

Artículo científico

Sistema silvopastoril con *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray: efecto en la población microbiana ruminal de vacas

Silvopastoral system with *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray: effect on the rumen microbial population of cows

Juana L. Galindo-Blanco, Idalmis Rodríguez-García, Niurca González-Ibarra, Roberto García-López y Magaly Herrera-Villafranca

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Correo electrónico: jgalindo@ica.co.cu

Resumen

Se realizó un experimento con el objetivo de evaluar el efecto de un sistema silvopastoril (SSP) con *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, asociada a una mezcla de gramíneas tropicales, sobre la población microbiana ruminal de vacas lecheras en condiciones de producción. Se utilizaron 100 vacas Holstein, que pastaron en un sistema de punteros y continuadores, con tiempo de estancia de dos días. El pastoreo en *T. diversifolia* fue nocturno, y los animales permanecieron desde las 5:00 p.m. hasta las 5:00 a.m. Para la colecta del líquido ruminal se seleccionaron al azar seis vacas en cada uno de los muestreos. Las poblaciones de bacterias viables totales, amilolíticas y celulolíticas fueron más numerosas cuando las vacas pastaron sobre el SSP con *T. diversifolia*, respecto al pastoreo de gramíneas. Los valores de metanógenos fueron de 9,83 y 19,33 10^{10} UFC mL⁻¹, y los de protozoos, de 4,67 y 7,67 10^5 células mL⁻¹ para SSP con *T. diversifolia* y gramíneas, respectivamente. El pH y el NH₃ resultaron superiores en el SSP. La biomasa microbiana mostró valores de 196,9 y 192,3 g, y la materia orgánica que se fermentó, de 547,2 y 506,4 g para SSP y gramíneas, respectivamente. Se concluye que el sistema silvopastoril con *T. diversifolia* mejoró el ecosistema ruminal, al incrementar los organismos degradadores de la fibra y reducir los protozoos y metanógenos; así como poner a disposición del animal mayor cantidad de materia orgánica fermentada para la síntesis de proteína microbiana.

Palabras clave: bacteria metanógena, pastoreo, protozoa, rumen.

Abstract

A trial was conducted in order to evaluate the effect of a silvopastoral system with *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, associated with a mixture of tropical grasses, on the rumen microbial population of dairy cows under production conditions. One hundred Holstein cows were used, which grazed in a leader-follower system, with permanence time of two days. The grazing in *T. diversifolia* occurred at night, and the animals remained from 5:00 p.m. until 5:00 a.m. For the rumen liquid collection six cows were randomly selected in each of the sampling times. The populations of total viable, amylolytic and cellulolytic bacteria were more numerous when the cows grazed on the SPS with *T. diversifolia*, with regards to grass grazing. The methanogen values were 9,83 and 19,33 10^{10} CFU mL⁻¹, and the protozoa values, of 4,67 and 7,67 10^5 cells mL⁻¹ for SPS with *T. diversifolia* and grasses, respectively. The pH and NH₃ were higher in the SPS. The microbial biomass showed values of 196,9 and 192,3 g, and the organic matter that was fermented, of 547,2 and 506,4 g for SPS and grasses, respectively. It is concluded that the silvopastoral system with *T. diversifolia* improved the rumen ecosystem, by increasing the organisms that degrade fiber and reducing protozoa and methanogens; as well as making a higher quantity of fermented organic matter for the synthesis of microbial protein available for the animal.

Keywords: grazing, methanogenic bacterium, protozoa, rumen

Introducción

En la actualidad se realizan esfuerzos encaminados a diversificar la oferta forrajera en los sistemas ganaderos tradicionales y se promueve la implementación de sistemas silvopastoriles, entre los que se destaca de manera particular *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Gallego-Castro *et al.*, 2017a), la cual puede constituir una buena alternativa en la alimentación del ganado.

Entre sus características nutricionales se destaca el contenido de proteína, los carbohidratos solubles y el contenido de taninos, indicadores importantes que deben analizarse, ya que estos componentes pueden ayudar a mejorar el balance alimenticio en cuanto al aporte de energía y proteína en la dieta del ganado lechero (Gallego-Castro *et al.*, 2017b; Mahecha-Ledesma y Angulo-Arizala, 2017).

