

## VARIABLES MORFO-ESTRUCTURALES Y DE CALIDAD DE LA BIOMASA DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* EN LA ETAPA INICIAL DE CRECIMIENTO

María G. Medina<sup>1\*</sup>, Danny E. García<sup>1</sup>, Miriam E. González<sup>2</sup>, Luis J. Cova<sup>2</sup> y Pedro Moratinos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Estación Experimental del estado Trujillo. Pampanito, Trujillo. Venezuela.

\*Correo electrónico: mgmedina@inia.gob.ve

<sup>2</sup>Departamento de Biología y Química, Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de los Andes. Trujillo, Venezuela

---

### RESUMEN

Se llevó a cabo un experimento con el propósito de evaluar el efecto de la longitud (10, 20, 30 y 40 cm), el diámetro (1,0-1,9; 2,0-2,9; 3,0-3,9 y 4,0-4,9 cm) y el número de yemas (2, 3, 4 y 5) en estacas de *Tithonia diversifolia* sobre algunos indicadores morfo-estructurales y de calidad durante la etapa inicial de crecimiento. Las variables medidas en vivero fueron altura diferencial de la planta, número de brotes, número de ramas, longitud de la rama, diámetro de la rama, hojas por rama, sobrevivencia, prendimiento, tasa de crecimiento e incidencia de plagas y enfermedades. En el perfil nutricional de la biomasa se determinaron proteína cruda (PC), proteína verdadera (PV), proteína soluble (PS), fibra neutro detergente (FND), PC-FDN, fibra ácida detergente (FAD), fósforo (P), carbohidratos solubles totales (CHST), almidón y cenizas, metabolitos secundarios (fenoles, esteroides, terpenos, cumarinas y compuestos lactónicos) y la degradabilidad ruminal de la materia seca y PC (DMS, DPC). Se observó interacción significativa ( $P < 0,05$ ) en las interacciones longitud x diámetro x número de yemas de la estaca para la altura y longitud x número de yemas para la longitud de la rama. Las diferencias estadísticas entre los tratamientos solo se encontraron en el número de brotes, la tasa de crecimiento y la concentración de CHST. El resto de las variables no presentaron fluctuaciones sustanciales ( $P > 0,05$ ). En las condiciones de experimentación se recomienda emplear estacas de 30 o 40 cm de longitud, con un grosor entre 1,0-4,9 cm y con 5 yemas, las cuales garantizan un follaje con buena composición química (PC: 20,37-23,65%; Cenizas: 7,38-8,82%) y degradabilidad ruminal (DMS: 68,93-73,44%; DPC: 72,63-76,94%), pero con niveles significativos de esteroides (2,49-2,92%), terpenos (1,03-1,39%) y lactonas (0,30-0,48%).

**Palabras clave:** *Tithonia diversifolia*, vivero, estacas, composición química, metabolitos secundarios, terpenos, esteroides, lactonas

---

### Morpho-structural variables and biomass quality of *Tithonia diversifolia* at initial stage of growth

### ABSTRACT

An experiment was carried out with the purpose of evaluating the effect of longitude (10, 20, 30, and 40 cm), diameter (1.0-1.9, 2.0-2.9, 3.0-3.9, and 4.0-4.9), and bud number (2, 3, 4, and 5) of *Tithonia diversifolia* stakes in some morpho-structural and biomass quality indicators during the initial stage of growth. The measured variables in nursery conditions were differential plant height, regrowth number, branch number, branch longitude, branch diameter, leaves per branch, survival, growth rate, and plagues and illnesses incidence. The biomass nutritional profiles were determined in terms of its chemical composition (crude protein (CP), true protein (TP), soluble protein (SP), neutral detergent fiber (NDF), CP-NDF, acid detergent fiber (ADF), phosphorus (P), total soluble carbohydrates (TSCH), starch, and ashes), secondary metabolites level (phenols, sterols, terpenes, coumarins, and lactic compounds), and ruminal degradability of dry matter and CP (DMD, CPD). Significant interaction

