

Los metabolitos secundarios de las especies vegetales

D.E. García

Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba
E-mail: DGarcia@indio.atenas.inf.cu

El metabolismo secundario se puede definir como la biosíntesis, la transformación y la degradación de los compuestos endógenos mediante proteínas de especialización, las cuales se han formado como resultado de los procesos de diferenciación y se clasifican según su significación biológica y función en la célula productora (Valdés y Balbín, 2000).

Según la definición en el marco ecológico propuesta por Strassburger, Noll, Schenk y Schimper (1994), estos compuestos son *sustancias ecológicamente eficaces*, frente a compuestos primarios que serían *sustancias fisiológicamente eficaces*. Los compuestos que derivan de este tipo de metabolismo se pueden clasificar de varias formas.

El ordenamiento estrictamente químico, basado en los principales grupos funcionales, es la forma más secuenciada de organización (Ikan, 1991). Desde el punto de vista de su incidencia negativa en la nutrición, se pueden clasificar se-

gún el tipo de metabolito con que interactúan (Delgado, 1998); los factores antinutricionales se definen como aquellas sustancias generadas por el metabolismo natural de las especies vegetales y que, por diferentes mecanismos, ejercen efectos contrarios a la nutrición óptima de los animales por la disminución del metabolismo digestivo (Ojeda, 1996).

La tabla 1 muestra la complejidad ascendente de las cadenas carbonadas, basado en el fraccionamiento estructural para el caso particular de los compuestos fenólicos (Harborne, 1990).

Para un mismo grupo funcional, además de la clasificación por las cadenas carbonadas presentes, la separación de los metabolitos secundarios también se realiza teniendo en cuenta la prioridad de organización de cada tipo de compuesto, la posición del grupo funcional, su configuración y la naturaleza de los residuos terminales (Thomsen, 1997).

Tabla 1. Ordenamiento de las especies fenólicas, basado en la cantidad de átomos de carbono (Harborne, 1990).

Número de átomos	Esqueleto carbonado básico	Clases
6	C ₆	Fenoles simples y Benzoquinonas
7	C ₆ -C ₁	Ácidos fenólicos
8	C ₆ -C ₂	Acetofenonas y Ácidos fenilacéticos
9	C ₆ -C ₃	Ácidos hidroxicinámicos, fenilpropanoides, Cumarinas, Isocumarinas y Cromonas
10	C ₆ -C ₄	Naftoquinonas
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xantonas
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbenos y Antraquinonas
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides e Isoflavonoides
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanos y Neolignanos
30		Biflavonoides
n	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) ₆ , (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Ligninas, Melaninas de catecol y Flavolanos

Distribución natural y función

Una de las principales diferencias que presentan los metabolitos secundarios con relación a los primarios es su distribución limitada en el reino vegetal; mientras que los compuestos primarios se encuentran en todo el reino y las diferencias entre especies solo son de índole cuantitativa (Ramos, Frutos, Giráldez y Mantecón, 1998).

Estos compuestos químicos se presentan típicamente en sólo una especie o un grupo de plantas taxonómicamente relacionadas (Grabiela-Anca, Dean y Wiley, 1997), por lo que muchos de ellos se consideran marcadores taxonómicos de familias y géneros (Garbarino, 2003).

Los metabolitos secundarios se encuentran principalmente en las plantas, pero cada estructura básica varía considerablemente acorde con el *Phylum*.

La tabla 2 muestra la distribución de los principales compuestos fenólicos en el reino vegetal.

especialmente sustancias fenólicas, las que pueden ser coloreadas; estos organismos se caracterizan por tener dépsidos o depsidonas, pero pueden ser sintetizadas otras clases de mayor distribución como las Xantonas y Antraquinonas (Markham, 1988).

En las plantas vasculares se encuentra la mayor cantidad de polifenoles (Kumar, 1992); los helechos, Gymnospermas y Angiospermas contienen ligninas en la pared celular. Los Ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinámico, además de en los flavonoides, están universalmente presentes en todas las plantas. Otras clases tienen una distribución más discreta, como el caso de los isoflavonoides, ampliamente reportados en la familia *Leguminosae* (Keh-Feng y Yuh-Fang, 1996); mientras que las Antraquinonas (comunes en seis familias botánicas) y las Xantonas abundan en *Gentianaceae*, *Guttiferae*, *Moraceae* y *Polygalaceae* (Harborne, 1990).

Por otra parte, en cada planta las yemas en crecimiento, las hojas jóvenes, los órganos reproductores y de dispersión, y en general todas

Tabla 2. Distribución de los principales compuestos fenólicos en el reino vegetal según el *Phylum* (Harborne, 1990).

<i>Phylum</i>	Patrones estructurales
Bacteria	Fenoles derivados de policétidos y quinonas (ocasionalmente presentes).
Hongos	Fenoles simples, fenilpropanoides y quinonas (regularmente reportadas).
Algas	Fenoles iodados y bromados, derivados del floroglucinol en la pared celular.
Líquenes	Antraquinonas, dépsidos, depsidonas y xantonas
Bryofitas	Fenoles en la pared celular, fenilpropanoides, estilbenos y algunos flavonoides.
Helechos, coníferas y plantas que florecen	Ligninas en la pared celular, amplio rango de fenoles de todo tipo.

Los compuestos fenólicos no son comunes en las bacterias, los hongos y las algas, donde las clases de esqueletos hidroxilados son escasos, comparados con el resto de las plantas (Harborne, 1990); los flavonoides también están casi ausentes; sin embargo, los derivados clorinados solamente son producidos por el hongo *Aspergillus candidus*.