A su vez, el aporte de proteína puede contribuir a mejorar el balance ruminal e incrementar la eficiencia para la transformación del amoníaco en proteína microbiana, lo que implicaría menores costos energéticos por pérdidas de amoníaco, metano y CO₂ ruminales, que disminuyen la posible contaminación ambiental.

En cuanto a los metabolitos secundarios, Galindo *et al.* (2017) informaron que la presencia de fenoles totales, taninos, saponinas, entre otros compuestos, es variable en la planta. Así mismo, Hess (2006) señaló que los taninos están asociados con la reducción en la producción de metano; ello coincide con lo reportado por Galindo *et al.* (2012), quienes hallaron que la inclusión de 10 y 20 % de *T. diversifolia* produjo reducciones en la población de metanógenos ruminales.

Gallego-Castro (2016) demostró que un sistema silvopastoril (SSP) de *T. diversifolia* asociado con kikuyo incrementó la producción de leche, así como su calidad. En este sentido, García-López *et al.* (2016) también hallaron incrementos en la producción cuando utilizaron un SSP con esta especie.

Las características nutricionales de *T. diversifolia* ejercen un efecto importante en el rendimiento productivo de los animales; sin embargo, los estudios relacionados con su influencia sobre la ecología ruminal se han conducido en condiciones *in vitro* e *in situ*, y no existen reportes de su efecto en condiciones de producción. De ahí que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un sistema silvopastoril con *T. diversifolia*, asociada a una mezcla de gramíneas tropicales, sobre la población microbiana ruminal en vacas lecheras en condiciones de producción.

Materiales y Métodos

Localización. El experimento se realizó durante los años 2012-2016, en las áreas de pastoreo de la unidad lechera G-2, ubicada entre los 22° 54' 44.94" LN y los 82° 00' 38.34" LW y a 83 msnm: dicha unidad pertenece al Instituto de Ciencia Animal (ICA), en el municipio de San José de las Lajas –provincia Mayabeque, Cuba.

Características edafoclimáticas. Las áreas experimentales se encuentran situadas sobre un suelo Ferrálico Rojo éutrico de rápida desecación, arcilloso y profundo sobre calizas, equivalente al subtipo Cambisol ferralítico rodico (Hernández-Jiménez *et al.*, 2015). La temperatura media anual de la región fue de 24,9 °C. Se registraron máximas entre los 32,7 y 33,5 °C, y mínimas entre los 21,5

y 22,5 °C. La precipitación media anual fue de 1 361 mm, y la humedad relativa promedio anual, de 80,9 % (Estación Meteorológica del Instituto de Ciencia Animal, San José de las Lajas, Mayabeque).

Siembra y establecimiento. El sistema SPP de *T. diversifolia* se sembró de forma estratificada, durante los años 2011-2013, en un área de 9 ha. Con posterioridad se sembraron 20,4 ha durante los años 2015 y 2016 hasta completar un total de 29,4 ha. Como material de propagación se utilizó material vegetal del banco de germoplasma del ICA, según lo propuesto por Ruiz *et al.* (2014) para su utilización en sistemas de pastoreo. Se realizó una preparación convencional del suelo durante el periodo lluvioso, en doble surcos a 0,5 m entre ellos, con una distancia de espaciamiento de 4 m. En el caso de las gramíneas, estas se regeneraron del material presente en el suelo.

Composición florística del pastizal. Durante más de 15 años esta área de la unidad (53,6 ha) estuvo empastada con una mezcla de gramíneas tropicales integrada por *Cynodon nlemfuensis* (pasto estrella), *Megathyrsus maximus* (Jacq.) (guinea) y mezcla de pastos naturales, con predominio de *Dichanthium caricosum* (L.) y *Sporobolus indicus* (L.). El SSP se estableció con una densidad de 6 912 plantas de *T. diversifolia* ha⁻¹. La proporción estimada del estrato arbóreo-herbáceo en una hectárea fue de 20:80, respectivamente.