( $P < 0.05$ ) stake longitude x diameter x bud number in height, and longitude x bud number in branch longitude were observed ( $P < 0.05$ ). Statistical differences in regrowth number, growth rate, and TSCH concentration were observed. The rest of variables did not present significant fluctuation ( $P > 0.05$ ). Under experimental conditions, it is recommended to use stakes of 30 or 40 cm of longitude with 1,0-4,9 cm of diameter with 5 buds, which guarantee a foliage with a good chemical composition (CP: 20.37-23.65%; Ashes: 7.38-8.82%), and ruminal degradability (DMD: 68.93-73.44%; CPD: 72.63-76.94%), but with significant level of sterols (2.49-2.92%), terpens (1.03-1.39%), and lactones (0.30-0.48%).

**Keywords:** *Tithonia diversifolia*, nursery, stakes, chemical composition, secondary metabolites, terpens, sterols, lactones.

## INTRODUCCIÓN

*Tithonia diversifolia* (Hems) Gray es conocida comúnmente como botón de oro o mirasol (Colombia), quil amargo (Guatemala), tara, flor amarilla o árnica (Venezuela) y margaritona o árnica de la tierra (Cuba). Es una planta perenne que se encuentra frecuentemente en las carreteras a orillas de los caminos y en muchas zonas es considerada como maleza por su naturaleza invasora y de difícil erradicación (Schnee, 1984; Pacheco y Pérez, 1989). Pertenece a la familia Asteraceae, es originaria de Centro América (México y Costa Rica) y actualmente se encuentra ampliamente distribuida en la zona tropical.

Según Murgueitio *et al.* (2001) esta especie posee un rápido y vigoroso crecimiento y una gran adaptación a suelos con pH desde ácidos hasta alcalinos, pobres, de baja fertilidad y pedregosos, se desarrolla bien entre una altitud de 0 a 2700 msnm, con precipitaciones que oscilan entre 600 y 6.000 mm/año. Es altamente tolerante a la sequía, resiste de forma moderada a la quema y presenta una excelente recuperación después de la poda, incluso a nivel del suelo.

Esta arbustiva se propaga fácilmente por semilla botánica, pero en campos de producción se recomienda la siembra a partir de material vegetativo. Según Ríos (1997) no se conocen cultivos establecidos en sistemas agroforestales en los cuales se halla utilizando semilla sexual. Debido a que florece todo el año y es una excelente planta melífera, su uso principal ha sido en la apicultura y la entomoagroforestería como fuente de néctar y de atracción de insectos polinizadores, productores de miel y controladores biológicos. También se reporta su uso como alternativa contra la herbivoría de *Atta* sp. (Giraldo *et al.*, 2006). Otros autores señalan la factibilidad de utilizarla como abono verde y mejoradora del suelo por su rápida

velocidad de descomposición y gran capacidad de movilizar el fósforo (P) del suelo (Kass, 1999). Se ha empleado en la formación de cercas vivas y cortina rompevientos (García y Medina, 2006), en barbechos mejorados (Van Noordwijk *et al.*, 1997) y como planta medicinal y ornamental (Hoyos, 1999).

En cuanto a su potencial forrajero presenta características deseables para su uso en la alimentación de bovinos, conejos, cuyes, ovejas y cerdos (Mahecha *et al.*, 2007). Posee un contenido de proteína cruda (PC) entre 14 y 28% y una degradabilidad ruminal que oscila entre 50 y 90%. No obstante, las variables químicas son fuertemente dependiente de la fenología de la planta y de la edad de la biomasa (Ríos, 1999). Asimismo, se han realizado estudios agronómicos para estudiar su producción de forraje en bancos de proteína de alta densidad (Ramírez *et al.*, 2006). Por su parte, Ríos y Salazar (1995) al evaluar la producción de la especie bajo diferentes densidades de siembra y alturas de corte obtuvieron un rendimiento de biomasa fresca considerable (46-82 t/ha). También se ha comprobado la factibilidad de asociarla con otras especies arbóreas y gramíneas (Canul *et al.*, 2006; Chay *et al.*, 2006).

