
EFEECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

EFEECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) GRAY EN LA POBLACIÓN DE METANÓGENOS Y PROTOZOOS DEL RUMEN

AUTORES:

Juana luz Galindo Blanco¹
Oreste La O León²
Tomas Ruiz Vázquez³
Alfredo González Vázquez⁴
Washington Narvaez Campana⁵

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: juanaluzgblanco@gmail.com

Fecha de recepción: 10/11/2018

Fecha de aceptación: 12/12/2018

RESUMEN

Tithonia diversifolia es una planta con alto potencial para la alimentación animal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes materiales vegetales (mv) en la población de metanógenos y protozoos del rumen, se empleó la técnica *in vitro* de producción de gases. Los tratamientos consistieron en los siguientes materiales vegetales de *T. diversifolia*: mv-3, mv-5, mv- 6, mv-10, mv- 13, mv-17, mv-23, mv-24 y mv-25. Éstos se compararon con un tratamiento control de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). Los muestreos se realizaron a las 3 horas posteriores a la incubación y se replicó 4 veces. El diseño experimental fue completamente aleatorizado. Los valores de proteína cruda (PC) oscilaron desde 18,26 en el mv- 3 hasta 26,40 para el caso del mv- 26. Las poblaciones de metanógenos fueron 27,7; 23,5; 21,3; 16,2; 20,0; 19,4; 12,4; 22,5 y 20,2. 10¹⁰ UFC/mL para pasto estrella y los mv de *T. diversifolia* 3, 5, 6, 10, 13, 17, 23, 24 y 25, respectivamente. Las poblaciones de protozoos en el tratamiento control fueron de 48. 10⁵ células/mL y 14; 11; 10; 7; 10; 9; 4; 10 y 9, para los mv -3, mv-5, mv-6, mv-10, mv-13, mv-17, mv-23, mv-24 y mv-25, respectivamente. Se destacan como los más promisorios para reducir los metanógenos y protozoos del rumen,

Ficha curricular del autor 2. Investigador Auxiliar, Departamento de manejo y alimentación de rumiantes , Instituto de Ciencia Animal, San José de las Lajas, Mayabeque Cuba. olao@ica.co.cu

Ficha curricular del autor 3. Investigador Titular, Departamento de Ciencias de los pastos, Instituto de Ciencia Animal, San José de las Lajas, Mayabeque Cuba. teruizv@ica.co.cu

Ficha curricular del autor 4. Decano de la Facultad de Ciencias naturales y de la agricultura, Universidad E4statal del Sur de Manabí. Ecuador. decanato.cienciasnaturales@unesum.edu.ec

Ficha curricular del autor 5. Ing. Agrónomo. Carrera Ingeniería Agropecuaria, Universidad E4statal del Sur de Manabí. Ecuador. washingtonnarvaez61@hotmail.com

Juana luz Galindo Blanco, Orestes La O León, Tomás Ruiz Vásquez, Alfredo González Vásquez, Washington Narvaez Campana

los mv- 23 y mv -10. Se concluye que los materiales vegetales de *T. diversifolia* ejercen efecto depresivo en las poblaciones de metanógenos y protozoos y se destacan los mv -23 y mv-10 como los más promisorios para estos propósitos

Palabras clave: rumen, metanogénesis, titonia

EFFECT OF DIFFERENT VEGETABLE MATERIALS OF TITHONIA DIVERSIFOLIA (HEMSL.) GRAY IN THE POPULATION OF METHANOGENS AND PROTOZOOS DEL RUMEN

