae, Serranidae y Trichiuridae, representadas por 56 especies consideradas con el más alto valor comercial (Cabello *et al.*, 1995). Marcano *et al.* (1992) señaló que en Venezuela la FANC no era aprovechada por carecer de importancia económica. Sin embargo, varios autores (Young, 1979; Min, 1983; Bello, 1987; Cabello *et al.* 1998) han reportado resultados del uso de la pulpa de pescado proveniente de esa materia prima, utilizándola en la elaboración de surimi como base de productos análogos de camarones, cangrejos, carne de camarón, embutidos y otros productos congelados.

La abundancia de estos recursos en las faenas de captura del camarón por la flota arrastrera, su devolución al mar como materia orgánica y los antecedentes sobre la potencialidad de múltiples usos para la industria de productos congelados plantean la necesidad de su utilización como una forma de aumentar la disponibilidad de productos semi-elaborados o elaborados que pueden ser ofrecidos a los consumidores venezolanos o ser colocados en los mercados internacionales. Es de señalar que este uso debe ser regulado para evitar la sobreexplotación de especies en fases juveniles o de tallas no comercial. Esto plantea un estudio más amplio que involucre la revisión de las tecnologías de captura y la adopción de dispositivos que reduzcan el volumen de captura incidental y sólo se aprovecharían todos aquellos recursos que no pueden ser evitados en las operaciones de captura. Con ello se reduciría el impacto ambiental de la pesca de arrastre, muy cuestionado por el alto volumen de captura de especies indeseadas (de especies no

comerciales o de pequeño tamaño) que conforman esa FANC planteada en este trabajo como objeto de estudio como materia prima.

Este trabajo tuvo como objetivo el análisis, por zonas, de la composición de la fauna acompañante del camarón no comercial (FACNC), y utilizar el deshuesado mecánico para obtener pulpa de pescado para preparar productos congelados, embutidos y secos. El empleo de estas metodologías brinda la oportunidad de proporcionar una materia prima que hoy en día es ampliamente utilizada por países asiáticos y puede representar una alternativa para aumentar la disponibilidad de proteína.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectó y procesó información sobre las faenas de pesca de la flota arrastrera que opera en las costas de la región oriental de Venezuela, desde el estado Anzoátegui hasta las costas de la región de Guayana. Se registraron datos sobre las áreas de pesca, composición por especies, se registraron, en planillas dispuesta para ello, las tallas y el peso de las capturas a bordo de las embarcaciones de arrastre, este trabajo fue realizado por observadores a bordo de los barcos arrastreros. En el Laboratorio de Especies Demersales del CIAE Sucre/Nueva Esparta del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas se realizaron tareas de identificar las especies componentes. El procesamiento de los productos y análisis de los mismos fueron realizados en el Laboratorio de Tecnología de los Alimentos, del mismo Instituto, ubicado en Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

Los resultados de composición por especies, frecuencia de aparición de especies, identificación y otros aspectos se refieren por zonas de pesca, estableciéndose las siguientes zonas: Guayana, Paria, Margarita, Cumaná y Anzoátegui. Esta zonificación se estableció de acuerdo a la procedencia de las capturas y puertos de desembarcos de la flota camarонера.

Después de las capturas, en el Laboratorio se realizaron labores de selección por especie para establecer la proporción de peces y otras especies pesqueras, así como la fracción no biológica formada por rocas, sedimentos del suelo marino y restos de conchas moluscos. Una vez separados los peces objeto del estudio, se verificaron sus condiciones de frescura y se determinó la adecuación de la materia prima para los procesos de elaboración de los productos propuestos. Estos peces fueron descabezados, lavados, eviscerados

y se procedió a la separación de la carne, utilizando una deshuesadora Baaded 694, con tambor de 5 mm. Parte de la pulpa se sometió a un lavado con agua a 0°C y 0,2% de cloruro de sodio, se agitó 5 minutos, se dejó reposar y posteriormente se prensó. La pulpa obtenida se mezcló con ingredientes (harina de maíz, de trigo, aceite, vegetales, leche, agua y especias). La mezcla se homogeneizó, se moldeó y/o se embutió, según el producto. Se aplicó congelación a -30°C a las hamburguesas, palitos y filetes. Los embutidos tipo salchichas y salame fueron refrigerados a temperaturas menores de 5°C.

Evaluada las condiciones de frescura del pescado según la apariencia, el olor, color y otros aspectos físicos, utilizando la tabla recomendada por Huss (1988). Los peces se lavaron para eliminar todo material extraño y se observaron las características de los ojos, piel, mucus y otros aspectos como signos de cambios producidos desde la captura hasta el análisis. Este examen se realizó para determinar la calidad de los peces y confirmar su condición de frescura para los procesos de elaboración de los productos.

De los lotes de productos preparados, e seleccionaron submuestras para establecer sus componentes nutricionales básicos (proteína, grasa, humedad y ceniza) y los valores asociados a la frescura y condición higiénico sanitaria (pH, NTB, recuentos de coliformes y mesófilos). En total se procesaron tres lotes de pescado, con los que se elaboraron cinco productos (hamburguesas, palitos, filetes, salchichas y salame de pescado). No se utilizaron aditivos ni preservantes químicos para elaborar estos productos.

Se tomó la carne de pescado o la porción del producto a evaluar y se homogeneizó para realizar, por duplicado, los análisis de proteína, grasa, humedad y cenizas, según los métodos recomendados por la AOAC (1980), como lo son: Proteína por el método de Kjeldahl, humedad por el método gravimétrico, cenizas por calcinación en mufla a 550°C por 4 horas y grasa por Bligh y Dyer (1959). Los métodos utilizados para los análisis de frescura o condición higiénica fueron los recomendados por el Covenin, utilizando para pH el método potenciométrico, según norma Covenin-1315-79 y para nitrógeno básico volátil total (NBVT), norma Covenin-1948-82. Los Codex Alimentarius (1983) se emplearon para pescado fresco y deshuesado. Para la evaluación microbiológica se utilizó el método de recuento en placas del número más probable para coliformes totales y para

mesófilos el método de siembra por inclusión, ambos métodos recomendados por APHA (1992).

La evaluación sensorial de los productos se realizó utilizando un panel de 5 miembros semientrenado que evaluó características básicas como sabor, color, olor y textura. Los resultados de las evaluaciones físico químicas y microbiológicas se expresaron en forma porcentual o en sus valores unitarios según sea el caso.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La pesca de arrastre es realizada por 176 embarcaciones que faenan en cinco zonas de pesca, denominadas: Guayana, Paria, Cumaná, Margarita y Anzoátegui. La FANC está compuesta por 122 especies de las cuales 64% son peces, 22% moluscos y 14% camarón (Cabello *et al.*, 1998). Los peces del descarte son juveniles de especies comerciales y otras no apreciadas como alimento. La relación broza/camarón oscilo entre 27:1 a 48:1 y es considerado alto y su uso puede incrementar la disponibilidad de proteína animal.

Las tallas variaron entre 45 y 6,5 cm y su peso de 215 a 4,85 g. Las especies también varían según las zonas. Según el volumen y la frecuencia de aparición se diferencia en: Alta (aparición en más del 50% de los muestreos), Media (aparición entre 25 y 49% de los muestreos) y Baja (aparición en menos del 25% de los muestreos). Según la frecuencia de aparición en las zonas muestreadas, se construyó los Cuadros 1, donde se reportan las principales especies que componen la FANC en diferentes zonas donde opera la flota arrastrera.

La zona de Guayana definida por un área pesquera de 618 km, desde punta Bombeador (Caño Macareo) hasta la desembocadura del río Esequibo, presentaron el mayor volumen la curvinata, el tajalí, buchichi y el bagre. La alta incidencia de estas especies de poca grasa y carne blanca es un aspecto positivo para las características de la carne.

La zona de Paria con una superficie de 9.700 km, limita por la costa sur con la Península de Paria (costa Atlántica venezolana) y la costa occidental de Trinidad. Esta zona tiene la influencia de la desembocadura del río Orinoco. Es rica en camarones y su puerto base está en Guiria. Las

especies más abundantes fueron curvinata, carapachona, lamparosa, bombache, roncador y tajalí. Tres de ellas de la familia Scianidae y con un tipo de carne blanca.

La zona de Margarita que se extiende alrededor de las islas de Coche y Margarita, con una proporción de pescado:camarón de 11:1 y con una gran diversidad de especies de peces, moluscos y crustáceos, es una de las zonas de mayor actividad pesquera. Se destaca la presencia de panchito, lenguado, salmonete, bagres y catacos. En la zona de Cumaná, que incluye las costas norte del estado Sucre, operan unas 95 embarcaciones arrastreras que tienen como puerto base Cumaná. En esta zona se obtuvo una proporción de pescado:camarón similar a la de Margarita. Las especies dominantes son los bagres, la yuqueta, el lenguado, la gallineta y el panchito. La abundancia de bagres le dan un olor desagradable a la carne, por lo que recomienda aplicar técnicas de lavado y desodorizado en la pulpa.

La zona de Anzoátegui, conformada por la Plataforma de Píritu-Unare, tiene como puerto Punta Meta (Guanta). En ella faenan 50 embarcaciones y las especies más abundantes son la perla, la caítipa, yuqueta, lenguado, sapos y morena. Muchas de sus especies tienen una morfología que dificulta el fileteado pero su carne es blanca y apreciada por los consumidores.

Cuadro 1. Especies componentes de la FANC según las zonas de capturas y frecuencia de aparición

Familia	Nombre científico	Nombre común	Zona de pesca	Frecuencia
Ariidae	<i>Aurius spixii</i>	Bagre	Guayana	Alta
	<i>Cathorops spixii</i>	Bagre cuinche	Paria	Medio
			Cumaná	Alta
Batrachoidae	<i>Batrachoides surinamensis</i>	Sapo	Margarita	Alta
			Cumaná	Medio
	<i>Perichthys sp.</i>	Sapo cadena	Anzoátegui	Medio
Bothidae	<i>Citharichthys spilopterus</i>	Lenguado	Paria	Baja
	<i>Cyclosepitta chittendoni</i>			
	<i>Paralichthys sp.</i>		Cumaná	Alta
	<i>Trychosepitta orbicularis</i>		Margarita	Alta
			Anzoátegui	Medio

## Continuación Cuadro 1...

Familia	Nombre científico	Nombre común	Zona de Pesca	Frecuencia
Carangidae	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	Chicharra	Guayana	Alta
	<i>Oligophites sp.</i>	Zapatero	Guayana	Medio
			Margarita	Baja
	<i>Selene setapinnis</i>	Lamparosa	Guayana	Alta
			Paria	Alta
Clupeidae	<i>Trachinotus sp.</i>	Pámpano	Cumaná	Baja
	<i>Harengula clupeola</i>	Carapachona	Guayana	Baja
			Paria	Alta
	<i>Sardinella aurita</i>	Sardina	Cumaná	Medio
	<i>Opisthonema oglinum</i>	Machuelo	Anzoátegui	Alta
Dasyatidae	<i>Dasyatis americana</i>	Raya	Guayana	Medio
	<i>Paraexocoetus branchypterus</i>	Volador	Margarita	Baja
Exocoetidae			Guayana	Medio
Haemulidae	<i>Haemulon boschmae</i>	Boca e'huevo	Guayana	Baja
	<i>Orthopristis ruber</i>	Corocoro	Paria	Baja
Mullidae	<i>Upeneus paruus</i>	Salmonete	Margarita	Alta
Muraenidae	<i>Gymnothorax ocellatus</i>	Morena	Cumaná	Alta
			Margarita	Medio
			Anzoátegui	Medio
Muraenesocidae	<i>Cynopenticus sp.</i>	Congrio	Guayana	Baja
Ophidiidae	<i>Lepophidium profundorum</i>	Perla	Anzoátegui	Baja
			Paria	Baja
Triglidae	<i>Prionotus sp.</i>	Gallineta	Margarita	Medio
			Paria	Medio
Priacanthidae	<i>Priacanthus arenatus</i>	Catalana	Cumaná	Alta
			Margarita	Medio
			Anzoátegui	Medio
			Margarita	Medio

Continuación Cuadro 1...

Familia	Nombre científico	Nombre común	Zona de Pesca	Frecuencia
Sciaenidae	<i>Cynoscion jamaicensis</i>	Tonquicha	Guayana	Medio
			Paria	Baja
		Anzoátegui	Alta	
	<i>C. leiarchus</i>	Curvinata Blanca	Guayana	Medio
	<i>C. virescens</i>	Curvina	Guayana	Baja
	<i>Larimus breviceps</i>	Bombache	Guayana	Medio
			Paria	Alta
		Anzoátegui	Medio	
	<i>Macrodon ancyclodon</i>	Curvinata	Guayana	Alta
	<i>Menticirrhus mericanus</i>	Lambe	Paria	Alta
		Guayana	Medio	
<i>Micropogon furnieri</i>				
<i>Nebris microps</i>	Roncador	Paria	Alta	
<i>Stellifer sp.</i>	Curvinata roja	Cumaná	Baja	
		Buchichi	Medio	
		Guayana	Medio	
Scorpaenidae	<i>Scorpaena sp.</i>	Sapo Chasneto	Cumaná	Baja
Serranidae	<i>Diplectrum formsun</i>	Yuqueta	Cumaná	Alta
			Margarita	Medio
			Anzoátegui	Alta
Sphyraenidae	<i>Sphyraena picudilla</i>	Picúa	Guayana	Medio
			Paria	Alta
Sphyrnidae	<i>Sphyrna sp.</i>	Pez martillo	Anzoátegui	Alta
Synodontidae	<i>Synodus foetens</i>	Guaripete	Cumaná	Medio
			Margarita	Alta
Tetraodontidae	<i>Lagocephalus lacrigatus</i>	Futre- Mondeque	Anzoátegui	Alta
Torpedinidae	<i>Narcine sp.</i>	Temblador-Torpedo	Guayana	Baja
Triakilidae	<i>Mustelus sp.</i>	Cazón viuda	Margarita	Baja
Trichiuridae	<i>Trichiurus lepturus</i>	Tajali	Guayana	Alta
			Paria	Alta
			Cumaná	Medio
			Margarita	Baja

En general la familia Scianidae está representada por nueve especies y todas tienen bajo contenido de grasa y carne blanca. Los bagres, de la familia Ariidae, y los sapos (Batrachoidae) confieren un aroma y textura indeseables a la carne. Las morenas (Muranidae), gallinetas (Triglidae), yuquetas (Scorpaenidae), salmonetes (Mullidae) tienen una constitución

física que dificultan el fileteado, pero el uso del deshuesado facilita la extracción de su carne.

Las zonas de Guayana y Paria tienen un alto contenido de especies de carne blanca, condición favorable para el procesamiento de productos congelados y análogos. El rendimiento en carne es de 37,4% y 39,2% para las muestras dos replicas procesadas.

En el Cuadro 2 se resumen los resultados de la determinación del rendimiento en carne y se puede observar que para ambos ensayos estuvo entre 37,4 y 39,2% con respecto a la captura analizada y de la muestra procesada, respectivamente, con un promedio de 38,3%. La media de 86,2% de los componentes pueden ser utilizados para el procesamiento, formado por peces aprovechables, resultado de la eliminación de moluscos, crustáceos y restos de lecho marino. También se incluyen peces que se consideraron de talla y forma no aceptables para la extracción de la carne por el método de deshuesado mecánico. Estos resultados demuestran un alto rendimiento y permite recomendar el uso de estos recursos, siempre y cuando sean debidamente manipulados a bordo con un buen lavado, eliminación de elementos no deseados y almacenados a bajas temperaturas para que sus condiciones higiénico-sanitarias se mantengan hasta el desembarco.

Cuadro 2. Rendimiento en pulpa de FANC

Replicas	Total	Muestra	seleccionada	Rendimiento en pulpa		Desperdicio total	
	kg	kg	%	Kg	%	kg	%
1	50	42,60	85,3	15,93	37,40	26,67	62,60
2	60	52,20	87,1	20,43	39,20	31,74	60,80

Si se compara con el rendimiento del deshuesado de otras especies logrado por Chiquin (1991) para pulpa de sardina y cachama y Cabello (1991) y Rodríguez *et al.* (2001) para pulpa de sardina, éstos resultados representarían un medio de incrementar el volumen de pescado aprovechado o transformado, reduciendo el descarte de un recurso con alto valor nutritivo. También representa una oportunidad para la flota de arrastre de comercializar las especies pequeñas y de carne blanca que conforman esta FANC, para ser

utilizada en la preparación de productos moldeados a base de carne. Se recomienda a las Instituciones responsables de la administración de recursos y del Estado, la reglamentación del uso de estos recursos.

Como aporte para probar la potencialidad de uso de la carne obtenida, se evaluó el rendimiento en pulpa de pescado (Cuadro 2) y se demuestra que utilizando equipos deshuesadores se pueden rescatar hasta un 37,40% de carne. También es importante señalar que más del 80% de las muestras pudieron ser utilizadas en la obtención de pulpa. Estos demostraron el alto contenido de proteína de la carne del pescado fresco, la cual sufre una pequeña reducción cuando se somete a lavados para aclarar el color y reducir el olor y hacerla más adecuada para su utilización en la elaboración de productos como hamburguesas, palitos, embutidos, etc.

En el Cuadro 3 se reportan los resultados de la composición proximal de la pulpa lavada o sin lavar. El acondicionamiento de la pulpa ocasiona pérdidas de proteína mayoritariamente solubles en agua, pero permite mejorar el color y olor de la carne de pescado.

Al utilizar la carne en la elaboración de productos moldeados o embutidos, bajo esquemas tecnológicos sencillos de aplicar y adaptar a la producción industrial (Cabello *et al.*, 1998), se encontraron resultados (Cuadro 4) donde se destaca que la proteína se mantiene en alto porcentaje (entre 12, 10 y 19,40%), sobre todo en los embutidos donde se utilizó la carne sin acondicionar o sin lavar. El contenido de grasa osciló entre 0,20 y 6,30%, lo que permite señalar que estos productos, bien manejados y almacenados pueden tener una gran estabilidad y vida útil suficiente para su comercialización. Productos similares estudiados por Cabello (1981) a base de cataco demostraron que la pulpa de pescado puede ser utilizada para elaborar estos productos y que estos pueden permanecer inalterables hasta por 90 días, tiempo suficiente para su comercialización.

Cuadro 3. Composición proximal de la pulpa de FANC.

	PSL †	PL
	----- % -----	
Proteína	18,40	16,30
Humedad	80,20	82,20
Grasa	1,60	1,20
Ceniza	0,83	0,36

†PSL = Pulpa sin lavar PL = Pulpa lavada

Al pescado y a la pulpa se le realizaron los análisis de los parámetros higiénico-sanitario dado que ambas pueden ser utilizadas según el producto a elaborar. Los resultados microbiológicos arrojaron los siguientes resultados: Crecimiento de coliformes de  $1,2 \times 10^2$ ,  $2,4 \times 10^3$  y  $2,4 \times 10^2$  para pescado entero, PL y PSL, respectivamente. Para la prueba de mesófilos se encontró  $1,6 \times 10^4$ ,  $1,7 \times 10^5$  y  $2,4 \times 10^4$  para las mismas muestras. Según la APHA (1992), los resultados son aceptables.

Cuadro 4. Composición proximal de los productos con pulpa de FANC

Producto	Humedad	Proteína	Grasa	Ceniza
	----- % -----			
Hamburguesa	73,0	12,1	0,2	2,7
Salchicha	73,7	12,2	3,0	1,6
Palitos	68,2	16,4	4,2	2,3
Filetes	69,3	17,3	5,0	2,4
Salame	71,0	19,4	6,3	1,8

Los valores de pH estuvieron entre 6,5 (PSL) y 5,6 (PL), el NBVT: 8,4 mg/100g (PSL) y 2,8 mg/100g (PL). Todos estos valores son considerados como atributos de buena calidad. La determinación del NBVT y pH son parámetros que se asocian con el grado de deterioro o alteración del pescado (Huss, 1988) y su formación o alteración depende de cambios complejos que ocurren en los componentes de la carne, causados por acción de las enzimas autolíticas y microbianas. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos por Covenin 3086-94, lo que indica que si hay una propuesta de producir productos a base de pulpa de pescado y se cumplen con las buenas prácticas de manufactura se podrán obtener productos de buena calidad. Pescado picado, surimi y productos derivados son una alternativa cierta para ampliar la gama de productos pesqueros comerciales en Venezuela.

La revisión de los resultados de productos sometidos a la evaluación sensorial reveló que las opiniones emitidas por los panelistas fueron positivas y fueron aceptados ampliamente, dominando la preferencia por el filete empanado y los embutidos.

Las salchichas elaboradas con carne de pescado resultan un alimento con bala caloría y con alto contenido de proteína. Se recomienda ensayar sobre formas de presentación atractivas al consumidor y empaques no muy costosos para estos nuevos productos sean competitivos con productos similares a base de carne roja.

## CONCLUSIONES

Hay una gran diversidad de especies que forman la FANC y que varían según la zona de captura y que representan un recurso abundante y adecuado para ser utilizado como materia prima en la elaboración de productos deshuesados si se hace una buena escogencia de los peces según la zona de pesca. Hay 20 especies frecuentes y abundantes.

Las áreas con mejores grupos de especies, desde el punto de vista organolépticos, son Guayana y Paria por estar formada mayoritariamente por especies de carne blanca como los representantes de la familia Scianidae. El uso de la pulpa de otras zonas, donde abundan exige el acondicionamiento, de la misma.

La pulpa de FANC es una excelente materia prima para la elaboración, de una gran variedad de productos que resultaron ser aptos para el consumo y pueden suplir, con ventajas, las proteínas de carne roja. Se recomienda profundizar en los estudios de estabilidad y vida útil para establecer los patrones de comercialización para estos productos, sin embargo su conservación y tratamiento es similar a productos que ya se encuentran en el mercado.

## BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists 13<sup>ra</sup> Ed. Washington. D.C., U.S.A. 520p.
- APHA. 1992. Compendium of Methods for Microbiological Examination of Food. American Public Health Association 3<sup>ra</sup> Ed. Washington, D.C., USA. 1115p.
- Bello R. 1987. Utilization of shrimp by-catch in Venezuela. *Infofish Int.*, 6: 4-7.

- Blight G. y W. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. Biochem. Phys.*, 37(8):1-10.
- Cabello A. 1981. Contribución al conocimiento de la biología de Catakogarra ( *Trahurus lathami* Nichols, 1920). Tesis de Pregrado de Escuela de Ciencias de la Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela, 89p.
- Cabello A. 1991. Obtención y acondicionamiento de pulpa de sardina de la región nororiental. Tesis de Magíster Scientiarum. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 191pp.
- Cabello A., B. Figuera, M. Ramos y L. Villegas. 1995. Nuevos productos pesqueros en la dieta del venezolano. *INIA Divulga*, 49:12-13.
- Cabello A., L. Marcano, B. Figuera, Y. Márquez y O. Vallenilla. 1998. Considerations about by-catch in Venezuela. *Proc. FAO/DFID Expert consultation on by catch utilization in tropical fisheries*. 21-23 Sept. 1998, Beijing, China.
- Codex Alimentarius. 1983. Recommended international code of practice for minced fish prepared by mechanical separation. *FAO-CAC/RCP 27-1983*. 29p.
- Covenin. 1979. Norma Venezolana 1315-1979. Determinación de pH. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela, 3p.
- Covenin. 1982. Norma Venezolana 1948-1982. Determinación del nitrógeno básico volátil total en pescados y productos marinos. Comisión Venezolana de Normas Industriales Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela, 21p.
- Covenin. 1984. Norma Venezolana 1104-1984. Determinación del número más probable de coliformes fecales y *Echerichia coli*. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela, 21p.
- Covenin. 1994. Norma Venezolana 3086-1994. Pulpa de pescado. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento, Caracas, Venezuela, 3p.
- Chiquin A. 1991. Aprovechamiento de la mezcla de pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) y cachama (*Colossoma macropomun*) en el desarrollo de productos congelados. Tesis de Magíster Scientiarum.

- Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 63p.
- Huss H. 1988. El pescado fresco: Su calidad y cambios de calidad. *En* FAO/DANIDA (Eds) Tecnología Pesquera y Control de Calidad. FAO. Roma, pp. 10-85.
- Marcano L., L. Lanz y D. Sánchez. 1992. Análisis de la fauna acompañante del camarón en la pesca de arrastre del nororiente del país. *Acta Cien. Ven.*, 36(Supl. 1):34.
- Min T., T. Fujiwara, N. Mui-Chng y T. Ching-Ean. 1983. Procesamiento de la pesca acompañante en bloques congelados de carne triturada (surimi) y en productos gelatinosos. Consulta Técnica sobre la Utilización de la Pesca Acompañante del Camarón Pesca Acompañante del Camarón. Un regalo del mar Georgetown GY 27-30 oct. 1981 Ottawa.
- Rodríguez J., A. Cabello, B. Figuera, M.C. Ramos y O. Vallenilla 2001. Caracterización y aprovechamiento de la pulpa del Caribe colorado (*Pigocentrums cariba*, Humboldt 1821) para la elaboración de productos alimenticios. *Interciencia*, 26(4):161-165.
- Salvin J.W. 1983. Utilización de la pesca acompañante del camarón. Consulta Técnica sobre la Utilización de la Pesca Acompañante del Camarón Pesca Acompañante del Camarón. Un regalo del mar. Georgetown, GY 27-30 oct. 1981 Ottawa.
- Young R.H. y J.M. Romero. 1979. Variability in the yield and composition of by-catch recovered from Gulf of California shrimping vessels. *Trop. Sci.*, 20:85-87

## Mortalidad y rendimiento por recluta de la curvinata de río, *Plagioscion squamosissimus*, en el Orinoco medio de Venezuela

Ángel González<sup>1\*</sup>, Jeremy Mendoza<sup>2</sup>, Freddy Arocha<sup>2</sup> y Arístide Márquez<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se estudió la mortalidad y el rendimiento relativo por recluta de *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio de Venezuela, entre enero del 2000 y diciembre del 2002; utilizando las frecuencias de talla de peces capturados en el canal principal del Orinoco medio y en una de sus lagunas de inundación. La tasa de mortalidad total se determinó mediante una curva de captura, mientras que el rendimiento relativo por recluta se estimó por el modelo de Beverton y Holt (1966). La tasa de mortalidad total fue de 0,710 año<sup>-1</sup>, con una mortalidad natural de 0,480 año<sup>-1</sup> y una mortalidad por pesca de 0,230 año<sup>-1</sup>. La tasa de explotación a la cual se encuentra sometida actualmente la especie fue de 0,324, mientras que la estimada para alcanzar el máximo rendimiento por recluta fue de 0,880. Los resultados del rendimiento por recluta indican que la especie presentaría una explotación moderada.

Palabras clave: *Plagioscion squamosissimus*, río Orinoco, pesquerías continental, mortalidad, rendimiento por recluta, administración pesquera.

---

<sup>1</sup> Dirección de Recursos Acuáticos. Instituto Limnológico, Universidad de Oriente. Caicara del Orinoco, estado Bolívar. Venezuela. \*Correo electrónico: angelgonzalez78@hotmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Biología Pesquera. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Cumaná, Estado Sucre.

<sup>3</sup> Departamento de Oceanografía Química. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Cumaná, Estado Sucre. Venezuela.

## Mortality and yield by recruit of the river curvinata, *Plagioscion squamosissimus*, in middle Orinoco river in Venezuela

### SUMMARY

A study of the mortality and relative yield for recruit of *Plagioscion squamosissimus* was carried out in the region of the middle Orinoco river in Venezuela, between January of 2000 and December of 2002; using the longitude of fish captured in the main channel of the river and in one of its flood lagoons. The rate of total mortality was determined by a curve of capture, while the relative yield for recruit was estimated by the model of Beverton and Holt (1966). The rate of total mortality was of 0.710 year<sup>-1</sup>, with a natural mortality of 0.480 year<sup>-1</sup> and mortality for fishing of 0.230 year<sup>-1</sup>. The rate of exploitation of the species at the moment was 0.324, while the estimated to reach the maximum yield for recruit was 0.880. The results of the yield for recruit indicated that the species show a moderate exploitation.

Key words: Continental fish, Orinoco river, fisheries, mortality, yield for recruit, fishing administration.