Manejo de los animales y pastoreo. Se utilizaron 100 vacas Holstein, las que pastaron en un sistema de punteros y continuadores, con tiempo de estancia en el cuartón de SSP de dos días. El pastoreo fue nocturno y los animales permanecieron desde las 5:00 p.m. hasta las 5:00 a.m. En el horario de la mañana pastaban la mezcla de gramíneas. Cada uno de los ciclos de pastoreo en el SSP tuvo una duración de 15-20 días. Al finalizar, los animales pastaron en el resto del área de las gramíneas hasta completar 80-90 días de descanso para la arbórea, y la carga animal fue de 2,2 a 2,7 vacas ha⁻¹.

Procedimiento experimental

Las vacas tuvieron un período de adaptación a la dieta (SSP o gramíneas) de 10 días, antes de cada uno de los muestreos del líquido ruminal. En cada ciclo de muestreo se trabajó con seis vacas.

Los muestreos del líquido ruminal se efectuaron después del ordeño de la mañana, con una sonda esofágica. El líquido ruminal que se colectó fue guardado en termos con cierre hermético, para garantizar las condiciones de temperatura (39 °C) y anaerobiosis durante el traslado al laboratorio.

La composición química de *T. diversifolia* presentó valores de 24,2; 5,9; 2,3; 0,4; 35,3 y 30,4 % para PB, ceniza, calcio, fósforo, fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA), respectivamente.

Esta planta en las pruebas cualitativas del tamizaje fitoquímico presentó moderadas concentraciones de taninos (++) , saponinas (++) , triterpenos (++) , esteroides (++) y alcaloides (++) ; así como altas concentraciones de reductores (+++) y bajas de antocianidinas (+).

Análisis y determinaciones

Cultivo de microorganismos del rumen. Se utilizó la técnica de cultivo de Hungate (1950), en tubos rodados y en condiciones de anaerobiosis estricta. La siembra de bacterias viables totales, celulolíticas y proteolíticas se efectuó en los medios de cultivo de Caldwell y Bryant (1966). En el caso de las bacterias proteolíticas, se adicionó un 10 % de leche descremada. Para la determinación de la población de hongos se empleó el medio de cultivo de Joblin (1981). Los microorganismos metanogénicos se cultivaron mediante la misma técnica, con una mezcla de los gases hidrógeno y dióxido de carbono en relación 60:40. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonia (UFC) para las bacterias y en unidades formadoras de talo (UFT) para los hongos por mililitro de líquido del rumen (mL) en la dilución determinada.

Los protozoos se contaron directamente al microscopio óptico en cámara de Neubauer, después de teñirlos con una solución de violeta genciana al 0,01 % en ácido acético glacial. De igual manera, los conteos se expresaron como células por mililitro de líquido del rumen (mL) en la dilución determinada. Para realizar los conteos de protozoos estos se preservaron en una solución de formol al 10 % en una dilución 1:1 (v/v).

El pH se determinó mediante lectura en pH metro digital marca Sartorius®.

La concentración de NH_3 se determinó según la técnica descrita por Conway (1957). La concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y los ácidos grasos individuales se determinaron mediante cromatografía gaseosa.

Cálculo del balance estequiométrico de la fermentación ruminal. Se utilizó el programa BALANCE-RUMETANO para estimar el balance estequiométrico de la fermentación ruminal y la contribución al metabolismo animal (Stuart, 2015). Igualmente, se calculó la biomasa bacteriana (BB) y la materia orgánica fermentada en rumen (MOF).

Procesamiento estadístico. Se verificaron los supuestos teóricos del análisis de varianza para las variables en estudio, a partir de las dójimas de Shapiro Wilk (1965) para la normalidad de los errores y de Levene (1960) para la homogeneidad de varianza; mientras que los conteos de microorganismos viables se transformaron según $\ln N$, con el fin de garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento. En el análisis se aplicó la fórmula $(K + N) \cdot 10^x$, donde: K es la constante que representa el logaritmo de la dilución en la cual se inoculó el microorganismo; N es el logaritmo del conteo de colonias determinado como UFC mL^{-1} , UFT mL^{-1} o células mL^{-1} ; 10 es la base de los logaritmos y x es la dilución a la cual se efectuó la inoculación; los conteos de microorganismos no cumplieron con los supuestos teóricos del ANOVA, por lo que se empleó para el análisis la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