ABSTRACT

Tithonia diversifolia is a plant with high potential for animal feed. The objective of the present work was to evaluate the effect of different plant materials (vm) in the population of methanogens and rumen protozoa, the in vitro technique of gas production was used. The treatments consisted of the following plant materials of *T. diversifolia*: mv-3, mv-5, mv-6, mv-10, mv-13, mv-17, mv-23, mv-24 and mv-25. These were compared with a control treatment of star grass (*Cynodon nlemfuensis*). Samples were taken at 3 hours after incubation and replicated 4 times. The experimental design was completely randomized. Crude protein (CP) values ranged from 18.26 in mv-3 to 26.40 in the case of mv-26. The methanogen populations were 27.7; 23.5; 21.3; 16.2; 20.0; 19.4; 12.4; 22.5 and 20.2. 10^{10} CFU / mL for star grass and the mv of *T. diversifolia* 3, 5, 6, 10, 13, 17, 23, 24 and 25, respectively. The protozoa populations in the control treatment were 48. 105 cells / mL and 14; 11; 10; 7; 10; 9; 4; 10 and 9, for mv -3, mv-5, mv-6, mv-10, mv-13, mv-17, mv-23, mv-24 and mv-25, respectively. They stand out as the most promising to reduce the methanogens and protozoa of the rumen, the mv-23 and mv -10. It is concluded that the plant materials of *T. diversifolia* exert a depressive effect on the populations of methanogens and protozoa and the mv -23 and mv-10 stand out as the most promising for these purposes.

Keywords: rumen, methanogenesis, titonia

INTRODUCCIÓN

T. diversifolia (Hemsl.). Gray es comúnmente denominada girasolillo, botón de oro, titonia, mirasol, árnica de la tierra, quil amargo, etc., es una planta herbácea de la familia *Compositae*, (Asteracea), originaria de Centro América y naturalizada en Cuba y también, se introdujo en otros países tropicales del mundo (Maina, *et al*, 2012); esta especie presenta diversas cualidades que le dan un alto potencial para la producción animal (Nieves, *et al*, 2011), entre las que se pueden mencionar su tolerancia a suelos pobres, con una producción aproximada de 55 toneladas de materia seca por hectárea por año.

El follaje presenta adecuado valor nutricional (Verdecia, *et al*, 2011; La O, 2012), con contenidos de proteína de 14-36.6% y elevado contenido en minerales y los animales consumen la planta completa, preferentemente las hojas y flores (Maina, *et al*, 2012).

En cuanto a los metabolitos secundarios, Galindo, *et al* (2011), informó que la presencia de fenoles totales, taninos, saponinas, entre otros compuestos es variable en la planta. Así mismo, los taninos se asocian con la reducción en la producción de metano, lo que coincide con reportes de Galindo, *et al* (2011), quien encontró que la inclusión de 10 y 20 % de *T. diversifolia* produjo reducciones en la población de metanógenos ruminales. Ello se debe a que los taninos condensados forman enlaces con proteínas, lo que permitiría incrementar su flujo hacia el duodeno, donde será disponible para el animal debido al cambio de pH y a la acción enzimática.

En la actualidad se ha incrementado el uso de *T. diversifolia* para arreglos silvopastoriles o como forraje de corte y de acuerdo con Mahecha *et al* (2007), se puede incorporar en la dieta de rumiantes sin que se afecte su producción lechera.

EFFECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

Por las razones anteriormente mencionadas, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes materiales vegetales (MV) de *T. diversifolia* en las poblaciones de metanógenos y protozoos ruminales en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se condujo bajo condiciones *in vitro*, para lo cual se utilizó la técnica de Theodorou *et al.* (1994), donde se utilizaron botellas de 100 mL selladas para incubar las muestras de alimento en líquido de rumen y un medio tampón. En cada botella se introdujo 30 mL de la mezcla integrada por líquido de rumen y solución tampón en una relación de una parte de líquido ruminal, dos partes de solución tampón.

Se evaluaron los siguientes materiales vegetales (mv) de *T. diversifolia*: 3, 5, 6, 10, 13, 17, 23, 24 y 25. Los mismos se compararon con un tratamiento control de pasto estrella (*C. nlemfuensis*).

Las unidades experimentales consistieron en 0,5 g del material a evaluar y la mezcla integrada por líquido de rumen y solución tampón. Todas las unidades se colocaron aleatoriamente en el baño de incubación y a las 3 horas posteriores al inicio de la fermentación se retiraron para efectuar la siembra de metanógenos y preservar para posterior conteo de protozoos.