### INTRODUCCIÓN

La curvinata de río, *Plagioscion squamosissimus*, se encuentra entre las especies continentales de mayor importancia comercial en Venezuela, después del coporo *Prochilodus mariae*, bagres de la familia Pimelodidae, la palometa *Mylossoma duriventre* y la cachama *Colossoma macropomum*. Aparentemente no se conoce su contribución en la producción pesquera continental en Venezuela, estimada en 60.000 t/año (CAF, 2000); aunque para la región del Orinoco medio se ha estimado una captura anual comprendida entre 12,3 y 24,4 t/año, así como un 12% en la composición de la captura (González, 2002). Es la especie más importante desde el punto de vista pesquero en la región del Orinoco medio, junto con los grandes bagres del género *Pseudoplatystoma* y *Brachyplatystoma*; sin embargo, al igual que la gran mayoría de las especies continentales que se aprovechan comercialmente en el Orinoco, en esta especie no se habían realizados estudios de evaluación del stock, excepto algunas informaciones relacionadas

con el crecimiento en peso de la población (González *et al.*, 2005) y la captura por unidad de esfuerzo (González, 2002).

En este trabajo se estimó la mortalidad y el rendimiento por recluta de *P. squamosissimus* en el Orinoco medio, con miras al conocimiento del nivel de explotación actual y el necesario para alcanzar el máximo rendimiento sostenible, aspecto importante en la administración del recurso. Esta forma de evaluación se hizo tomando en cuenta la disponibilidad de datos, como las frecuencias de talla de la población, los parámetros de crecimiento y el índice de captura. En el futuro se podrían aplicar otros métodos de evaluación como la estimación del potencial del recurso, la tasa de cambio de la población en función del tamaño de la población misma, marcado y recaptura, análisis de población virtual y el uso de parámetros ambientales (Csrirke, 1980; Welcomme, 1980; Gulland, 1983).

Con relación a otros recursos continentales bajo explotación, la información sobre mortalidad y producción por recluta de especies neotropicales es escasa, existiendo solo algunas investigaciones relacionadas con especies de la cuenca del Amazonas como *Leporinus friderici* (De Souza, 2001), *Brycon microlepis* (Mateus y Estupiñán, 2002), *C. macropomumen* (Petre, 1983; Isaac y Rufino, 1996), *Brachyplatystoma vaillantii* (Barthem y Petre, 1995), *Pseudoplatystoma corruscans* (Mateus y Estupiñán, 2002) y *Cyphocharax magdalenae* en el río Sinú (Colombia) (Blanco *et al.*, 2005).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se consideró una muestra única de 2.754 peces capturados mensualmente entre los años 1998-2000, correspondientes a 1.518 peces capturados en el canal principal del Orinoco medio, entre boca apure y punta brava, y 1.236 peces capturados en la laguna Castillero, de la región de Caicara del Orinoco, estado Bolívar (Figura 1). Los muestreos fueron realizados utilizando redes de enmalle de 100 m de longitud y 10 cm de luz de malla, midiendo la longitud total (cm) de los peces capturados. Las frecuencias de las tallas fueron establecidas a un intervalo de clase de 1 cm y tomando en cuenta la selectividad del arte utilizado (González *et al.*, 2003).

La mortalidad total  $Z$  se estimó a partir de una curva de captura linealizada, siguiendo la metodología de Sparre y Venema (1995). Según esta metodología, la mortalidad total  $Z$  corresponde a la pendiente de la línea de

regresión entre el logaritmo del número de peces capturados por clases de talla ( $\ln C(t)$ ) y sus correspondientes edades ( $t$ ). Las edades de las clases de tallas ( $L$ ) fueron determinadas a través de la ecuación inversa de Von Bertalanffy:

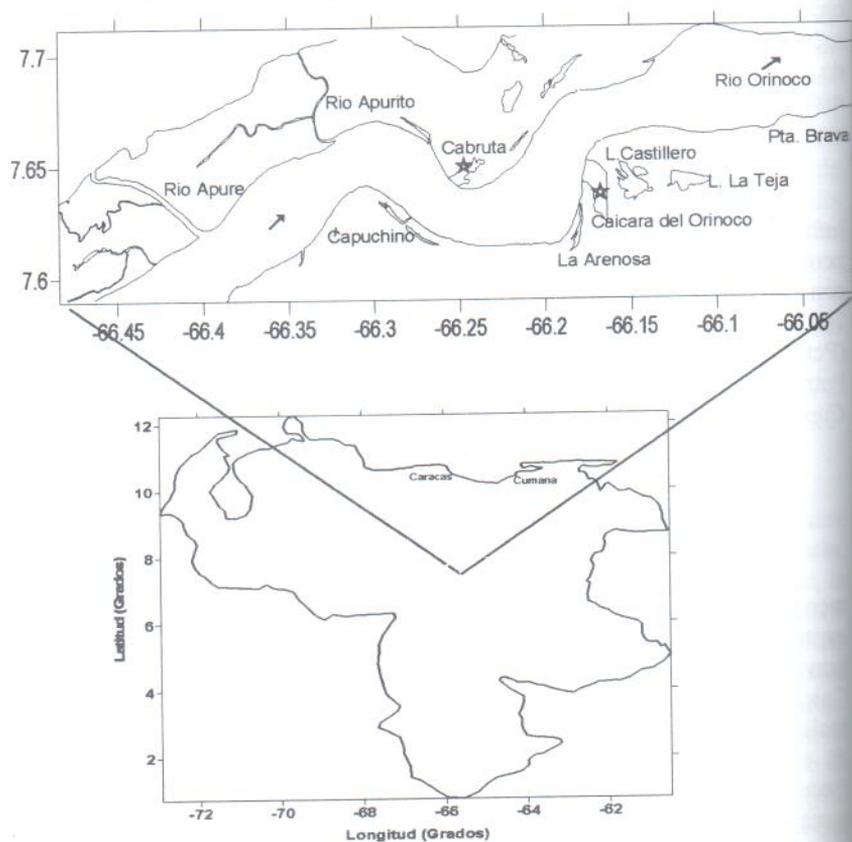


Figura 1. Zonas de muestreo de *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio de Venezuela.

$$t(L) = t_0 - \frac{1}{K} \times \ln \left( 1 - \frac{L}{L_{\infty}} \right)$$

Mientras que la mortalidad natural  $M$  se determinó utilizando la fórmula empírica de Pauly (1980):

$$\ln M = -0,0152 - 0,279 \ln L_{\infty} + 0,6543 \ln K + 0,463 \ln T,$$

donde  $T$  fue el promedio de la temperatura del agua ( $^{\circ}\text{C}$ ) medida durante los muestreos ( $28^{\circ}\text{C}$ ).

La mortalidad por pesca  $F$  se estimó a partir de la diferencia entre la mortalidad total  $Z$  y la mortalidad natural  $M$  ( $F = Z - M$ ), según la metodología de Sparre y Venema (1995).

El rendimiento relativo por recluta ( $Y'/R$ ) fue calculado por el método de Beverton y Holt (1966), utilizando el programa FISAT (Gayaniño *et al.*, 1994), según el modelo:

$$\frac{Y'}{R} = EU^{\frac{M}{K}} \left[ 1 - \frac{3U}{1+m} + \frac{3U^2}{1+2m} - \frac{U^3}{1+3m} \right]$$

donde,

$$m = \frac{(1-E)}{\frac{M}{K}} = \frac{K}{Z}$$

$$U = 1 - \left( \frac{L_c}{L_{\infty}} \right)$$

$$E = \frac{F}{Z} \text{ (tasa de explotación)}$$

$L_c$  = la longitud (cm) de primera captura, equivalente a  $L_{50}$  o longitud a la cual el 50% de los peces son vulnerables al arte.

Los parámetros de crecimiento utilizados fueron los estimados por González *et al.* (2005), quien encontró no haber diferencias significativas en los modelos de crecimiento de los peces del canal principal del Orinoco medio y los de la laguna Castellero. En el estudio se utilizó el promedio de la longitud asintótica ( $L_\infty$ ) estimada para las dos zonas de muestreo (62,6 cm de longitud total), el promedio de la rapidez con que alcanzan la longitud máxima ( $K = 0,161 \text{ año}^{-1}$ ) y el promedio del parámetro de condición inicial ( $t_0 = 0,37$ ).

## RESULTADOS

La muestra poblacional estuvo estructurada por peces de longitudes comprendidas entre 24 cm de longitud total y 53 cm de longitud total, con una mayor cantidad de ejemplares de entre 29 cm y 32 cm de longitud total (Figura 2).

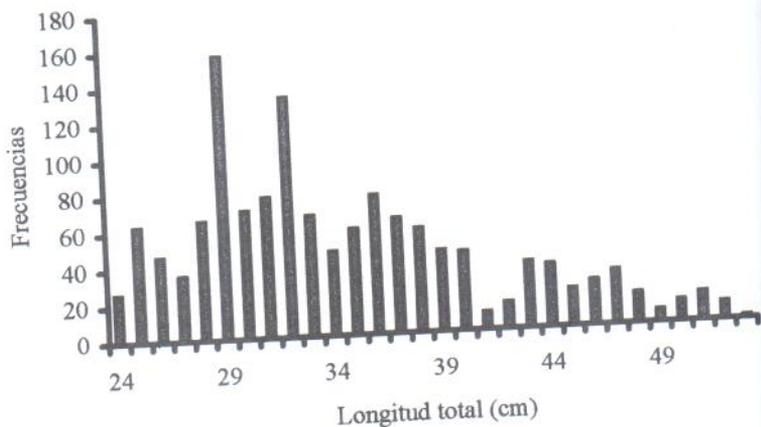
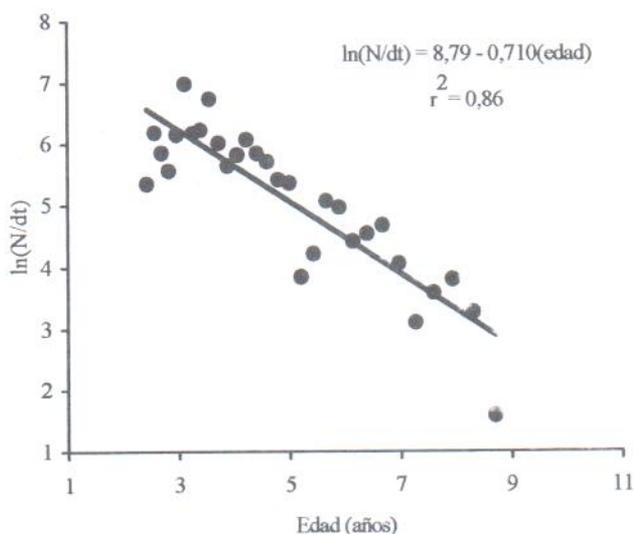


Figura 2. Frecuencias de talla de *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio de Venezuela

La mortalidad total fue de  $0,710 \text{ año}^{-1}$  (Figura 3), con una mortalidad natural de  $0,480 \text{ año}^{-1}$  y una mortalidad por pesca de  $0,230 \text{ año}^{-1}$ . La tasa actual de explotación fue de  $0,324$ .

Bajo las condiciones actuales de una longitud de primera captura de  $32 \text{ cm}$  de longitud total y una mortalidad por pesca de  $0,230 \text{ año}^{-1}$ , el máximo rendimiento por recluta se estimó para una tasa de explotación de  $0,880$  (Figura 4), aproximadamente tres veces más que la tasa de explotación que actualmente se aplica.



actualmente. Aproximadamente, un máximo rendimiento por recluta para una mortalidad por pesca igual a  $0,700 \text{ año}^{-1}$ , también se obtuvo al reducir la longitud de primera captura hasta 30 cm de longitud total o al aumentarla a 34 cm de longitud total (Figura 5), aunque para longitudes de 34 cm de longitud total y más, el rendimiento por recluta tiende a disminuir (Figura 6).

## DISCUSIÓN

La tasa neta de incremento natural en la parte explotable de cualquier población, para su rendimiento sostenible, depende de la diferencia entre el número de peces que mueren por causas naturales y el número de reclutas que entran en la población explotable (Gulland y Boerema, 1973). En este sentido, en las aguas de crecientes como el Orinoco, el reclutamiento anual y por ende el rendimiento, depende de las condiciones ambientales (Baca, 1998), desconociéndose la medida exacta del reclutamiento en la especie *P. squamosissimus*. En consecuencia, en el trabajo se consideró como constante el reclutamiento y el rendimiento, fue expresado en término del rendimiento por recluta (Csirke, 1980). Por otro lado, se sabe que la mortalidad natural junto con el crecimiento varía con la época del año y con el sexo (Welcomme, 1985), sin embargo en el estudio, por indisponibilidad de datos suficientes, estos no fueron estratificados según las épocas del año ni por sexo, sino que se consideró una muestra única.

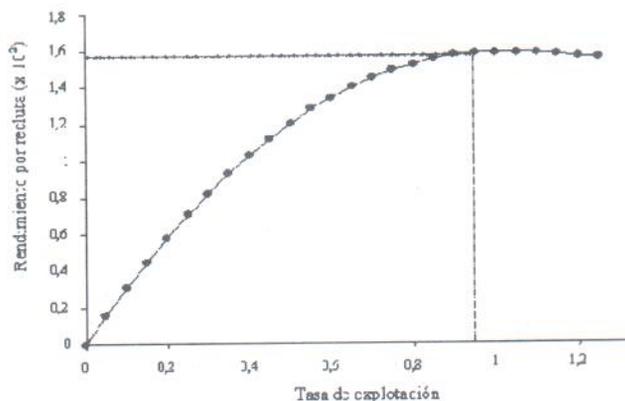


Figura 4. Rendimiento por recluta de *Plagioscion squamosissimus* y la tasa de explotación en el Orinoco medio de Venezuela.

Las longitudes de *P. squamosissimus* estuvieron comprendidas entre 24 cm y 53 cm de longitud total, principalmente entre 29 y 32 cm de longitud total. Estas longitudes fueron aproximadamente iguales a las reportadas por Williams (1995) para la represa de Guri en el estado Bolívar, así como por Nico y Taphorn (1984) y Bello (1979), para algunos cuerpos de agua de los estados Apure y Guárico. En la represa de Bariri del río Tieté (Brasil), *P. squamosissimus* puede alcanzar hasta 48 cm de longitud total, pero generalmente miden entre 19 cm y 25 cm de longitud total (Rodríguez et al., 1988).

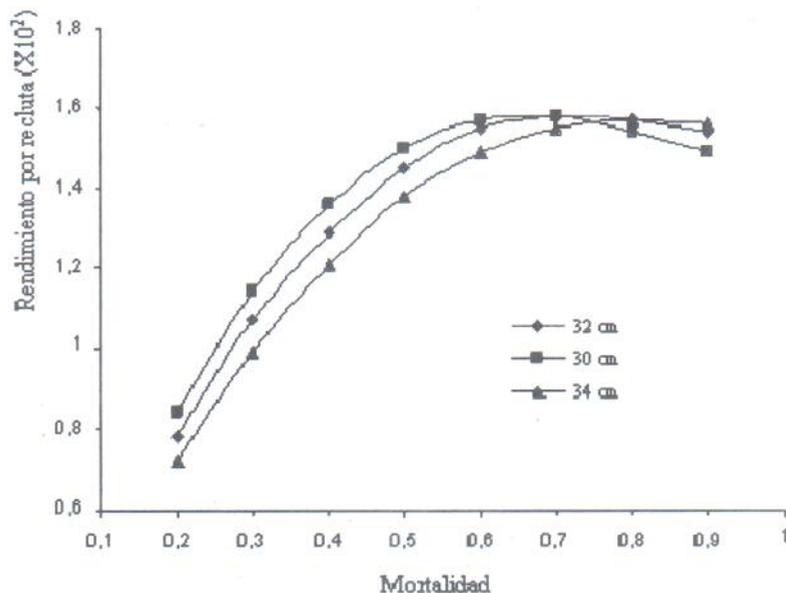


Figura 5. Rendimiento por recluta de *Plagioscion squamosissimus* y la mortalidad por pesca en el Orinoco medio de Venezuela.

La tasa de mortalidad natural fue de  $0,480 \text{ año}^{-1}$ , aproximadamente igual a la estimada para la especie *C. macropomum* en el bajo Amazonas (Isaac y Rufino, 1996) y *B. microlepis* en la cuenca del río Cuiabá en Brasil

(Mateus y Estupiñán, 2002). Sin embargo, en las especies *C. magdalenae* en el río Sinú de Colombia (Blanco *et al.*, 2005), *S. intermedius* en el río Cross en África (Lawrence *et al.*, 1999) y *C. chrysonotus* en el lago Malocube, también en África (Weyl *et al.*, 2005), se han determinado tasas de mortalidad natural superiores a la estimada para *P. squamosissimus* en el Orinoco medio.

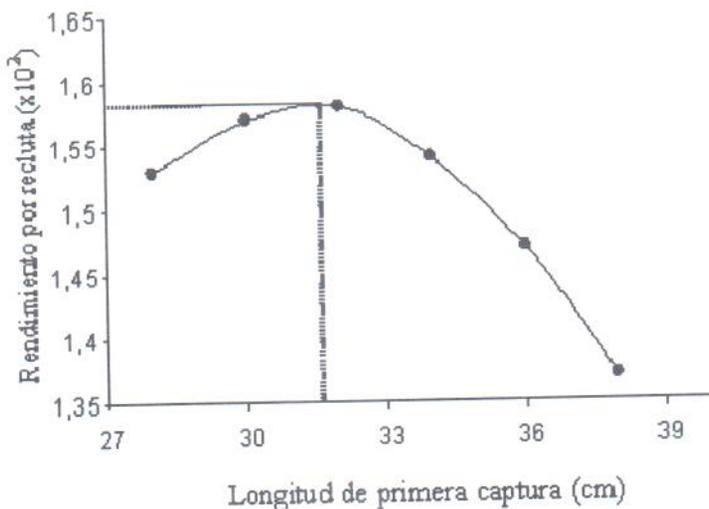


Figura 6. Rendimiento por recluta de *Plagioscion squamosissimus* y la longitud de primera captura en el Orinoco medio de Venezuela.

La tasa de mortalidad por pesca fue de  $0,230 \text{ año}^{-1}$ , inferior a las estimadas para las especies *C. macropomum* en el bajo Amazonas (Isaac y Rufino, 1996), *C. magdalenae* en el río Sinú (Blanco *et al.*, 2005), *S. intermedius* en el río Cross (Lawrence *et al.*, 1999) y *C. chrysonotus* en el lago Malocube (Weyl *et al.*, 2005). Los valores de la mortalidad natural y por pesca de *P. squamosissimus*, determinaron una tasa de mortalidad total de  $0,710 \text{ año}^{-1}$ , menor que las estimadas para *C. macropomum* en el bajo Amazonas (Isaac y Rufino, 1996), *C. magdalenae* en el río Sinú (Blanco *et al.*, 2005), *S. intermedius* en el río Cross (Lawrence *et al.*, 1999) y *C.*

*chrysonotus* en el lago Malocube (Weyl *et al.*, 2005). Aproximadamente el 68% de la mortalidad total de *P. squamosissimus* se produjo por causas naturales, mientras que apenas el 32% fue debido a la actividad pesquera, con una mayor influencia de la mortalidad natural en comparación con la mortalidad por pesca. Un mayor efecto de la mortalidad natural en la mortalidad total, también se ha observado en especies como *L. fridereci* en la represa de Volta Grande en Brasil (De Souza, 2001), mientras que en otras especies como *Tenualosa ilisha* en el río Menga de la India, los altos valores de mortalidad total se deben a la actividad pesquera (Miah *et al.*, 1997).

En las condiciones actuales de crecimiento, mortalidad y talla de primera captura de *P. squamosissimus*, la fracción de la población que efectivamente está siendo removida por la pesca ( $E = 0,324$ ) está muy por debajo de la tasa de explotación estimada para alcanzar un máximo rendimiento por recluta ( $E = 0,880$ ), encontrándose la especie en un nivel de explotación moderada. El mismo nivel de explotación moderada, se ha señalado en especies como *B. microlepis* en la cuenca del río Cuibá, *C. macropomum* en el estado de Amazonas y *P. corruscans* en el pantanal del estado de Mato Grosso, en Brasil (Mateus y Estupiñán, 2002).

Manteniendo la longitud de primera captura en 32 cm de longitud total en *P. squamosissimus*, el máximo rendimiento por recluta se alcanzaría para una tasa de mortalidad por pesca de  $0,700 \text{ año}^{-1}$ , aproximadamente 3 veces más que la tasa de mortalidad por pesca actual ( $0,230 \text{ año}^{-1}$ ). Esto indica que aparentemente se está capturando mucho menos del potencial disponible y que el recurso podría soportar hasta tres veces más el esfuerzo de pesca que actualmente se aplica. Este esfuerzo de pesca fue establecido por González (2002) en un promedio anual de 1.104 días de pesca y 3.435 horas efectivas de pesca.

El máximo rendimiento por recluta también se podría alcanzar al reducir la longitud de primera captura a 30 cm de longitud total o menos, o al aumentarla a 34 cm de longitud total. Sólo que en 30 cm de longitud total se estarían capturando peces inmaduros, según lo señalado por González (2002) en cuanto a la longitud que corresponde al 50% de madurez sexual de *P. squamosissimus* (30 cm de longitud total); mientras que si se aumenta a 34 cm la longitud de primera captura, se empezaría a obtener rendimientos más bajos. Lo recomendable entonces sería mantener la longitud de primera captura en 32 cm de longitud total, utilizando por ejemplo redes de enmalle de 10 cm de luz de malla. Aún considerando que en ambientes de inundación

como el Orinoco, el rendimiento anual de *P. squamosissimus* depende principalmente de los factores ambientales (Baca, 1998), un exceso en el esfuerzo de pesca y principalmente una baja longitud de primera captura, podría conducir a un estado de sobreexplotación del recurso, tal como se ha demostrado en especies como *C. macropomum* (Isaac y Rufino, 1996) y *B. vaillantii* en el bajo Amazonas (Barthem y Petrere, 1995), *T. ilisha* en el río Menga de la India (Miah *et al.*, 1997), *S. intermedius* en el río Cross en África (Lawrence *et al.*, 1999) y *C. chrysonotus* en el lago Malocube, también en África (Weyl *et al.*, 2005).

### CONCLUSIONES

Bajo las condiciones actuales de longitud de primera captura, crecimiento y mortalidad, la tasa de explotación de *P. squamosissimus* es aproximadamente tres veces menor que la necesaria para alcanzar el máximo rendimiento sostenible, tratándose de una especie que, en la región del Orinoco medio de Venezuela, está moderadamente explotada. Bajo las condiciones actuales de explotación, el recurso podría soportar tres veces más el esfuerzo de pesca que actualmente se aplica.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación y Dirección del Instituto Limnológico de la Universidad de Oriente por el financiamiento del proyecto que originó el presente trabajo y la logística prestada. Al TSU Alexis Guerrero y a los Srs. Juan Infante y Carlos Cardozo, por su colaboración en los aspectos de informática y muestreos.

### BIBLIOGRAFÍA

- Baca J.F. 1998. Amazonian fisheries: Socioeconomic issues and management implications. Environmental Economics Programme, Lima, Perú. Paper DP 98-02. 52 p.
- Barthem R.B. y M. Petrere Jr. 1995. Fisheries and population dynamics of *Brachyplatystoma vaillantii* (Pimelodidae) in the Amazon estuary. Ann. World Fisheries Congress, Atenas. pp.329-340.

- Bello C.L.C. 1979. Hábitos alimenticios de la Curvinata *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Actinoptergii, Scianidae) en el Embalse de Guanapito, estado. Guárico. Tesis de Grado, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 79 p.
- Beverton R.J.H. y S.J. Holt. 1966. On the dynamics of exploited fish populations. Fish. Invest., Lond., Series 2(19). 533 p.
- Blanco V.H., G.J. Salipa, W. Charles, F.F. Olaya-Nieto, S.B. Segura-Guevara y G.T.P. Bru-Cordero. 2005. Crecimiento y mortalidad de la yalua (*Cyphocharax magdalenae*) en el río Sinú, Colombia. Revista MVZ-Córdoba., 10 (1): 555-563.
- CAF (Corporación Andina de Fomento). 2000. Las Lecciones de El Niño: Memorias del Fenómeno El Niño 1997 - 1998: Retos y propuestas para la Región Andina: Venezuela. CAF, Caracas.
- Csirke J. 1980. Introducción a la dinámica poblacional de peces. FAO. Doc. Tec. Pesca, N° 192: 82 p.
- De Souza Braga F.M. 2001. Crecimiento e mortalidade de *Leporinus frederici* (Ostariophysi, Anostomidae) na represa de Volta Grande, rio Grande, localizada entre os Estados de Mina Geracis e Sao Paulo, Brasil. Acta Scientiarum, 23(2): 415-420.
- Gayanilo Jr. F.C., P. Sparre y D. Pauly. 1994. The FAO-ICLARM stock assessment tools (FISAT) User's Guide. FAO Computerized Information Series (Fisheries), 6. 186 p.
- González S.A.R. 2002. Dinámica poblacional de la Curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en la región del Orinoco medio. Tesis Magíster Scientiarum. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente, Cumana. 92 p.
- González A., J. Mendoza, F. Arocha y A. Márquez. 2003. Selectividad de la red de enmalle sobre la curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio. Zootecnia Trop., 21(4): 371-382.
- González A., J. Mendoza, F. Arocha y A. Márquez. 2005. Crecimiento de la curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio. Zootecnia Trop., 23(2): 155-170.
- Gulland J.A. y L.K. Boerema. 1973. Scientific advice on catch levels. Fish. Bull., 71(2): 325-335.

- Gulland J.A. 1983. El porque de la evaluación de poblaciones. FAO. Circ. Pesca, 759. 20 p.
- Isaac V.J. y M.L. Rufino. 1996. Population dynamics of tambaqui *Colossoma macropomum* Curvier, in the lower Amazon Brazil. Fish. Manag. Ecol., 3: 315-333.
- Lawrence E., P.E. Lebo y R.P. King. 1999. The dynamics of an exploited population of a siluroid catfish (*Schilbe intermedium*, Reupell 1832) in the Cross River, Nigeria. Fish. Res., 4(3): 295-307.
- Mateus L.A. de F. y G.M.B. Estupiñán. 2002. Fish stock assessment of piraputanga *Brycon microlepis* in the Cuibá river basing, Pantanal of Mato Grosso, Brazil. Braz. J. Biol., 2 (1): 165-170.
- Miah M.S., G.C. Haldar y M.A. Arman. 1997. Estimation of growth and mortality parameters of Hilsa *Tenuulosa ilisha* (Ham.) population in the Meghna river of Bangladesh. Indian J. Fish., 44 (2): 133-139.
- Nico L.G. y D.C. Taphorn. 1984. Biología de la Curvinata *Plagioscion squamosissimus* en el Módulo Fernando Corrales de UNELLEZ, Apure. Rev. UNELLEZ Cienc. Tecnol., 2: 31-39.
- Pauly D. 1987. A review of ELEFAN system for analysis of length-frequency data in fish and aquatics invertebrates. En Pauly D. y G.R. Morgan (Eds.) Length based methods in fisheries research. ICLARM Conference Proceedings, 13: 7-34.
- Petrere Jr. M. 1983. Yield per recruit of the tambaqui *Colossoma macropomum* Curvier, in the Amazonas state, Brazil. J. Fish. Biol. 22: 133-144.
- Rodríguez A.M., J.D. Rodríguez, M.N. Morales y A.E. Ferreira. 1988. Aspectos da estrutura populacional dapescada-piauí *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Osteichthyes, Scianidae), na represa de Bariri, Río Tietê, estado de Sao Paulo, Brazil. B. Inst. Pesca, 15(2): 155-167.
- Sparre P. y S.C. Venema. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1, Manual FAO. Doc. Tec. Pesca, N° 306/1. Rev.1. 420 p.
- Welcomme R.L. 1980. Ordenación de la explotación pesquera de los grandes ríos. FAO. Doc. Tec. Pesca, N° 194. 65 p.
- Welcomme R.L. 1985. River fisheries. FAO Fish., Tech. Pap. N° 262. 330 p.

- Weyl O.L.F., A.J. Booth, K.R. Mwakiyongo y D.S. Mandere. 2005. Management recommendations for *Copadichromis chrysonotus* (Pisces: Cichlidae) in Lake Malombe, Malawi, based on per-recruit analysis. *Fish. Res.*, 71(2):165-173.
- Williams J.D. 1995. Ecology of large piscivorous fishes in Guri Reservoir, Venezuela, with notes on community structure. MSc. Thesis, Wildlife and Fishery Sciences. Texas A&M University, Texas. 77 pp.