Resultados

En la tabla 1 se muestra el efecto del pastoreo en el SSP con *T. diversifolia* sobre las poblaciones de microorganismos del rumen, respecto al pastoreo de gramíneas. Las poblaciones de bacterias viables totales, amilolíticas y celulolíticas fueron más numerosas, con diferencias estadísticas significativas cuando las vacas pastaron sobre el SSP en relación con el pastoreo de gramíneas. Asimismo, en *T. diversifolia* se redujo la población de protozoos del rumen. A su vez, no hubo efecto del SSP en las poblaciones de bacterias proteolíticas y hongos celulíticos del rumen; mientras que se encontró efecto depresivo, con diferencias significativas, en los metanógenos ruminales. Cuando las vacas pastaron en *T. diversifolia*, se observó una reducción en aproximadamente dos veces en la población de microorganismos que producen metano en el rumen.

En relación con el pH del líquido del rumen, se encontraron valores altamente significativos ($p < 0,0001$) cuando las vacas pastaron en el SSP (tabla 2). Este efecto se puede atribuir al incremento en la concentración de amoníaco ruminal, debido al elevado tenor en PB de *T. diversifolia*.

En cuanto a los ácidos grasos de cadena corta, se observó mayor concentración en los ácidos grasos volátiles totales (AGCC t), acético, propiónico e isobutírico cuando los animales pastaban en este sistema. Además, la concentración de ácido valérico fue altamente significativa ($p < 0,0001$) en los animales que pastaron en el SSP.

Tabla 1. Efecto del pastoreo en SSP con *T. diversifolia* en las poblaciones microbianas del rumen en vacas lecheras.

Indicador	Tratamiento		P-Valor
	SSP con <i>T. diversifolia</i>	Gramíneas	
Bacterias viables totales, 10^{11} UFC mL ⁻¹	9,25 (19,33) \pm 4,18	3,75 (10,83) \pm 3,60	P = 0,0065
Bacterias amilolíticas, 10^6 UFC mL ⁻¹	9,0 (7,33) \pm 3,83	4,0 (2,50) \pm 0,55	P = 0,0216
Bacterias proteolíticas, 10^6 UFC mL ⁻¹	5,0 (8,17) \pm 3,06	8,0 (11,67) \pm 4,97	P = 0,1580
Bacterias celulolíticas, 10^5 UFC mL ⁻¹	8,75 (8,83) \pm 2,93	4,25 (5,0) \pm 2,45	P = 0,0303
Hongos, 10^6 UFT mL ⁻¹	7,92 (8,33) \pm 2,25	5,08 (6,33) \pm 2,58	P = 0,1385
Metanógenos, 10^{10} UFC mL ⁻¹	2,29 (9,83) \pm 2,64	2,96 (19,33) \pm 2,64	P = 0,0022
Protozoos, 10^5 células mL ⁻¹	5,08 (4,67) \pm 1,51	7,92 (7,67) \pm 3,50	P = 0,0191

UFC: unidades formadoras de colonias, UFT: unidades formadoras de talos, DE: desviación, () medias originales

Tabla 2. Efecto del pastoreo en SSP con *T. diversifolia*, sobre el pH y los productos finales de la fermentación en vacas lecheras.

Indicador	Tratamiento		EE \pm	P-Valor
	SSP con <i>T. diversifolia</i>	Gramíneas		
pH	6,78	6,37	0,04	0,0001
NH ₃ , meq L ⁻¹	35,13	24,17	2,05	0,0036
AGCC t, mmol L ⁻¹	71,13	65,83	1,41	0,0244
Ácido acético, mmol L ⁻¹	45,60	40,67	1,16	0,0134
Ácido propiónico, mmol L ⁻¹	11,83	10,58	0,34	0,0278
Ácido isobutírico, mmol L ⁻¹	0,46	0,36	0,02	0,0028
Ácido butírico, mmol L ⁻¹	11,45	12,48	1,47	0,6301
Ácido isovalérico, mmol L ⁻¹	1,20	0,99	0,07	0,0705
Ácido valérico, mmol L ⁻¹	0,63	0,46	0,02	0,0001