Se efectuaron cuatro réplicas en tiempo y cada una de ellas estuvo integrada por 10 botellas dentro del baño de incubación.

Colecta del follaje de *T. diversifolia*.

Para la colecta del follaje de *T. diversifolia*, se seleccionaron al azar 10 plantas de cada uno de los materiales vegetales. De las mismas, se colectaron las fracciones hojas + pecíolos y tallos jóvenes. Las plantas correspondientes a cada material vegetal se mezclaron hasta realizar un pool y se esparcieron sobre un plato de asfalto con el propósito de secar al sol durante 3 días consecutivos.

Todas las colectas procedían de la Estación de Pastos y Forrajes Miguel Sistach Naya, que pertenece al Instituto de Ciencia Animal, municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, a 92 m sobre el nivel del mar, 22°53' latitud norte y 82°02' longitud oeste. El suelo fercialítico, ondulado, con 4.84 % de materia orgánica, 0.26 % de nitrógeno total, 40.59 ppm de fósforo, 4.60 ppm de calcio, 0.46 ppm de magnesio y pH de 6.34. La fracción que se muestreó fue de 1 kg, una vez que se obtuvieron los diferentes materiales vegetales.

Los materiales vegetales de titonia, previamente secos, se molieron en un aparato de molienda Wiley hasta un tamaño de partículas de 1mm. De cada uno de los materiales vegetales se conservaron muestras de aproximadamente 100 g para posterior análisis bromatológico.

Animales donantes de líquido ruminal.

Para el desarrollo del experimento se utilizaron 4 búfalos de río Murrah (*Bubalus bubalis*) los que, a los efectos microbiológicos, se consideraron como animales donantes. Estos animales se mantuvieron bajo condiciones de estabulación y se les ofreció una mezcla de alimentos fibrosos de baja calidad e integrada por gramíneas naturales.

Los animales experimentales se sometieron a cirugía para la realización de fístula en el saco dorsal del rumen, donde se insertó una cánula simple.

A los animales se les extrajo líquido ruminal en ayuno a través de la cánula, con la ayuda de una bomba de vacío. Este se guardó en termos con cierre hermético para garantizar las condiciones de temperatura (39°C) y anaerobiosis durante el traslado al laboratorio.

Juana luz Galindo Blanco, Orestes La O León, Tomás Ruiz Vásquez, Alfredo González Vásquez, Washington Narvaez Campana

Las muestras de líquido ruminal se trasladaron al laboratorio, debidamente conservadas en termos y posteriormente, se filtraron a través de tres capas de muselina.

Para conformar la mezcla a fermentar, se utilizó el líquido ruminal que contiene los microorganismos viables y la solución tampón. La composición de la solución tampón fue la siguiente: 5,7 g de Na₂ HPO₄; 6,2 g de KH₂PO₄; 0,6 g de Mg SO₄. 7 H₂O; 13,2g Ca Cl₂. 2H₂O; 10g de Mn Cl₂. 4 H₂O; 1 g de CaCl₂. 6H₂O; 0.8g FeCl₂. 0 H₂O 35 g de NaHCO₃ y 4 g de NH₄ HCO₃. El procedimiento se realizó bajo atmósfera de CO₂.

Cultivo de Metanógenos.

Se utilizó la técnica de cultivo de Hungate (1970) en tubos rodados y bajo condiciones de anaerobiosis estricta.

Los microorganismos metanogénicos se cultivaron en el medio de cultivo descrito por Galindo et al, (2012) y bajo una atmósfera de gases, la que se integró por la mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono (60:40).

Para las inoculaciones se utilizaron tres diluciones y cada una de ellas se replicó tres veces.

Conteo de protozoos.

Los protozoos se contaron directamente al microscopio, en cámara de Neubauer, luego de teñirlos con violeta de genciana en ácido acético al 1%.

Análisis químicos.

La investigación con los materiales vegetales se realizó en el laboratorio de análisis de alimentos y fisiología del rumen del departamento de Ciencias Veterinarias del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. A las muestras representativas de los materiales vegetales se les determinó el contenido de humedad, MS, cenizas, MO, PC (Labconco), y EE (Soxtec System 2013) de acuerdo a las técnicas que describió la AOAC (2000).