## Ensayo de toxicidad aguda CL50-96h con acetato de cadmio y parámetros hematológicos en el híbrido cultivado *Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*

Rosa Vásquez<sup>1</sup>, Asmine Bastardo<sup>2\*</sup> e Inés K. Mundarain<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se determinó la concentración letal media del acetato de cadmio en el cachamote cultivado (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*), mediante una prueba de toxicidad aguda realizada en bioensayos estáticos a 96 horas (CL50-96h). Se evaluaron los principales efectos del contaminante sobre la estructura de estos organismos acuáticos a corto plazo y en los parámetros hematológicos. Para tal fin se utilizaron alevines de cachamote con un promedio en peso de 4 g y de longitud estándar de 9 cm. La concentración letal media del acetato de cadmio para el cachamote fue de 22,96 mg/l en 96 h y se observaron los siguientes biomarcadores externos: Nado letárgico en la superficie, exoftalmia, hipersecreción mucosa, opacidad de la córnea, cambios en la pigmentación de la piel, asfixia, hemorragia en los ojos y opérculo, deshilachamiento de las aletas y acumulación de líquido en la cavidad abdominal. Los efectos del acetato de cadmio sobre los parámetros hematológicos del pez se evidenciaron en una significativa disminución del hematocrito y de la concentración de hemoglobina en todas las concentraciones utilizadas.

---

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente Núcleo de Sucre. Cerro Colorado. Av. Gran Mariscal. Cumaná, estado Sucre. Venezuela

<sup>2</sup> Estación de Investigaciones Hidrobiológicas de Guayana. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Apartado Postal 51. San Félix, estado Bolívar. Venezuela. \*Correo electrónico: [asmine.bastardo@fundacionlasalle.org.ve](mailto:asmine.bastardo@fundacionlasalle.org.ve)

Palabras clave: toxicidad, bioensayos, cadmio, piscicultura, parámetros hematológicos.

**Test of acute toxicity LC50-96h with cadmium acetate and hematological parameters in the farmed hybrid *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus***

**SUMMARY**

The mean lethal concentration of cadmium was determined in alevines of cachamoto (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) using cadmium acetate in acute toxicity tests based on static bioassays of 96 h (LC50-96h). The main short time effects of the pollutant were evaluated on the structure and on some hematological parameters of these fish. Animals had a mean weight of 4 g and standard length of 9 cm. Mean lethal concentration of cadmium acetate for cachamoto was 22.96 mg/l in 96 h, and the following external biomarkers were observed: lethargic swimming in the surface, exophthalmia, mucus hypersecretion, corneal opacity, changes in skin pigmentation, asphyxia, hemorrhage in eyes and operculum, unraveling of fins, and accumulation of liquid in the abdominal cavity. Cadmium acetate effects on fish hematological parameters showed a significant reduction in hematocrit and hemoglobin concentration in all of the tested concentrations.

Key words: cadmium, toxicity, LC50-96h, hematological parameters, Caroni river.

**INTRODUCCIÓN**

Los metales pesados están considerados como serios contaminantes del ecosistema acuático. Muchos de estos compuestos no biodegradables son absorbidos y acumulados por los peces e incorporados en la trama trófica causando problemas latentes de salud en uno de los más importantes consumidores finales: el hombre (Figuroa, 1998). Los peces son utilizados cada vez con mayor frecuencia como modelos para trabajos experimentales pues su pequeño tamaño y la rápida reproducción los hacen particularmente idóneos para las más variadas pruebas, especialmente como animales de prueba en investigaciones de toxicología y el monitoreo de la contaminación.

del medio acuático. Además, los costos en términos económicos y biológicos pueden ser reducidos mediante el uso de pequeños peces de acuario en estudios de toxicidad (Domitrovic, 1997), los cuales presentan diferentes patrones de acumulación, dependiendo del metal, de la concentración en el medio y del tiempo de exposición (Eisler *et al.*, 1972).

Los bioensayos han sido el método tradicional para documentar la presencia o ausencia de efectos aparentes de los contaminantes sobre los sistemas vivos. Las pruebas letales o toxicidad aguda (CL50) permiten evaluar los principales efectos de los contaminantes sobre la estructura de los organismos o de las poblaciones acuáticas a corto plazo (Calabrese *et al.*, 1977). Los métodos más utilizados en estudios de contaminación son los de carácter fisicoquímico e hidrobiológico; un enfoque intermedio lo brindan los bioensayos en laboratorio que establecen un puente entre estos procesos (Vargas-Boldrini, 1994) y documentan la presencia o ausencia de efectos aparentes de los contaminantes sobre los sistemas vivos (Davis, 1977). Uno de los efectos biológicos más comunes se presenta en los parámetros hematológicos (Zelikoff *et al.*, 1995), los cuales son de gran utilidad debido a que indican, con relativa rapidez, cualquier perturbación fisiológica que afecte la salud de la población piscícola.

El híbrido cultivado *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*, (Cachamote) tiene una importancia relevante en el ámbito económico ya que es uno de los peces más cultivados en Venezuela. Esta especie se cultiva de manera intensiva en el río Caroní, cuerpo de agua que recibe un aporte importante de las aguas servidas de Ciudad Guayana, estado Bolívar, las cuales contienen cadmio. Wedemeyer y Wood (1974) propusieron que el agua destinada a contener peces debe reunir entre otras características valores de cadmio no mayor de 0,003 mg/l. Las normas para la clasificación y control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos de Venezuela (Decreto 883, Gaceta Oficial Nº 5.021, 1995) clasifica las aguas como las del río Caroní en tipo 4, en las cuales los metales deben estar en concentraciones no detectables, según los métodos aprobados por el Ministerio de Ambiente. La EPA (Environmental Protection Agency) de EEUU establece que el contenido de cadmio en aguas naturales no debe sobrepasar 0,01mg/l. Aún cuando las aguas naturales no superan las concentraciones empleadas normalmente en los ensayos agudos de toxicidad, es bien sabido que la bioacumulación del cadmio en los peces produce malformación de la estructura ósea y desórdenes en el sistema nervioso (Roberts, 1989). De aquí la importancia del estudio de las respuestas de la

ictiofauna expuesta a la toxicidad de metales pesados, como el acetato de cadmio, que permita obtener una información de referencia aplicable a los estudios de toxicidad en peces cultivados en esta aguas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron alevines del híbrido cultivado *C. macropomum* x *P. brachypomus*, denominado cachamoto, con un peso aproximado de 3-5 g y una longitud estándar de 8-10 cm. Los alevines fueron seleccionados uniformemente en relación a la edad, talla y peso, sin discriminación de sexo. Se recolectaron ejemplares aparentemente sanos de cachamoto de las jaulas de engorde de la piscifactoría flotante de Macagua (Fundación La Salle de Ciencias Naturales), ubicada en la margen izquierda del embalse de Macagua, río Caroní, estado Bolívar. Los alevines fueron capturados individualmente mediante anzuelo y nylon para disminuir el estrés. Inmediatamente fueron transportados en bolsas plásticas con 6 l de agua saturada de oxígeno y selladas con bandas de caucho a la Estación de Investigaciones Hidrobiológicas de Guayana, perteneciente a la Fundación La Salle de Ciencias Naturales, ubicada en San Félix, estado Bolívar. Los peces fueron sometidos a un período de aclimatación de una semana, en condiciones de laboratorio y se alimentaron dos veces al día con puricachama (Ralston Purina®) con un contenido proteico de 25%. La ración suministrada fue calculada basándose en la biomasa (Pillay, 1997). Un día antes de iniciar la prueba, se suspendió la alimentación con el fin de evitar interferencia de esta en los resultados (APHA, 1976).

### Preparación de la solución madre

Previo al inicio del experimento se preparó una solución madre con acetato de cadmio,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , con una concentración de 1.000 mg/l, la cual fue diluida en los acuarios hasta alcanzar la concentración deseada (Prieto *et al.*, 1998).

### Prueba de biodegradabilidad

Se realizó una prueba de biodegradabilidad con el fin de verificar si las condiciones físicas y químicas con las que se efectuó el bioensayo modificaban el estado del contaminante y garantizar si el tipo de agua a

utilizar no presentaba interferencia en la determinación del contenido del metal (APHA, 1992).

Se prepararon dos acuarios para el acetato de cadmio, en las mismas condiciones de temperatura, aireación y volumen de agua filtrada que el bioensayo, con una concentración y dos réplicas que se monitorearon a 0 y 96 horas, analizadas por espectrofotometría de absorción atómica (APHA, 1992).

### **Bioensayo**

Después del período de aclimatación de los ejemplares, se procedió a la determinación de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) para el acetato de cadmio. Este último fue obtenido mediante la estimación de la mortalidad en función del tiempo (Prieto *et al.*, 1998), utilizándose un sistema estático con aireación continua, en acuarios de vidrio de 70 l y empleándose un total de 20 ejemplares en el bioensayo y divididos en las concentraciones 20, 22 y 24 mg/l de acetato de cadmio y un control (Figuroa, 1998; Domitrovic, 1997). Se simuló un fotoperíodo de 12 h luz y 12 h oscuridad durante el experimento. Cada seis horas se monitorearon en cada acuario los parámetros fisicoquímicos de temperatura, pH y oxígeno disuelto. Mediante observaciones del comportamiento y del aspecto de los peces se registraron las modificaciones en los siguientes biomarcadores externos: cambios en la pigmentación, natación errática, hemorragias, asfixia y deterioro de las aletas.

### **Análisis hematológico**

El muestreo hematológico se realizó al inicio del ensayo y en cada pez moribundo, se realizó la extracción sanguínea de la vena caudal, utilizando una jeringa desechable previamente heparinizada. Se determinó el porcentaje de hematocrito, la concentración de hemoglobina y se realizó una evaluación citomorfológica de la sangre en frotis sanguíneos, según Conroy (1998).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al realizar la prueba de biodegradabilidad del acetato de cadmio en este estudio se encontró que la evaporación del agua produjo un aumento no

significativo ( $P>0,05$ ) en la concentración final de cadmio, pudiéndose determinar que el cadmio tiene una permanencia constante en las condiciones de agua utilizada, por lo cual no se consideró necesario realizar recambios para el bioensayo con esta sustancia. Los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron constantes a lo largo de las 96 horas de la prueba y las condiciones fueron las mismas que se utilizaron para el bioensayo.

Los resultados promedios obtenidos en los parámetros fisicoquímicos durante el bioensayo CL50-96h de acetato de cadmio se encuentran dentro de los rangos aceptables reportados por Balarin (1979) para organismos acuáticos (Cuadro.1). Estos resultados permiten suponer que los cambios fisiológicos y patológicos en los peces están asociados a la presencia del acetato de cadmio en el agua, ya que los peces tienen un necesario e íntimo contacto con ella, lo que los hace vulnerables a esta sustancia, por lo que las alteraciones en su fisiología o comportamiento pueden ser considerados como indicadores de contaminación. Se sabe que a mayor temperatura las tasas de reacción química y bioquímica aumentan, mientras que el umbral de la respuesta biológica disminuye (Eisler y Wapner, 1975). Esto significa que los contaminantes en aguas cálidas son a menudo más solubles y absorbidos con mayor rapidez por plantas y animales en una concentración dada y pueden producir disfunciones fisiológicas y de comportamiento en concentraciones más bajas que en zonas templadas (Escobar, 1978).

Cuadro 1. Niveles de temperatura, pH y oxígeno disuelto del agua medidos a lo largo de la prueba de toxicidad aguda CL50-96h con acetato de cadmio a diferentes concentraciones de acetato de cadmio

Parámetros	Dosis (mg/l)	Tiempo (h)				
		0	24	48	72	96
Temperatura (°C)	0	26,2	26,2	26,2	26,2	26,2
	20	25,9	26,3	26,0	25,9	23,6
	22	26,2	23,2	26,1	23,9	25,7
	24	26,2	26,2	26,1	26,0	26,5
pH	0	6,7	6,7	6,8	6,7	6,7
	20	6,6	6,6	6,6	6,5	6,3
	22	6,6	6,7	6,6	6,5	6,4
	24	6,6	6,6	6,6	6,4	6,3
Oxígeno disuelto (mg/l)	0	4,93	4,98	4,96	4,91	4,86
	20	5,45	4,06	4,37	4,12	4,08
	22	5,70	4,81	5,55	4,17	4,26
	24	5,72	4,81	4,50	4,31	4,04

No se observaron modificaciones en los biomarcadores externos del grupo control a lo largo de la prueba como tampoco en las primeras 24 h del ensayo en la concentración más baja 20 mg/l con acetato de cadmio. Sin embargo, en las concentraciones de 22 y 24 mg/l de acetato de cadmio, las modificaciones en los biomarcadores externos consistieron en nado superficial y errático, pérdida del equilibrio, señales de anoxia e hipersecreción mucosa. Se pudo observar claramente que los peces sometidos a la concentración media de 22 mg/l de acetato de cadmio presentaron mayores signos de daños, como opacidad de ojos y piel, exoftalmia, hemorragia al nivel de los ojos y el opérculo, acumulación de líquido en el abdomen, deshilachamiento de las aletas e hipersecreción mucosa (Cuadro 2).

Al usar una concentración alta de contaminante se causa la muerte de los peces rápidamente sin la evidencia oportuna de síntomas asociados al proceso (Domitrovic, 1997). En el bioensayo realizado con el híbrido cultivado *C. macropomum* x *P. brachypomus* se observó una tasa de mortalidad del 57,4%. En la prueba no se hallaron mayores efectos letales en la concentración más baja de acetato de cadmio (20 mg/l); sin embargo, se registró un número elevado de muertes en las concentraciones de 22 y 24 mg/l. La CL50-96h de acetato de cadmio para el híbrido cultivado *C. macropomum* x *P. brachypomus* fue de 22,96 mg/l, pudiéndose determinar que la concentración de cadmio contenida en esta es de 9,62 mg/l (Cuadro 3). Estos valores son mayores que los reportados para otras especies dulceacuícolas, como el bagre, *Mystus vittatus*, que presentó una CL50-96h de 17,94 mg/l al acetato de cadmio (Rao y Manjula, 1997).

La piel del pez es una envoltura del cuerpo y le brinda protección constituyendo la primera barrera defensiva del organismo contra enfermedades y situaciones ambientales adversas, cumpliendo también funciones respiratorias, excretoras y osmoreguladoras (Voto, 2002). El híbrido cachamoto es omnívoro y presenta escamas imbricadas, con el margen libre orientado hacia la cola, encontrándose en la parte lateral y a lo largo de todo el cuerpo una hilera de escamas perforadas constituyendo la línea lateral (Voto, 2002). Es posible que estas características morfofisiológicas estén asociadas a los efectos del contaminante sobre el organismo. Sin embargo, la CL50-96h con acetato de cadmio del cachamoto es comparable con otras especies reportadas, como la tilapia, *Oreochromis mossambicus*, con una CL50-96h de 11,99 mg/l de cadmio (James, 2000) y la carpa, *Ciprinus carpio*, con una CL50-96h de 10,72 mg/l de cadmio (Alam y

Maughan, 1995). Estas especies comparten condiciones de vida y características morfofisiológicas similares al cachamoto.

Cuadro 2. Biomarcadores que se observaron en los peces en la prueba de toxicidad CL50-96h con acetato de cadmio en las diferentes concentraciones usadas.

Tiempo, h	Dosis (mg/l)			
	0	20	22	24
24	Nado en el fondo de la pecera de un extremo al otro y agrupados en las esquinas. Movimiento constante de las aletas (dorsal, caudal y anal)	Normal	Nado letárgico y presencia de mucus en poca cantidad	Se encuentran en la parte superior del acuario presencia de mucus en abundancia
48	Movimiento de aletas. Reflejo de huida. Reflejo del ojo. Pupilas en forma horizontal.	Nado letárgico en el fondo	Natación aletargada en la superficie de la pecera con presencia de mucus excesivo y opacidad de ojos	Se encuentran en la parte superior del acuario presencia de mucus excesivo, exoftalmia y opacidad de los ojos
72	Nado constante a ambos extremos del acuario. Movimientos rápidos de las aletas. Color de la piel brillante.	Nado letárgico en la superficie y opacidad de ojos	Presencia de hemorragia a nivel del ojo y opérculo	Se encuentran en la parte superior del acuario presencia de mucus excesivo, exoftalmia y opacidad de los ojos y piel. Asfixia.
96	Nado en el fondo de la pecera de un extremo al otro y agrupados en las esquinas. Color de la piel brillante. Movimiento constante de las aletas.	Nado letárgico en la superficie. Exoftalmia. Opacidad de ojos y piel presencia de mucus excesivo.	Natación aletargada en la superficie de la pecera con presencia de mucus excesivo. Exoftalmia. Opacidad de ojos y piel. Hemorragia a nivel del ojo y opérculo. Acumulación de líquido a nivel del abdomen	Se encuentran en la parte superior del acuario presencia de mucus excesivo. Exoftalmia y opacidad de los ojos y piel. Deshilachamiento de aletas (caudal, anal y dorsal). Asfixia

Cuadro 3. Toxicidad de cadmio (como CL50-96h) en comparación con otras especies piscícolas

Especie	Cadmio	Acetato de cadmio	Referencia
	----- mg/l -----		
<i>Mystus vittatus</i>	-	17,94	Rao y Manjula (1997)
<i>Oreochromis mossambicus</i>	11,99	-	James (2000)
<i>Ciprinus carpio</i>	10,72	-	Alam y Maughan (1995)
<i>C. macropomum x P. brachypomus</i>	9,72	22,96	Este estudio

Los parámetros hematológicos considerados en este estudio mostraron una marcada variación en los niveles de hematocrito y hemoglobina (Cuadro.4), pudiéndose determinar una disminución significativa de estos parámetros en relación a los valores normales para todas las concentraciones ensayadas. Los efectos del cadmio sobre los parámetros hematológicos reportados en la tilapia revelan que la hemoglobina descendió desde un valor inicial de 6,30 g/dl a 3,1 g/dl después de 45 h. El hematocrito descendió desde un valor inicial de 25,84 a 8,02% después de 45 h (James, 2000). Estos resultados son similares a los obtenidos en el cachamote, lo cual puede estar asociado fisiológicamente a que la absorción de metales pesados por los organismos causa una inhibición de la eritropoyesis, junto a un aumento proporcional en la destrucción de eritrocitos y tejido hematopoyético (James, 2000). Citomorfológicamente se observó una abundante poiquilocitosis, la cual es una de las características más comunes encontrada en los eritrocitos de animales expuestos a intoxicación. También se pudo observar monocitos vacuolados en la sangre periférica, lo que refuerza el hecho de que la presencia de metales pesados en los animales provocaría anemia hemolítica, deformación de las células rojas, aumento del número de eritoblastos y neutrofilia (Silveira *et al.*, 1996). De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, la hematología puede ser una herramienta complementaria para el diagnóstico de las patologías causadas por la intoxicación con el acetato de cadmio. La importancia de establecer la relación entre los tóxicos y sus efectos en los peces está asociada con dos problemas particulares, como son las descargas accidentales que pueden determinar concentraciones iniciales altas con efectos agudos y las concentraciones derivadas por acumulación continua, con adaptaciones de los peces y efectos subletales.

Cuadro 4. Variaciones en el patrón hematológico del Cachamote comparando los valores iniciales hemoglobina y hematocrito con los arrojados en las tres diferentes concentraciones utilizadas en el CL50-96h de acetato de cadmio

Parámetro	Valor Inicial, mg/l	Dosis (mg/l)		
		20†	22	24
Hematocrito (%)	21,00	16,25a	14,00a	15,50a
Hemoglobina (g/dl)	5,40	4,26b	2,72a	3,77b

† Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre medias ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

La concentración letal media del acetato de cadmio para alevines del híbrido cultivado *C. macropomum* x *P. brachypomus* fue de 22,96 mg/l con un contenido de cadmio de 9,62 mg/l.

La observación de natación aletargada, mucus excesivo, exoftalmia, opacidad de ojos y piel, hemorragia a nivel del ojo y opérculo, deshilachamiento de las aletas (caudal, anal y dorsal), asfixia y acumulación de líquido a nivel del abdomen son señales indicativas de toxicidad al cadmio en el cachamote.

La intoxicación con acetato de cadmio causa en el cachamote disminución de la concentración de hemoglobina, porcentaje de hematocrito y deformación de los eritrocitos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alam M. y M. Maughan. 1995. Acute toxicity of heavy metals to common carp (*Ciprinus carpio*). *J. Environ. Sci. Health.*, 30: 1807-1816.
- APHA (American Public Health Association). 1976. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association. Washington.
- Balarin J. 1979. *Tilapia. A guide to their biology and culture in Africa*. University of Stirling, Scotland, 76 pp.
- Blaxhall P. y K. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.*, 5: 771 - 781.

- Calabrese A., F. Thurberg y E. Gould. 1977. Effects of cadmium, mercury and silver on marine animals. *Mar. Fish. Rev.*, 39 (4): 5-11.
- Conroy D. 1998. Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciana. N° 1. Pharma-Fish. Maracay, Venezuela. 25 p.
- Davis J. 1977. Standardization and protocols of bioassays, their role and significance for monitoring, research and regulatory usage. Aquatic Toxicity Workshop. Halifax, Nova Scotia pp.1-14.
- Domitrovic H. 1997. El empleo de peces autóctonos para la realización de ensayos de toxicidad: Evaluación de la especie *Aequidens portalegrensis* (Hensel, 1870). VI Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral. Argentina. Resumen.
- Escobar J. 1978. Study concerning mercury pollution in Cartagena. FAO Doc. Tec. N° 185. 25 p.
- Escobar J. y S. Vergara. 1975. Evaluación de aspectos contaminantes por residuos de hidrocarburos procesados. Ciénaga de San Silvestre – El Llanito. Inderena. Región Oriental. Proyecto Pesca. Universidad Industrial de Santander. Colombia. 33p.
- Eisler R. y R. Wapner. 1975. Second annotated bibliography on biological effects of metals in aquatic environments. U.S. Environmental Protection Agency. Report 6003-75-008. Springfield, USA.
- Eisler R., G. Zarogian y R. Kennekey. 1972. Cadmium uptake by organism. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 29: 1367-1369.
- Figueroa L. 1998. Acumulación y depuración de cobre y cadmio en *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1952), (Pisces: Cichlidae). Efectos subletales sobre el crecimiento en función de ARN/ADN. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 37p.
- James R. 2000. Effect of zeolite on reduction of cadmium level in water and improvement of haematological parameters in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Indian J. Fish.*, 47(1): 29-35.
- Pillay T. 1997. Acuicultura. Principios y Prácticas. Limusa. México, D.F. 699p.

- Prieto A., A. Quesada y R. Silveira. 1998. Manual de procedimientos operativos de trabajo. Laboratorio de Diagnostico Sanidad Acuicola Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana, Cuba. 345p.
- Rao L. y R. Manjula. 1997. Acute toxicity of Zn, Pb and Cd in the freshwater catfish *Mystus vittatus* (Bloch). Indian. J. Fish., 44(4): 405-408.
- Roberts R. J. 1989. The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. En R.J. Roberts (Ed) Fish Pathology. 2<sup>da</sup> Ed. Bailliere Tindall, Londres. pp. 56-133.
- Silveira R., Y. Venjoy y A. Prieto. 1996. Los análisis hematológicos como sistemas de diagnóstico en *Oreochromis aureus* de cultivos en Cuba. Rev. Latin. Acuicultura, 36:4-6.
- Vargas-Boldrini C. 1994. Ictiofauna. Características gerais e metodologías. Avaliação de impacto. Curso "Caracterização de ecossistemas aquáticos e transição". Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo. São Paulo, Brasil.
- Voto J. 2002. Piscicultura Amazonica con especies nativas. Tratado de Cooperación Amazonica. Secretaria Pro-tempore. São Paulo, Brasil. 350 p.
- Wedemeyer G. y J. Wood. 1974. Stress as a predisposing factor in fish diseases. US Dept. Interior, FDL-38. Washington, USA.
- Zelikoff J.T., D. Bowser, K.S. Squibb y K. Frenkel. 1995. Immunotoxicity of low level cadmium exposure in fish: an alternative animal model for immunotoxicological studies. J. Toxicol. Environ. Health, 45: 235-248.

## Revisión

# Metodologías para el estudio de compuestos polifenólicos en especies forrajeras: Un enfoque histórico

Danny E. García<sup>1\*</sup> y María G. Medina<sup>2</sup>

## RESUMEN

Mediante la revisión de las publicaciones científicas más representativas sobre la bioquímica de los taninos, se presentan los principales resultados relacionados con sus propiedades beneficiosas y antinutricionales a partir de estudios químico-analíticos, *in vitro* e *in vivo*. Se tratan los acápites de mayor relevancia y se describe la repercusión de los conocimientos adquiridos sobre estos compuestos, en el desarrollo de estrategias viables de alimentación. Históricamente, hasta que la química de los productos naturales no se desarrolló cuantitativamente, los estudios de nutrición animal con fuentes forrajeras fenólicas fueron incipientes. Los primeros ensayos realizados con posterioridad a 1950 estuvieron encaminados a la caracterización fitoquímica de las fuentes mayoritarias de taninos y la determinación de la actividad biológica de los principales grupos, haciendo énfasis en las leguminosas forrajeras como recurso suplementario por excelencia. En una segunda etapa se implementaron y validaron las técnicas analíticas que se utilizarían para describir el efecto deletéreo de los polifenoles y su interacción con los metabolitos primarios y secundarios. Se postularon las concentraciones

---

<sup>1</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Central España Republicana, Perico. CP 44 280. Matanzas, Cuba. \*Correo electrónico: danny.garcia@indio.atenas.inf.cu

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Estación Experimental de Pampanito, Trujillo. Venezuela.

Recibido: 01/08/05 Aceptado: 09/09/05

críticas en las cuales estos compuestos podían afectar el buen funcionamiento digestivo de los rumiantes y los monogástricos y se comparó la acción detrimental de los taninos condensados e hidrolizables en diferentes condiciones de alimentación, determinando las variables de mayor influencia en su acción toxicológica. Independientemente a que las investigaciones realizadas hasta el presente han aportado mucha información en cuanto a las características de los taninos vegetales, en la actualidad existen temas importantes tales como, los mecanismos relacionados con el efecto antihelmíntico, la función ecológica de los taninos hidrolizables en las especies no leguminosas y la interacción de los polifenoles con los alcaloides entre otros, que no han sido abordados con fuerza; por lo que se precisaron estudios integrales para dilucidar estas apremiantes incógnitas.

Palabras clave: Polifenoles, taninos condensados, taninos hidrolizables, factores antinutricionales, alimentación animal.

### Review

## Methodologies for the study of polyphenolic compounds in forage species: A historic review

### SUMMARY

By means of the representative scientific publications review on the tannin biochemistry, the main results related to their beneficial and antinutritional properties from chemistry-analytical, *in vitro* and *in vivo* studies were presented. The paragraphs are greater relevance and the repercussion of the knowledge acquired on these compounds is described; in the development of viable strategies of feeding. Historically, until the chemistry of natural products was not developed quantitatively, the animal nutrition studies with phenolic forages sources were insufficient. The first tests made after 1950 were directed to the phytochemical characterization of the majority tannin sources and the determination of the biological activity of the main groups with particular emphasis in fodder leguminous like additional resource nutrients. In one second stage the analytical techniques were implemented and validated that would be used to describe the polyphenols antifeedant effect and its interaction with the primary and secondary metabolites. The critical concentrations, in which these compounds could affect the gastric digestive process of ruminants and monogastric were postulated. Besides, the detrimental action of tannins hydrolysables and condensed in different conditions of feeding was compared, determining the variables of great

influence in the toxicological action. Independently to that the investigations made until the present have contributed much information as far as the characteristics of vegetal tannins, at the present time exists important subjects such as, the mechanisms related to the antihelmintic effect, the ecological function of hydrolysables tannins in non leguminous species and the interaction of polyphenols with alkaloids; among others, that have not been boarded with force; reason why integral studies need to explain these urgent questions.

**Key words:** Polyphenols, condensed tannins, hydrolysable tannins, antinutritional factors, animal feeding.

## INTRODUCCIÓN

### Consideraciones iniciales

El tema relacionado con las implicaciones negativas de los taninos; así como los estudios derivados de sus propiedades bioquímicas son, aún en nuestros días, permanentes. Estas investigaciones son extremadamente polémicas y en muchos casos las conclusiones a las cuales se han arribado muestran incongruencias; por lo que sin lugar a dudas, constituye la especialidad de la fitoquímica aplicada a la nutrición animal de la cual se ha escrito con mayor énfasis en los últimos treinta años.

Dado el elevado número de estudios realizados, los disímiles objetivos trazados por las líneas del pensamiento científico y la contrastante relación estructura/actividad de los principales grupos de taninos, ha sido extremadamente difícil llegar a criterios integradores que ayuden a la comprensión de sus características pro-antinutricionales. El desarrollo paulatino en el conocimiento de los polifenoles de origen vegetal, basados en estudios bioquímicos de nutrición animal, ha sido inconstante. No obstante, en muchas investigaciones se han realizado importantes descubrimientos.