En este sentido, los estudios sobre su comportamiento durante el establecimiento, las características que debe reunir el material de propagación para lograr un rápido y efectivo desarrollo, así como los aspectos relacionados con su fitoquímica y el valor nutritivo de las fracciones mayoritaria son escasos, o se han realizado en forma puntual. Por tales motivo, el objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca de *T. diversifolia* en algunas variables morfo-estructurales y de calidad del forraje durante la etapa inicial de crecimiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del área experimental

El ensayo se llevó a cabo en el vivero de la Estación Experimental y de Producción Agrícola “Rafael Rangel”, de la Universidad de los Andes, ubicada entre los 270 y 300 msnm en el sector La Catalina, Vega Grande, municipio Pampán del estado Trujillo, Venezuela.

### Evaluación de las variables morfo-estructurales

Se colocaron bolsas de nailon de polietileno negro de 1 kg, donde se depositó un sustrato compuesto por 70% de suelo franco limoso y 30% de materia orgánica (estiércol bovino tratado). Se utilizaron 2.560 estacas a partir de plantas de 120 días de edad (5 esquejes por tratamiento) para llevar a cabo el experimento.

El material vegetal fue sembrado en forma vertical. Todos los propágulos recibieron riego diario, manual, manteniendo el sustrato a su capacidad de campo y se realizaron labores de limpieza para eliminar las plantas arvenses. No se aplicó enraizador ni fertilizante químico durante la etapa de evaluación. La distribución de las bolsas de cada tratamiento en el área de vivero (80 m<sup>2</sup>) se realizó de forma aleatoria, para así evitar la posible influencia del sombreado en partes específicas del área y los cambios de la intensidad solar, en función de las horas del día.

Las mediciones se realizaron con una frecuencia semanal en plantas identificadas previamente. Los indicadores morfo-estructurales evaluados fueron altura diferencial de la planta (desde el extremo superior de la estaca hasta el ápice de la rama apical), número de brotes (conteo visual), número de ramas (conteo visual), longitud de la rama (con regla graduada desde la base hasta la punta de la rama), diámetro de la rama (en la base de la rama con pie de rey), número de hojas por rama (conteo visual), porcentaje de brotación o prendimiento (conteo de estacas brotadas), sobrevivencia (conteo de estacas viables) y tasa de crecimiento (incremento de la altura en cada semana).

Para la estimación del ataque realizado por plagas y la incidencia de enfermedades se empleó la escala semi-cualitativa propuesta por Machado (2006), considerando los “rangos de lesiones” a nivel de las plantas individuales. En cuanto a los síntomas causados

por enfermedades y otros agentes no parasíticos se utilizó la escala de siete grados. Las plantas con grado 0 se consideraron inmunes, de 1 a 2 resistentes, de 3 a 4 tolerantes y de 5 a 6 susceptibles.

### Evaluación de la composición química y la degradabilidad ruminal

Al final del ensayo de vivero (8 semanas), se recolectó la biomasa comestible de cada planta, formada por hojas, pecíolos y tallos de diámetro inferiores a 6 mm, en dependencia de los tratamientos. El material vegetal se llevó directamente al laboratorio y fue secado a la sombra por cinco días. Posteriormente se molió hasta 1 mm y fue almacenado en frascos herméticos de vidrio oscuro hasta la realización de los análisis correspondientes, diez días pasada la colecta.

La determinación de todas las variables se realizó por triplicado. Los contenidos de proteína cruda (PC), proteína verdadera (PV), proteína soluble (PS), PC unida a la fibra (PC-FDN), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), fósforo (P) y ceniza se realizaron mediante las metodologías clásicas de análisis propuestas por la AOAC (1990). Los niveles de carbohidratos solubles totales (CHST) y almidón se determinaron por afinidad con solventes, mediante la metodología descrita por Lezcano y González (2000).