La composición química de *C. nlemfuensis* presentó 7.26% de PB. El tenor de FDN; ceniza; calcio y fósforo fue 74.57; 10.11; 0.42 y 0.18%, respectivamente.

Para el caso de *T. diversifolia*, los contenidos en PB fueron de 182,3g; 192,1g; 236,1g; 197,2g; 259,1g; 264,0g; 246,2g; 208,1g y 207,9 g para los materiales vegetales 3, 5, 6, 10, 13,17, 23, 24 y 25, respectivamente.

El análisis fitoquímico de *T. diversifolia* se determinó mediante pruebas cualitativas y mostró la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: taninos, ++; flavonoides, ++; saponinas, + y triterpenos, +. La presencia de reductores (+), flavonoides, triterpenos, esteroides, alcaloides y antocianidinas fue variable entre los diferentes materiales

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental que se empleó fue completamente aleatorizado. El análisis estadístico se efectuó de acuerdo al diseño que se utilizó y se empleó la dócima de Duncan para identificar diferencias entre medias (Duncan, 1955).

Se determinó la normalidad y la homogeneidad a la información que se obtuvo a partir de los resultados experimentales. Los conteos de microorganismos metanogénicos se transformaron según Log N y los protozoos de acuerdo a log X, para garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento de los referidos microorganismos. Para 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 o células/mL, 10 es la base de los logaritmos y X es la dilución a la cual se efectuó la inoculación.

Se utilizó el Paquete estadístico INFOSTAT, de Balzarini et al (2001)

EFFECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en proteína bruta (PB) de los diferentes materiales vegetales de *T. diversifolia* presentaron tenores que oscilaron entre 197,2 y 264,0 g. Estos valores se encuentran dentro del rango informado por Verdecia, et al, (2011) cuando evaluaron variedades o ecotipos de *Leucaena leucocephala* (14-30.6%). Al respecto, Gallego – Castro (2016) y Gallego- Castro et al (2017 a y 2017 b) encontraron valores similares cuando evaluaron a *T. diversifolia* en condiciones de trópico alto colombiano como suplemento alimentario para vacas lecheras.

Las bacterias metanogénicas poseen características bioquímicas y genéticas distintivas del resto de los microorganismos que conviven en el rumen. Su densidad de población varía con la dieta y principalmente con el contenido de fibra de los alimentos (Galindo, et al 2018)

Los resultados de la presente investigación demuestran que todas las colectas de materiales vegetales de *T. diversifolia* reducen la población de metanógenos en relación al pasto estrella, gramínea que se utilizó como tratamiento control (figura 1).

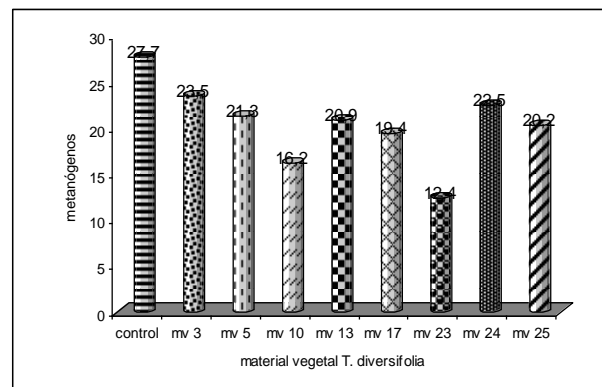


Figura 1. Efecto de diferentes materiales vegetales de *T. diversifolia* en la población de metanógenos ruminales (10¹⁰ UFC/mL), EE ±0.22**, P= 0,0193

Se conoce que el empleo del follaje de plantas arbóreas o sus extractos constituye una práctica que se utiliza en la actualidad para reducir los metanógenos y la producción de metano en rumen (Galindo et al 2011). Los referidos autores informaron efectos reductores de la metanogénesis ruminal tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*, y también pueden ejercer efectos directos debido a la presencia de taninos, como indirectos debido al efecto en la digestión de la fibra.