Los hongos y las algas no sintetizan fenoles en asociación simbiótica; los líquenes producen

las partes en crecimiento anual, muestran una mayor concentración, reactividad y diversidad de metabolitos secundarios (Makkar, Dawra y Singh, 1991).

Desde el punto de vista ultraestructural, los metabolitos secundarios se encuentran principalmente en las vacuolas, la periferia adyacente interna o el centro de los orgánulos citoplasmáticos (Lees, Suttill y Gruber, 1993), además de que sus concentraciones se diferen-

cian en las distintas partes de la planta (Harborne, 1990).

Desde el punto de vista botánico, las plantas rastreras contienen menores concentraciones de metabolitos secundarios que las plantas arbóreas. Esta diferenciación se ha hecho evidente en las especies de la familia *Leguminosae* (García, 2003).

El término *secundario* implicaba, al principio de las investigaciones, que estas sustancias tenían una menor importancia y muchas veces se les atribuyó la propiedad de productos de desecho del metabolismo primario. Esta idea ha sido gradualmente cambiada, ya que los compuestos secundarios desempeñan un papel protagónico en la fisiología de la planta, la regulación del crecimiento, su desarrollo y la interacción con otros organismos (Raskin, 1992), por lo que a partir de 1960 se han realizado investigaciones que han hecho evidente la importante función ecológica de muchos de ellos (Valdés y Balbín, 2000).

Cada tipo de compuesto secundario está estrechamente relacionado con una o varias funciones específicas en la planta que lo contiene.

Son innumerables los reportes que describen el papel que desempeñan estos compuestos en el reino vegetal, aunque hasta la fecha, en la mayoría de ellos, no se conoce con exactitud cada función particular.

En algunos casos intervienen en las relaciones de competencia con otras plantas, actuando como agentes alelopáticos y contra invasiones de hongos, bacterias y virus (Harborne, 1993); en relaciones de mutualismo en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas (Ramos *et al.*, 1998); en funciones defensivas causando toxicidad (Foo, Lu, Mc Nabb, Waghorn y Ulyatt, 1997); como protección contra la radiación ultravioleta y la desecación (Ghasempour, Anderson, Gianello y Gaff, 1998); como reserva de material nitrogenado (Poulton, 1990); así como en la fijación del N_2 atmosférico, la formación de nódulos y la relación simbiótica en las raíces de las leguminosas (Stafford, 1997).

Uno de los metabolitos secundarios mejor estudiados en cuanto a su distribución natural y función es el Ácido salicílico (Raskin, 1992). Este

fenol simple está presente en las estructuras reproductivas y las hojas de 34 importantes especies botánicas empleadas en la agricultura, lo que confirma su distribución extensiva (Raskin, Skubatz, Tang y Meeuse, 1990). Este ácido induce la floración, participa en la regulación del potencial de las membranas celulares y la resistencia de enfermedades, induce cambios de temperatura en las plantas termogénicas, interviene en la expresión de algunos genes y actúa como atrayente de parásitos del género *Striga*.

Biosíntesis

Las rutas biosintéticas que forman parte del metabolismo secundario es un tema que en los últimos años ha llamado poderosamente la atención. La síntesis específica de cada compuesto suele estar restringida a estados específicos del desarrollo respectivo de cada tipo de organismo, células especializadas y períodos de estrés causados por la deficiencia de nutrientes o por el ataque de microorganismos. Este fenómeno se debe a la formación, dependiente de fase, de la correspondiente enzima, lo que significa que la expresión del metabolismo secundario se basa en un proceso de diferenciación (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Muchos factores afectan la síntesis de los metabolitos secundarios; la concentración de CHS, el estado acuífero y la temperatura ambiental son algunos de los más importantes.

Atendiendo a las vías biosintéticas que les dan origen, los compuestos secundarios se dividen en tres grandes grupos: los terpenos, las sustancias fenólicas y los compuestos que contienen nitrógeno en su estructura (Valdés y Balbín, 2000).

El metabolismo primario proporciona un gran número de moléculas simples, como el ácido shiquímico, el acetato y los aminoácidos, los cuales constituyen los materiales de partida para las rutas biosintéticas del metabolismo secundario. El ácido shiquímico, por la ruta metabólica que lleva su nombre, da origen a muchos compuestos aromáticos, entre ellos los aminoácidos, los ácidos cinámicos y algunas estructuras polifenólicas. El acetato es el precursor de los ácidos grasos y de los policétidos en la ruta del acetato-malonato,

y los terpenos o isoprenoides son sintetizados en la ruta del acetato-mevalonato. Los aminoácidos son precursores de los alcaloides y de los antibióticos peptídicos.

Todos los terpenos naturales proceden de unidades de acetato activo (acetil-CoenzimaA), que se condensan y transforman para originar ácido mevalónico, unidad de cinco átomos de carbono, específica de la biosíntesis de terpenos.

La figura 1 describe la interconexión de los principales grupos de metabolitos secundarios y su relación con la fotosíntesis.

La biosíntesis de las estructuras fenólicas se efectúa por dos rutas metabólicas esenciales: la del ácido shiquímico y la del ácido malónico (co-

el L-triptófano y otros. Ocasionalmente derivan de la L-prolina, el ácido antranílico (precursor y producto de degradación del L-triptófano), el ácido nicotínico (formado a partir del ácido aspártico), raras veces del L-triptófano, restos de isopentenilo, isopentenil pirofosfato, acetilo proveniente del acetil-CoenzimaA y de grupos metilo de S-adenosilmetionina.