Por tales motivos esta revisión bibliográfica tuvo como objetivo esencial describir el desarrollo evolutivo en los estudios de alimentación con fuentes tánicas, haciendo énfasis solamente en las investigaciones más representativas y que por su contenido, a criterio de los autores, clásicamente han proporcionado aportes sustanciales, cambios de paradigmas en la

temática o constituyen etapas significativas en el desarrollo del conocimiento de la actividad biológica de estos importantes metabolitos secundarios.

### Historia

Desde épocas remotas los taninos han sido utilizados empíricamente en la conservación de materiales de origen animal por el hecho de "transformar" las pieles en objetos más resistentes y duraderos. Recientemente se ha comprobado que culturas legendarias, tales como la egipcia y la china, empleaban polifenoles naturales para retardar o inactivar la descomposición microbiana de los alimentos y los preparados medicinales y religiosos.

Todas estas evidencias históricas describen la estrecha relación entre el desarrollo de las civilizaciones y la utilización de extractos tánicos como herramienta para su bienestar y desenvolvimiento cotidiano. Los taninos son macromoléculas naturales pertenecientes al grupo de los polifenoles que son sintetizados por numerosas especies vegetales. Estas estructuras se diferencian del resto de los fenoles por presentar elevado peso molecular y precipitar esencialmente las proteínas; debido a la disminución de la solubilidad en el complejo que forma.

Desde comienzos del siglo XX los taninos se convirtieron en el foco de atención de la comunidad científica relacionada con los productos naturales, debido a su amplia distribución en las especies botánicas de mayor valor alimentario para animales y humanos.

El desarrollo de las investigaciones con polifenoles se aceleró sustancialmente por la aparición de la fitoquímica como rama de la química y la evolución en los estudios sistemáticos de clasificación quimiotaxonómica, los métodos de detección, extracción y purificación de fenoles; así como la implementación del análisis químico orgánico como herramienta fundamental en la elucidación de estructuras complejas (De Marciano y Hasegawa, 1991).

Si bien hasta el año 1950 solo se contaban con estudios aislados en relación a algunas fuentes naturales de taninos y experimentos de actividad farmacológica, a partir de la segunda mitad del siglo pasado con el desarrollo de la síntesis de los productos naturales, la utilización extensiva de la espectroscopía infrarroja (IR), ultravioleta visible (UV), la resonancia

magnética nuclear (RMN) (Willimas y Fleming, 1966; Highet y Sokoloski, 1975), los primeros pasos en la comprensión de los procesos de biosíntesis del metabolismo secundario (Bernfeld, 1967) y los métodos cromatográficos (Browning, 1969) las investigaciones bioquímicas con taninos no pasaron a un nivel superior.

A partir de ese momento la literatura científica reúne numerosas informaciones relacionadas con estructuras tánicas pero con un carácter estrictamente orientado hacia la ciencia básica sin describir, de manera aplicada, las implicaciones desde el punto de vista nutricional. En el año 1963 se publicó uno de los primeros trabajos sobre estudios bioquímicos en la evaluación *in vitro* de forrajes para la alimentación animal (Tilley y Terri, 1963). Esta técnica se empleó posteriormente con mucho éxito en la determinación de la actividad antinutricional de algunos metabolitos polifenólicos.

### Principales investigaciones en el siglo XX

Contrariamente a lo que se podría esperar, los taninos hidrolizables (TH) fue el primer grupo de compuestos que se investigó intensivamente. En este sentido Haslam (1965) incursionó en el estudio de los galoil ésteres de la familia Aceraceae y se pretendió cuantificar, mediante métodos analíticos, los contenidos de TH basados en principios estables de reacción con sales inorgánicas. Dichos resultados sirvieron como elementos de partida en el conocimiento de las macromoléculas polifenólicas complejas.

Algunos años después Bate-Smith (1973) profundizó en el estudio de los taninos condensados (TC) presentes en algunas leguminosas como fuentes importantes de forraje, determinando la gran variabilidad interespecífica; así como los principales patrones en el ensayo del nbutanol/HCl/Fe<sup>3+</sup> como método de cuantificación novedoso en la década. Esta investigación constituyó uno de los primeros trabajos donde se integró armónicamente algunos de los factores que, más adelante, resultaron ser cruciales para la comprensión de las funciones biológicas de los taninos.

En ese mismo período otros resultados relevantes lo constituyeron la utilización del nitrito de sodio (NaNO<sub>2</sub>) e Iodato de potasio (KIO<sub>3</sub>) para la determinación de elagitaninos basado en la hidrólisis de los ésteres del ácido hexahidroxifenico en presencia de piridina como solvente típico y la

determinación de galotaninos y elagitaninos en especies del género *Acer* (Bate-Smith, 1977).

Por su parte, Broadhurst y Jones (1978) utilizaron el método de la Vainillina/HCl para la cuantificación de metadifenoles de manera rutinaria y en ese mismo año Price *et al.* (1978) realizaron una intensa crítica de protocolo, sustentado en las diferencias de coloración de los monómeros y los polímeros de TC y la sobrestimación de las concentraciones en algunas fuentes forrajeras ricas en flavonoides. Fue la primera ocasión en que se disertó con fuerza sobre las limitaciones de los métodos fitoquímicos para taninos, en la caracterización de las fuentes de alimento animal y sus implicaciones analíticas.

Seguidamente, Hagerman y Butler (1978) emplearon la propiedad biológica por excelencia de los taninos (precipitantes de proteínas) para la estimación de los niveles polifenólicos en la biomasa comestible. Esto constituyó la primera ocasión en que un método químico de cuantificación describía la capacidad astringente de estos compuestos. Un año más tarde Menke *et al.* (1979) estimaron la digestibilidad y la energía metabolizable mediante la producción de gas *in vitro*. Dicho protocolo serviría como procedimiento básico de partida para el acoplamiento con técnicas analíticas que describirían el efecto deletéreo de los taninos de mayor distribución natural.

La década del 80 constituyó el verdadero cambio cualitativo en las investigaciones nutricionales con taninos. En este sentido, Hagerman y Butler (1980) reanudaron los estudios de cuantificación de taninos totales (TT) por el procedimiento de precipitación con la fracción V de la albúmina de suero bovino (BSA) en un considerable número de especies; pero esta vez usando marcaje isotópico con Iodo ( $^{125}\text{I}$ ) mediante conteo electromagnético sensible. Esta investigación si bien, fue la primera en emplear los radioisótopos estables para determinar la actividad precipitante de los taninos, no consideraba algunos aspectos medulares de bioseguridad y la implementación del protocolo se encarecía debido a los elevados costos de los reactivos y los equipos.

Seguidamente en 1981 se incursionó en la comprensión de la interacción proteína-tanino, donde los mismos autores estudiaron la regioespecificidad de las uniones macromoleculares de los TC con las estructuras secundarias y terciarias de proteínas séricas químicamente puras.

(Hagerman y Butler, 1981). Este fue el primer experimento, en condiciones controladas, donde se pudo demostrar que la interacción de los taninos con las moléculas nitrogenadas seguía un patrón estequiométrico racional y que dicha propiedad repercutía fuertemente en la actividad biológica del metabolito; así como en la fisiología digestiva del animal que lo consumía.

Al año siguiente, Butler *et al.* (1982) lograron modificar el solvente en el ensayo de la Vainillina/HCl para estimar el grado de polimerización de los TC extractables. Sin lugar a dudas fue la primera vez en que se trató de mejorar un procedimiento analítico con el propósito de determinar el peso molecular de los taninos y su posible influencia en las propiedades beneficiosas o perjudiciales en el sistema digestivo.

Paralelamente con estos resultados, Orskov (1982) estandarizó el procedimiento para medir los niveles de proteína microbiana remanente en la técnica de digestibilidad *in vitro* (procesos de liofilización del material); factor de suma importancia en los ensayos de estimación de las propiedades antinutritivas de los taninos.

Dos años más tarde, Larwence *et al.* (1984) estudiaban el rol de los TC y su implicación en el valor nutritivo de alimentos para animales utilizando polietilenglicol (PEG-4000); compuesto químico que, de manera novedosa, se comenzaba a utilizar en pruebas *in vivo* con rumiantes por el hecho de presentar una elevada afinidad por los taninos y ser inocuo para los animales en experimentación.

Posteriormente, Reed *et al.* (1985) explotaron la posibilidad de cuantificar polifenoles totales (PT) en forrajes mediante la precipitación con Acetato de Iterbio tetrahidratado ( $\text{Yb}(\text{AcO})_3 \times 4\text{H}_2\text{O}$ ) por el hecho de no requerir patrones químicos específicos que pudieran traer consigo diferencias numéricas en los análisis por gravimetría clásica. Esta investigación fue la primera en enfocar la necesidad de implementar métodos sencillos y precisos para la cuantificación de un gran número de muestras de forrajes, y tratar de expresar los resultados de diferentes analistas mediante un mismo protocolo experimental. No obstante, en la actualidad, la comparación de los datos provenientes de diferentes autores continúa siendo una problemática; ya que se siguen empleando métodos analíticos con características disímiles.

En ese año también se estudió la relación de los taninos presentes en la biomasa comestibles, con otros metabolitos secundarios con probada

acción anticualitativa (Freeland *et al.*, 1985). En este sentido se demostró que la presencia de saponinas, en algunas fuentes vegetales, abolían el efecto antinutricional de los TC y que la liberación de ácido cianhídrico (HCN), proveniente de los glucósidos cianogénicos, también podía inhibirse con la presencia de TT en determinadas condiciones ecológicas (Goldstein y Spencer, 1985).

Un año después, Barry *et al.* (1986) comenzaron a dilucidar el papel de los TC en la dieta de los rumiantes, específicamente en la digestión de los carbohidratos solubles y las proteínas, mediante el acomplejamiento de los polifenoles con PEG-4000. Este experimento demostró que los TC podían también interactuar con los hidratos de carbono y disminuir su utilización efectiva.

Por su parte, Nicholson *et al.* (1986) esclarecieron, por primera vez, el mecanismo de acción de los taninos clásicos en *Colletotrichum graminicola*; así como las implicaciones en la patogenicidad del hongo en condiciones naturales de propagación. Este descubrimiento constituyó el primer trabajo en el cual se informó el efecto fungicida de los TC, se conocieron los procesos bioquímicos asociados a dicha actividad y se demostró concisamente que los taninos vegetales presentaban inequívocamente funciones defensiva contra los patógenos foliares en la mayoría de las leguminosas forrajeras.

Conjuntamente, Porter *et al.* (1986) realizaron pruebas colorimétricas para lograr establecer conversiones analíticas confiables para la cuantificación rutinaria de TC basados en el coeficiente de extinción molar de los monómeros más comunes. Estos cálculos se realizaron ya que inicialmente la gran diversidad de patrones analíticos para expresar los resultados, proporcionaban lecturas muy contrastantes en los ensayos establecidos de manera previa. La publicación de este método constituye, en la actualidad, una referencia obligada para aquellos investigadores que incursionan en la determinación de TC en alimentos para animales y humanos.

Independientemente se desarrolló un procedimiento espectrofotométrico para la cuantificación de purinas como marcadores importantes de la relación masa microbiana/proteína, como complemento de la cromatografía de alta resolución (HPLC) para la estimación de la actividad biológica de los TC (Zinn y Owens, 1986).

En 1987 se continuaron los estudios sobre la capacidad de precipitación de los taninos; pero haciendo énfasis en la cantidad de proteína precipitada por unidad de fenol (g BSA/g PT) como criterio cuantitativo relevante (Makkar *et al.*, 1987). Esta técnica se basó en algunas modificaciones realizadas con anterioridad, y su mayor novedad radicó en que la proteína de prueba se solubilizaba en una solución detergente (SDS) y posterior se cuantificaba con un reactivo específico y sensible (Ninhidrina). Los resultados que derivaron del ensayo ayudaron a comprender, en su momento, que los taninos de una misma subfamilia química, con características estructurales muy similares, podían reaccionar de manera extremadamente disímil con los mismos analíticos. De esta manera se pudo establecer que la relación g BSA/g PT era el indicador más viable para describir la afinidad particular de cada tanino, y que a su vez correlacionaba fuertemente con las propiedades deletéreas de estos compuestos.

Como transformación al procedimiento anterior, pero sustentado en el mismo principio del método, Hagerman (1987) desarrolló el protocolo de la difusión radial en fase sólida. Mediante la técnica se obtenían resultados similares a las cuantificaciones realizadas en medio líquido, solo que se necesitaba un gel de agarosa y algunos materiales adicionales. Por otra parte se prescindía de un instrumento costoso y no siempre accesible en todos los laboratorios (espectrofotómetro UV). Este método sirvió como complemento en la comprobación de las propiedades químico-físicas de los taninos y moduló, desde el punto de vista biológico, las propiedades astringentes de los TC en monogástricos y rumiantes.

Así mismo, Price *et al.* (1987) obtuvieron avances importantes en el conocimiento de los efectos conjugados de las saponinas con los TT en la absorción intestinal, y se comprobó lo dañino que podían resultar las concentraciones elevadas de TC y TH en los órganos internos del ganado. Esta investigación ayudó a establecer las semejanzas y diferencias existentes en la acción detrimental de los grupos de taninos y su tiempo de vida media en los animales en condiciones *in vivo*; factores que no han sido retomados con posterioridad en las investigaciones de fisiología digestiva y que presenta una vital importancia en la comprensión de la relación beneficio/riesgo en la alimentación con fuentes taníferas.

Por su parte, Mueller-Harvey *et al.* (1987) emplearon exitosamente la cromatografía de capa delgada (TLC) para caracterizar las particularidades estructurales de los PT, TC y TH mediante la combinación de reactivos

cualitativos selectivos en las leguminosas. Fue la primera ocasión en que, mediante la combinación del HPLC y un procedimiento sencillo, se pudo determinar las diferencias fitoquímicas existentes entre especies con características similares.

El año 1988 fue el más prolífero en cuanto a aportes sustanciales en las pruebas bioquímicas con taninos. Al respecto, se extendió el método microcuantitativo de determinación de la capacidad precipitante a condiciones rutinarias (Dawra *et al.*, 1988). Inoue y Hagerman (1988) modificaron un procedimiento para la determinación de TH mediante el desarrollo de color con Rodanina. También se obtuvo la primera dinámica microbiológica ruminal asociada a concentraciones variable de TH y se llevó a cabo el estudio más integral en la época sobre la variabilidad en los niveles de TC y TH, el grado de polimerización y su estrecha relación con la capacidad de precipitación de proteínas (Makkar *et al.*, 1988a,b). Esta investigación estableció que, para lograr establecer de manera integral la verdadera acción detrimental de los taninos, los estudios no podían centrarse solamente en la cuantificación de sus concentraciones, y que necesariamente se requerían estudios en los cuales se determinara la interacción polifenol-microorganismo, la naturaleza de los compuestos acompañantes, las particularidades macroestructurales y los resultados de los bioensayos de simulación.

Un hecho singular lo constituyó el descubrimiento del nexo entre la concentración de los taninos con el incremento de la madurez de la biomasa en *Quersus incana*, una leguminosa templada con probado potencial forrajero (Makkar *et al.*, 1988a). En dicha investigación se logró demostrar que los niveles de TT no permanecían estáticos en la fitomasa y que a su vez, las concentraciones se encontraban relacionadas negativamente con los procesos naturales de senescencia. En el estudio se llegó a la conclusión de que al aumentar la edad de las hojas, los TC presentes aumentan el grado de polimerización y, por ende, disminuyen sus propiedades antinutricionales.

Posteriormente, Makkar *et al.* (1989) relacionaron los parámetros de degradabilidad ruminal y los niveles de fibra con los contenidos de taninos en especies de interés alimentario, llegando a la conclusión que los polifenoles de la fracción fibrosa (ligninas) también presentaban una importante significación biológica en la interacción con los animales herbívoros. Por otro lado, se publicó la reseña más completa sobre los métodos químicos de precipitación de proteínas, en la cual se describieron

cualitativos selectivos en las leguminosas. Fue la primera ocasión en que, mediante la combinación del HPLC y un procedimiento sencillo, se pudo determinar las diferencias fitoquímicas existentes entre especies con características similares.

El año 1988 fue el más prolífero en cuanto a aportes sustanciales en las pruebas bioquímicas con taninos. Al respecto, se extendió el método microcuantitativo de determinación de la capacidad precipitante a condiciones rutinarias (Dawra *et al.*, 1988). Inoue y Hagerman (1988) modificaron un procedimiento para la determinación de TH mediante el desarrollo de color con Rodanina. También se obtuvo la primera dinámica microbiológica ruminal asociada a concentraciones variable de TH y se llevó a cabo el estudio más integral en la época sobre la variabilidad en los niveles de TC y TH, el grado de polimerización y su estrecha relación con la capacidad de precipitación de proteínas (Makkar *et al.*, 1988a,b). Esta investigación estableció que, para lograr establecer de manera integral la verdadera acción detrimental de los taninos, los estudios no podían centrarse solamente en la cuantificación de sus concentraciones, y que necesariamente se requerían estudios en los cuales se determinara la interacción polifenol-microorganismo, la naturaleza de los compuestos acompañantes, las particularidades macroestructurales y los resultados de los bioensayos de simulación.

Un hecho singular lo constituyó el descubrimiento del nexo entre la concentración de los taninos con el incremento de la madurez de la biomasa en *Quersus incana*, una leguminosa templada con probado potencial forrajero (Makkar *et al.*, 1988a). En dicha investigación se logró demostrar que los niveles de TT no permanecían estáticos en la fitomasa y que a su vez, las concentraciones se encontraban relacionadas negativamente con los procesos naturales de senescencia. En el estudio se llegó a la conclusión de que al aumentar la edad de las hojas, los TC presentes aumentan el grado de polimerización y, por ende, disminuyen sus propiedades antinutricionales.

Posteriormente, Makkar *et al.* (1989) relacionaron los parámetros de degradabilidad ruminal y los niveles de fibra con los contenidos de taninos en especies de interés alimentario, llegando a la conclusión que los polifenoles de la fracción fibrosa (ligninas) también presentaban una importante significación biológica en la interacción con los animales herbívoros. Por otro lado, se publicó la reseña más completa sobre los métodos químicos de precipitación de proteínas, en la cual se describieron

todas las ventajas y limitaciones de las técnicas para la determinación de TC; así como sus implicaciones en la biología nutricional (Makkar, 1989). Estos dos últimos trabajos dieron a conocer, de forma precisa, los efectos detrimentales más comunes de los TC y las particularidades de los métodos, elementos esenciales que no estaban totalmente esclarecidos hasta ese momento.

En la última década del siglo pasado se realizaron los mayores aportes en el campo de la bioquímica nutricional con taninos. En ese sentido, se inició un creciente interés no solo a los niveles y a las características más determinantes de los taninos provenientes de las especies forrajeras típicas; sino también a los contenidos de los polifenoles presentes en los subproductos agroindustriales como una considerable fuente de material voluminoso para los rumiantes (Makkar *et al.*, 1990).

Por su parte, Lowry y Sumpter (1990) criticaron el método gravimétrico para la determinación de PT con  $Yb^{3+}$  debido a que el catión no reaccionaba cuantitativamente con algunos flavonoides (Rutina) y era inefectivo en especies con bajos contenidos de fenoles.

Makkar *et al.* (1991) publicaron el artículo más completo sobre los TT presentes en las especies del género *Quercus*; así como su relación con la edad del rebrote. Fue la segunda ocasión en que los autores postularon que, en sentido general, la edad en que las especies forrajeras presentaban un mejor valor nutritivo (máximos niveles de PC y mínima fracción fibrosa) contradictoriamente poseen los mayores contenidos de PT y TC.

Asimismo, Peng *et al.* (1991) describieron la insolubilidad de algunos elagitaninos (TH) presentes en la madera de plantas forrajeras, lo que sugirió la posibilidad de que no solo los TC pudieran estar unidos a los constituyentes de la pared celular de los vegetales. Desde ese año, en la literatura científica, no se ha publicado otra evidencia similar sobre la probable presencia de TH no extractables en los forrajes tropicales.

Más adelante, Makkar y Singh (1991) determinaron la concentración de los TC en la hojarasca y el material verde de la región aérea de plantas autóctonas. Este experimento demostró que el proceso de caída de las hojas los taninos se acumulan, mediante reacciones enzimáticas, en la fracción de carbohidratos insolubles (FF) y que los procesos de envejecimiento natural de la biomasa, afectaban drásticamente los contenidos de las estructuras

fenólicas. Dicho fenómeno había sido descrito, dos años antes, en las especies *Calliandra calorphyrsus* y *Gliricidia sepium* en las cuales, mediante pruebas de laboratorio, se indujo la deshidratación artificial (Ahn *et al.* 1997). También en esa etapa, Fish y Thompson (1991) describieron la interacción lectina-tanino como un complejo capaz de eliminar la acción detrimental de los polifenoles frente a la enzima L-amilasa en un experimento *in vitro*, demostrando que uno de los metabolitos secundarios de mayor actividad tóxica también podía presentar efectos positivos en la ecología digestiva.

En 1992 se publicaron numerosas investigaciones que aportaron una nueva visión sobre la importancia de los taninos y el desarrollo de técnicas colaterales para la estimación del valor nutritivo en alimentos para rumiantes. Al respecto, se optimizaron técnicas para la liofilización microbiana y la determinación simultánea de purinas en algunos bioensayos de acoplamiento (Yanh y Russell, 1992; Balcells *et al.*, 1992).

En otro orden, se profundizó en las características y la función de la TC en especies forrajeras del género *Acacia*, empleada ampliamente como modelo fitoquímico típico de las regiones áridas (Pritchard *et al.*, 1992), así como tres de las primeras investigaciones sobre la detoxificación de tanina (Makkar y Sing, 1992 a,b,c). Un resultado singular lo constituyó la predicción realizada por Hanley *et al.* (1992) sobre la digestibilidad de la PC y la MS con los niveles variantes de TC cuantificados por el método de la BSA. En este sentido, fue la primera vez en que se usaron modelos matemáticos específicos para generar ecuaciones aplicables a diferentes condiciones de alimentación.

Otro hecho singular resultó el reporte sobre la toxicidad aguda de los TH en los rumiantes, y los estudios de regionalización realizados por Garg *et al.* (1992). Mediante este último estudio se comprendió que no solo los TH podían ocasionar daños irreversibles en la ecología ruminal; sino que la hidrólisis de los TH podrían traer consigo también incidencias negativas en los animales poligástricos.

Con relación a los métodos de cuantificación, Terrill *et al.* (1992) desarrollaron un procedimiento colateral muy útil para la determinación de TC unidos a la PC y a los componentes fibrosos con solventes específicos. No obstante, el coeficiente de variación de los resultados mediante esta metodología dependía, en buena medida, de la matriz analítica ensayada y

necesitaba obligatoriamente campanas de extracción de gases debido a los olores desagradables de los componentes azufrados. Seguidamente, Mueller-Harvey y McAllan (1992) publicaron una reseña integral sobre las implicaciones nutricionales en la alimentación de los monogástricos y los rumiantes con fuentes tánicas, realizando un análisis exhaustivo sobre los protocolos más comunes de aplicación.

Por otra parte, Caygil y Mueller-Harvey (1999) disertaron sobre el efecto de factores de manejo tales como la fertilización y la edad de la planta, en los contenidos de PT y TC en algunas leguminosas templadas, además de referirse a la teoría de balance carbono-nitrógeno como principal hipótesis para explicar las transformaciones endógenas de los taninos. El principal logro de la investigación radicó en que, basado en los conocimientos clásicos sobre la biosíntesis de los metabolitos secundarios, se discutió sobre la relación directa de los compuestos nitrogenados de las especies vegetales con las rutas químicas derivadas del ácido shikímico como molécula precursora de todos las estructuras fenólicas.

En tanto, Makkar *et al.* (1993) correlacionaron los resultados de las cuantificaciones de TC entre los dos métodos analíticos más utilizados en los laboratorios de evaluación de alimentos (precipitación con polivinil polipirrolidona (PVPP) y con BSA); Makkar y Becker (1993a) estudiaron las posibles variantes de extracción en el procedimiento de la vainillina/HCl; se investigó sobre la inclusión de aditivos químicos (urea) y su efecto en el valor nutritivo de los forrajes con elevadas cantidades de TC (Makkar y Singh, 1993) y por último, se presentaron los resultados más novedosos sobre la variabilidad estructural de los TH con la fuente comercial (Makkar y Becker, 1993b).

Después de haber publicado una gran cantidad de investigaciones sobre la cuantificación de metabolitos fenólicos, Makkar y Becker (1994a) señalaron las principales limitaciones y logros de los ensayos de cuantificación de taninos, planteando estrategias viables de solución para los procedimientos que presentaban limitaciones prácticas. En ese sentido, los autores también describieron las etapas más importantes para el aislamiento de TC a partir de forrajes, que pudieran ser empleados como patrones para la realización de las curvas de calibración en los métodos fotométricos (Makkar y Becker, 1994b). Por otra parte se probó definitivamente que los TC no difundían hacia el torrente sanguíneo en el caso de los monogástricos (Terrill

*et al.*, 1994); demostrando así que no ocurría la adsorción estomacal e intestinal en ninguno de los casos.

Más adelante, McAllister *et al.* (1994) comenzaron los estudios sobre la interacción de los TC con los microorganismos del rumen (*Fibrobacter succinogens*); demostrando el efecto inhibitorio de los taninos sobre dichos organismos y Makkar *et al.* (1994) demostraron que algunos taninos, de amplia distribución taxonómica, eran también degradados cuantitativamente por microorganismos comunes.

Se comenzó a profundizar sobre el perfil polifenólico de *Lotus pedunculatus* y *Lotus corniculatus* (forrajes de elevada distribución subtropical) y su repercusión en la fracción no nitrogenada y el metabolismo del plasma en ovinos; respectivamente (Waghorn *et al.*, 1994; Waghorn y Shelton, 1997). Estas leguminosas templadas sirvieron de modelo para las investigaciones en plantas tropicales, en etapas posteriores de investigación y se comenzaron a establecer, preliminarmente, límites críticos de TC en los cuales los metabolitos no causaban trastornos digestivos en los rumiantes.

Adicionalmente, Terrill *et al.* (1994) comenzaron a realizar estudios de digestión con carbono radiactivo ( $^{14}\text{C}$ ). Estas pruebas fueron las primeras en concluir que los TC presentan adsorción post-ruminal y que su paso al torrente sanguíneo era poco probable. El experimento ayudó a comprender que la acción antinutricional de los TC en los rumiantes ocurre, esencialmente, por la inactivación enzimática y el desequilibrio poblacional de los organismos ruminales y no por desórdenes en el metabolismo sanguíneo.

Sobre esta problemática, pero en el caso de monogástricos, Jansman *et al.* (1994) descubrieron mecanismos de adaptación (secreción de la glándula parótidas) cuando se suministraban a las ratas dietas con elevados contenidos de taninos; demostrando que no solo los rumiantes son capaces de responder fisiológicamente ante la inclusión de fenoles tóxicos por vía oral.

Posteriormente, Makkar *et al.* (1995) describían los principales problemas en la determinación de la fracción fibrosa de los forrajes ricos en TC. También realizaron una valoración sobre las implicaciones de esta limitante en la determinación de parámetros digestivos, las fuentes más comunes de error; así como la validez de los resultados en estudios *in vitro*.

*et al.*, 1994); demostrando así que no ocurría la adsorción estomacal e intestinal en ninguno de los casos.

Más adelante, McAllister *et al.* (1994) comenzaron los estudios sobre la interacción de los TC con los microorganismos del rumen (*Fibrobacter succinogens*); demostrando el efecto inhibitorio de los taninos sobre dichos organismos y Makkar *et al.* (1994) demostraron que algunos taninos, de amplia distribución taxonómica, eran también degradados cuantitativamente por microorganismos comunes.

Se comenzó a profundizar sobre el perfil polifenólico de *Lotus pedunculatus* y *Lotus corniculatus* (forrajes de elevada distribución subtropical) y su repercusión en la fracción no nitrogenada y el metabolismo del plasma en ovinos; respectivamente (Waghorn *et al.*, 1994; Waghorn y Shelton, 1997). Estas leguminosas templadas sirvieron de modelo para las investigaciones en plantas tropicales, en etapas posteriores de investigación y se comenzaron a establecer, preliminarmente, límites críticos de TC en los cuales los metabolitos no causaban trastornos digestivos en los rumiantes.