El efecto del follaje de arbóreas en los metanógenos y producción de metano es consecuencia de la presencia de saponinas, aunque este efecto no está debidamente documentado, se considera que alrededor del 25% de la reducción en la producción de metano ruminal se debe al efecto directo sobre la población de protozoos del rumen

Como se puede apreciar, los materiales vegetales de *T. diversifolia* 10 y 23 reducen la población de estos grupos microbianos en mayor magnitud que los otros con los cuales se compararon. Resultados obtenidos por Galindo et al (2012) informaron que éstos materiales presentan taninos y saponinas a los cuales se les puede atribuir los efectos que se obtuvieron.

Las diferentes colectas de materiales vegetales de *T. diversifolia* reducen la población de protozoos en el rumen, en relación al pasto estrella, el cual produjo 48 x 10⁵ cel/mL (tabla 1).

Se aprecia que la colecta de material vegetal 23 fue, dentro de todas, la que redujo en mayor magnitud la población de protozoos ruminales, seguida del mv 10 y mv 17 y mv 25.

Tabla 1. Efecto de diferentes colectas de materiales vegetales de *T. diversifolia* en la población de protozoos del rumen, 10^5 cel/mL en condiciones *in vitro*

Plantas	Protozoos, 10^5 cel/mL
Pasto estrella	*1,68 ^a (48,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-3	1,15 ^b (14,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-5	1,04 ^c (11,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-6	1,00 ^d (10,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-10	0,85 ^e (7,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-13	1,00 ^d (10,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-17	0,95 ^{de} (9,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-23	0,6 ^f (4,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-24	1,00 ^d (10,00)
<i>T. diversifolia</i> mv-25	0,95 ^{de} (9,00)
EE	0,02, P= 0,001

Resultados de los datos transformados, medias originales entre paréntesis ().

a, b, c, d, e, f. medias con letras diferentes difieren a $p < 0.05$ (Duncan, 1955)

La inclusión de plantas arbóreas, leguminosas o no, en la dieta de los animales rumiantes puede resultar beneficiosa debido a que los metabolitos secundarios que la componen ejercen efectos defaunantes, al reducir la población de protozoos del rumen (Galindo et al, 2008; Galindo et al 2012; Galindo et al, 2014, y Galindo et al, 2018).

En los vegetales, los metabolitos secundarios son mecanismos de defensa contra la presencia de microorganismos patógenos y la depredación por insectos o herbívoros y su efecto como agente defaunante del rumen se vincula a su composición en taninos, saponinas y aceites esenciales, tal y como ocurre con los metanógenos.

Es evidente que los protozoos desempeñan un importante papel en la producción de metano a nivel de rumen, debido a que los metanógenos establecen relaciones mutualistas con los protozoos anaerobios, muchos de estos últimos producen H_2 como producto final del metabolismo.

A lo anteriormente mencionado se añade que los metanógenos pueden vivir adheridos a la superficie de los protozoos ciliados del rumen aunque también se ha demostrado su hábitat de forma endosimbiótica, son responsables de más del 37% de las emisiones de metano. En ausencia de protozoos las emisiones de metano del rumen se reducen alrededor de un 13%, esto varía con la dieta. De ahí que el uso de plantas con poder defaunante es una vía para disminuir los metanógenos y consecuentemente, reducir la metanogénesis ruminal.

Investigaciones realizadas por Hess et al (2006) ofrecen valiosa información acerca del papel de las saponinas presentes en los vegetales en la población de protozoos y en sus relaciones con otros miembros de la comunidad microbiana del rumen y afirman que su efecto es directo al producir lisis de las membranas de estos grupos microbianos. De acuerdo a estas teorías, las mencionadas biomoléculas tienen la capacidad para formar complejos irreversibles con el colesterol de la membrana celular, lo que provoca lisis celular y muerte de los protozoos. Otros autores, entre ellos Leng (2014) indicaron que el efecto de las

EFEECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

saponinas de *Enterolobium cyclocarpum* y *Sapindus saponaria* se debe a la presencia de las saponinas en sus hojas.