Según Valdés y Balbín (2000), en la biosíntesis de los alcaloides se han reconocido tres tipos generales de reacción que determinan su estructura principal: la formación de bases de Schiff, la re-

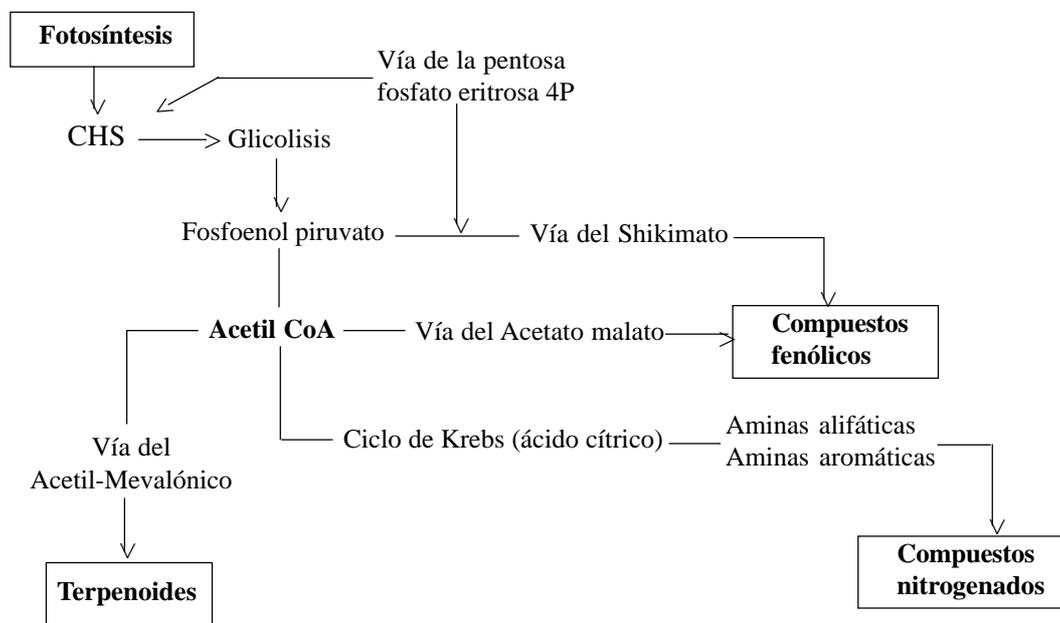


Fig. 1. Vías de síntesis de los principales grupos de metabolitos secundarios y su relación con la fotosíntesis (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

nocida como la de los policétidos); la primera es mayoritaria en las plantas superiores y la segunda es favorecida en los microorganismos.

La fenilalanina y la tirosina son intermediarios metabólicos en la biosíntesis de numerosos compuestos fenólicos, y el triptófano es el precursor de hormonas como el ácido indolacético.

Los alcaloides se forman por rutas biosintéticas muy diversas, a partir de muchos aminoácidos como la L-arginina, la L-lisina, la L-fenilalanina,

acción de Mannich y el acoplamiento oxidativo de fenoles.

Métodos de cuantificación

Existen numerosos métodos para cuantificar los contenidos de metabolitos secundarios de interés en la nutrición animal. No obstante, cada técnica analítica presenta limitaciones intrínse-

cas, por lo que no son aplicables de manera general en todos los casos.

Las diferentes coloraciones y la cantidad de color producidas por unidad de masa en los métodos colorimétricos (Schofield, Mbugua y Pell, 2001), la variabilidad en los resultados con la utilización de diferentes patrones y los diferentes mecanismos en las técnicas de precipitación (Krueger, Carter Dopke, Treichel, Folts y Reed, 2000), son las mayores limitantes en las marchas analíticas más utilizadas en la actualidad.

El grupo de metabolitos que más se ha cuantificado en el campo de la nutrición animal son los compuestos fenólicos, como producto de su amplia distribución en las plantas de interés agrícola y su repercusión en la fisiología digestiva de los rumiantes y los monogástricos (Mueller-Harvey, 2001).

Los métodos colorimétricos de Folin-Dennis y Folin-Ciocalteu (propuestos en los trabajos realizados por estos autores entre los años 1912 y 1927), que se basan en la reducción del ácido fosfomolibdico hasta óxidos azules de molibdeno con estados de oxidación inferiores a 7^+ , se han convertido en técnicas universales en la determinación de fenoles totales (Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventós, 1999; Mueller-Harvey, 2001); sin embargo, Schofield et al. (2001) plantean que el método del Azul de Prusia ($\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), en sentido general, propicia mejores lecturas.

Con el desarrollo vertiginoso de la química analítica ha sido validado un gran grupo de procedimientos modernos, que abarcan desde las más simples técnicas hasta la utilización de los instrumentos más sofisticados (Harborne, 1998; Makkar, 1999).

Según la recopilación realizada por Schofield et al. (2001), los métodos para la cuantificación de compuestos fenólicos se pueden clasificar en: 1) colorimétricos, 2) cromatográficos, 3) gravimétricos, 4) de inhibición enzimática, 5) por precipitación, 6) toxicológicos.

Las lecturas mediante el desarrollo de color son las más empleadas mundialmente, porque requieren menor complejidad de instrumentos y son más accesibles.

El ensayo del Butanol-HCl es específico para taninos condensados, pero requiere de patrones internos fidedignos a la naturaleza de la muestra analizada, ya que el color varía con la estructura tánica. Aunque es un método clásico, no es totalmente confiable para la determinación si no se conoce el tipo de tanino presente (Dallzell y Kerven, 1998).

La utilización de la Vainillina-HCl es específica para meta difenoles y se pueden cuantificar los monómeros de taninos condensados obtenidos después de la hidrólisis del material; no obstante, si están presentes unidades de flavonoides se pueden obtener sobreestimaciones de los contenidos de estos tipos de taninos (Sun, Ricardo da Silva y Spranger, 1998).