AGCCt: ácidos grasos de cadena corta totales

La cantidad de biomasa microbiana en el rumen de las vacas que pastaron en el SSP y en las gramíneas fue de 196,9 y 192,3 g, respectivamente. A su vez, la cantidad de materia orgánica que se fermentó tuvo valores de 547,2 y 506,4 g para SSP y gramíneas, respectivamente.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos a partir del cálculo del balance estequiométrico de la fermentación ruminal y los patrones de fermentación. El patrón de fermentación fue acético, tal y como se produce en el rumen de animales que consumen dietas fibrosas, con porcentajes molares de 66,7 y 64,0 % para los animales que pastaban en SSP y en gramíneas, respectivamente, sin diferencias entre ambos pastoreos. No se apreciaron diferencias estadísticas en el aporte en glucosa, dióxido de carbono, metano y agua, calculado a partir de la concentración de ácidos grasos volátiles.

Discusión

T. diversifolia se destaca por su capacidad para la acumulación de nitrógeno (Ruiz *et al.*, 2017) y por sus características nutricionales, tales como: el contenido de proteína, los carbohidratos solubles (Mejías-Díaz *et al.*, 2017) y el contenido de taninos (La O *et al.*, 2012); los que pueden contribuir a mejorar el balance nutricional en los animales, en relación con el aporte de energía y proteína en la dieta del ganado lechero. A ello se añade que estudios realizados por Sauviant *et al.* (2011), a partir de una compilación de 59 experimentos, mostraron que la producción de CH₄ por kilogramo de MO digerida disminuyó de manera lineal cuando se incrementó el contenido en PC de los alimentos (CH₄, g/kg MO digerible = 40,1 – 0,32 \times PC, porcentaje de MS).

En el presente experimento se demostró un efecto depresivo en la población de protozoos

Tabla 3. Efecto del pastoreo en SSP con *T. diversifolia*, sobre el patrón de fermentación y balance estequiométrico del rumen en vacas lecheras.

Indicador	Tratamiento		EE \pm	P-Valor
	SSP con <i>T. diversifolia</i>	Gramíneas		
acético, %	66,69	63,96	2,32	0,4267
propiónico, %	17,43	16,49	0,37	0,1062
butírico, %	16,06	19,55	2,09	0,2642
Glucosa, g	55,23	56,78	1,07	0,3329
CO ₂ , g	61,70	65,43	2,03	0,2240
Metano, g	36,93	37,63	0,28	0,1072
Agua, mL	24,77	27,79	2,20	0,3545

cuando las vacas pastaron sobre el SSP con *T. diversifolia*. Al respecto, se ha demostrado que los metabolitos secundarios de estas plantas ejercen efectos defaunantes, al reducir la población de protozoos del rumen.

Galindo *et al.* (2017) indicaron que dicho efecto es directo sobre la población de protozoos e indirecto sobre las bacterias celulolíticas, debido a que los protozoos engolfan enormes cantidades de estos grupos microbianos durante el día y, consecuentemente, mejoran la eficiencia digestiva. De igual manera, protegen de forma natural la proteína, lo que reduce su fermentación en el rumen.

El efecto hallado en el incremento de la población de bacterias viables totales pudo tener su explicación en que la defaunación incrementa la población de bacterias viables totales en el rumen, según reportes de Galindo *et al.* (2014). Los autores han indicado que los protozoarios ingieren grandes volúmenes de bacterias y mantienen constante su población en el rumen, de modo que la defaunación implica la desaparición de las relaciones ecológicas (predación y competencia) que afectan el tipo, la distribución genérica y la actividad metabólica de la población fúngica y bacterial del ecosistema ruminal.

De igual manera, los protozoos ejercen acción depredadora selectiva sobre determinadas bacterias celulolíticas del rumen (Leguizamón y Carreño, 2013). Los protozoos del tipo A, entre ellos *Polyplastrum multivesiculatum*, actúan como predadores de las bacterias celulolíticas, tales como *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Ruminococcus flavefaciens*; mientras que los protozoos del tipo B, como *Epidinium ecaudatum*, *Eremoplastron bovis* y *Eudiplodinium maggii*, actúan como predadores de las bacterias celulolíticas a una velocidad menor.