Adicionalmente, Terrill *et al.* (1994) comenzaron a realizar estudios de digestión con carbono radiactivo ( $^{14}\text{C}$ ). Estas pruebas fueron las primeras en concluir que los TC presentan adsorción post-ruminal y que su paso al torrente sanguíneo era poco probable. El experimento ayudó a comprender que la acción antinutricional de los TC en los rumiantes ocurre, esencialmente, por la inactivación enzimática y el desequilibrio poblacional de los organismos ruminales y no por desórdenes en el metabolismo sanguíneo.

Sobre esta problemática, pero en el caso de monogástricos, Jansman *et al.* (1994) descubrieron mecanismos de adaptación (secreción de la glándula parótidas) cuando se suministraban a las ratas dietas con elevados contenidos de taninos; demostrando que no solo los rumiantes son capaces de responder fisiológicamente ante la inclusión de fenoles tóxicos por vía oral.

Posteriormente, Makkar *et al.* (1995) describían los principales problemas en la determinación de la fracción fibrosa de los forrajes ricos en TC. También realizaron una valoración sobre las implicaciones de esta limitante en la determinación de parámetros digestivos, las fuentes más comunes de error; así como la validez de los resultados en estudios *in vitro*.

Por otra parte, se llevó a cabo uno de los primeros experimentos integradores en el cual, bajo condiciones controladas, se determinó el efecto de algunas variables del ecosistema ruminal y las estructuras químicas de los taninos en la formación del complejo tanino-proteína. (Pérez-Maldonado *et al.*, 1995).

Otro hecho significativo lo constituyó la comparación entre las reacciones del PEG-4000 y la PVPP con los taninos (Makkar *et al.*, 1995a). Estos resultados fueron utilizados con posterioridad en el mejoramiento de los métodos analíticos para la determinación del efecto negativo y la separación cuantitativa de los TC; respectivamente.

Asimismo, se aisló y caracterizó la primera bacteria capaz de degradar los TH, resultado que tuvo mucho impacto en la comunidad científica; ya que hasta ese momento todos los esfuerzos investigativos habían estado centrados en la búsqueda de microorganismos capaces de metabolizar TC (Nelson *et al.*, 1995). También se comenzó a utilizar intensivamente la técnica de simulación ruminal (RUSITEC) con la que se pudo comprobar el efecto antinutricional de varias fuentes de alimento para rumiantes; así como la modulación de la interacción tanino-saponina mediante el ensayo de producción de gases (Makkar *et al.*, 1995; Makkar *et al.*, 1995b). Con estos estudios se logró comprobar que las saponinas, clásicamente identificadas como compuestos antinutricionales, también podrían presentar efectos positivos al combinarse con los polifenoles.

A partir de la investigación realizada por Degen *et al.* (1995), se le dio otra connotación a las leguminosas con elevados contenidos de taninos, pero esta vez como alimento principal en zonas con climas áridos y pobreza extrema. Posteriormente se publicó un trabajo sobre las implicaciones ecológicas de los taninos en el medio natural (Ruohomaki *et al.*, 1996) y el material más completo del quinquenio sobre los bioensayos con fenoles (Makkar y Becker, 1996).

Por su parte, Silanikova *et al.* (1996) y Silanikova *et al.* (1996) publicaron unos interesantes trabajos sobre la inclusión de PEG-4000 en pruebas metabólicas integrales con diversas alternativas de alimentación, llegando a la conclusión que no todas las fuentes polifenólicas ocasionaban los mismos efectos.

En otro orden de investigación, se estableció la necesidad de cuantificar indistintamente los contenidos de PT, TT, TC y TH como indicadores imprescindibles en la evaluación y selección de alimentos para animales tales como subproductos agroindustriales, forrajes convencionales y alternativos (Lamers *et al.*, 1996; Makkar *et al.*, 1996; Stienezen *et al.*, 1996). De igual manera, se investigó sobre las propiedades beneficiosas de los taninos mediante estudios de inhibición de biomarcadores de tumores cutáneos (Perchellet *et al.*, 1996) y se comenzó a utilizar la RMN-<sup>13</sup>C en el estudio de la degradación biológica de los taninos por hongos (Gamble *et al.*, 1996).

Otros resultados relevantes lo constituyó la determinación de los efectos de los TC en el pastoreo con especies leguminosas (Wang *et al.*, 1996), el efecto en la digestión de los carbohidratos en bovinos y caprina (Pérez-Maldonado y Norton, 1996), la posibilidad de degradación de complejo tanino-proteína por algunos microorganismos ruminales y la determinación de las especificidades en la interacción tanino-saponina (Bla *et al.*, 1996).

En 1997 se reanudaron las pruebas con PEG-4000 y TC en ensayo *in vivo* (Ben Salem *et al.*, 1997a,b), se disertó sobre los métodos cuantitativos de TC y TH con la misma importancia y profundización (Hagerman *et al.*, 1997) y se estimaron los contenidos de TC mediante la reacción con agentes químicos específicos (Matthews *et al.*, 1997). En esta investigación, mediante los estudios de los mecanismos en la sustitución electrofílica, los taninos de elevado peso molecular podían cuantificarse después de sus rupturas poliméricas.

Por otra parte, se comenzó a utilizar el espectro IR cercano (NIR) para la cuantificación de TC a frecuencias muy específicas (2 150 cm<sup>-1</sup>) (Goodchild *et al.*, 1997) y Makkar *et al.* (1997) profundizaron en las relaciones fisiológicas entre la fracción polifenólica y otros metabolitos secundarios (saponinas y fitatos) con parámetros de valor nutritivo usando correlaciones para determinar la función ecológica en variedades de leguminosas.

Aunque ambos resultados constituyeron grandes avances en el entendimiento de la biología de los taninos, el empleo de ondas electromagnéticas largas y las correlaciones inter-metabólicas no han sido retomadas intensivamente en el siglo XXI.

Con relación a recopilaciones bibliográficas, Makkar *et al.* (1997a) publicaron el primer tratado sobre la técnica de producción de gas *in vitro* y su acoplamiento con las determinaciones de los taninos, como vía para la comprensión de su efecto detrimental. También, Makkar *et al.* (1997b) informaron que existían diferencias sustanciales entre la digestibilidad aparente y la verdadera cuando los forrajes contenían elevados niveles de taninos.

Por su parte, Makkar y Becker (1997a,b) demostraron que las proteínas ricas en el aminoácido Prolina constituyen las primeras líneas de defensa contra los taninos, en los ovinos alimentados con elevadas dosis de estos metabolitos y que los TC no extractables presentaban poca repercusión antinutricional, respectivamente. En tanto, Miller *et al.* (1997) comprobaron la posibilidad de obtener inóculos detanificantes a partir de rumiantes. Este resultado puso de manifiesto que, mediante manipulación biotecnológica, se podría obtener cultivos de microorganismos selectivos capaces de degradar compuestos anticuvalitativos en determinadas condiciones de producción. Un año después se discutió sobre las ventajas y limitaciones en el uso de técnicas *in vitro* para la estimación biológica de la actividad de los TC (Makkar *et al.*, 1998) y que, en todos los casos, no era evidente su acción antinutricional (Chiquette *et al.*, 1998).

Se publicaron investigaciones relacionadas con la significación nutricional de los TC unidos a la FF (TC-FF) y se comprobó principalmente que estos compuestos no extractables no presentan implicaciones nutricionales negativas (Getachew *et al.*, 1998). Mediante estudios de regionalización se demostró que las plantas adaptadas a condiciones estresantes de clima y suelo presentan mayor concentración de PT y actividad precipitante (Makkar y Becker, 1998); criterios que enfatizaron la función defensiva de los fenoles cuando las condiciones edafoclimáticas son adversas para las plantas. Adicionalmente, McSweeney *et al.* (1998) profundizaron en el conocimiento del efecto deletéreo conjugado de los TH en el valor nutritivo de otras leguminosas de uso común en el trópico.

Resumiendo algunos de los principales efectos de los taninos en la interacción con los animales herbívoros, los Cuadros 1a y 1b muestran la incidencia de los polifenoles de diversas especies forrajeras en los sistemas biológicos.

Cuadro 1a. Efecto de algunos compuestos polifenólicos en los sistemas biológicos.

Grupo de polifenol	Especie	Efecto	Referencia
<b>Negativo</b>			
TH	<i>Quercus incana</i>	Tóxico severo en rumiantes	Garg <i>et al.</i> (1992)
Tetrámero de TC	<i>Acacia melanoxylon</i>	Inhibe la actividad de la enzima proteína-quinasa	Polya y Foo (1994)
	<i>Athyrium filix-femina</i> <i>Vaccinium myrtillus</i>	Actividad alelopática, inhibe la germinación y la longitud de las plántulas acompañantes	Pellissier (1994)
Polifenoles simples	<i>Trifolium subterraneum</i>	Efecto estrogénico	Nwannenna <i>et al.</i> (1994)
	<i>L. corniculatus</i>	Interviene en el metabolismo de los aminoácidos y los sulfatos	Wang <i>et al.</i> (1994)
	<i>Quersus calliprinos</i> <i>Pistacia lentiscus</i> <i>Cerantonia siliqua</i>	Afecta el consumo y la digestión de los nutrimentos	Silanikove <i>et al.</i> (1996)
TC	<i>Calliandra calothyrsus</i>	Disminuye la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS	Salawu <i>et al.</i> (1997)
	<i>L. corniculatus</i>	Reduce el consumo de MS y la digestión de los aminoácidos en el intestino delgado (5-6% MS)	Aerts <i>et al.</i> (1999)
	<i>Acacia aneura</i>		

En el mismo período se sugirieron valores de PC, TC y TH en las cuales las especies forrajeras podrían compararse en cuanto a su composición química (Aregheore *et al.*, 1998) estableciéndose así indicadores que describieran la calidad de cada fuente de alimento.

Adicionalmente se estudió la variabilidad en las concentraciones de los TC en especies de un mismo género, demostrando que las posibles variaciones en los patrones isoenzimáticos repercutían claramente en las rutas biosintéticas de los TC (McNeill *et al.*, 1998).

Cuadro 1b. Efecto de algunos compuestos polifenólicos en los sistemas biológicos.

Grupo de polifenol	Especie	Efecto	Referencia
<b>Positivo</b>			
TC	<i>L. corniculatus</i>	Incrementa la velocidad de crecimiento y acelera la ovulación en cabras (2-4% MS)	Min <i>et al.</i> (1999)
	<i>Acacia nilotica</i>	Incrementa la producción de lactosa en la leche (4-5% MS)	Aerts <i>et al.</i> (1999)
	<i>Acacia karoo</i>	Efecto antihelmíntico en cabras	Kahiya <i>et al.</i> (2003)
	<i>Albizia anthelmintica</i>	Efecto antihelmíntico en rumiantes menores y ratas	Githiori <i>et al.</i> (2003)
PT y TT	<i>Dichrostachys cinerea</i>	Inhiben los biomarcadores de tumores <i>in vivo</i>	Perchellet <i>et al.</i> (1996)
	<i>Cassia sieberiana</i>		
Polifenoles simples	<i>Morus alba</i>	Actividad larvívica Induce la diferenciación de células humanas	Suck <i>et al.</i> (1997) Sun <i>et al.</i> (2000)
	<i>Albizia lebbeck</i>	Propiedades biosorbentes	Fernández <i>et al.</i> (1996)

Se realizó un extenso trabajo de clasificación fenotípica sobre las bacterias ruminales tolerantes a elevadas dosis de taninos (Nelson *et al.*, 1998) y se realizó la primera investigación en la cual, mediante técnicas biotecnológicas, se pudo comparar el efecto de los niveles contratantes de TC provenientes de un mismo forraje en parámetros digestivos.

Se mejoró la metodología para la cuantificación de TH con  $KIO_3$  y se dilucidaron los mecanismos de precipitación de proteínas con los galotaninos y la epicatequina 4→8 (Willis y Allen, 1998; Hagerman *et al.*, 1998). Estos resultados demostraron que los TH como compuestos que estructuralmente no se formaban por condensaciones de flavonoides; sino mediante el acoplamiento de anillos de carbohidratos y fenoles simples, precipitaban igualmente las proteínas de las soluciones acuosas.

La última década del siglo XX constituyó la etapa cumbre en los estudios nutricionales con taninos. En este sentido se demostró, utilizando RMN, que mediante la estrategia de extracción de los TC-FF por el método

del nbutanol/HCl/Fe<sup>3+</sup> no todos los TC se hidrolizaban cuantitativamente a partir de la fracción fibrosa (Makkar *et al.*, 1999). Esta investigación describió lo difícil que resulta el diseño de procedimientos analíticos que no presenten limitaciones prácticas en algunas de sus etapas. Se comenzaron a emplear los métodos que inicialmente habían sido diseñados para la cuantificación de tóxicos en alimentos para animales, en el control de la calidad de alimentos para humanos; lo que trajo consigo un aumento en la rigurosidad de los controles para los concentrados comerciales (Labarbe *et al.*, 1999).

Por su parte, Naurato *et al.* (1999) realizaron estudios sobre la interacción tanino-histatina (proteína de origen humano) demostrando patrones de acoplamiento similares a los ya conocidos en el caso de los roedores y los rumiantes. También se realizaron investigaciones paralelas con ratas y ovejas demostrando la existencia de cambios drásticos en el tejido y la utilización de los nutrientes por elevadas concentraciones de TC (Dawson *et al.*, 1999). Este experimento demostró que la acción detrimental de los polifenoles resulta común para todas las variantes de los sistemas digestivos.

Un logro sustancial lo constituyeron los primeros ensayos microbiológicos sobre la modulación de la ecología ruminal en animales alimentados con dietas con elevados niveles de TC, demostrando que el sistema microbiano-ruminal se adaptaba progresivamente para poder realizar un uso adecuado de las fuentes de nutrimentos (Odenyo *et al.*, 1999). Dichos resultados orientaron las investigaciones al estudio de las interacciones microbianas como clave imprescindibles en la comprensión de la acción de los taninos en los animales poligástricos.

Por otra parte, se comenzaron las investigaciones sobre el papel de los TC en los procesos de conservación de forrajes y se concluyó una etapa importante en las investigaciones con *Acacia cyanophylla* (Ben Salem *et al.*, 1999a,b). Con relación a eso, Hagerman *et al.* (1999) resaltaron la importancia de los taninos en el control de la proteína soluble de los ensilajes así como su repercusión en el mejor aprovechamiento de los efluentes producidos por la fermentación microbiana.

Finalmente, Makkar y Becker (1999) optimizaron la cuantificación de algunas bases nitrogenadas, en los bioensayos con taninos, mediante la utilización de la HPLC, con el propósito de estimar parámetros relacionados con su acción detrimental.

### Investigaciones en los inicios del siglo XXI

En el nuevo milenio las investigaciones con PEG-4000 aportaron más información sobre el efecto de los TC en cuanto a la velocidad de producción de proteína microbiana, su relación con el nitrógeno endógeno y el metabolismo proteico en rumiantes con diversas fuentes tánicas (Getachew *et al.*, 2000a; McNeil *et al.*, 2000; Ben Salem *et al.*, 2000). Dichas investigaciones consolidaron los conocimientos adquiridos, en décadas anteriores, sobre el efecto de los taninos en la producción animal en diferentes partes del mundo.

Por su parte, Jones *et al.* (2000) promulgaron la selección de especies forrajeras teniendo en cuenta las propiedades positivas de los taninos así como sus características antinutricionales. Fue la primera ocasión en que los métodos de selección le confirieron importancia a la acción pronutricional de los taninos como una propiedad determinante.

Se estudió también la estequiometría en la producción de ácidos grasos volátiles en sistema *in vitro* con taninos (Getachew *et al.*, 2002); así como la producción de gas en sistema isoproteicos y variantes de nitrógeno (Getachew *et al.*, 2000b). Estos mismos autores en investigaciones posteriores caracterizaron la cinética de fermentación y algunos parámetros de desarrollo microbiano en presencia de polifenoles conocidos (Getachew *et al.*, 2000c).

Con relación a estudios microbiológicos, Pell *et al.* (2000) probaron la tolerancia microbiana en diferentes especies de rumiantes con contenidos variables de taninos; así como los mecanismos probables para resistir la detoxificación (Brooker *et al.*, 2000). Estos estudios señalaron que ni los contenidos más elevados de TC resultaban letales si previamente los animales se adaptaban a consumir dietas con niveles crecientes de polifenoles.

En otro orden de investigaciones, se comenzó a promocionar la factibilidad de la inclusión en las dietas para humanos de macromoléculas fenólicas como mejoradoras de la salud (King, 2000) y se demostró que en determinados géneros de leguminosas, independientemente de la variabilidad cuantitativa con relación a los taninos, el patrón de actividad biológica se repetía claramente (Palmer y McSweeney, 2000).

Por otra parte, se publicó uno de los estudios más sólidos sobre el efecto antihelmíntico de los TC en rumiantes (Kahn y Díaz-Hernández, 2000), aunque en ninguna investigación relacionada con la temática se ha podido describir el mecanismo por el cual el conteo fecal de huevos (hpg) y la población de parásitos adultos en el tracto gastrointestinal disminuyen de manera abrupta.

En el año 2001 se publicaron las dos reseñas más completas sobre el desarrollo en las técnicas de cuantificación de TH (Mueller-Harvey, 2001) y TC (Schofield *et al.*, 2001); así como el empleo extensivo de la tiólisis para el análisis por HPLC de alimentos para humanos (Guyot *et al.*, 2001) y la metanólisis en el caso de los TH (Lei *et al.*, 2001). Adicionalmente se estudió el efecto pos-ingestivo de los TC y las saponinas en mediciones con PEG-4000 (Silanikova *et al.*, 2001), se describió exhaustivamente la interacción tanino-microorganismo desde el punto de vista biológico (McSweeney *et al.*, 2001) y se profundizó en el conocimiento de los procesos de degradación de los TC en el sistema digestivo de los animales monogástricos (Abia y Fry, 2001).

Un año más tarde, Hoffmann *et al.* (2002) realizaron la modificación más importante en la optimización de los ensayos biológicos de la capacidad precipitante de los taninos y Hartzfeld *et al.* (2002) prosiguieron con las cuantificaciones selectivas de TH con sales inorgánicas. Posteriormente, Henson *et al.* (2003) modificaron esta vez el procedimiento de la BSA con  $^{125}\text{I}$ , mediante conteo gamma, para eliminar el procedimiento de la centrifugación y la manipulación del material radioactivo, aspectos que constituían una deficiencia de la técnica desde sus comienzos.

Finalmente, Makkar (2003), basado en los procedimientos establecidos por la Organización Internacional de Energía Atómica, publicó la guía más completa en el análisis químico de fenoles en los árboles y arbustos con potencial forrajero. Sin lugar a dudas, este material constituye la recopilación de 30 años de investigaciones intensivas en la búsqueda de procedimientos analíticos para la comprensión de la bioquímica de las macromoléculas polifenólicas.

### Consideraciones finales

Si bien es cierto que el gran número de investigaciones con taninos han permitido conocer muchos aspectos de su naturaleza, función e

importancia, todavía en el primer quinquenio del nuevo siglo prevalecen muchas incógnitas que no han sido respondidas.

En este sentido, el Cuadro 2 muestra las temáticas más abordadas mundialmente, así como los acápites en los cuales se debe investigar con mayor énfasis para dilucidar algunos aspectos de vital importancia.

Cuadro 2. Principales investigaciones realizadas con taninos y estudios que requieren mayor profundización

Aspectos mayormente estudiados
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cuantificación de PT, TT, TC Y TH en especies forrajeras y subproductos agroindustriales.</li> <li>- Determinación de la actividad biológica de los taninos mediante técnicas de análisis instrumental y pruebas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>.</li> <li>- Efecto de la suplementación y el tratamiento poscosecha en la disminución de la actividad antinutricional de los TC.</li> <li>- Utilización de métodos de conservación en la mejora del valor nutritivo de fuentes taníferas</li> <li>- Desarrollo, implementación y validación de técnicas analíticas para la estimación del perfil polifenólico en forrajes.</li> <li>- Estudio de la interacción TC-antinutriente y TC-metabolito primario.</li> </ul>
Acápites que requieren mayor número de investigaciones
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estudio de las potencialidades benéficas de los PT, TC y TH.</li> <li>- Repercusión nutricional y función biológica de los TC-FF y TH-FF en las leguminosas forrajeras.</li> <li>- Dilucidar los mecanismos relacionados con el efecto antihelmíntico de los TC.</li> <li>- Estudios <i>in vivo</i> con especies monogástricas y determinación de las concentraciones críticas de PT, TC y TH.</li> <li>- Determinación de las propiedades pro-nutricionales de la interacción TC-alcaloide.</li> <li>- Estudios biotecnológicos para la búsqueda de cepas resistentes a estructuras polifenólicas específicas.</li> <li>- Función ecológica de los TC y TH en las especies no leguminosas.</li> <li>- Papel de los TC y TH como disuasores del consumo voluntario en especies con gran diversidad de metabolitos secundarios.</li> </ul>

## CONCLUSIONES

En la segunda mitad del siglo XX y los primeros años del nuevo milenio se han llevado a cabo la mayor cantidad de estudios con taninos, debido fundamentalmente a que diversas líneas de investigación relacionadas con la alimentación animal y humana, la ciencia de los materiales, la farmacología, la cosmética y la medicina han descubierto, a partir de sus propiedades singulares, numerosos usos y beneficios.

El interés creciente en la comprensión de sus características pre-nutricionales/tóxicas ha derivado de la búsqueda de nuevos alimentos suplementarios para el ganado, fundamentalmente leguminosas tropicales y templadas como alternativas viables por su excelente composición química y elevado valor nutritivo: comparado con las gramíneas de pastoreo. Estos estudios básicos, realizados en la mayoría de los casos con especies animales adaptados a condiciones subtropicales, han aportado conocimientos prácticos para poder realizar un manejo más eficiente de los alimentos que por naturaleza, presentan considerables niveles de taninos.

La mayoría de las investigaciones de bioquímica nutricional y fisiología digestiva con fuentes tánicas se han llevado a cabo en países desarrollados, donde la disponibilidad de recursos e instrumentación constituyen limitantes en los laboratorios de evaluación de alimentos. No obstante, en Latinoamérica se deben continuar los ensayos para aclarar fundamentalmente, las propiedades beneficiosas de los taninos en la nutrición animal, determinar las características antinutricionales de los polifenoles presentes en las leguminosas de mayor distribución en el área y formular estrategias viables para aumentar la productividad ganadera basada en estas fuentes de alimentos.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Abia R. y S.C. Fry. 2001. Degradation and metabolism of  $^{14}\text{C}$ -labelled proanthocyanidins from carob (*Cerotonia siliqua*) pods in the gastrointestinal tract of the rat. *J. Sci. Food Agric.*, 81: 1156-1165.
- Aerts R.J., T.N. Barry y W.C. McNabb. 1999. Polyphenols and agricultural: beneficial effect of proanthocyanidins in forages. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 75: 1-12.
- Ahn J., R. Elliott y B. Norton. 1997. Oven drying improves the nutritional value of *Calliandra calothyrsus* and *Gliricidia sepium* supplements for sheep given low. *J. Sci. Agric.*, 75: 503-510.
- Aregheore E.M., H.P.S. Makkar y K. Becker. 1998. Feed value of some browse plants from Central Zone of Delta State Nigeria. *Trop. Sci.* 38: 97-104.

- Balcells J., J.A. Guada y J.M. Peiró. 1992. Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography*, 575: 153-157.
- Barry T.N., T.R. Manley y S.J. Duncan. 1986. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 4. Site of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentrations. *Brit. J. Nutr.*, 55: 132-137.
- Bate-Smith E.C. 1973. Tannin of herbaceous leguminosae. *Phytochemistry*, 12: 1809-1812.
- Bate-Smith E.C. 1977. Astringent tannins of *Acer* species. *Phytochemistry*, 16: 1421-1427.
- Bernfeld P. 1967. *Biogenesis of Natural Products*. Pergamon Press
- Ben Salem H., A. Nefzaoui, H. Ferchichi, L. Ben Salem y J.L. Tisserand. 1997a. Intake and digestion in sheep given fresh or air-dried *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage. *Ann. Zootech.*, 46: 361-374.
- Ben Salem H., A. Nefzaoui, L. Ben Salem y J.L. Tisserand. 1997b. Effect of *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage supply on intake and digestion by sheep fed on lucerne hay based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68: 101-113.
- Ben Salem H., A. Nefzaoui, L. Ben Salem y J.L. Tisserand. 1999a. Intake digestibility, urinary excretion of purine derivatives and growth by sheep given fresh, air-dried or polyethylene glycol-treated of foliage of *Acacia cyanophylla* Lindl. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78: 297-311.
- Ben Salem H., A. Nefzaoui, L. Ben Salem y J.L. Tisserand. 1999b. Different means of administering polyethylene glycol to sheep: effect on the nutritive value of *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68: 809-818.
- Ben Salem H., A. Nefzaoui, L. Ben Salem y J.L. Tisserand. 2000. Deactivation of condensed tannin in feed block. Effect on feed intake, diet digestibility, nitrogen balance, microbial synthesis and growth by sheep. *Livest. Prod. Sci.*, 64: 51-60.
- Bhat T.K., H.P.S. Makkar y B. Singh. 1996. Degradation of tannin protein complexes by microorganisms present in faeces of oak-cattle. *Letters Appl. Microbiol.*, 22: 257-258.

- Broadhurst R.B. y W.T. Jones. 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.*, 29: 788-794.
- Brooker J. D., L. Ódonovan, L. Skene y G. Sellick. 2000. Mechanisms of tannin resistance and detoxification in the rumen. *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings N° 92*, pp. 117-122.
- Browning D.R. 1969. *Chromatography*. McGraw-Hill, USA.
- Butler L.G., M.L. Price y J.E. Brotherton. 1982. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.*, 30: 1087-1089.
- Caygil J.C. y I. Mueller-Harvey. 1999. Tannins. Their nature and biological significance. Nottingham University Press. Nottingham, U.K. p. 17-37
- Chiquette J., K.L. Cheng, J.W. Costerton y L.P. Milligan. 1998. Effect tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus*) using *in vitro* and *in sacco* techniques. *Can. J. Anim. Sci.*, 68: 751-760.
- Dawra R.K., H.P.S. Makkar y B. Singh. 1988. Protein binding capacity of microquantities of tannins. *Anal. Biochem.*, 170: 50-53.
- Dawson J.M., P.J. Buttery, D. Jenkins, C.D. Wood y M. Gill. 1999. Effect of dietary quebracho tannins on nutrient utilization and tissue metabolism, in sheep and rats. *J. Sci. Food Agric.*, 79: 1423-1430.
- Degen A., H.P.S. Makkar, K. Becker y N. Borowy. 1995. *Acacia saligna* as a fodder tree for desert livestock. *J. Sci. Food Agric.*, 68: 65-71.
- De Marcano D. y M. Hasegawa. 1991. *Fitoquímica Orgánica*. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, Venezuela 451 p.p.
- Fernández N., E. Chacín, C. García, N. Alastre, F. Leal y C.F. Forster. 1999. The use of seed pods from *Albizia lebeck* for the removal of alkybenzene sulphonates from aqueous solution. *Process Biochem.* 31(4): 383-387.
- Fish B.C. y L.U. Thompson. 1991. Lectin-tannin interactions and their influence on pancreatic amylase activity and starch digestibility. *J. Agric. Food Chem.*, 39: 727-731.

- Freeland W.J., P.H. Calcott y R.L. Anderson. 1985. Tannins and saponins: interaction in herbivore diets. *Biochem. System Ecol.*, 13: 189-193.
- Gamble G.R., D.E. Akin, H.P.S. Makkar y K. Becker. 1996. Biological degradation of tannins *Sericea lespedeza* by the white rot fungi *Ceriporiopsis subvermispora* and *Cyathus stercoreus* analyzed by solid-state  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 3600-3604.
- Garg S.K., H.P.S. Makkar, K.B. Nagal, S.K. Sharma, D.R. Wadhwa y B. Singh. 1992. Toxicological investigations into oak (*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle. *Vet. Human Toxicol.*, 34: 161-164.
- Getachew G., H.P.S. Makkar y K. Becker. 1998. Tannin-binding agents to alleviate anti-microbial effects of tannins in the rumen. 3<sup>rd</sup> Tannin Conference "Plant Polyphenol: Chemistry and Biology", Bend, Oregon, USA.
- Getachew G., H.P.S. Makkar y K. Becker. 2000a. Stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production in presence and absence of polyethylene glycol for tannin containing browses, gas production; fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity, An EAAP Satellite Symposium, Wageningen, pp. 46-47.
- Getachew G., H.P.S. Makkar y K. Becker. 2000b. Tannins in tropical browses: Effects on *in vitro* microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 3581-3588.
- Getachew G., H.P.S. Makkar y K. Becker. 2000c. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *Brit. J. Nutr.*, 84: 73-83.
- Getachew G., H.P.S. Makkar y K. Becker. 2002. Tropical browse contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production an stoichiometrical relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *J. Agric. Sci.*, 139: 341-352.
- Githiori J.B., J. Høglund, P. Waller y R.L. Baker. 2003. The anthelmintic efficacy of the plant *Albizia anthelmintica*, against the nematode parasites *Haemonchus contortus* of sheep and *Heligmosomoides polygyrus* of mice. *Vet. Parasitology*, 116: 23-34.