El método de azul de Prusia es muy utilizado por presentar buena correlación con la actividad biológica. Aunque mediante este reactivo reaccionan todos los fenoles, las transformaciones dependen mucho de las condiciones del análisis y pueden interferir otros agentes reductores. Las cuantificaciones de diferentes estructuras hidroxiladas mediante el procedimiento de tiólisis y el empleo de floroglucinol, requieren de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y son excelentes para determinaciones estructurales.

Mediante la tiólisis se requieren taninos puros y con la utilización de floroglucinol los rendimientos tienden a disminuir, además de que los bencil mercantanos formados presentan olores desagradables y las rupturas de los enlaces, en algunos casos, no son cuantitativas (Schofield et al., 2001).

La utilización de iterbio trivalente (Yb^{3+}) como agente precipitante de fenoles no requiere de patrones, pero los rendimientos pueden variar con la relación Yb/fenol, además de que la muestra necesita ser incinerada (Mueller-Harvey, 2001).

Los ensayos enzimáticos precisan de manera adicional otras técnicas biológicas y la susceptibilidad de la enzima puede ser variable (Adams y Harbertson, 1999), por lo que estas técnicas por sí solas no permiten llegar a conclusiones sólidas (Hagerman, 1998; Fickel, Pitra, Joest y Hofmann, 1999).

Los procedimientos de precipitación con proteínas reflejan una importante repercusión biológica, pero los resultados son diferentes en dependencia de la proteína seleccionada para el análisis (Hagerman, Zhao y Jonson, 1997).

El empleo de polietilenglicol (PEG) para la obtención de resultados totalmente concluyentes requiere de carbono marcado (^{14}C -PEG).

Los procedimientos que emplean HPLC son factibles para las determinaciones de estructuras complejas (Hedqvist, Mueller-Harvey, Reed, Krueger y Murphy, 2000), pero algunos solo son aplicables para taninos condensados de 7 a 8 unidades, y en ocasiones se observan uniones irreversibles con la matriz utilizada (Lazarus, Adamson, Hammerstone y Schmitz, 1999; Hammerstone, Lazarus, Mitchell, Rucker y Schmitz, 1999; Labarbe, Cheynier, Broussard, Bouguet y Moutounet, 1999).

Las pruebas de inhibición del crecimiento microbiano constituyen uno de los mejores ensayos biológicos en la actualidad, aunque la selección de la bacteria y el medio de cultivo pueden afectar los resultados. Por otra parte, se requiere de niveles relativamente elevados de polifenoles porque se presentan inconvenientes relacionados con la competencia del agente enlazante (Nelson, Pell, Doane, Giner-Chávez y Schofield, 1997).

Otros métodos significativamente importantes son el empleo de la rodanina para la cuantificación de taninos hidrolizables del tipo galotaninos (Mueller-Harvey, 2001), el empleo de KIO_3 en las determinaciones de galo y elagitaninos (Willis y Allen, 1998), las determinaciones de peso molecular (Guyot, Doco, Bouguet, Moutounet y Driliau, 1997) y el apoyo que propicia la cromatografía de fase normal (Cheynier, Bouguet, Le Roux, Guyot y Rigaud, 1999) y de fase reversa en las separaciones cuantitativas de las diferentes especies fenólicas (Waterhouse, Price y McCord, 1999).

Los procedimientos analíticos más factibles para la determinación de cumarinas y flavonoides se basan en las propiedades estructurales de estos compuestos de tener patrones conformacionales rígidos, que les permiten una absorción muy intensa en el espectro ultravioleta,

después de separaciones y fraccionamientos previos que evitan un gran número de interferencias analíticas (Mochiutti, 1995; Méndez, 1996; Gutiérrez, Miranda, Varona y Rodríguez, 2000); no obstante, se debe conocer aproximadamente las estructuras que se cuantificarán con vistas a realizar una óptima selección del patrón en el análisis (Mueller-Harvey, 2001).

Otros metabolitos secundarios, como los triterpenos y esteroides, se determinan fundamentalmente por diversos métodos cromatográficos (AOAC, 1990) o mediante la extensión de la prueba cualitativa de Liebermam y Buchard, basado en la formación de compuestos coloreados, como producto de la reacción en medio ácido del anhídrido acético con el doble enlace presente en los anillos B y C de los esteroides y triterpenos, respectivamente; estas instauraciones resultan típicas en ambas agrupaciones (Galindo, Rosales, Murgueitio y Larrahondo, 1989).

Efecto en los sistemas biológicos

A lo largo de la evolución, la refinada especialización del metabolismo secundario ha constituido una de las adaptaciones más sorprendentes en las plantas superiores, con el objetivo de lograr mantener el equilibrio interespecífico en la naturaleza.

El propósito fundamental de esta diferenciación enzimática estuvo encaminado, en primer lugar, a que estos compuestos cumplieran funciones específicas en el metabolismo vegetal, además de actuar como defensas importantes frente a los herbívoros, por la imposibilidad de huir ante estos (Harborne, 1993; Cheecke, 1995; Ramos et al., 1998).

Es evidente que la amplia diversidad de estructuras generadas por estas proteínas especializadas produce efectos extremadamente diversos en la biología de los organismos vivos.