La cuantificación de los polifenoles totales (FT), expresados como ácido cinámico, se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu (Makkar, 2003). Los esteroides (ET) y terpenoides totales (TerpT) se determinaron, en esencia, mediante el método descrito por Galindo *et al.* (1989), utilizando como patrón analítico al beta-sitosterol para el caso de los esteroides y extracto estandarizado de azadirachta indica (concentración de azadirachtina: 520 ppm) para los terpenoides. La cuantificación de cumarinas (Cum) se llevó a cabo mediante el método de Quirós descrito por García (2003), basado en la extracción con diclorometano y posterior lectura en el espectro ultravioleta. Los inhibidores de tripsina, expresados como el porcentaje de inhibición (%I), la cantidad de tripsina inhibida/g MS (TIA) y las unidades de tripsina inhibidas/g MS (TIU) se determinaron empleando análisis de actividad enzimática con patrón sintético (BAPNA) y lectura a 440 nm (AOAC, 1990). Los compuestos amargos (Camg)

fueron determinados mediante la cuantificación de las lactonas sesquiterpénicas, mediante la reacción independiente con hidroxamato férrico y vainillina-ácido fosfórico (MINSAP, 2000).

En la prueba de la degradabilidad *in situ* a las 48 horas de la MS (DMS) y PC (DPC) se evaluaron tres muestras por tratamiento. La degradabilidad se estimó mediante el procedimiento de las bolsas de nailon en rumen (Mehrez y Ørskov, 1977), empleando dos bolsas con un tamaño de poro aproximado de 50  $\mu$  por cada muestra y tres repeticiones. Aproximadamente 2,5 g de biomasa comestible fueron incubados en el rumen de tres ovinos Criollos (35,4  $\pm$  2,83 kg de peso vivo) con cánula permanente en el rumen. Antes de la incubación de cada tratamiento, los ovinos fueron adaptados a consumir el follaje de *T. diversifolia* por dos semanas, como suplemento de una dieta basal formada por heno *ad libitum* (*Cynodon nlemfluensis*), concentrado comercial (170 g/animal/día) y agua a voluntad.

#### Diseño experimental, factores y niveles

Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con arreglo factorial 4 (longitud de la estaca) x 4 (rangos de diámetro) x 4 (número de yemas) para medidas repetidas en el tiempo y cinco réplicas/tratamiento/medición. Los niveles empleados fueron longitud (10, 20, 30 y 40 cm), diámetro (1,0-1,9; 2,0-2,9; 3,0-3,9; 4,0-4,9 cm) y número de yemas (2, 3, 4 y 5).

#### Análisis estadístico

Para el procesamiento de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 (Visauta, 1998), mediante la opción GLM, empleando la dócima de Duncan para  $P < 0,05$ . Los datos expresados en porcentajes (prendimiento, sobrevivencia y presencia de plagas y enfermedades) fueron transformados, según:  $\arcseno(\sqrt{\%/100})$  para la realización del análisis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Variables morfo-estructurales

Ninguno de los factores evaluados influyó significativamente en la sobrevivencia, el prendimiento y la aparición de plagas y enfermedades (Cuadro 1). Los elevados valores de sobrevivencia y prendimiento de la estaca pudieran estar dados por el singular

volumen radical y la habilidad especial para absorber y extraer los nutrientes del suelo, característica propia de *T. diversifolia*, señalada por Mahecha y Rosales (2005), lo cual permite un mayor anclaje en poco tiempo y garantiza una excelente persistencia durante la etapa de establecimiento. También este comportamiento quizás estuvo relacionado con el origen del material de propagación, el cual se tomó de plantas sanas y vigorosas. En este sentido, según Hartmann y Kester (2000), las estacas de plantas herbáceas enraízan con mayor facilidad y al tener las condiciones adecuadas, el prendimiento es rápido y con altos porcentajes de enraizamiento. Al respecto, Salazar (1992) señala que el primer tercio de la planta en esta especie constituye el material más idóneo para garantizar un elevado porcentaje de prendimiento, por lo que este aspecto debe ser considerado al momento de propagarla asexualmente.