- Goldstein W.S. y K.C. Spencer. 1985. Inhibition of cyanogenesis by tannins. *J. Chem. Ecol.*, 11: 847-857.
- Goodchild A.V., F.J. El Hamein, H.P.S. Makkar, A.A. El Monein y P.C. Willians. 1997. Near infrared based method. 18<sup>th</sup> International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Haus der Technik, Essen, Alemania.
- Guyot S., N. Marnet y J.M. Drilleau. 2001. Thiolysis HPLC characterization of apple proanthocyanidins covering a large of polymerization states. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 14-20.
- Hagerman A.E. 1987. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *J. Chem. Ecol.*, 13: 437- 449.
- Hagerman A.E., K.M. Riedl y R.E. Rice. 1999. Tannins as biological antioxidants. *En* Gross G.G. y T. Yoshida (Eds) *Plant Polyphenols 2: Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. Kluwer Academic & Plenum Publisher. New York, pp. 495-505.
- Hagerman A.E. y L.G. Butler. 1978. Protein precipitable method for the quantitative determination of tannins. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 809-812.
- Hagerman A.E. y L.G. Butler. 1980. Determination of protein in tannin-protein precipitates. *J. Agric. Food Chem.*, 28: 944-947.
- Hagerman A.E. y L.G. Butler. 1981. Specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Biol. Chem.*, 256: 4494-4497.
- Hagerman A.E., M.E. Rice y N.T. Rritchard. 1998. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicateching (4→8) catechin (procyanidin). *J. Agric. Food Chem.*, 46: 2590-2595.
- Hagerman A.E., Y. Zhao y S. Johnson. 1997. Methods for determination of condensed and hydrolysable tannins. *En* Shahidi F. (Ed) *Antinutrients and Phytochemicals in Food*. ACS Symposium Series N° 662. American Chemical Society, pp. 209-222.
- Hanley T.A., C.T. Robbins, A.E. Hagerman y C. McArthur. 1992. Predicting digestible protein and digestible dry matter in tannin-containing forages consumed by ruminants. *Ecology*, 73: 537- 541.
- Hartzfeld P.W., R. Forkner, M.D. Hunter y A.E. Hagerman. 2002. Determination of hydrolysable tannins (gallotannins and

- ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 1785-1790.
- Haslam E. 1965. Galloyl esters in the Aceraceae. *Phytochem.*, 4: 495-498.
- Henson G.L., L. Niemeyer, G. Ansong, R. Forkner, H.P.S. Makkar y A.E. Hagerman. 2003. Modified method for determining protein-binding capacity of plant polyphenolics using radiolabeled protein. *Phytochem. Anal.*, 46: 231-242.
- Hight R.J. y E.A. Sokoloski. 1975. Structural Investigation of Natural Products by Newer Methods of NRM Spectroscopy. *Progress in the Natural Chemistry of Organic Natural Products*. Springer-Verlag. USA.
- Hoffmann E.M., S. Muetzel y K. Becker. 2002. A modified dot-blot method of protein determination applied in the tannin-protein precipitation assay to facilitate the evaluation of tannin activity in animal feeds. *Brit. J. Nutr.*, 87: 421-426.
- Inoue K.H. y A.E. Hagerman. 1988. Determination of gallotannins with rhodanine. *Anal. Biochem.*, 169: 363-369.
- Jansman A.N., A.A. Frohlich y R.R. Marquardt. 1994. Production of proline-rich proteins by the parotid glands of rats is enhanced by feeding diets containing tannins from faba beans (*Vicia faba* L.). *J. Nutr.*, 124: 249-258.
- Jones R.J., J.H.F. Meyer, M. Bechaz y M.A. Stoltz. 2000. An approach to screening potential pasture species for condensed tannin activity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 85: 269-277.
- Kahiya C., S. Mukaratirwa y S.M. Thamsborg. 2003. Effects of *Acacia nilotica* and *Acacia karoo* diets on *Haemonchus contortus* infection in goats. *Vet. Parasitology*, 115: 265-274.
- Kahn L.P. y A. Díaz-Hernández. 2000. Tannins with antihelmintic properties. *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition*. ACIAR Proceedings N° 92, pp. 130-139.
- King R.A. 2000. The role of polyphenols in human *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition*. ACIAR Proceedings N° 92, pp. 75-81.
- Labarbe B., V. Cheynier, F. Brossaud, J.M. Souquet y M. Moutounet. 1999. Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to

- their degree of polymerization. *J. Agric Food Chem.*, 47: 2719-2723.
- Lamers J., A. Buerkert, H.P.S. Makkar, M.V. Oppen y K.I. Becker. 1996. Biomass production, feed economic value of fodder weeds as by-products of millet. *Exp. Agric.*, 32: 317-326.
- Larwence A., F. Hammouda y A. Salah. 1984. Valeur alimentaire des marcs de raisin. III. Role des tanins condensés dans la faible valeur nutritive des marcs de raisin chez le mouton: effet d'une addition de polyethylene glycol 4000. *Ann. Zootech.*, 33(4): 533-543.
- Lei Z., J. Jervis y R.F. Helm. 2001. Use of methanolysis for the determination of total ellagic and gallic acid contents of wood products. *J. Agric Food Chem.*, 49:1165-1168.
- Lowry J.B. y E.A. Sumpter. 1990. Problems with ytterbium precipitation as a method for determination of plant phenolics. *J. Sci. Food Agric.*, 52: 287-288.
- Makkar H.P.S. 1989. Protein precipitation methods for quantification of tannins: A review. *J. Agric Food Chem.*, 37: 1197-1202.
- Makkar H. P. S. 2003. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. A laboratory manual. Kluwer Academic Publishers.
- Makkar H.P.S., A.V. Goodchild, A.M. Abd-El-Monein y K. Becker. 1996. Cell-constituents, tannin levels by chemical and biological assays and nutritional value of some legume foliage and straws. *J. Sci Food Agric.*, 71: 129-136.
- Makkar H.P.S. y B. Singh. 1991. Composition tannins levels and *in sacco* dry matter digestibility of fresh and fallen oak (*Quercus incana*) leaves. *Bioresouce Technol.*, 37: 185-187.
- Makkar H.P.S. y B. Singh. 1992a. Detannification of oak leaves: Treatments and their optimization. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 36: 113-127.
- Makkar H.P.S. y B. Singh. 1992b. Effect of steaming and autoclaving oak (*Quercus incana*) leaves on levels of tannins, fibre and lignin and *in sacco* dry matter digestibility. *J. Sci. Food Agric.*, 59: 469-472.
- Makkar H.P.S. y B. Singh. 1992c. Effect of wood ash on tannin of oak (*Quercus incana*) leaves. *Bioresource Technol.*, 41: 85-86.

- Makkar H.P.S. y B. Singh. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification and *in sacco* dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. Anim. Feed Sci. Technol., 41: 247-259.
- Makkar H.P.S., B. Singh y R.K. Kamra. 1994. Biodegradation of tannin in oak (*Quercus incana*) leaves by *Sporotrichum pulverulentum*. Letters in Applied Microbiology, 18: 42-44.
- Makkar H.P.S., B. Singh y R.K. Dawra. 1991. Tannin levels in the leaves of some oak species at different stages of maturity. J. Sci. Food Agric., 54: 513-519.
- Makkar H.P.S., B. Singh y S.S. Negi. 1989. Relationship of rumen degradability with biomass accumulation, cell wall constituents and tannin levels in some tree leaves. Anim. Prod., 49: 299-303.
- Makkar H.P.S., B. Singh y S.S. Negi. 1990. Tannin levels and their degree of polymerization and specific activity in some agro-industrial by-products. Biol. Wastes, 31: 137-144.
- Makkar H.P.S., G. Gamble y K. Becker. 1999. Limitations of the butanol-hydrochloric acid-iron assay for bound condensed tannin. Food Chem., 66: 129-133.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1993a. Vanillin-HCl method for condensed tannins: effect of organic solvents used for extraction of tannin. Chem. Ecol., 19: 613-621.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1993b. Behavior of tannic acid from various commercial sources towards some chemical and protein precipitation assays. J. Sci. Food Agric., 62: 295-299.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1994a. Some problems in the determination of tannins possible solutions. Acta Hort., 381: 782-788.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1994b. Isolation of tannins from trees and shrubs and their properties. J. Agric Food Chem., 42: 731-734.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1996. A bioassay tannins. Polyphenols Comm., 96: 197-198.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1997a. Adaptation of cattle to tannins role of proline-rich proteins in oak-fed cattle. Anim. Sci., 67: 277-281.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1997b. Nutritional implications of bound proanthocyanidins. XIII Int. Grassland Cong., Winnipeg, Canada

- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1998. Do tannins in leaves of trees and shrub from African and Himalayan region differ in level and activity? *Agroforestry Systems*, 40: 59-68.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1999. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. *Brit. J. Nutr.*, 81: 107-113.
- Makkar H.P.S., K. Becker, H.L. Abel y C. Szegletti. 1995. Degradation of condensed tannin by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentation processes in the RUSITEC. *J. Sci. Food Agric.*, 69: 495-500.
- Makkar H.P.S., R.K. Dawra y B. Singh. 1987. Protein precipitation assay for quantitation of tannins: Determination of protein in tannin-protein complex. *Anal. Biochem.*, 166: 465-439.
- Makkar H.P.S., M. Blummel y K. Becker. 1995a. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidone and polyethylene glycol with tannins and their implications in gas production and the digestibility in *in vitro* techniques. *Brit. J. Nutr.*, 73: 897-913.
- Makkar H.P.S., M. Blummel y K. Becker. 1995b. *In vitro* effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in rumen. *J. Sci. Food Agric.*, 69: 481-493.
- Makkar H.P.S., M. Blummel y K. Becker. 1997a. Application of and *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients BSAP Occasional Meeting on "In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants" Reading, U.K.
- Makkar H.P.S., M. Blummel y K. Becker. 1997b. *In vitro* rumen apparent and true digestibilities of tannin-rich forages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 67: 245-251.
- Makkar H.P.S., M. Blummel y K. Becker. 1998. Potential limitations of and *in vitro* gas method for studying the effects of plant defensive components on rumen fermentation. 3<sup>rd</sup> International Workshop on Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed. Wageningen, The Netherlands.

- Makkar H.P.S., M. Blummel, N.K. Borowy y K. Becker. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.*, 61: 161-165.
- Makkar H.P.S., N. Borowy, K. Becker y A. Degen. 1995. Some problems in fiber determination in tannin rich forages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 55: 67-76.
- Makkar H. P. S., R. K. Dawra y B. Singh. 1988a. Changes in tannin content, polymerization and protein-precipitation capacity in oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. *J. Sci. Food Agric.*, 44: 301-307.
- Makkar H.P.S., R.K. Dawra y B. Singh. 1988b. Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex. *J. Agric Food Chem.*, 36: 523-525.
- Makkar H.P.S., K. Becker, E. Abel y E. Pawelzik. 1997. Nutrient contents, rumen protein degradability and antinutritional factor in some colour-and white-flowering cultivars of *Vicia faba* beans. *J. Sci. Food Agric.*, 45: 511-519.
- Matthews S., I. Mila, A. Scalbert, B. Pollet, C. Lapiere, C.L.M. du Penhoat, C. Rolando y D.M.X. Donnelly. 1997. Method of estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles. *J. Sci. Food Chem.*, 45: 1195-1201.
- McAllister T.A., H.D. Bae, G.A. Jones y K.J. Cheng. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.*, 72: 3004-3018.
- McNeill D.M., M. Komolong, N. Gobiun y D. Barber. 2000. Influence of dietary condensed tannins on microbial crude protein supply in sheep. *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings N° 92*, pp. 57-61.
- McNeill D.M., N. Osborne, M. Komolong y D. Nankervis. 1998. Condensed tannins in the *Leucaena* genus and their nutritional significance for ruminants *En Shelton H.M., R.C. Gutteridge, B.F. Mullin y R.A. Bray (Eds) Leucaena. Adaptation, Quality and Farming Systems. ACIAR Proceedings N° 86*, pp. 205-214.
- McSweeney C.S., B. Palmer, D.M. McNeil y D.O. Krause. 2001. Microbial interactions with tannins nutritional consequences for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 91: 83-93.

- McSweeney C.S., P.M. Kennedy y A. John. 1998. Effects of ingestion of hydrolysable tannins in *Terminalia oblongata* on digestion in sheep fed *Stylosanthes hamata*. Aust. J. Agric. Res., 39: 235-244.
- Menke K.H., L. Roab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz y W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agric. Sci., 93: 217- 222.
- Miller S.M., A.V. Klieve, J.J. Plumb, R. Aisthorpe y L.L. Blackall. 1997. An *in vitro* cultured rumen inoculum improves nitrogen digestion in mulga-fed sheep. Aust. J. Agric. Res., 48: 403-409.
- Min B.R., W.C. McNabb, T.N. Barry y P.D. Kemp. 1999. The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency wool production in sheep during late summer and autumn. J. Agric. Sci., 32: 141-145.
- Mueller-Harvey I. 2001. Analysis of hydrolysable tannins. Anim Feed. Sci. Technol., 91: 3-20.
- Mueller-Harvey I y A.B. McAllan. 1992. Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. Morrison Press, London, U.K.
- Mueller-Harvey I., J.D. Reed y R.D. Hartley. 1987. Characterizations of phenolic compounds, including flavonoids and tannins of 10 Ethiopian browse species by high performance liquid chromatography. J. Sci. Food. Agric. 39: 1-14.
- Naurato N., P. Wong, Y. Lu, K. Wroblewski y A. Bennick. 1999. Interaction of tannin with human salivary histatins. J. Agric. Food Chem., 47: 2229-2234.
- Nelson K.E., A.N. Pell, P. Schofield y S. Zinder. 1995. Isolation and characterization of an anaerobic ruminal bacterium capable of degrading hydrolysable tannins. Appl. Environ. Microbiol., 61: 3293-3298.
- Nelson K.E., M.L. Thonney, T.K. Woolston, S. Zinder y A.N. Pell. 1998. Phenotypic and phylogenetic characterization of ruminal tannin-tolerant bacteria. Appl. Microbiol., 64: 3824-3830.
- Nicholson K., L.G. Butler y T.N. Asquith. 1986. Glycoproteins from *Calletrichum graminicola* that bind phenols: implications for survival and virulence of phytopathogenic fungi. Phytochem., 76: 3824-2830.

- Nwannenna A.I., A. Madej, T.J.O. Lundh y G. Fredriksson. 1994. Effects of oestrogenic silage on some clinical and endocrinological parameters in ovariectomized heifers. *Acta Vet. Scand.*, 35(2): 173-183.
- Odenyo A.A., C.S. McSweeney, B. Palmer, D. Negassa y P.O. Osuji. 1999. *In vitro* screening of rumen fluid samples from indigenous African ruminants provides evidence for rumen fluid with superior capacities to digest tannin-rich fodders. *Aust. J. Agric. Res.*, 50: 1147-1157.
- Orskov E.R. 1982. Rumen microorganisms and their nutrition. *En Orskov E.R (Ed) Protein Nutrition in Ruminants.* pp. 19-40.
- Palmer B. y C.S. McSweeney. 2000. Tannins in *Calliandra calothyrsus*: effect of polyethylene glycol (PEG) and an evaluation of 19 accessions. *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings N° 92,* pp. 36-39.
- Pell A.N., T.K. Woolston, K.E. Nelson y P. Schofield. 2000. Tannins: Biological activity and bacterial tolerance. *En Brooker J.D. (Ed) Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings N° 92,* pp. 111-116.
- Pellissier F. 1994. Effect of phenolic compounds in humus on the natural regeneration of spruce. *Phytochem.*, 36: 865-867.
- Peng S., A. Scalbert y B. Monties. 1991. Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochem.*, 30: 775-778.
- Perchellet E.M., H.U. Moutaseb, H.P.S. Makkar y P. Perchellet. 1996. Ability of tannins extracted from various tree leaves inhibit the biomarkers of tumor promotion in mouse skin *in vivo*. *Int. Oncology*, 9: 801-809.
- Pérez-Maldonado R.A. y B.W. Norton. 1996. The Effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. *Brit. J. Nutr.*, 76: 515-553.
- Pérez-Maldonado R.A., B.W. Norton y G.L. Kerven. 1995. Factors affecting *in vitro* formation of tannin-protein complexes. *J. Sci. Food Agric.*, 69: 291-298.
- Pritchard D.A., P.R. Martín y P.K. O'Rourke. 1992. The role of condensed tannins in the nutritional value of mulga (*Acacia aneura*) for sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 43: 1739-1746.

- Polya G.M. y L.I. Foo. 1994. Inhibition of eukaryote signal-regulated protein kinases by plant -derivated catechin-related compounds. *Phytochem.*, 35(6): 1399-1405.
- Porter L.J., L.N. Hrstich y B.G. Chan. 1986. The conversion of procyanidin and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochem.*, 25: 223-230.
- Price K.R., L.T. Johnson y G.K. Fenwick. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs. *Rev. Food Sci. Nutr.*, 26: 27-135.
- Price M.L., S. Van Scoyoc y L.G. Butler. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 1214-1218.
- Reed J.D., P.J. Horvath, M.S. Allen y P.J. Van Soest. 1985. Gravimetric determination of soluble phenolics including tannins from leaves by precipitation with trivalent ytterbium. *J. Sci. Food Agric.*, 36: 255-261.
- Ruohomaki K., F.S. Chaping, E. Haukioja, S. Neuvonen y J. Suomeka. 1996. Phenolic compounds, ecology and function. *Ecology*, 77: 2302-2311.
- Salawu M.B., T. Acamovic, C.S. Stewart y B. Maasdorp. 1997. Assesment of the nutritive value of *Calliandra calothyrsus* its chemical composition and the influence of tannins, pipercolic acid and polyethyleneglycol on *in vitro* organic matter digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 69: 219-232.
- Schofield P., D.M. Mbugua y A.N. Pell. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 91:21-40.
- Silanikove N., A. Perevolotsky y F.D. Provenza. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 91: 69-81.
- Silanikove N., N. Gilboa, I. Nir, A. Perevolotsky y Z. Nitsan. 1996. Effect of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Quercus calliprinos*, *Pistacia lentiscus*, *Ceratonia siliqua*) by goats. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 199-205.
- Silanikove N., Z. Nitsan y A. Perevolotsky. 1996. Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of

- tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*). J. Agric. Food Chem., 42: 2844-2847.
- Stienezen M., G.C. Waghorn y G.B. Douglas. 1996. Digestibility and effects of condensed tannins on digestion of sulla (*Hedysarum coronarium*) when fed to sheep. N. Z. J. Agric. Res., 39: 215-221.
- Suck J.P., G.L. Sang, C. Sang, Y.L. Boum y J.A. Young. 1997. Larvicidal and antifeeding activities of oriental medicinal plant extracts against four species of forest insect pest. Appl. Entomol. Zool., 32(4): 601-608.
- Sun Y.K., G.J. Jian y K.K. Hee. 2000. Two flavonoids from the leave of *Morus alba* induce differentiation of the human promyelocytic leukaemia (HL-60) cell line. Biol. Pharm. Bull., 23(4): 451-455.
- Terrill T.H., A.M. Rowan, G.B. Douglas y T.N. Barry. 1992. Determination of bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. J. Sci. Food Agric., 58: 321-329.
- Terrill T.H., G.C. Waghorn, D.J. Woolley, W.C. McNabb y N.T. Barry. 1994. Assay and digestion of <sup>14</sup>C-labelled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. Brit. J. Nutr., 72: 467-477.
- Tilley J.M. y R.A. Terry. 1963. A two technique for the *in vitro* digestion for forage crops. J. Brit. Grasslands. Soc., 18: 104-111.
- Waghorn G. C. y I. D. Shelton. 1997. Effects of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. J. Agric. Sci., 128: 365-372.
- Waghorn G.C., I.D. Shelton y W.C. McNabb. 1994. Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. I. \* Non- nitrogenous aspects. J. Agric. Sci., 123: 99-107.
- Wang Y., G.B. Douglas, G.C. Waghorn, T.N. Barry, A.G. Foote y R.W. Purchas. 1996. Effects of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and lucerne (*Medicago sativa*). J. Agric. Sci., 126: 87-93.
- Willimas D.H. y I. Fleming. 1966. Spectroscopy Methods in Organic Chemistry. McGraw-Hill, USA. 2<sup>nd</sup> Ed.
- Willis R.B. y P.R. Allen. 1998. Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. The Analyst, 123: 435-439.

- Yang C.M.J. y J.B. Russell. 1994. Resistance of proline-containing peptides to ruminal degradation *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol., 58: 3954-3958.
- Zinn R. A. y F.N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. Can. J. Anim. Sci., 66: 157-166.

## **Efecto de tres tipos de dieta sobre la aparición de trastornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian**

Robier Hernández\* y Pastor Ponce

### **RESUMEN**

La nutrición de la vaca lechera es considerada como un factor de éxito en las explotaciones ganaderas si es correctamente manejada o como un factor de riesgo si presenta una inadecuada manipulación, lo cual altera el equilibrio fisiológico, incluyendo los mecanismos involucrados en la síntesis y secreción de la leche. Con vistas a establecer de forma experimental la relación entre el déficit de nutrientes en la dieta, la presentación de ciertos trastornos metabólicos y las alteraciones en la composición y características físico-químicas de la leche, se realizó un estudio en condiciones controladas de un rebaño integrado por 30 vacas lecheras Holstein Friesian de mediano potencial. Se conformaron aleatoriamente tres grupos experimentales de 10 animales cada uno. Se aplicaron durante 120 días tres tipos de dieta, una diferente a cada grupo, dos de ellas con déficit en proteína y se registró la producción de leche de los animales bajo cada dieta. También se estudió la composición de la leche y ciertas variables hematoquímicas. Se corroboró que en los grupos sometidos a desbalance en la dieta se produjo una depresión en la producción y en los sólidos de la leche, sobre todo en relación a la proteína láctea lactosa y sólidos no grasos, llegando hasta valores de 2,80; 4,53 y 8,03%, respectivamente, lo cual provoca disminución de la capacidad buferante, estabilidad térmica y en el equilibrio mineral. El deterioro de la condición corporal de los animales y la ocurrencia de trastornos metabólicos, asociado a una menor disponibilidad y calidad del

---

Departamento de Lactación, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Apartado 10, San José de las Lajas. La Habana, Cuba. \*Correo electrónico: robier@censa.edu.cu

Recibido: 29/04/04 Aceptado: 11/10/05

alimento, comprometen las funciones de la glándula mamaria y finalmente la calidad de la leche.

Palabras clave: Vaca lechera, síndrome de leche anormal, alteraciones metabólicas, nutrición.

**Effect of three diet types on the appearance of metabolic dysfunctions and their relationship with alterations in milk composition of Holstein Friesian cows**

**SUMMARY**

The nutrition of the dairy cow is considered as a success factor in the cattle exploitations if it is correctly managed or as a risk factor if it presents an inadequate manipulation, which alters the physiologic balance, including the mechanisms involved in the synthesis and secretion of the milk. To demonstrate the possible relationship among the lack of nutrients in the diet, the presence of some metabolic dysfunctions and the alterations in the composition and physic-chemical characteristics of the milk, an experiment was carried out under controlled conditions on a 30 Holstein Friesian dairy herd of medium potential. There were randomly conformed three experimental groups of 10 animals each one. During 120 days three diet types were applied, one diet to each group, two of them with protein deficit. The milk production and composition was studied and also some hematological variables. It was corroborated that the groups with nutritional unbalance in the diet showed a depression in the milk production and solids, mainly in protein, lactose and non fatty solids, reaching values of 2.80; 4.53, and 8.03%, respectively, which caused a decrease in the buffering capacity, thermal stability and in the mineral balance. The deterioration of the body condition of the animals and the occurrence of metabolic dysfunctions, associated to a nutrition and feed quality, jeopardize the functions of the mammary gland and finally the quality of the milk.

Key words: Dairy cow, abnormal milk syndrome, metabolic disorders, nutrition.

## INTRODUCCIÓN

El análisis de los componentes sanguíneos ha sido la forma más frecuente de conocer e interpretar el estado de salud de la vaca lechera, básicamente en lo referido a su estado metabólico (Álvarez, 1999). Excepto en el caso de la mastitis, que se diagnostica químicamente a través de las alteraciones en la leche, las enfermedades tales como la acidosis metabólica, alcalosis, cetosis, hipocalcemia, hipomagnesemia, trastornos ruminales y otras, se asientan en análisis del perfil metabólico sanguíneo, datos del equilibrio ácido-básico, del líquido ruminal, y biopsias de huesos e hígado.

Aunque son bien conocidos los efectos de diferentes sistemas y tipos de alimentación, raza, época del año, factores fisiológicos y otros, sobre la composición láctea, muy pocos de estos indicadores se utilizan realmente para diagnosticar alteraciones en el estado de salud de la vaca lechera, y en la práctica, solo la determinación de urea en leche se considera un elemento efectivo para evaluar posibles desbalances de energía/proteína en la ración (Wittwer, 2000). Indicadores tales como la concentración de lactosa, minerales, y proteína láctea, se consideran poco variables dentro de una raza con un determinado estado fisiológico, pero en la práctica, no siempre es así.

La alta especialización productiva alcanzada por los rebaños lecheros en los últimos años, genera una mayor demanda de nutrientes, por lo cual, cambios relativamente pequeños en las condiciones óptimas de manejo y alimentación, producen alteraciones sensibles en la salud (González, 2001; Hernández y Ponce, 2003). La explotación de vacas lecheras en ambientes que no se ajustan a su potencial genético, como es el caso de la raza Holstein y otras altamente especializadas bajo condiciones tropicales, se asocia en ocasiones con baja respuesta reproductiva y alteraciones en la producción y composición láctea.

Estrechamente vinculado a dichas alteraciones, se reporta la existencia de Síndromes como el de Malnutrición Energética y/o Proteico (González-Stagnaro *et al.*, 1998) y más recientemente el Síndrome de Leche Anormal, SILA (Ponce y Hernández, 2001; Hernández y Ponce, 2003), en los cuales se presentan situaciones productivas negativas, asociadas a etiologías multifactoriales, donde la nutrición, el potencial genético, la salud y la productividad de los rebaños están estrechamente asociadas. El SILA encierra un conjunto de resultados, por medio de los cuales se establece un enfoque mucho más amplio e integral del estado del conocimiento existente

en el campo de las enfermedades metabólicas de la vaca lechera. El Síndrome de Leche Anormal se caracteriza por depresión de los sólidos de la leche con disminución de la capacidad búfer, estabilidad térmica y en el equilibrio mineral. Estas alteraciones pueden ser clasificadas de acuerdo a indicadores de alarma, cuando los mismos aparecen fuera del umbral de normalidad establecido. Se ha reportado que dicha entidad pudiera estar asociada a causas multifactoriales como la raza, la alimentación, la época del año entre otras (Hernández y Ponce, 2003).

El objetivo del estudio estuvo dirigido a establecer de forma experimental la relación entre el déficit de nutrientes en la dieta, la presentación de ciertos trastornos metabólicos y las alteraciones en las características físico-químicas de la leche en vacas Holstein Friesian descrito como Síndrome de Leche Anormal en las condiciones de Cuba.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en un rebaño integrado por 30 vacas Holstein Friesian de mediano potencial, en ordeño y perteneciente a una lechería en la provincia de La Habana, a las cuales se les aplicó una dieta basada en la caña de azúcar integral molida y bagacillo como principal alimento. Dichos animales fueron ordeñados mecánicamente dos veces al día, en el período comprendido entre los meses de enero y abril (120 días), correspondiéndose con la época de sequía, registrándose para este período una temperatura promedio de 24,5°C, una humedad relativa de 85% y un régimen de precipitaciones de 310 mm.