Indistintamente, en la literatura se reportan efectos negativos relacionados con problemas de toxicidad en los insectos herbívoros, las aves, los pequeños mamíferos, los cerdos, los rumiantes y el hombre (Mueller-Harvey y Mc Allan, 1992); así como efectos beneficiosos en la producción industrial de fármacos (Mateos, 2003), la tera-

pia contra el cáncer y la biotecnología (Anon, 2003a), en la domesticación y la diversificación de las plantas de interés agrícola (Anon, 2003b), en los estudios biológicos y moleculares (Torpoco y Garbarino, 2003) y en las ciencias médicas (Anon, 2003c). Otro efecto polémico es la acción defaunante que causan en la microbiología ruminal (Galindo, Castillo, Aldama, Marrero, García y Martínez, 1998; Colectivo de autores, 2003).

La concentración de los metabolitos secundarios en el tejido vegetal es uno de los principales elementos que diferencian la acción positiva o detrimental en la nutrición animal (Aerts, Barry, Warren y Mc Nabb, 1999), aunque la variabilidad estructural dentro de un mismo grupo funcional, la isomería de posición y los alargamientos de los radicales carbonados, también diferencian la acción particular de cada compuesto en los diferentes animales (Baker, Medlock y Sheehan, 1998; Cassidy, Hanley y Lamuela-Raventós, 2000).

En el campo de la nutrición animal a nivel mundial, los taninos condensados han sido el grupo de compuestos mejor estudiados en cuanto a su repercusión fisiológica y su amplia distribución (Wolfgang y Shelton, 1995; Ben Salem, Nefzaoui, Ben Salem y Tisserand, 1999a, 1999b; Ben Salem, Nefzaoui, Ben Salem y Tisserand, 2000); otros metabolitos inhiben la digestión, al afectar la actividad catalítica de algunas enzimas (Delgado, 1998), y pueden restringir la absorción de los alimentos (Liener, 1997).

De las 1 200 clases de compuestos secundarios que contienen las plantas (Kumar, 1992) no todos se encuentran bien estudiados, debido a su elevada diversidad; algunos grupos como los triterpenoides, las cumarinas, las anticarbohidrasas, las tioaxalidonas, los tiocianatos e isotiocianatos, las antibiotinas y las sustancias que aumentan de forma particular las pérdidas catabólicas, han recibido tratamientos más discretos en cuanto a su repercusión en el campo de la fisiología y la nutrición (Midjavila, 1990).

No obstante, existen algunas funciones químicas, como los glucósidos cianogénicos y alcaloides (Sotelo, Contrera y Flores, 1995;

Sotelo, Sousa y Sánchez, 1995), así como las fitohemoaglutininas (Le Guen y Birk, 1993; Goodbole, Krishna y Brata, 1994), que se han investigado con mayor sistematicidad.

A modo de resumen, en la tabla 3 se presentan algunos de los disímiles efectos que causan los metabolitos secundarios en los sistemas biológicos.

Conclusiones

El metabolismo secundario constituye una de las adaptaciones más sorprendentes en el reino vegetal y para su diferenciación las especies de plantas superiores han necesitado miles de años de evolución continua y perfeccionamiento, a través de la interacción con el medio ambiente circundante y las relaciones ínterespecíficas. A medida que la ciencia se ha desarrollado progresivamente, el hombre ha empleado con fines prácticos diversos los compuestos secundarios que derivan de estas rutas biosintéticas para su bienestar y mejoramiento. Estas estructuras pueden ocasionar efectos detrimentales o beneficiosos en la alimentación animal, fundamentalmente en dependencia de la concentración y la naturaleza del compuesto específico. El conocimiento de este tema de la bioquímica vegetal por los profesionales de las ciencias agropecuarias, específicamente los que investigan en la nutrición animal, ayudará a realizar un uso más eficaz de los recursos forrajeros y los dotará de una visión sólida en el campo de la alimentación integrada y de la bioquímica de las plantas, con el fin de incrementar la producción ganadera actual basada en esta fuente de alimento.

Conclusions

Secondary metabolites are one of the most amazing adaptations in the vegetable kingdom, and for their differentiation higher plant species have required thousands of years of continuous evolution and improvement, through interaction with the surrounding environment and interspecific relations. As science has been progressively developing, men have used, with

Tabla 3. Efecto de algunos metabolitos secundarios en los sistemas biológicos.

Metabolito secundario	Medio que lo contiene	Efecto	Referencia
		Negativo	
Taninos condensados	Foliolos de <i>Lotus corniculatus</i> y <i>Acacia aneura</i>	Reduce el consumo de MS y la digestión de los aminoácidos en el intestino delgado (5-6% MS)	Aerts et al. (1999)
p-hidroxiacetofenona y ácido p-hidroxibenzoico	Humus de <i>Athyrium filix-femina</i> y <i>Vaccinium myrtillus</i>	Actividad alelopática, inhibe la germinación y la longitud de la plántula de <i>Picea abies</i>	Pellissier (1994)
Isoflavonoides (Fosmononetina, Biocantina -A y Genisteína)	Ensilaje de <i>Trifolium subterraneum</i>	Efecto estrogénico	Nwannenna, Madej, Lundh y Frediksson (1994)
Lectinas	Semilla de <i>Bractis gasipaes</i>	Aglutina eritrocitos humanos de tipo A, B, O, y de caprinos, ovinos y conejos	Gómez, Quesada y Nanne (1998)
Tetrámero de Procianidina	Hojas de <i>Acacia melanoxylon</i>	Inhibe la actividad de la enzima proteína-quinasa en el cerebro de ratas	Polya y Foo (1994)
		Positivo	
Taninos condensados	Foliolos de <i>L. corniculatus</i>	Incrementa la velocidad de crecimiento y acelera la ovulación en cabras (2-4% MS)	Min, McNabb, Barry y Kemp (1999)
		Incrementa la producción de lactosa en la leche (4-5% MS)	Aerts et al. (1999)
Taninos	<i>Dichrostachys cinerea</i> <i>Cassia sieberiana</i>	Inhibe los biomarcadores en la aparición de tumores en la piel de ratones <i>in vivo</i>	Perchellet (1996)
	Hojas de <i>M. alba</i>	Actividad larvicida frente a <i>Lymantria dispar</i> , <i>Acantholyda posticalis</i> , <i>Hyphantria spectabilis</i> y <i>H. cunea</i>	Suck-Joon, Sang-Gil, Sang-Cheol, Boum-Young y Young-Joon (1997)
	Semillas de <i>Albizia lebbbeck</i>	Propiedades biosorbentes para eliminar Sulfonatos de Alquil-bencenos de soluciones acuosas	Fernández, Chacín, García, Alastre, Leal y Forster (1996)