Entre las ventajas más importantes de la defaunación se encuentran: los incrementos en la

población de microorganismos celulolíticos, la estabilización del pH del rumen, el decrecimiento del amoníaco libre, la reducción de la metanogénesis, y el incremento en la eficiencia de utilización digestiva de diferentes dietas, fundamentalmente las fibrosas. Estos resultados coinciden con reportes de compilación de Hristov (2013), en los cuales se asevera que el aporte más sobresaliente de la reducción de protozoos en el rumen es que mejora el metabolismo energético y reduce las pérdidas por concepto de producción de metano, que es un contaminante ambiental. Tal efecto quedó demostrado en esta investigación.

Leng (2014) informó que la defaunación reduce la emisión entérica de CH₄, debido al flujo de células microbianas desde el rumen y a la reducción en la relación acetato/propionato, eventos que se consideran sumideros de electrones. En esta investigación, al calcular las relaciones entre los diferentes ácidos grasos en el rumen, se encontró que la relación acético/AGCct fue de 0,64 y 0,62 para la fermentación de *T. diversifolia* y gramíneas, respectivamente; mientras que la relación propiónico/AGCct fue de 0,17 y 0,16 para el rumen de los animales que pastaron en *T. diversifolia* y gramíneas, respectivamente. Por su parte, la relación acético/propiónico fue de 3,85 y 3,84 para el rumen cuando los animales pastaban en *T. diversifolia* y gramíneas, respectivamente.

Reportes de Ramírez *et al.* (2014) aseveran que la relación existente entre metanógenos y protozoos constituye un ejemplo fehaciente de la transferencia de H₂ entre especies ruminales. Se ha detectado la presencia de metanógenos en la superficie de protozoos ciliados del rumen y como endosimbiontes dentro de estos, y se ha estimado que dicha presencia es responsable del 9 al 25 % de la metanogénesis en el líquido ruminal. Dado que en el rumen

no es posible la respiración aeróbica, los protozoos no contienen mitocondrias, sino organelas intracelulares denominadas hidrogenosomas, en las que se libera el H_2 que se produce durante la oxidación del piruvato o malato. Se ha observado una estrecha relación entre los metanógenos y las hidrogenosomas. La ventaja de esta cooperación para el protozoario es evidente: la eliminación de H_2 permite que el protozoo fermente la materia orgánica hasta acetato y CO_2 , lo que evita la generación de productos reducidos como etanol y lactato, proceso que permite obtener una máxima producción de ATP.

La respuesta al uso de SSP con *T. diversifolia* en relación con el efecto depresivo en la población de metanógenos puede tener su explicación en el hecho de que estos viven en forma endosimbiótica sobre los protozoos del rumen (Galindo *et al.*, 2012), y cualquier efecto que contribuya a eliminar los protozoos del rumen contribuirá de manera decisiva a reducir las poblaciones productoras de metano. Se conoce que las Archaea metanógenas son microorganismos estrictamente anaeróbicos, principalmente pertenecen al orden Metanobacteriales (Ramírez *et al.*, 2014). De cualquier manera, las relaciones microbianas en el rumen son complejas, y mucho más aún lo son las rutas fermentativas que utilizan o producen H_2 , ya que los microorganismos pueden cambiar sus patrones de fermentación en respuesta a pequeñas diferencias en la conservación de energía, dejando de utilizar rutas termodinámicamente menos favorables.

Lo anteriormente planteado pudiera explicar la respuesta hallada en la concentración de ácido isovalérico y valérico en el rumen cuando las vacas consumieron gramíneas, en relación con aquellas que accedieron al pastoreo con *T. diversifolia*, debido a que se ha demostrado que el aumento en la presión parcial de hidrógeno en el rumen también reduce la desaminación de aminoácidos reducidos, incluyendo los de cadena ramificada.

Los resultados de las relaciones entre los AGCC en el rumen parecen indicar que el mecanismo mediante el cual el follaje de esta planta actúa es muy complejo e implica otros factores, tal como la degradabilidad de la proteína en el rumen. Leng (2014) propuso un posible mecanismo mediante el cual las proteínas solubles propician mayores volúmenes de metano en rumen, mientras que aquellas menos solubles pueden pasar a las partes bajas del TGI.

Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2014) señalaron que cuando se suplementa con follaje de árboles

o arbustos se producen incrementos en la proteína bacteriana y proteína sobrepasante, se reduce la degradación de las proteínas y se incrementa su flujo al duodeno, lo cual asegura mayor absorción de nitrógeno. Esto cambia de manera importante los conceptos evaluados hasta el presente, y se le atribuye un lugar preponderante al metabolismo de las proteínas en el rumen cuando los animales pastan en sistemas silvopastoriles.

Conclusiones

El sistema silvopastoril con *T. diversifolia* mejoró el ecosistema ruminal, al incrementar los organismos degradadores de la fibra y reducir los metanógenos y protozoarios, aspecto importante que contribuye a incrementar la eficiencia de utilización de los nutrientes y minimizar las pérdidas energéticas en los rumiantes. De igual manera, se pone a disposición del animal mayor cantidad de materia orgánica fermentada para la síntesis de proteína microbiana.

Agradecimientos

La investigación "Sistema silvopastoril con *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray: efecto en la población microbiana ruminal de vacas", se realizó como parte del proyecto de investigación nacional "Establecimiento y evaluación de un SSP con *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray en la producción de leche (Código: P131-LH002-012, Programa Nacional de Producción de Alimento Animal)".

Referencias bibliográficas

- Caldwell, D. R. & Bryant, M. P. Medium without fluid for non-selective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Appl. Microbiol.* 14 (5):794-801, 1966.
- Conover, W. J. *Practical nonparametric statistics*. New York: John Wiley & Sons Inc., 1998.
- Conway, E. J. *Microdiffusion analysis and volumetric error*. London: Lockwood, 1957.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, Mónica G.; González, Laura A.; Tablada, M. & Robledo, C. W. *InfoStat versión 2012*. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, 2012.
- Hristov, A. N.; Oh, J.; Lee, C.; Meinen, R.; Montes, F.; Ott, T. *et al. Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera – Una revisión de las opciones técnicas para la reducción de las emisiones de gases diferentes al CO_2* . (Eds. P. J. Gerber, B. Henderson y H. P.S. Makkar. Producción y Sanidad Animal FAO Documento No. 177. Roma, Italia: FAO, 2013