Se conformaron tres grupos experimentales, donde los animales se seleccionaron al azar en grupos de 10 cada uno. Para ello un grupo recibió un 50% del consumo diario sobre la base de materia seca de caña de azúcar integral molida (*Saccharum officinarum*) y bagacillo, el resto fue cubierto con forraje verde (*Pennisetum sp.*), pastos (*Cynodon mlenfluensis*) sin fertilización y concentrado comercial (Grupo 50%). A este grupo le fue cubierto los requerimientos de mantenimiento y lactación solo para la materia seca, la energía metabolizable (EM) y se le provocó un déficit de proteína digestible en intestino (PDI) del 20%, siendo el aporte neto promedio, de solo de 933,88 g PDI/día. Al segundo grupo se le suministró caña de azúcar integral molida (*Saccharum officinarum*) y bagacillo cubriendo hasta un 80 % del consumo de materia seca de la dieta, siendo el porciento restante

ocupado por forraje verde (*Pennisetum sp.*), pastos (*Cynodon mlenfluensis*) sin fertilización y concentrado comercial (Grupo 80%), al cual se le afectó solamente en un 25% los requerimientos de PDI, el cual fue calculado para 875,51g PDI/día. El tercer grupo permaneció como control, consumiendo una dieta formada por pastos (*Cynodon mlenfluensis*) sin fertilización, forraje (*Pennisetum sp.*), concentrado y premezcla mineral, la cual cubrió en un 100% los requerimientos para mantenimiento y lactación. Para ello se tuvieron en cuenta un peso vivo promedio para los grupos de  $450 \pm 5$  kg, con un nivel de producción promedio de 15 litros diarios y 3,80% de grasa láctea descritos por el NRC (2001).

Para la conformación de los grupos se tuvo en cuenta un similar número y período de la lactancia, así como la uniformidad en la condición corporal (Cuadro 1), y también se tuvo en cuenta que el estado de salud de los animales inicialmente fuera satisfactorio comprobado por el estudio de los parámetros hematoquímicos al inicio del experimento.

Cuadro 1. Comportamiento de los días de lactancia y el número de lactancias de los grupos experimentales

Grupo	Días de lactancia Inicio	Días de lactancia Final	Número de lactancias	Condición corporal inicial (puntuación del 1 al 5)
Control	42,2	163	2,9	3,5
50%	40	160	3	3,0
80%	45,7	167,7	3	3,5

Desde el inicio de la aplicación de la dieta y hasta el momento en que se produjeron cambios en la salud de los grupos experimentales y las variaciones en la composición de la leche, se registró la producción y se tomaron muestras de leche semanalmente en el ordeño de la mañana y la tarde. De igual manera se recolectaron muestras de sangre al inicio y final del experimento para estudiar los principales parámetros hematoquímicos por punción de la vena yugular.

Para la realización de los ensayos planteados en el diseño, en el caso de la leche se realizó la determinación de grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos (SNG), sólidos totales (ST) por método infrarrojo (FIL-141:B,1997),

por medio del MilkoScan 104 A/S Foss Electric, fósforo por colorimetría, calcio y magnesio por espectrofotometría de absorción atómica, caseína por método infrarrojo (FIL-141:B,1997), acidez por titulación con NaOH 0,1N (NC 71, 2001), pH por potenciometría, prueba del alcohol utilizando una concentración de alcohol p.a. al 68%, densidad mediante lactodensímetro de Quevenne (NC 119, 2002), crioscopia utilizando el crioscopio automático Advanced Instruments 4D3 y prueba de ebullición por medio de la cocción directa al mechero.

Los indicadores hematoquímicos estudiados fueron hemoglobina, analizada empleando un contador electrónico de partículas Sysmex Modelo CC - 130. TOA, hematocrito, empleándose el microhematocrito en capilares, según Schalm *et al.* (1984). El pH sanguíneo, bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) y exceso de bases (EBS) se determinaron utilizando el gasómetro ABL 30, Radiometer.

Durante todo este período los animales se mantuvieron bajo las mismas condiciones de manejo. El estudio incluyó una prueba t de Student pareada para comparar principio y final de cada experimento, ejecutándose el análisis de varianza simple para destacar la significación o no existente entre los grupos estudiados, a partir de un diseño completamente al azar, utilizando el paquete estadístico SAS (1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es evidente que el desbalance en la relación proteína y energía de la ración en los grupos 50% y 80%, que se acentúa en este último, provoque serias implicaciones en el desempeño productivo de los mismos, no cumpliendo con la máxima del NRC (2001) de lograr una relación proteína bruta - energía metabolizable de 17,4:1 (g:MJ) para la producción de leche.

La condición corporal que al inicio se comportó muy similar entre los grupos, al final del experimento tuvo variaciones significativas entre el grupo control y los grupos 50 y 80% (2,7 puntos para el grupo control vs. 2,1 y 1,9 puntos, respectivamente.  $P \leq 0,01$ ). La determinación de la condición corporal de la vaca lechera, permite evaluar de forma cuantitativa, el grado de depósito o pérdida de la grasa corporal, en otros términos de sus reservas energéticas. Wittwer (2000) refiere que durante la lactancia temprana la vaca lechera debe oscilar entre 2,5 y 3,0 puntos de condición corporal. Los

resultados indican que en este caso, dicha situación condujo a que los animales al final del experimento en lugar de superar la condición corporal, disminuyeran dramáticamente la misma a niveles que fisiológicamente no le permite lograr una lactación sostenida.

En términos productivos (Cuadro 2), el grupo control no tuvo variación significativa, sin embargo, los grupos 50 y 80% si manifestaron una disminución en la producción de leche. Wittwer (2000) refiere que desde el inicio de la lactación hasta el momento del pico de máxima producción, la condición corporal disminuye de 3,5 a 2,5 o menos puntos. Sobre este particular consideramos que también en rebaños lecheros de mediano potencial y donde los requerimientos nutricionales no son elevados, es posible una disminución apreciable en la producción de leche. Dicho parámetro en vacas con déficit de proteínas en la dieta se reduce significativamente, así como el contenido en SNG y específicamente en proteínas lácteas (Kalscheur *et al.*, 1999). Cuando los aportes de la dieta son deficitarios en nutrientes, estos son distribuidos en la economía animal, de forma tal, que los requerimientos para el mantenimiento, reciben la más alta prioridad, deprimiéndose la producción y la reproducción. (González-Stagnaro *et al.*, 1998).

Martín (1997) demostró que durante la utilización de caña de azúcar sin la adición de urea u otra suplementación, los animales pierden peso, concluyendo que su principal limitante para que el animal consuma elevadas cantidades y sostener una elevada producción de leche, es el bajo contenido de nitrógeno, por lo que de la suplementación de la misma dependen los resultados que se obtengan. El contenido de proteína en la dieta es otro aspecto fundamental al inicio de la lactación. En comparación con la energía, la cantidad de proteína que se puede movilizar de las reservas corporales es limitada (145 g/día). Es por ello que resulta importante lograr el total aporte de los requerimientos en este nutriente, puesto que la dieta constituye la única vía para lograrlo. Sin embargo, una fracción de la proteína cruda de la dieta, debe ser en cierta medida resistente a su degradación en el rumen. De esta manera se logra suministrar un flujo directo de aminoácidos a la glándula mamaria. (Álvarez, 1999).

Cuadro 2. Efectos de la replicación experimental del SILA sobre la producción de leche

Grupo	Inicio†	Final
Control	15,4 ± 0,20 a	15,3 ± 0,24 a
50%	15,7 ± 0,23 a	2,1 ± 0,26 b
80%	15,5 ± 0,25 a	2,4 ± 0,27 b

† Letras diferentes en la misma columna indica diferencia significativa entre medias ( $P < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± e.e.

Con relación a la composición de la leche, se muestran los niveles de proteína láctea y caseína en el Cuadro 3. En el transcurso del experimento, los valores de proteína en leche descendieron significativamente para los grupos 50 y 80%. Durante el cambio de calostro a la leche, el contenido de proteína láctea decae rápidamente, para continuar de esta manera hasta su expresión más baja alrededor de los 70 días post - parto o lo que es igual justo durante el pico de lactancia (Durr *et al.*, 2000). Sin embargo, este comportamiento de los grupos 50 y 80% es un reflejo además del déficit de proteína en la alimentación, que compromete tanto la producción de leche, como el contenido en sólidos de la misma. Los valores de caseínas en leche describen la misma situación que las proteínas en la leche y la relación entre ellas caen drásticamente por debajo del 75% en los casos de los grupos a los cuales se les ajustó la dieta, correspondiendo ambos valores a los establecidos para un cuadro de SILA.

Con nuestros resultados se corrobora lo planteado por Ponce y Hernández (2001) y Hernández y Ponce (2002a), donde la alimentación básica con caña de azúcar en forma de forraje y mieles en más de un 50% del consumo total de materia seca es un factor de consideración en la presentación de tales alteraciones. Dichos autores al analizar una situación presentada años anteriores en rebaños altamente especializados y en la época de seca, donde el consumo de caña y sus derivados fue mayor al 50% sobre la base de materia seca, reportaron valores normales para el caso de la grasa (3,53%); sin embargo, la proteína manifestó depresión (2,87%) y se presentó una relación proteína bruta - caseína por debajo del 75%, lo cual se corresponde con nuestros resultados.

g/cm<sup>3</sup> y de acidez menor de 0,13 g% de ácido láctico (Hernández y Ponce, 2002a). En igual sentido diversos autores refieren diferencias apreciables entre las épocas de seca/lluvia para ambos indicadores, con una mayor frecuencia de valores anormalmente deprimidos durante el período seco (Ponce y Hernández, 2001). En el caso de la prueba de ebullición y la prueba del alcohol, ambas transitan de la negatividad al francamente positivo en los grupos tratados. La positividad tanto a la prueba del alcohol como a la de ebullición se asocia al bajo contenido de caseinatos y grupos fosfatos, los cuales mantienen una adecuada capacidad buferante cuando se encuentran en niveles normales en la leche. Esto coincide con lo reportado por Barros (2001) y Hernández y Ponce (2002a).

En nuestro caso al existir un pH elevado en la leche y estar disminuidas las concentraciones del calcio, se presenta entonces una disminución en la concentración de citrato en su forma soluble. Esta situación queda demostrada en nuestro experimento, pues resulta de esta manera imposible hallar niveles fisiológicos de este ión, bajo las condiciones desfavorables que presenta el metabolismo del animal y de la glándula mamaria. Negri *et al.* (2001) refieren que encontraron una mayor influencia de problemas de estabilidad térmica de la leche producida en invierno y asociaron este efecto a una menor concentración de ácido cítrico debido a una menor utilización de los pastos. La permeabilidad de la membrana mitocondrial para algunos aniones (malato, citrato, aspartato, glutamato) en detrimento de otros, puede variar en diversos grados sobre el control del metabolismo celular. Una función de la mitocondria es la de suministrar átomos de carbono para la síntesis de aminoácidos no esenciales, en forma de citrato por ejemplo (Hurley, 2000). Al disminuir la concentración de dicho ión, el mecanismo de síntesis de aminoácidos no esenciales se afecta y como consecuencia la síntesis de lactosa y de proteína láctea. Además el calcio y el citrato normalmente forman un complejo soluble muy estable en la leche cuando el pH de la leche es menor de 6,7 y existe una alta concentración del ión calcio (Negri *et al.*, 2001).

En cuanto al estudio de los minerales (Cuadro 7), podemos apreciar que en el caso del fósforo y el magnesio resultan significativamente diferentes en ambos grupos tratados y para el calcio es evidente un comportamiento similar de los grupos tratados con relación al control. El grupo control se mantiene sin cambios apreciables para estos minerales.

Cuadro 3. Comportamiento de la proteína bruta y la caseína durante el experimento

Grupo	Proteína		Caseína	
	Inicio†	Final	Inicio	Final
	----- % -----			
Control	3,06 ± 0,010a	3,01 ± 0,014a	2,41 ± 0,010a	2,31 ± 0,011a
50%	3,08 ± 0,013a	2,82 ± 0,008b	2,40 ± 0,015a	2,11 ± 0,013b
80%	3,03 ± 0,009a	2,80 ± 0,011b	2,37 ± 0,012a	2,04 ± 0,014b

† Letras diferentes en la misma columna indica diferencia significativa entre medias ( $P < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± e.e.

Hernández y Ponce (2002b) y Hernández y Ponce (2003) refieren que la alimentación de la vaca lechera es el principal factor, en Cuba, que ha incidido en las bajas concentraciones de sólidos de la leche, y dentro de ello, el insuficiente contenido de proteína verdadera que se suministra en la ración. Sobre este particular, se manifiestan concentraciones medias deprimidas para el caso de la proteína láctea, con relación a lo que se establece como valor mínimo. Dichos autores plantean que existen evidencias de bajos porcentajes de caseína y siendo mucho más distante la estrecha relación que debe existir entre esta y la proteína láctea total, con afectación en la fabricación de derivados como el queso.

El contenido de lactosa estuvo por debajo de 4,60%, establecido como criterio de manifestación del SILA para el caso de los grupos tratados, con diferencias significativas frente al control (Cuadro 4). La grasa láctea manifiesta un comportamiento similar para todos los grupos y también así para la raza.

Cuadro 4. Concentraciones de grasa y lactosa durante el desarrollo del experimento.

Grupo	Grasa		Lactosa	
	Inicio†	Final	Inicio	Final
	----- % -----			
Control	3,58 ± 0,017a	3,42 ± 0,019a	4,67 ± 0,009a	4,62 ± 0,010a
50 %	3,61 ± 0,020a	3,36 ± 0,016a	4,64 ± 0,011a	4,53 ± 0,008b
80 %	3,64 ± 0,015a	3,35 ± 0,018a	4,69 ± 0,006a	4,56 ± 0,009b

† Letras diferentes en la misma columna indica diferencia significativa entre medias ( $P < 0,01$ ). Los valores se expresan como media ± e.e.

Como se puede apreciar las propiedades físico – químicas al inicio del experimento se encuentran fluctuando por encima de los límites mínimos permisibles para la leche cruda establecidos en Cuba. Sin embargo, al instaurarse el síndrome en los animales pertenecientes a los grupos tratados, se presentan diferencias significativas con relación al grupo control (Cuadros 5 y 6). Igualmente sucede con los niveles de densidad y el punto crioscópico.

Cuadro 5. Resultados de las propiedades físico-químicas de la leche al inicio del estudio

Propiedad	Grupo		
	Control†	50%	80%
Acidez, g%	0,145±0,006a	0,14±0,004a	0,1375±0,009a
Densidad, g/cm <sup>3</sup>	1,0295±0,0002a	1,030±0,0001a	1,0295±0,0002a
P. Alcohol 68 %	Negativa	Negativa	Negativa
P. Ebullición	Negativa	Negativa	Negativa
Punto crioscópico, m°C	517±0,029a	519±0,023a	518±0,025a

† Letras diferentes en la misma fila indica diferencia significativa entre medias (P<0,05). Los valores se expresan como media ± e.e.

Cuadro 6. Resultados de las propiedades físico-químicas de la leche en la fase final del experimento

Propiedad	Grupo		
	Control†	50%	80%
Acidez, g%	0,135 ± 0,006a	0,120 ± 0,007a	0,118 ± 0,005b
Densidad, g/cm <sup>3</sup>	1,029 ± 0,0004a	1,029 ± 0,0001ab	1,028 ± 0,0002b
P. Alcohol 68%	Negativa	Positiva	Positiva
P. Ebullición	Negativa	Negativa	Negativa
Punto crioscópico, m°C	519 ± 0,024a	510 ± 0,021b	511 ± 0,027b

† Letras diferentes en la misma fila indica diferencia significativa entre medias (P<0,05). Los valores se expresan como media ± e.e.

Dicha modificación significativa en los grupos 50 y 80% se ajusta a los rangos de alteración y a los criterios establecidos previamente, confirmando la existencia de un cuadro de cambios en las propiedades físico-químicas de la leche. A los efectos del SILA, las alteraciones en estas variables constan de varios aspectos. Consideramos que la disminución de la densidad de la leche es un reflejo directo de la disminución que presentan los componentes lácteos, sobre todo la proteína y los sólidos no grasos. En el caso de la caracterización de la acidez titulable y la densidad, se han reportado un alto porcentaje de valores de densidad por debajo de 1,029

Cuadro 7. Concentración de los minerales en leche (mg%) durante el estudio

Grupo	Fósforo†		Calcio		Magnesio	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
Control	94,5±0,30a	92,5±0,32a	114,2±0,42a	113,7±0,47a	9,89±0,05a	9,19±0,04a
50%	97,4±0,37a	79,4±0,33b	117,5±0,44a	101,1±0,43b	9,72±0,07a	8,24±0,08b
80%	96,8±0,42a	76,6±0,35b	115,3±0,48a	95,5±0,40b	9,77±0,06a	8,26±0,09b

† Letras diferentes en la misma columna indica diferencia significativa entre medias ( $P \leq 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  e.e.

En los casos donde fue ajustada la dieta, los niveles de este macroelemento (fósforo) se encuentran por debajo de 80 mg%. Consideramos conveniente resaltar que la dieta a la cual se sometieron los grupos tratados era deficitaria en fósforo. Fisiológicamente su disponibilidad es baja, lo que conduce a que también lo sea a nivel de la glándula mamaria. Ello hace que disminuya la concentración de calcio y fósforo solubles en la misma conllevando a una disminución proporcional del fosfato cálcico miscelar (Negri *et al.*, 2001). Esto se traduce en una disminución de la síntesis de caseína, existiendo evidencias objetivas con el comportamiento mostrado por la misma. También se encuentran deprimidos los niveles de calcio y magnesio. La relación inversa reportada por Hernández y Ponce (2002a) entre el magnesio en leche y los rendimientos productivos esta directamente relacionada con el papel que juega este mineral en la mayor parte de los complejos enzimáticos, especialmente en la síntesis y secreción láctea. González (2001) refiere que la vaca lechera depende de adecuadas concentraciones de fósforo en su organismo. En primer lugar resulta necesario en el rumen para la actividad normal de la microflora y por tanto lograr con ello una digestión adecuada. Las deficiencias de fósforo no tienen efectos inmediatos como en el caso del calcio, pero a largo plazo puede causar una osteoporosis progresiva, infertilidad y disminución de la producción de leche. Generalmente los rebaños alimentados a base de pastos y forrajes tienen más disponibilidad de calcio, que de fósforo, aconteciendo una deficiencia relativa en fósforo.

Las vacas altas productoras que superen los 30 kg de leche producida por día pierden por esta vía cerca de 36 g de calcio, esto es más de 4 veces las cantidades del calcio sanguíneo. Álvarez (1999) y González (2001), en estudios recientes, encontraron que entre los principales factores

que afectan la absorción de calcio en el intestino está la deficiencia de proteína en la dieta. En nuestro caso este factor es decisivo en la disminución de los niveles de este elemento en la leche, siendo progresivo este proceso durante el experimento.

Spears (1999) define que entre los macroelementos, el magnesio es un cofactor de más de 300 enzimas del organismo animal, además de ser un constituyente fundamental de los huesos y de la actividad neuro-muscular. Sobre este mineral no existe un control homeostático específico, por tanto su concentración sanguínea es un reflejo directo de su aporte en la dieta. En nuestro caso existe una disminución progresiva del mismo en el estudio realizado, desde el inicio hasta su culminación, lo cual está muy relacionado con la disminución de la producción de leche en las vacas. Debemos resaltar el hecho de que estos componentes son muy estables y no existen reportes de su alteración en la leche, por lo que podemos reafirmar el criterio de la existencia de desequilibrio mineral como una expresión del metabolismo animal y con su efecto directo sobre la glándula mamaria.

El estudio de algunos indicadores hematológicos y del equilibrio ácido - básico al inicio del experimento demuestran que los animales se encontraban con una adecuada homeostasis (Cuadro 8).

Cuadro 8. Indicadores hematológicos y del equilibrio ácido-básico al inicio del experimento

Indicador	Rango	Grupo		
		Control†	50%	80%
Hemoglobina, g/l	80-150	86,6±0,05a	86,6±0,09a	86,8±0,06a
pH sanguíneo	7,35-7,50	7,36±0,04a	7,39±0,05a	7,35±0,03a
EBS, Mmol/l	-2,5 - 2,5	1,85±0,12a	2,3±0,11a	1,13±0,14a
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Mmol/l	24-30	26,7±0,09a	26,9±0,10a	26,1±0,08a

† Letras diferentes en la misma fila indica diferencia significativa entre medias ( $P < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  e.e

Sin embargo, en el momento de la aparición del SILA indica que los animales en estudio presentaron anemia y que el 100% de ellos mostraba una franca acidosis metabólica, puesto que los niveles de pH sanguíneo estaban muy por debajo del límite mínimo y en igual medida se encontraban el resto de los indicadores estudiados (Cuadro 9). El deterioro físico y de salud

observado con frecuencia en rebaños lecheros especializados al finalizar la época de seca en concordancia con las limitaciones en la calidad y cantidad de alimentos disponibles ha sido acompañado por un alto nivel de anemia y alteraciones de la homeostasis de los animales (Hernández y Ponce (2002a). Estudios del metabolismo indicaron la existencia de acidosis vinculadas con alteraciones ruminales en aquellos animales que tuvieron un inadecuado balance alimentario.

Cuadro 9. Indicadores hematológicos y del equilibrio ácido-básico en la fase final del estudio

Indicador	Grupo			
	Rango	Control†	50%	80%
Hemoglobina, g/l	80-150	86,6±0,06a	74,6±0,09b	72,4±0,08b
pH sanguíneo	7,35-7,50	7,36±0,02a	7,31±0,05b	7,30±0,03b
EBS, Mmol/l	-2,5 - 2,5	1,85±0,10a	-2,60±0,09b	-2,75±0,14b
HCO <sub>3</sub> , Mmol/l	24-30	26,7±0,07a	23,7±0,09b	23,1±0,06b

† Valores con letras desiguales por filas difieren significativamente ( $P \leq 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  e.e.

La suplementación con alimentos ricos en carbohidratos de fácil digestión, donde los mismos constituyen más del 50% del consumo diario, determina una marcada proliferación de microorganismos amilolíticos, lo que lleva a una elevada producción de lactato ruminal y cuando esta situación perdura se produce un brusco descenso del pH y la reducción dramática de grandes sectores de la flora ruminal, comprometiendo el fisiologismo animal, lo que hace aparecer un cuadro de acidosis metabólica (González, 2001; Hernández y Ponce, 2002a; Barros, 2001; Ponce y Hernández, 2001). Sin embargo, este comportamiento no se ajusta exactamente a los clásicos cuadros de acidosis metabólica producido por exceso en la generación de ácido láctico a nivel ruminal y sí a un desbalance generalizado del control metabólico provocado por la dieta utilizada en el modelo experimental.

## CONCLUSIONES

Se concluye que existe una estrecha relación entre los desbalances nutricionales y los estados de subalimentación de los animales estudiados, con la aparición de ciertas alteraciones metabólicas y del Síndrome de Leche Anormal. Este último Síndrome presenta alteraciones múltiples en la

composición láctea y en sus características físico-químicas, siendo altamente relevante notar que en términos de alteraciones en la leche, este problema no se ajusta a ninguno de los cuadros clásicos de los más comunes trastornos metabólicos de la vaca lechera. Situaciones de este tipo deben tener un tratamiento especial y un enfoque más integral, que abarque los estudios de la leche, raza y alimentación, manejo y época del año, así como los posibles trastornos del metabolismo en general y de la glándula mamaria en particular.

### BIBLIOGRAFÍA

- Alonso R. y A. Senra. 1992. Sistema de producción con vacas lecheras en condiciones de secano con forraje de caña de azúcar entera en el período seco. Producción y composición de la leche y comportamiento del peso vivo. *Rev. Cubana Cienc. Agric.*, 26: 125-132.
- Álvarez J.L. 1999. Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico. Ediciones CENSA, La Habana, Cuba.
- Aranda E., G. Mendoza, C. García – Bojalil y F. Castrejón. 2001. Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and protein supplement. *Livestock Prod. Sci.*, 71: 201 – 206.
- Barros L. 2001. Trastornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. *En Uso do leite para monitorar a nutricao e o metabolismo de vacas leiteiras. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.* pp. 44-57.
- Durr W., S. Fontaneli y F. Burchard. 2000. Fatores que afetam a composicao do leite. Curso de sistemas de producao para gado de leite baseado em pastagens sob plantio direto. Passo Fundo. *Anais EMBRAPA – Trigo.*
- FIL 141 B. 1997. Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content. Guide for the operation of mid-infra-red instruments. Bruselas, Belgica.
- González F. 2001. Composicao bioquimica do leite e hormônios da lactacao. *En Uso do leite para monitorar a nutricao e o metabolismo de vacas leiteiras. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.* pp. 5-21.

- González-Stagnaro C., N. Madrid-Bury y E. Soto Beloso. 1998. Mejora de la ganadería mestiza de doble propósito. Facultad de Ciencias Veterinarias. Ediciones Universidad del Zulia, Venezuela.
- Hernández R. y P. Ponce. 2002a. Replicación del síndrome de leche anormal en condiciones experimentales. EXOPOL. Disponible on line: [www.exopol.com/general/circulares/142.html](http://www.exopol.com/general/circulares/142.html)
- Hernández R. y P. Ponce. 2002b. Estudio de la composición de la leche en las condiciones actuales del trópico en Cuba. *Rev. Salud Anim.*, 24(2): 111-114.
- Hernández R. y P. Ponce. 2003. Caracterización de la composición láctea en Cuba y factores asociados a su variación. *Revista Electrónica de Vet.*, 4(11): [www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111103.html](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111103.html)
- Hurley W. 2000. *Lactation Biology*. Illinois University Press. Urbana. USA.
- Kalscheur K., J. Vandersall, R. Erdman, R. Kohn y E. Russek-Cohen. 1999. Effects of dietary crude protein concentration and degradability on milk production. Responses of early, mid, and late lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 82:545-554.
- Martín P. 1997. Forraje de caña en la alimentación del ganado vacuno. *Rev. Cubana Cienc. Agric.*, 31:237-247.
- NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academy of Sciences. 6<sup>ta</sup> Ed. Washington, DC. USA.
- NC 71. 2001. Leche. Determinación de acidez. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- NC 119. 2002. Leche. Determinación de la densidad. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- Negri L., M. Taverna y M. Chávez. 2001. Factores que afectan la estabilidad térmica de la leche. *Industria Lechera*. 726: 8-19.
- Ponce P. y R. Hernández. 2001. Propriedades físico – químicas do leite e sua associacao com transtronos metabólicos e alteracoes na glandula mamária. *Em: Uso do leite para monitorar a nutricao e o metabolismo de vacas leiteiras*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. pp. 58-68.
- SAS (Statistical Analysis System). 1998. *SAS User's Guide: Statistics, Version 8.2*. SAS Institute Inc, Cary, NC.

- Schalm O.W., N. Jain y E.J. Carroll. 1984. *Veterinary Hematology*. Lea & Febiger. Philadelphia, USA.
- Spears J. 1999. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals. Review. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, 12, 1002-1008.
- Wittwer F. 2000. Diagnóstico dos equilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. *En* Gonzales F.H., J.O. Barcellos, H. Ospina y L.A. Ribeiro (Eds) *Perfil metabólico em ruminantes: Seu uso em nutricao e doencas nuricionais*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. pp. 53-62.

## Evaluación de la suplementación proteica durante el crecimiento post destete de corderos a pastoreo

Héctor Rojas\*, Luis Coronado y Ernesto Hurtado

### RESUMEN

Con el fin de evaluar diferentes fuentes proteicas durante el periodo de crecimiento de corderos mestizos (West African x Bergamasca), de aproximadamente 90 días de nacido en etapa postdestete con un promedio de peso de 13 kg, en pastoreo de *Brachiaria humidicola*. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo de tratamientos factoriales (2x3) siendo los factores: sexo (machos y hembras) y dieta ( $D_A = 220$  g de follaje de matarratón + 75 g de yuca + 5 g de mineral comercial;  $D_B = 220$  g de yacija de codorniz + 75 g de yuca + 5 g de mineral comercial y  $D_C = 300$  g de alimento concentrado comercial), con un total de seis animales por tratamiento. Las variables medidas fueron: consumo de alimento, ganancia de peso y características zoométricas (longitud dorsal, alzada a la cruz y perímetro torácico). Se realizó un análisis de varianza por el método de los mínimos cuadrados. Los resultados arrojaron que la interacción dieta x sexo influyó en el consumo de alimento ( $P < 0,01$ ) y la ganancia de peso ( $P < 0,05$ ), siendo el mayor consumo y ganancia de peso para los corderos sometidos a la  $D_C$ . Las características zoométricas se vieron afectadas por el sexo en su longitud dorsal y perímetro torácico, siendo los machos de mayor tamaño. Se concluyó que el alimento comercial es superior a la suplementación proteica con materias primas.

Palabras clave: consumo de alimento, cordero, crecimiento, ganancia de peso.