various practical aims, the secondary compounds that are derived from these biosynthetic routes for their welfare and improvement. These structures may cause detrimental or beneficial effects on animal feeding, mainly depending on the concentration and nature of the specific compound. The knowledge of this topic of plant biochemistry by the professionals of agricultural sciences, specifically those doing research on animal nutrition, will contribute to perform a more efficacious use of forage resources and will provide these researchers with a solid vision in the field of integrated feeding and plant biochemistry, with the objective of increasing the current livestock production based on this source of feedstuffs.

Referencias

- Adams, D.O. & Harbertson, J.F. 1999. Use of alkaline phosphatase for the analysis of tannins in grapes and red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 50:247
- Aerts, R.J.; Barry, T.N.; Warren, T.N. & Mc Nabb, W.C. 1999. Polyphenols and agriculture: beneficial effect of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 75:1
- Anon. 2003a. Análisis de los ácidos nucleicos en la clasificación bacteriana. [en línea]. Disponible en: <http://www.ffyb.uba.ar/Programa/P2000-2/MICROSUP.html>. [Consulta: Agosto 2003].
- Anon. 2003b. Domesticación y diversificación de *Phaseolus* en Mesoamérica y Los Andes. [en línea]. Disponible en: <http://www.redparfpolar.info.ve/fagro/v24-2/m242a001.html>. [Consulta: Agosto 2003].
- Anon. 2003c. Efecto de los esteroides y antibióticos en membranas. [en línea]. Disponible en: <http://www.fc.uaem.mx/PERSONAL/proftc/bioqui/nina/ninalin2.html>. [Consulta: Agosto 2003].
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemistry. Washington, D. C., USA
- Azcón-Bieto, J. & Talón, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Interamericana Mc Graw-Hill. 555 p.
- Baker, M.E.; Medlock, K.L. & Sheehan, D.M. 1998. Flavonoids inhibit estrogen binding to rat alpha-fetoprotein. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 217:317
- Ben Salem, H.; Nefzaoui, A.; Ben Salem, L. & Tisserand, J.L. 1999a. Intake digestibility, urinary excretion of purine derivatives and growth by sheep given fresh, air-dried or polyethylene glycol-treated of foliage of *Acacia cianophylla* Lindl. *Animal Feed Science and Technology.* 98:297
- Ben Salem, H.; Nefzaoui, A.; Ben Salem, L. & Tisserand, J.L. 1999b. Different means of administering polyethylene glycol to sheep: effect on the nutritive value of *Acacia cianophylla* Lindl. foliage. *Animal Feed Science and Technology.* 68:809
- Ben Salem, H.; Nefzaoui, A.; Ben Salem, L. & Tisserand, J.L. 2000. Deactivation of condensed tannin in feed block. Effect on feed intake, diet digestibility, nitrogen balance, microbial synthesis and growth by sheep. *Livestock Production Science.* 64:51
- Cassidy, A.; Hanley, B. & Lamuela-Raventós, Rosa. 2000. Isoflavones lignans, and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food Agriculture.* 80:1044
- Cheecke, P.R. 1995. Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effect on livestock. *J. Anim. Sci.* 73:909
- Cheynier, V.; Bouguet, J.M.; Le Roux, E.; Guyot, S. & Rigaud, J. 1999. Size separation of condensed tannins by normal-phase high-performance liquid chromatography. *Meth Enzymol.* 299:178
- Colectivo de Autores. 2003. Impacto de los árboles, arbustos y otras leguminosas en la ecología ruminal de animales que consumen dietas fibrosas de baja calidad. En: Boletín de divulgación de resultados y noticias del trabajo científico. MES. Ciudad de La Habana, Cuba. No. 1, p. 8
- Dallzell, S.A. & Kerven, G.L. 1998. A rapid method for the measurement of *Leucaena* spp. proanthocyanidins by the proanthocyanidins (butanol/HCl) assay. *J. Sci. Food Agric.* 78:405
- Delgado, E.J. 1998. Factores antinutricionales. Curso de Fisiología digestiva. ICA. La Habana, Cuba. p. 2
- Fernández, N.; Chacín, E.; García, C.; Alastre, N.; Leal, F. & Forster, C.F. 1996. The use of seed pods from *Albizia lebbek* for the removal of alkyl benzene sulphonates from aqueous solution. *Process Biochemistry.* 31 (4):383
- Fickel, J.; Pitra, C.; Joest, B.A. & Hofmann, P.R. 1999. A novel method to evaluate the relative