- Galindo, Juana; González, Niurca; Marrero, Yoandra; Sosa, Areadne; Ruiz, T. R.; Febles, G. *et al.* Effect of tropical plant foliage on the control of methane production and in vitro ruminal protozoa population. *Cuban J. Agric. Sci.* 48 (4):359-364, 2014.
- Galindo, Juana; González, Niurca; Scull, Idania; Marrero, Yoandra; Moreira, Onidia & Ruiz, T. R. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray and its effect on the rumen population and microbial ecology. In: L. Savón, O. Gutiérrez and G. Febles, eds. *Mulberry, moringa and tithonia in animal feed, and other uses. Results in Latin American and the Caribbean*: FAO, EDICA, ICA. 2017.
- Galindo, Juana; González, Niurca; Scull, Idania; Marrero, Yoandra; Sosa, Areadne; Aldana, Ana I. *et al.* Effect of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Albizia lebbbeck* Benth and *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (plant material 23) on the methanogen population and on the ruminal microbial ecology. *Cuban J. Agric. Sci.* 46 (3):273-278, 2012.
- Gallego-Castro, L. A. *Evaluación agronómica y análisis productivo del botón de oro (Tithonia diversifolia Hemsl. A Gray) como suplemento alimenticio de vacas lecheras en trópico alto*. Tesis en opción al título de M.Sc. Sistemas de producción animal. Antioquía, Colombia: Universidad de Antioquía, 2016.
- Gallego-Castro, L. A.; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. Calidad nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray bajo tres sistemas de siembra en el trópico alto. *Agron. Mesoam.* 28 (1):213-222, 2017a. doi:http://10.15517/am.v28i1.21671
- Gallego-Castro, L. A.; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. Producción, calidad de leche y beneficio:costo de suplementar vacas Holstein con *Tithonia diversifolia*. *Agron. Mesoam.* 28 (2):357-370, 2017b. doi:http://10.15517/ma.v28i2.25945
- García-López, R.; Rodríguez, Idalmis & González, María R. Opción de pastoreo con *Tithonia diversifolia* en vacas lecheras. *Memorias de la IV Convención Internacional AGRODESARROLLO 2016*. Matanzas, Cuba: EEPF Indio Hatuey. p. 1467-1469, 2016.
- González-Castillo, J. C.; Castillo, C.; Hahn von-Hessberg, C. M. & Narváez-Solarte, W. Características botánicas de *Tithonia diversifolia* (Asterales: *Asteraceae*) y su uso en la alimentación animal. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. U. de Caldas.* 18 (2):45-58, 2014.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA, 2015.
- Hess, H. D.; Gómez, J. & Lascano, C. E. Producción de leche de vacas en pastoreo suplementadas con mezclas de leguminosas con y sin taninos. *Segundo taller taninos en la nutrición de rumiantes en Colombia*. Publ. CIAT 352. Palmira, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2006.
- Hungate, R. G. The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 14 (1):1-49, 1950.
- Joblin, K.N. Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes. *Appl. Environ. Microb.* 42 (6):1119-1122, 1981. doi:htp://0099-2240/81/121119-04\$02.00/0
- La O, O.; González, H.; Orozco, A.; Castillo, Y.; Ruiz, O.; Estrada, A. *et al.* Composición química, degradabilidad ruminal *in situ* y digestibilidad *in vitro* de ecotipos de *Tithonia diversifolia* de interés para la alimentación de rumiantes. *Rev. cubana Cienc. agric.* 46 (1):47-53, 2012.
- Leguizamón-Mejía, Johanna & Carreño-Devia, Fanny P. *Defaunación ruminal, un mecanismo favorable en la eficiencia nutricional de bovinos*. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, 2013.
- Leng, R. A. Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shifts in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation. *Anim. Prod. Sci.* 54:519-543, 2014. doi:https://doi.org/10.1071/AN13381
- Levene, H. 1960. Robust tests for the equality of variance. In: I. Olkin, ed. *Contributions to probability and statistics. Essays in honor of Harold Hotelling*. USA: Stanford University Press. p. 278-292, 1960.
- Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. Experiencia investigativa sobre *Tithonia diversifolia* en la Universidad de Antioquia. *IX Congreso Internacional de Sistemas Silvopastoriles "Aportes de la ganadería a los objetivos de desarrollo sostenible"*. Manizales, Colombia: Red Global Silvopastoril. p. 446-447, 2017.
- Mejías-Díaz, Estefanía; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. Consumo de materia seca en un sistema silvopastoril de *Tithonia diversifolia* en trópico alto. *Agron. Mesoam.* 28 (2):389-403, 2017. doi:http://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.23561
- Ramírez, J. F.; Posada-Ochoa, Sandra & Noguera, R. Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación. *Rev CES Med. Zotec.* 9 (2):307-323, 2014.
- Ruiz, T. E.; Febles, G. J.; Galindo, Juana; Savón, Lourdes; Chongo, Bertha *et al.* *Tithonia diversifolia*, sus posibilidades en sistemas ganaderos. *Rev. cubana Cienc. agric.* 48 (1):79-82, 2014.

- Ruíz, T. E.; Alonso, J.; Febles, G. J.; Galindo, Juana; Savón, Lourdes; Chongo, Bertha. Evaluación de materiales recolectados de *Tithonia diversifolia* en Cuba. *Memorias del XI Congreso Internacional Silvopastoril. Aportes a los objetivos del desarrollo sostenible*. Manizales, Colombia: FEDEGAN, CIPAV, 2017.
- Rodríguez, R.; González, Niurca; Ramírez, A.; Gómez, Sarai; Moreira, O. & Sarduy, Lucía. Tannins of tropical shrub-like legumes: their effect on protein protection of soybean meal. *Cuban J. Agric. Sci.* 48 (3):247-252, 2014.
- Sauvant, D.; Giger-Reverdin, S.; Serment, A. & Broudiscou, I. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de methane par les ruminants. *Productions animales*. 24 (5):433-446, 2011.
- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. An analysis of variance test for normality. *Biometrika*. 52 (3/4):591-611, 1965. doi:http://10.2307/2333709
- Stuart, R. *BALANCE-RUMETANO: programa estadístico para el cálculo del balance estequiométrico de la fermentación ruminal*. Mayabeque, Cuba: Instituto de Ciencia Animal, 2015.

Recibido el 23 de noviembre del 2017

Aceptado el 29 de octubre del 2018