---

\* Universidad de Oriente. Escuela de Zootecnia, Campus Los Guaritos. Maturín, estado Monagas. Venezuela. \*Correo-E: hmrt1978@cantv.net

Recibido: 14/01/05 Aceptado: 07/10/05

## Evaluation of protein supplementation during post weaning growth in grazing lambs

### SUMMARY

An experiment was carried out to evaluate different protein sources during the growth period of crossbred lambs (West African x Bergamasca), of approximately 90 days old in post weaning stage with an average weight of 13 kg, grazing *Brachiaria humidicola* grass. It was used a factorial arrangement of treatments (2x3) on a complete random design; being the factors sex (males and females) and three diets ( $D_A = 220$  g foliage of matarratón + 75 g mandioca;  $D_B = 220$  g quail grave + 75 g mandioca, and  $D_C = 300$  g concentrated commercial food), with six animals by treatment. Dependent variables measured were: Food consumption, weight gain, and zoometric characteristics (dorsal length, height to the cross, and thorax perimeter). An analysis of variance was performed by least squares method. The results indicated that the interaction diet by sex influenced the food consumption ( $P < 0.01$ ) and weight gain ( $P < 0.05$ ), being the highest consumption and weight gain for lambs in the  $D_C$  treatment. The zoometric characteristics dorsal length and thorax perimeter were affected by the sex, being the males with larger size. It was concluded that the commercial concentrate food was superior to the protein supplementation with raw materials.

Key words: feed consumption, lamb, growth, weight gain.

### INTRODUCCIÓN

La cría de ovinos en Venezuela se caracteriza por explotaciones extensivas con razas de pelo de actitud cárnica, donde dominan los pastizales nativos sometidos a variaciones pluviométricas que se traducen en deficiencias de la disponibilidad y calidad de los forrajes durante el año, originando una disminución en la eficiencia de producción de los rebaños.

En la actualidad el incremento de precios de los insumos de producción y las limitaciones impuestas por los déficit proteicos y energéticos en las explotaciones con rumiantes, hace necesario implementar

estrategias que contribuyan a subsanar la situación con insumos, preferiblemente locales, de menores costos y que puedan ofrecer la oportunidad a la rentabilidad del negocio.

La suplementación convencional con concentrado es costosa y no es accesible a muchas explotaciones. Sin embargo, el suministro del follaje de leguminosas arbóreas para pequeños rumiantes tiene gran potencial como fuente proteica de alta calidad y de manera permanente. En este sentido, el matarratón (*Gliricidia sepium* Jacq) ofrece muy buenas perspectivas para ajustarse a las condiciones agroclimáticas de la región y ser aceptada por los ovinos y caprinos.

Otra alternativa suplementaria son las excretas o yacija de aves, subproducto de la industria avícola, con alto contenido de nitrógeno no proteico y minerales cuya utilización en la alimentación de los rumiantes ha sido tradicional por la estrategia digestiva de estos animales. Además, la fuente energética más abundante en la zona son los residuales de la yuca amarga (*Manihot esculenta*) no utilizable por la industria casabera y las procesadoras industriales. El objetivo de esta investigación fue evaluar la suplementación proteica durante el crecimiento post destete de corderos a pastoreo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se efectuó en el Centro de Fomento y Producción de Ovinos y Caprinos (Cefoproca), de la Universidad de Oriente, municipio Libertador, estado Monagas.

Durante 90 días se utilizaron 36 corderos mestizos (18 machos; 18 hembras) de las razas West African x Bergamasca de 90 días de nacido, con peso vivo de  $13 \pm 0,5$  kg aproximadamente, se distribuyeron en seis grupos (tres machos y tres hembras) de seis animales cada uno, para el consumo de las siguientes dietas:

D<sub>A</sub>: 220 g matarratón + 75 g yuca + 5 g mineral comercial;

D<sub>B</sub>: 220 g yacija de codorniz + 75 g yuca + 5 g mineral comercial;

D<sub>C</sub>: 300 g alimento concentrado comercial.

Las materias primas de las distintas dietas fueron analizadas bromatológicamente (Cuadro 1) para su ajuste de acuerdo a las necesidades nutricionales (NRC, 1997).

Los animales permanecieron en potreros durante ocho horas diarias, consumiendo pasto aguja (*Brachiaria humidicola*) y las distintas dietas por sexo se colocaron en los comederos, durante período de dos horas en la mañana antes del pastoreo y dos horas en la tarde post - pastoreo en corrales de engorde. Previo a ello tuvieron un período de acostumbramiento de 15 días.

Cuadro 1. Valor nutricional de los componentes de las dietas suplementarias y del alimento base

Componentes (%)	Matarratón	Yacija de Codorniz	Harina de Yuca	Alimento concentrado	<i>Brachiaria humidicola</i>
Materia Seca	78,92	87,56	83,05	87,87	90,75
Materia Orgánica	70,82	56,26	76,09	77,48	83,28
Cenizas	8,10	31,30	6,97	10,39	7,67
Proteína Cruda	18,45	27,55	3,46	15,75	7,00
Fibra Cruda	16,46	7,29	2,89	9,51	29,69
Extracto Etéreo	2,00	0,82	0,67	6,39	2,89
Extracto Libre de Nitrógeno	54,99	33,04	86,01	57,96	52,75
Digestibilidad					
Materia Orgánica	46,83	63,98	75,96	85,08	55,45
Nutrientes					
Digestibles Totales	33,18	36,01	57,80	65,99	46,22

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con un arreglo de tratamiento factorial completo (3 x 2), con seis repeticiones, siendo los factores bajo estudio: las dietas (A, B y C) y sexo (macho y hembra). Se midió consumo diario de alimento, consumo total y ganancia de peso por grupo. Además las características zoométricas (alzada a la cruz, longitud dorsal y perímetro torácico). El modelo lineal aditivo con efectos fijos fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + bZ_{ijk} + E_{ijk}$$

donde:

$Y_{ijk}$ : Valor observado en la unidad experimental  $k$  de la dieta  $i$  y del sexo  $j$

$\mu$ : Media general

$\alpha_i$ : Efecto de la dieta  $i$  ( $i = 1, \dots, 3$ )

$\beta_j$ : Efecto del sexo  $j$  ( $j = 1, \dots, 2$ )

$(\alpha\beta)_{ij}$ : Efecto interacción de dieta  $i$  con el sexo  $j$

$b$ : Coeficiente de regresión

$Z_{ijk}$ : Covariable peso inicial de la unidad experimental  $k$  ( $k = 1, \dots, 36$ ), de la dieta  $i$  y sexo  $j$

$\varepsilon_{ijk}$ : efecto aleatorio de la observación  $k$ , tipo de dieta  $i$  y sexo  $j$  con medias cero y varianza común.

Se aplicó análisis de varianza utilizando un procedimiento de GLM del paquete estadístico SAS (1998) y los promedios se compararon con la prueba de mínima diferencia significativa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se presentan los consumos por animal/día de las dietas utilizadas como suplemento para el crecimiento postdestete de corderos, los cuales arrojaron diferencias significativas para el efecto sexo. Se observa que el promedio de la dieta C (300 g/animal/día) fue consumida en su totalidad desde el inicio del experimento en comparación con las dietas A y B. En las dietas A y B, el consumo se incrementó en el transcurso del experimento, pero no fue consumida en su totalidad esto posiblemente a la baja palatabilidad de estas materias primas.

Cuadro 2. Efecto de las dietas sobre el comportamiento productivo de corderos de ambos sexos

Variables	Sexo	Dietas†		
		A	B	C
Consumo (g/animal/día)	Hembra	277,25	279,00	300,00
	Macho	287,00	271,67	300,00
Ganancia diaria de peso (g/animal/día)	Hembra	35,33	36,00	66,44
	Macho	32,67	36,22	86,44

†A: matarratón, yuca y mineral comercial. B: yacija de codorniz, yuca y mineral comercial. C: alimento concentrado comercial.

De manera general, los valores de consumo fueron superiores a los reportados por Díaz *et al.* (1995), cuando alimentando corderos postdestete de 11.2 kg con follaje de pachecoa (*Pachecoa venezuelensis*) y matarratón como sustitutos del suplemento convencional pulitura de arroz obtuvieron un consumo promedio de 211 g/animal/día. Sin embargo, Clavero *et al.* (1995) no encontraron diferencias significativas cuando sustituyeron al concentrado por hojas de matarratón.

Estos resultados permiten señalar que las dietas que tenían yacija y matarratón no fueron consumidas en su totalidad, posiblemente como consecuencia del corto período de acostumbramiento y quizás aunado a la gran variabilidad de las condiciones climáticas que hacen diferente la oferta de forraje. Esto corrobora lo señalado por Quittet (1978) referente a la sensibilidad de estos animales a las condiciones del medio ambiente en comparación con los otros rumiantes domésticos.

Con respecto a la ganancia de peso (Cuadro 2), se observó un mayor incremento de peso para la dieta C en ambos sexos ( $P < 0,05$ ), siendo la menor para la dieta A en los machos. Estos resultados ponen de manifiesto el mejor balance nutricional presente en la dieta C, mientras que las dietas A y B tuvieron un comportamiento similar ( $P > 0,05$ ). Se observa que el sexo en cada dieta no afectó la ganancia de peso en estos animales, posiblemente debido a la edad fisiológica de estos. Sin embargo, estos resultados son contrarios a los reportados por Zambrano (1997), quien señaló una superioridad del 7,9% en los machos para la ganancia de peso desde el nacimiento hasta los seis meses.

Los resultados de ganancia de peso de este ensayo son semejantes a los reportados por Maita (1997), alimentando cabritos durante el crecimiento, con follaje seco de matarratón y diferentes fuentes energéticas obteniendo ganancias de peso entre 35,26 y 61,91 g/animal/día.

A pesar de que el manejo fue igual para todos los animales, existen factores ambientales que no se pueden controlar y que pudieron afectar el estado fisiológico del animal. Esto se corrobora por el acceso al potrero de los animales producto de las inundaciones que imposibilitaron el pastoreo y que posiblemente ocasionaron una disminución en la ganancia de peso como se ve reflejado en la dieta A y B. La literatura reporta que la tasa de crecimiento es afectada por las condiciones climáticas y por el consumo de

nutrientes que a veces es influenciada por la disponibilidad, digestibilidad y aceptabilidad del forraje (Combellas *et al.*, 1995).

En el Cuadro 3 se muestran las características zoométricas. Se observó para longitud dorsal y perímetro torácico diferencias significativas entre las dietas suministradas, siendo los animales que consumieron la dieta C los que presentaron mayor conformación, con promedios mayores para los machos. Las mediciones de alzada a la cruz no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, los machos presentaron mayor condición corporal ( $P > 0,05$ ).

Estos resultados son semejantes a los reportados por Maita (1997) que alimentó cabritos con follaje seco de *Gliricidia sepium* y diferentes fuentes energéticas como suplemento del pastoreo; e inferiores a los señalados por Malaver (1997), quien alimentó borregos a pastoreo con follaje de quinchoncho (*Cajanus cajan*) y harina integral de yuca como suplemento.

Cuadro 3. Efecto de las dietas sobre las características zoométricas de corderos de ambos sexos

Características zoométricas	Sexo	Dietas†		
		A‡	B	C
Longitud dorsal (cm)	Hembra	6.71b	6.47b	9.58a
	Macho	7.60b	6.23b	10.22a
Alzada a la cruz (cm)	Hembra	4.89a	4.87a	5.92a
	Macho	5.52a	3.72a	6.38a
Perímetro torácico (cm)	Hembra	4.40b	4.43b	6.93a
	Macho	3.06b	4.29b	9.86a

† Dietas igual que en Cuadro 2.

‡ Letras diferentes en la misma fila y columna denotan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

Los resultados evidencian un mayor consumo y ganancia de peso para los corderos que se alimentaron con la dieta C (alimento concentrado), mientras que la condición corporal estuvo marcada por su longitud dorsal que fue donde se mostró un mayor desarrollo. Además de esto también incrementaron considerablemente el perímetro torácico con respecto a las otras dietas suplementarias.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Clavero T., M. Bolívar, R. Razz, O. Araujo y A. Rodríguez. 1995. Sustitución de concentrado por hojas de *Gliricidia sepium* y su efecto sobre el consumo y balance de nitrógeno en ovinos. Rev. Fac. Agron. LUZ, 13(4): 381-385.
- Combellas J., J. Osea y J. Rojas. 1995. Efecto de la suplementación con follaje de gliricidia y harina de pescado sobre la ganancia de peso de corderos recibiendo una dieta basal de pasto de corte. I Congreso Nacional de Ovinos y Caprinos. UCLA. Lara. Venezuela. pp.2.
- Díaz Y., A. Escobar y J. Viera. 1995. Efecto de la sustitución parcial del suplemento convencional por follaje de pachecoa (*Pachecoa venezuelensis*) o gliricidia (*Gliricidia sepium*) en la alimentación de corderos post destete. Livestock Res. Rural Dev., 7(1): [//www.cipav.org.co/lrrd/lrrd7/1/2.htm](http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd7/1/2.htm)
- Maita M. 1997. Comportamiento de cabritos alimentados con follaje seco de *Gliricidia sepium* y diferentes fuentes energéticas como suplemento del pastoreo. Trabajo de Grado. Universidad de Oriente. Escuela de Zootecnia. Maturín, Venezuela. 45p.
- Malaver A. 1997. Evaluación del crecimiento de borregos a pastoreo suplementadas con follaje de quinchoncho (*Cajanus cajan*) y harina integral de yuca (*Manihot esculenta*, Crantz). Trabajo de Grado. Universidad de Oriente. Monagas, Venezuela. 57p.
- NRC (National Research Council). 1977. Nutrient Requirements of Domestic Animals. N° 9. 2<sup>da</sup> Ed. National Academy Sciences, NRC. Washington, D.C. p. 14
- Quittet E. 1978. La Cabra. Guía Práctica del Ganadero. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 321p.
- SAS (Statistical Analysis System). 1998. User's guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC.
- Zambrano C. 1997. Crecimiento postdestete en corderos West African. Arch. Latin. Prod. Anim., 5(1):445-447.

## Efeito do hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona nos índices somáticos de *Rana catesbeiana*

Rodrigo Diana Navarro, Oswaldo Pinto Ribeiro Filho\*, George Shigueki Yasui, Elayna Cristina da Silva Maciel e Luiz Carlos Santos

### RESUMO

Objetivou-se por meio deste trabalho avaliar o efeito do andrógeno 17- $\alpha$ -testosterona nos índices morfométricos de rãs-touro. Foram utilizados 120 animais com biomassa final de  $42,05 \pm 0,528$  g e estes foram alimentados *ad libitum* com ração comercial contendo 44 % de PB o qual foi incorporado o andrógeno em diferentes concentrações T1-0mg/kg, T2-20mg/kg, T3-40mg/kg, T4-60mg/kg. O índice hepatossomático foi calculado pela fórmula  $IHS = Wf/WT$ , onde Wf= peso do fígado e Wt = peso total e o índice lipossomáticos  $ILS=WL/Wt$ , onde WL= gordura celomática. Observou que não houve efeito do hormônio nos índices hepatossomático e lipossomático.

Palavras-chave: Rã touro; hormônios; ranicultura; desempenho.

### Effect of 17- $\alpha$ -methyl-testosterone hormone on the somatic index of *Rana catesbeiana*

#### SUMMARY

The aim of this article was to evaluate the effects of 17- $\alpha$ -methyl-testosterone on some morphometric indexes in bullfrog (*Rana catesbeiana*). For that purpose, 120 animals with an initial weight of  $42.052 \pm 0.528$  g were distributed in four 1,54m<sup>2</sup> confinements, and fed "ad libitum" with rations

---

Depto. de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, Brasil. \*E-mail: oribeiro@ufv.br

Recibido: 12/08/04 Aceptado: 13/09/05

containing 44% of crude protein and incorporated with different concentration of the androgen: 0, 20, 40, and 60 mg/kg, respectively. The hepato-somatic index was calculated using the relation  $HSI = Wf/Wt$ , where  $Wf$  was liver weight and  $Wt$  was total weight, and the lipo-somatic index was calculated by the expression  $LSI = WL/Wt$ , where  $WL$  was visceral fat. It was observed that the hormone did not have any effect in the hepatossomático and lipossomático indexes.

Key words: Bullfrog, hormones, morphometric index, frog culture, performance.

## INTRODUÇÃO

A rã-touro apresenta características zootécnicas desejáveis ou favoráveis ao seu uso em aquicultura, como bons índices de crescimento, conversão alimentar e alta qualidade da carne, e conseqüentemente, grande aceitação no mercado.

Na aquicultura, há a utilização de sistemas intensivos com objetivo de produzir uma grande quantidade de animais, em um intervalo reduzido, e, se possível, com uma quantidade mínima de gastos referentes à alimentação e demais insumos. A redução do tempo de engorda e o conseqüente aumento do número de ciclos por ano pode aumentar a lucratividade dos empreendimentos em ranicultura. Isto é possível com a utilização de aditivos que possam incrementar o crescimento somático, podendo contribuir, para maiores rendimentos zootécnicos.

• O uso de hormônios anabolizantes proporciona uma maior deposição de proteína na carcaça de várias espécies de animais e reduz a deposição de gordura. Isto ocorre, pois os anabolizantes, principalmente a testosterona, aumentam a retenção de nitrogênio, em especial, aumentam a retenção do nitrogênio protéico e não protéico presente nos alimentos e sua subseqüente transformação em proteína, particularmente nos músculo esquelético (Rosa e Dode, 1986).

Os anabolizantes de interesses zootécnicos podem ser classificados de acordo com a sua origem em dois grupos: compostos naturais ou sintéticos. São chamados de agentes anabolizantes naturais, esteróides

naturais ou compostos naturais os anabolizantes endógenos, isto é, que existem nos organismos dos animais. De fato, tanto macho como fêmea produzem testosterona, 17- $\beta$ -estradiol e progesterona, embora façam em quantidades diferenciadas em função do sexo.

Lundstedt e Leonhardt (1997) trabalhando com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), verificaram incremento em altura e ganho de peso, utilizando-se rações com o hormônio sintético 17- $\alpha$ -metil-testosterona, o que aumentou o percentual de tecido muscular, e conseqüentemente, no rendimento em filés. Já (Silva e Klein, 2000), também trabalhando com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e com hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona observou um aumento de altura nos animais que receberam 40 mg de andrôgeno a partir do 45 dias de experimento.

Yamazaki (1976) afirma que a efetividade do tratamento com esteróides sexuais depende da sua administração em doses e tempos ideais, conforme observado com andrôgeno 17- $\alpha$ -metil-testosterona, que, além de acelerar o processo da espermatogênese, também acelerou o anabolismo protéico e o incremento em biomassa.

Agostinho *et al.* (2001) afirmam o uso de esteróides sexuais vem sendo realizado em anfíbio desde a década de 30, o uso destes tem sido realizado de diferentes formas: injeção de estrógeno; imersão em solução aquosa de estrógeno; injeção de benzoato de estradiol, ou ainda pela implantação intraperitoneal de tubos com estradiol

De acordo com Costa (1991), a variação da alimentação como também de hormônios sexuais reflete no índice hepatossomático para animais adultos de rã touro, principalmente no período de reprodução, pois o fígado sintetiza e secreta o precursor das proteínas do vitelo, a vitelogenina, que é o transporte até as gônadas via corrente sanguínea, para participação da formação das gônadas. A atividade metabólica implica na utilização de nutrientes obtidos a partir do alimento ingerido e de reservas energéticas depositadas em diferentes partes do organismo. Portanto é possível esperar que o peso do fígado, provavelmente, reflita este metabolismo.

Os corpos gordurosos são uma fonte importante de energia para serem veiculadas em etapas de maior carência desses nutrientes, como as épocas precedentes à época reprodutiva, quando há um grande dispêndio

energético para a maturação gonadal e para adequação das outras estruturas necessárias ao ato reprodutivo.

Em vista de tais observações, e verificando-se que têm sido encontrados na literatura relatos referentes apenas de inversão sexual, nutrição animal e comportamento reprodutivo, faz-se necessário o conhecimento da utilização de andrógeno nos parâmetros morfométricos de rã touro. Objetivou-se determinar o efeito de três dosagens hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona nos parâmetros morfométricos de rã touro.

### MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi realizado no Ranário Experimental do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, no período de 07 de Maio de 2002 a 10 de agosto de 2002.

Foram utilizados 160 animais com biomassa inicial  $42,05 \pm 0,529$  g, individualmente marcados (Martof, 1953) e distribuídos em 4 baias de alvenaria climatizadas com  $1,54 \text{ m}^2$ , com temperatura de  $25,1 \pm 1^\circ\text{C}$ .

A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia, uma às 8:00, e a outra às 17:00, em quantidade suficiente para a saciedade dos animais. Utilizou-se uma ração comercial para peixes carnívoros, contendo 44% de PB. À esta ração, foi incorporada o andrógeno em diferentes concentrações: T1: 0, T2: 20, T3: 40 e T4: 60 mg/kg, respectivamente.

Para a incorporação do hormônio à ração, foram utilizados 250 ml de álcool etílico adicionado a um recipiente vítreo de 500 ml, onde foram solubilizados as respectivas quantidades hormonais, e assim imediatamente adicionadas a 1 kg de ração extrusada de granulometria 5 mm. Posteriormente, mais 50 ml de álcool foram adicionados ao becker e adicionados à ração, evitando, deste modo, que existisse resíduos de hormônios no interior do becker. Após um período de 30 horas em temperatura ambiente e em um recinto sombreado e ventilado, e verificada a volatilização total do álcool etílico, as rações foram estocadas em sacos plásticos individualizados, e mantidas sob refrigeração.

A cada 30 dias foram sacrificados 10 animais ao acaso de cada tratamento e coletados dados de peso de fígado e gordura celomática e peso das vísceras para realizar levantamentos biométricos.

O índice hepato-somático foi calculado através desta fórmula  $IHS = Wf/Wt$ , onde  $Wf$  = peso do fígado e  $Wt$  = peso total e o índice lipossomático  $ILS = WL/Wt$ , onde  $WL$  = gordura celomática.

Os resultados foram descritos estatisticamente e foi realizada análise de regressão com auxílio do programa SAEG (UFV, 1983).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 30 dias e 60 dias, rã touro tratadas com 17- $\alpha$ -metil testosterona não apresentou efeito significativo, já aos 90 dias o índice hepatossomático obteve efeito quadrático de acordo com a equação  $Y = 4,598 - 0,028x + 0,000806x^2$ ,  $R^2 = 0,97$  (Quadro 1). Esse aumento de peso do fígado é devido a este ser o principal órgão responsável pelo processo do metabolismo de esteróide (Stabenfeldt, 1993). Aos 30 dias e 60 dias, rã touro tratadas com 17- $\alpha$ -metil testosterona apresentou efeito quadrático no índice lipossomático de acordo com as equações  $y = 5,44 - 0,0246x + 0,000046x^2$ ,  $R^2 = 0,97$ ;  $y = 6,47 - 0,0296x + 0,0004x^2$ ,  $R^2 = 0,60$ , já aos 90 dias não apresentou diferença significativa (Quadro 1).

Segundo (Costa, 1991), o comportamento geral do índice hepatossomático foi semelhante tanto para macho quanto para fêmeas, sugerindo participação do fígado no processo de maturação e no ciclo reprodutivo. Para fêmeas, este fato é mais evidente pelo comportamento inverso do IHS em relação IGS observado por (Ribeiro Filho, 1999).

Não se observou efeito da taxa de sobrevivência que foi de 94% para tratamento 1, 96 % para tratamento 2, 100% para tratamento 3 e 98 % para tratamento 4, que correspondeu em média de 97%.

Para rã touro o índice lipossomático sofre flutuações durante todo período reprodutivo, por exemplo, as fêmeas sofrem maiores flutuações nos meses de setembro a fevereiro (Costa, 1991). Essa variação é devida o fato

que da participação dos corpos gordurosos, tanto no processo de maturação das gônadas quanto ao longo do ciclo reprodutivo.

Jorjensen *et al.* (1986) afirma que os corpos gordurosos têm funções diferenciadas entre as espécies de zonas temperadas e aquelas de zona tropicais, sendo nesta mais relacionado com desenvolvimento do ovário. Nas espécies de clima temperado ocorre um ciclo padrão, que está fortemente correlacionado com a disponibilidade de alimento em cada época ou para manutenção do animal no período de hibernação. (Agostinho *et al.*, 2001), não observou diferença significativa entre o índice lipossomático, o mesmo observado para o presente trabalho, onde os tratamentos com hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona apresentou um maior depósito de gordura em relação aos animais que não receberam a dose hormonal.

Conclui-se que a rã touro alimentada com do hormônio 17- $\alpha$ -metil-testosterona na ração, apresentou efeito quadrático para Índice lipossomático e efeito linear para Índice hepatossomático.

Quadro 1. Índice hepatossomático (IHS), Índice lipossomático (ILS), de rã touro controle e tratados com homônimo 17- $\alpha$ -Metil -Testosterona

Dias	Tratamentos							
	Concentração hormonal							
	0 mg		20 mg		40 mg		60 mg	
	IHS	ILS	IHS	ILS	IHS	ILS	IHS	ILS
30	4,30 <sup>1</sup>	5,46 <sup>2</sup>	4,61 <sup>1</sup>	5,15 <sup>2</sup>	4,20 <sup>1</sup>	5,37 <sup>2</sup>	4,37 <sup>1</sup>	5,80 <sup>2</sup>
60	5,01 <sup>1</sup>	6,40 <sup>2</sup>	4,80 <sup>1</sup>	6,26 <sup>2</sup>	4,92 <sup>1</sup>	5,71 <sup>2</sup>	4,85 <sup>1</sup>	6,21 <sup>2</sup>
90	4,56 <sup>2</sup>	6,21 <sup>1</sup>	4,47 <sup>2</sup>	6,55 <sup>1</sup>	4,65 <sup>2</sup>	5,86 <sup>1</sup>	5,85 <sup>2</sup>	6,38 <sup>1</sup>

1. não significativo 2. efeito quadrático

## BIBLIOGRAFIA

- Agostinho C.A., I.Q. Grassiotto e F.S. Wechsler. 2001. Reversão sexual de rã touro (*Rana catesbeiana*) misturado à ração de girinos. Rev. Bra. Zootecnia, 30(3):911-915.
- Costa C.L.S. 1991. Desenvolvimento do aparelho reprodutor e fatores associados ao ciclo reprodutivo da rã touro no sistema Anfigraja. Dissertação Mestrado em zootecnia. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. Brasil. 98 p.

- Lundstedt L.M., J.H. Leonhardt e A.L. Dias. 1997. Alterações morfométricas induzidas pela reversão sexual em Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Rev. Unimar*, 19(2):461-472.
- Martof B.S. 1953. Territoriality in the green frog, *Rana clamitans*. *Ecology*, 34(1):166-174.
- Jorjensen C.B., K. Shakuntala e S. Vijayakumar. 1986. Body size, reproduction and growth in a tropical toad *Bufo melanostictus*, with a comparison of ovarian cycles in tropical and temperate zone anurans. *Oikos*, 46:379-89.
- Ribeiro Filho O.P. 1999. Desempenho e avaliação de carcaça de rã touro (*Rana castebiana*, Shaw 1802) criadas em cativeiro com diferentes níveis de energia metabolizável na ração. Tese Doutorado em zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 94p.
- Rosa G.O. e M.A. Dode. 1986. Hormônios anabolizantes. Revisão. *Rev. Bra. Rep. Anim.*, 10(2):105-121.
- Silva P.R. e V.L. Klein. 2000. Uso do hormônio 17- $\alpha$ -metiltestosterona para induzir o aumento da altura em alevinos machos revertidos da tilapia do nilo *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1766). Anais XI Simpósio Brasileiro de Aquicultura, CD ROM.
- UFV (Universidade Federal de Viçosa). 1983. Manual de utilização do programa SAEG Central de processamento de dados, UFV. Viçosa, MG. 53p.
- Yamazaki F. 1976. Application of hormones in fish culture. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 948-958.
- Stabenfeldt G.H. 1993. O sistema endócrino. In Cunningham J.G. (Ed) *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 11<sup>o</sup> ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. pp. 259 - 273.

**COORDINACIÓN EDITORIAL**

*Dr. José Luis Gil*

**COMPOSICIÓN**

*Dr. Nestor E. Obispo*

**MONTAJE**

*Nury Castillo*

**FOTOLITO**

*Mario Pino y Nury Castillo*

**IMPRESIÓN**

*Juan Salas*

IMPRESO EN EL TALLER GRÁFICO DEL INIA  
JUNIO 2005  
Tiraje: 500 ejemplares