- tannin-binding capacities of salivary proteins. *Comp. Biochem. Physiol.* 122:225
- Foo, L.Y.; Lu, Y.; McNabb, W.C.; Waghorn, G. & Ulyatt, M.J. 1997. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry*. 45:1689
- Galindo, J.; Castillo, E.; Aldama, A.M.; Marrero, Y.; García, C. & Martínez, P. 1998. Efecto del pastoreo de *Leucaena leucocephala* en todo el área con gramíneas en la población microbiana ruminal. En: Memorias III Taller Internacional Silvopastoril "Los árboles y arbustos en la ganadería". EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. p. 237
- Galindo, W.; Rosales, M.; Murgueitio, E. & Larrahondo, J. 1989. Sustancias antinutricionales en las hojas de árboles forrajeros. *Livestock Research for Rural Development*. 1 (1):36
- Garbarino, J.A. 2003. Metabolismo secundario y quimiotaxonomía de especies chilenas de la familia Scrophylariaceae. [en línea]. Disponible en: <http://www.conicyt.cl/cgi-bin/rut.cgi?3540> [Consulta: Agosto 2003].
- García, D.E. 2003. Efecto de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). Tesis presentada en opción al título de Master en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 98 p.
- Ghasempour, H.R.; Anderson, E.M.; Gianello, R.D. & Gaff, D.F. 1998. Growth inhibitor effects on protoplasmic drought tolerance and protein synthesis in leaf cells of the resurrection grass *Sporobolus stapfianus*. In: Plant growth regulation. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. p. 179
- Gómez, G.; Quesada, S. & Nanne, C.I. 1998. The effect of peach palm (*Bactris gasipaes*) anti-nutritional factors in young mice metabolism. *Agronomía Costarricense*. 22 (2):185
- Goodbole, S.A.; Krishna, T.G. & Brata, C.R. 1994. Changes in protease inhibitory activity from pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) J. Mill. sp.) during seed development and germination. *Journal of Science Food and Agriculture*. 66:497
- Grabiela-Anca, Camelia; Dean, K. & Wiley, D. 1997. Phytoestrogens and floral development in dioecious *Maclura pomifera* (Raf.) Schoneid. and *Morus rubra* (L.) (*Moraceae*). *Plant Science*. 130:27
- Gutiérrez, Y.I.; Miranda, M.; Varona, N. & Rodríguez, A.T. 2000. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (Quercetina) en *Psidium guajava* (L.). *Rev. Cubana Farm.* 34 (1):50
- Guyot, S.; Doco, T.; Bouguet, J.M.; Moutounet, M. & Drilieu, J.F. 1997. Characterization of highly polymerized procyanidins in cider apple (*Malus sylvestris* var. Kermerrien) skin and pulp. *Phytochemistry*. 44:351
- Hagerman, A.E. 1998. Tannin analysis. [en línea]. Disponible en: <http://miavx1.edu/hagermae/>. [Consulta: Diciembre 1998]
- Hagerman, A.E.; Zhao, Y. & Jonson, S. 1997. Methods for determination of condensed and hydrolyzable tannins. In: Antinutrients and phytochemicals in food. (Ed. Shanidi, F.), Washington, USA. 230 p.
- Hammerstone, J.F.; Lazarus, S.A.; Mitchell, A.E.; Rucker, R. & Schmitz, H.H. 1999. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 47:490
- Harborne, J. 1990. General procedure and measurement of total phenolics. In: Methods in plant biochemistry I. Academic Press, USA. p. 1
- Harborne, J. 1993. Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, USA. 232 p.
- Harborne, J. 1998. Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & Hall. London, UK. 200 p.
- Hedqvist, Helena.; Mueller-Harvey, Irene.; Reed, J.D.; Krueger, C.G. & Murphy, M. 2000. Characterization of tannins and *in vitro* protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties. *Animal Feed Science and Technology*. 87:41
- Ikan, R. 1991. Natural products. A Laboratory guide. Academic Press, USA. 360 p.
- Keh-Feng, H. & Yuh-Fang, Y. 1996. Three phenylated isoflavones from *Erythrina variegata*. *Journal of the Chinese Society*. 43 (6):515
- Krueger, C.G.; Carter-Dopke, N.; Treichel, P.M.; Folts, J. & Reed, J.D. 2000. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of polygalloyl polyflavan-3-ols in grape seed extract. *J. Agric. Food Chem.* 48 (5):1663
- Kumar, R. 1992. Antinutritional factors. The potential risks of toxicity and the methods to alleviate them. In: Legumes trees and other fodder trees as protein source for livestock. (Eds. Speedy,