Si bien es reconocido el papel de los taninos en la degradabilidad ruminal de la fibra y la proteína (Rodríguez et al, 2012), su efecto en la población de protozoarios es variable y depende del tipo de taninos, si es condensado (TC) o hidrolizable (TH), su origen y los niveles de suplementación (Patra y Saxena, 2011).

El efecto de los aceites esenciales se relaciona con el origen lipofílico de los mismos, ello permite el transporte a través de la membrana celular. Al respecto se han realizado investigaciones dirigidas al papel de los aceites esenciales en diferentes especies de protozoos y se conoce su relación inter específica.

Estos resultados apoyan las cuatro hipótesis de Leng (2014) al estudiar las interacciones para producir metano a nivel de rumen, la cual sugiere la formación de consorcios de microorganismos asociadas a las partículas de alimento dentro de las cuales se destaca el consorcio integrado por metanógenos-protozoos- organismos degradadores de la fibra.

En otro orden de análisis, se reconoce que la dieta y principalmente, diferentes factores relacionados con ella influyen en la densidad poblacional de estos grupos microbianos en el rumen. De esa manera en los sistemas de alimentación que se sustentan en gramíneas se observan 10^9 - 10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de líquido ruminal de metanógenos (Joblin 2004).

De cualquier manera, se debe destacar que numerosos investigadores informan que existen relaciones directas entre las poblaciones de metanógenos y los protozoos del rumen. Así Tan et al (2011) encontraron que la producción de metano (mL/g de MS) y las poblaciones de ambos grupos microbianos mostraron una reducción lineal con el incremento en el nivel de taninos.

CONCLUSIONES

De los resultados de la investigación se concluye que los materiales vegetales de *T. diversifolia* ejercen efectos depresivos en las poblaciones de metanógenos y protozoos ruminales, destacándose los mv -23 y mv 10 como los más promisorios para estos propósitos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración de los técnicos del Instituto de Ciencia Animal: Onidia Moreira, Ana Irma Aldana, Ibeth Orta, Humberto Hernández y Lucía Sarduy por apoyo en la ejecución de la investigación y a los profesores de la Universidad Estatal del sur de Manabí: Alberto González y Raquel Vera por su orientación en relación a las normas de la revista UNESUM - Ciencias

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17 th. Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.

Balzarini, G. M., Casanoves F., Di Rienzo, J.A., González, L. A. y Robledo & C.W. (2001). InfoStat. Software estadístico. Manual de usuario. Versión 1. Córdoba Argentina.

Duncan, D.E. (1955). Multiple range and multiple F. test. Biometrics. 11:1

- Galindo-Blanco, Idalmis Rodríguez-García, Niurca González-Ibarra, Roberto García López y Magaly Herrera-Villafranca (2018). Sistema silvopastoril con *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray: efecto en la población microbiana ruminal de vacas. *Pastos y Forrajes*, Vol. 41, No. 4: 244
- Galindo, J., González, N., Marrero, Y., Sosa, A., Ruiz, T., Febles, G., Torres, V., Aldana, A.I., Achang, G., Moreira, O., Sarduy, L. & Noda, A.C. (2014). Effect of tropical plant foliage on the control of methane production and *in vitro* ruminal protozoa population. *Cuban Journal of Agricultural Science*. Volume 48: 359
- Galindo, J., N. González, I. Scull, Y. Marrero, A. Sosa, A. Aldana, O. Moreira, D. Delgado, T. Ruiz, G. Febles, V. Torres, O. La O, L. Sarduy, A. Noda, & O. Achang. (2012). Efecto de *Samanea saman* (Jacq.) Merr., *Albizia lebbek* (L.) Benth y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (material vegetal 23) en la población de metanógenos y en la ecología microbiana ruminal. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 46:273-278.
- Galindo, J, González, N., Sosa, A., Ruíz, V., Díaz, A., Moreira, O., Sarduy & L., Noda, A. (2011). Efecto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Botón de oro) en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones *in vitro*. En: *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 45, Número 1.
- Galindo, J., González, N., Delgado, D., Sosa, A., Marrero, Y., González, R., Aldana, A. & Moreira, O. (2008). Efecto modulador de *Leucaena leucocephala* sobre la microbiota ruminal. En: *Zootecnia Trop.*, 26(3):249-252.
- Gallego-Castro, L. A. (2016) 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.
- Gallego-Castro, L. A.; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. (2017a) Calidad nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray bajo tres sistemas de siembra en el trópico alto. *Agron. Mesoam.* 28 (1):213-222, doi:http://10.15517/am.v28i1.21671
- Gallego-Castro, L. A.; Mahecha-Ledesma, Liliana & Angulo-Arizala, J. (2017 b). Producción, calidad de leche y beneficio:costo de suplementar vacas Holstein con *Tithonia diversifolia*. *Agron. Mesoam.* 28 (2):357-370. doi:http://10.15517/ma.v28i2.25945
- Hess, H., Gómez, J. & Lascano, C. (2006). Segundo Taller: Taninos en la Nutrición de Rumiantes en Colombia. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 52 p. (Publicación CIAT no. 352).
- Hungate, R. G. (1950). The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacterial Ref.* Vol. 14 (1).
- Joblin, K.N. (2004). Methanogenic Archaea. En: I Planning Meeting of Project Contract Research and Training Workshop "Development and Use of Rumen Molecular Techniques for Predicting and Enhancing Productivity", 19-30, Brisbane, Australia
- La O, O., González, H., Orozco, A., Castillo, Y., Ruíz, O., Estrada, A., Ríos, F., Gutiérrez, E., Bernal, H., Valenciaga, D., Castro, B. & Hernández, Y. (2012). Composición química, degradabilidad ruminal *in situ* y digestibilidad *in vitro* de ecotipos de *Tithonia diversifolia* de interés para la alimentación de rumiantes En: *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Tomo 46, Número 1.

EFFECTO DE DIFERENTES MATERIALES VEGETALES DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*

- Leng R. A. (2014). Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shift in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation. *Animal Production Science*, 54: 519–543.
- Mahecha L., Escobar, J. Suárez, J. & Restrepo, L. (2007). *Tithonia diversifolia* (hemsl.) Gray (botón de oro) como suplemento forrajero de vacas F1 (Holstein por Cebú). En: [Livestock Research for Rural Development 19 \(2\)](#)
- Maina, I., Abdulrazak, S., Muleke, C. & Fujihara, T. (2012). Potential nutritive value of various parts of wild sunflower (*Tithonia diversifolia*) as source of feed for ruminants in Kenya. En: *Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.10 (2): 632-635.*
- Nieves, D., Terán, O., Cruz, L., Mena, M., Gutiérrez, F. & Ly, J. (2011). Digestibilidad de nutrientes en follaje de árnica (*Tithonia diversifolia*) en conejos de engorde. En: *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14 (2011): 309 – 314.
- Patra A K & Saxena J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 24–37.
- Rodríguez, R. & Fondevilla, M. (2012). Effect of saponins from *Enterolobium cyclocarpum* on in vitro microbial fermentation of the tropical grass *Pennisetum purpureum*. *Journal Physiology and Animal Nutrition*. 763-769
- Tan H Y, Sieo C C, Abdullah N, Liang J B, Huang X D and Ho Y W. (2011). Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. [Animal Feed Science and Technology](#), 169(3-4):185-193.
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, B. A. & France, J. (1994). A new gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetic of ruminant feed. *Anim. Feed Scie. Tech.* 48:185.
- Verdecia, D., Ramírez, J., Leonard, I., Álvarez, Y., Bazán, Y., Bodas, R., Andrés, S., Álvarez, J., Giráldez, F., López, S. (2011). Calidad de la *Tithonia diversifolia* en una zona del Valle del Cauto. En: *REDVET*, Vol. 12, N° 5.

Juana luz Galindo Blanco, Orestes La O León, Tomás Ruiz Vásquez, Alfredo González
Vásquez, Washington Narvaez Campana