- A.W. & Pugliese, P.L.). FAO Animal Production and Health Paper. No. 102. p. 145
- Labarbe, L.; Cheynier, V.; Broussard, F.; Bouguet, J.M. & Moutounet, M. 1999. Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.* 47:2719
- Lazarus, S.A.; Adamson, G.E.; Hammerstone, J.F. & Schmitz, H.H. 1999. High performance liquid chromatography/mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in food and beverages. *J. Agric. Food Chem.* 47:3693
- Lees, G.L.; Suttill, N.H. & Gruber, M.Y. 1993. Condensed tannins in sainfoin. I. A histological and cytological survey of plant tissue. *Can. J. Bot.* 71:1147
- Le Guen, M.P. & Birk, Y. 1993. Protein protease inhibitor from legumes seeds: nutritional effect, mode of action and structure-function relationship. In: Recent advances of research in antinutritional factor in legumes seeds. Proceedings of the Second International Workshop on Antinutritional Factor (ANFs). (Eds. Vant der Poel, T.F.B.; Huisman, J. & Saini, H.S.). Wageningen Press, Wageningen. p. 157
- Liener, I.E. 1997. Plant lectins. Properties, nutritional significance and function. In: Antinutrients and phytochemicals in food. American Chemical Society, USA. p. 31
- Makkar, H.P.S. 1999. Quantification of tannins in trees foliage. A laboratory manual for the FAO/IAEA Co-ordinated Research Project on "Use of nuclear and related techniques to develop simple tannin assays for predicting and improving the safety and efficiency of feeding ruminants on tanniniferous trees foliage". IAEA Working Document. IAEA, Vienna. p. 1
- Makkar, H.P.S.; Dawra, R.K. & Singh, B. 1991. Tannin levels in leaves of some oak species at different stages of maturity. *J. Sci. Food Agric.* 54:513
- Markham, K.R. 1988. The flavonoids: Advances in research since 1980. (Ed. Harborne, J.B.) Chapman and Hall. London, UK. p. 427
- Mateos, P.F. 2003. Metabolitos secundarios. Producción industrial de metabolitos secundarios. [en línea]. Disponible en: <http://www.MetabolitosSecundarios.html> [Consulta: Agosto 2003].
- Méndez, G. 1996. Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf y sus extractos. Tesis de Maestría. IFAL. Ciudad de La Habana, Cuba. p. 36
- Midjavila, S. 1990. Sustancias nocivas en los alimentos. En: Toxicología de los alimentos. (Ed. Derache, R.). Omega. Barcelona, España. p. 109
- Min, B.R.; McNabb, W.C.; Barry, T.N. & Kemp, P.D. 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
- Mochiutti, S. 1995. Comportamiento agronómico y calidad nutritiva de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. bajo defoliación manual y pastoreo en el trópico húmedo. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 144 p.
- Mueller-Harvey, Irene. 2001. Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology.* 91:3
- Mueller-Harvey, Irene & Mc Allan, A.B. 1992. Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: Advances in plant cell biochemistry and biotechnology. IM:JAI Press Ltd. London, UK. p. 151
- Nelson, K.E.; Pell, A.N.; Doane, P.H.; Giner-Chávez, B. & Schofield, P. 1997. Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins. *J. Chem. Ecol.* 23:1175
- Nwannenna, A.I.; Madej, A.; Lundh, T.J.O. & Fredriksson, G. 1994. Effects of oestrogenic silage on some clinical and endocrinological parameters in ovariectomized heifers. *Acta Vet. Scand.* 35 (2):173
- Ojeda, F. 1996. Factores antinutricionales presentes en los árboles forrajeros. Conferencia del Diplomado en Silvopastoreo. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. s.p.
- Pellissier, F. 1994. Effect of phenolic compounds in humus on the natural regeneration of spruce. *Phytochemistry.* 36 (4):865
- Perchellet, E.M.; Gali, H.U.; Makkar, H.P.S. & Perchellet, J.P. 1996. Ability of tannins extracted from the leaves of various trees and shrubs to inhibit the biomarkers of tumors promotion in mouse skin *in vivo*. *International Journal of Oncology.* 9:801
- Polya, G.M. & Foo, L.Y. 1994. Inhibition of eukaryote signal-regulated protein kinases by plant - derived catechin-related compounds. *Phytochemistry.* 35 (6):1399
- Poulton, J.E. 1990. Cyanogenesis in plants. *Plant Physiol.* 94:401

- Ramos, G.; Frutos, P.; Giráldez, F.J. & Mantecón, A.R. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Arch. Zootec.* 47 (180):597
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:439
- Raskin, I.; Skubatz, H.; Tang, W. & Meeuse, B.J.D. 1990. Salicylic acid levels in thermogenic and nonthermogenic plant. *Ann. Bot.* 66:376
- Schofield, P.; Mbugua, D.M. & Pell, A.N. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology.* 91:21
- Singleton, V.L.; Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, Rosa. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.* 299:152
- Sotelo, Ángela; Contrera, E. & Flores, S. 1995. Nutritional value and content of antinutritional compounds and toxics in ten wild legumes of Yucatan Peninsula. *Plant Food.* 47:115
- Sotelo, Ángela; Sousa, H. & Sánchez, M. 1995. Comparative study of the chemical composition of wild and cultivate beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Food Human Nutrition.* 43:93
- Stafford, Helen. 1997. Roles of flavonoids in symbiotic and defense functions in legumes roots. *The Botanical Review.* 63 (1):27
- Stranburger, E.; Noll, F.; Schenk, H. & Schimper, A.F.W. 1994. Tratado de Botánica. Marín. Barcelona, España. 520 p.
- Suck-Joon, P.; Sang-Gil, L.; Sang-Cheol; Boum-Young, L. & Young-Joon, A. 1997. Larvicidal and antifeeding activities of oriental medicinal plant extracts against four species of forest insect pest. *Appl. Entomol. Zool.* 32 (4):601
- Sun, B.; Ricardo da Silva, J.M. & Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46:4267
- Thomsen, K. 1997. Cyanogenic constituents in woody plants in natural lowland rain forest in Costa Rica. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 124:273
- Torpoco, Virginia & Garbarino, J.A. 2003. Estudio de hongos chilenos I. Metabolitos en *Geasprum triplex* Jungh. [en línea]. Disponible en: [http://www.TECNIA.\(1998\)8\(2\).html](http://www.TECNIA.(1998)8(2).html). [Consulta: Agosto 2003].
- Valdés, R. & Balbín, María Irene. 2000. Curso de fisiología y bioquímica vegetal. UNAH. La Habana, Cuba. 89 p.
- Waterhouse, A.L.; Price, S.F. & McCord, J.D. 1999. Reversed-phase high- performance liquid chromatography. *Meth. Enzymol.* 299:113
- Willis, R.B. & Allen, P.R. 1998. Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. *Analyst.* 123:435
- Wolfgang, G.C. & Shelton, I.D. 1995. Effect of condensed tannins in *Lotus pendunculatus* on the nutritive value of ryegrass (*Lotus perenne*) fed to sheep. *J. Agric. Sci.* 125:291

Recibido el 21 de octubre del 2003

Aceptado el 3 de diciembre del 2003