El bajo valor de aparición de plagas y enfermedades, así como la poca influencia de los factores estudiados en estas variables, denota la excelente resistencia de esta planta en condiciones de vivero. Estos resultados quizás se encuentren relacionados con la presencia en el follaje de algunos metabolitos secundarios, tales como terpenoides lactónicos y cumarinas con acción repelente informados en algunas investigaciones (Ríos, 1997). Al respecto, las propiedades disuasivas del extracto y el follaje de este arbusto ha sido informado por Adoyo *et al.* (1998) y Giraldo *et al.* (2006) en el estudio de las propiedades de *T. diversifolia* contra termitas (*Nasutitermes* sp.), hormigas (*Acromyrmex* sp.) y bachacos (*Atta* sp.), plagas importantes de los cultivos agrícolas y forestales durante su primera etapa de crecimiento.

Por otra parte, la longitud de la estaca, el diámetro y el número de yemas afectaron significativamente la altura diferencial de la planta, la cantidad de brotes, la longitud de las ramas y la tasa el crecimiento. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas en la cantidad de ramas, su diámetro y la proporción de hojas por ramas (Cuadro 2). El mayor número de brotes se obtuvo con estacas entre 20 y 40 cm, mientras que la tasa de crecimiento fue superior con las estacas más pequeñas (10 y 20 cm). Las estacas con grosor entre 3 y 4,9 cm presentaron mayor número de brotes y crecimiento. La mayor cantidad de ramas se observó en los esquejes con el mayor número de yemas (5). Se observaron más brotes con 4 y 5 yemas y las estacas con menor cantidad (2 y 3) exhibieron

Cuadro 1. Efecto de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca de *T. diversifolia* sobre la sobrevivencia, prendimiento e incidencia de plagas y enfermedades en la fase de vivero.

Factor	Nivel	Sobrevivencia	Prendimiento	Incidencia	
				Plagas	Enfermedades
		----- % -----			
Longitud, cm	10	98,57	97,78	0,15	0,12
	20	99,87	97,96	0,23	0,15
	30	98,84	97,47	0,15	0,14
	40	97,86	98,60	0,16	0,11
EE±		2,01	2,58	0,08	0,07
Diámetro, cm	1,0-1,9	99,95	98,85	0,21	0,17
	2,0-2,9	97,73	98,74	0,19	0,15
	3,0-3,9	98,83	97,48	0,18	0,17
	4,0-4,9	98,54	98,67	0,20	0,16
EE±		1,82	3,85	0,07	0,08
Número de yemas	2	97,50	97,84	0,15	0,14
	3	98,98	97,56	0,17	0,15
	4	97,05	98,40	0,15	0,16
	5	98,83	97,86	0,12	0,17
EE±		1,54	3,98	0,09	0,06

Cuadro 2. Influencia de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca de *T. diversifolia* en algunas variables morfo-estructurales en la fase de vivero (8 semanas).

Factor	Nivel	Brotos	Ramas	Diámetro de la rama	Hojas por rama	Crecimiento
		----- número -----		cm	número	cm/d
Longitud, cm	10	1,07b†	1,70	0,25	5,24	1,93a
	20	2,93a	1,58	0,21	5,19	1,69a
	30	3,85a	1,85	0,19	4,60	1,13b
	40	4,00a	1,93	0,20	6,30	0,36c
EE±		1,56	0,44	0,03	1,98	0,35
Diámetro, cm	1,0-1,9	2,63b	1,81	0,22	5,82	1,19
	2,0-2,9	2,78b	1,68	0,20	4,14	1,08
	3,0-3,9	4,07a	2,00	0,26	4,26	1,36
	4,0-4,9	3,93a	1,69	0,21	5,88	1,40
EE±		0,43	0,73	0,09	1,68	0,44
Número de yemas	2	2,91c	1,21d	0,24	5,24	1,38a
	3	3,92b	1,44c	0,22	5,22	1,40a
	4	4,10a	1,98b	0,20	5,62	1,08b
	5	4,39a	2,50a	0,26	5,63	0,65c
EE±		0,47	0,18	0,08	1,69	0,29

† Medias con letras distintas entre filas presentan diferencias significativas (P&lt;0,01).

una mayor tasa de crecimiento. Considerando que las estacas con longitudes de 10 y 20 cm influyeron marcadamente en la tasa de crecimiento, pudiera indicar un mecanismo de sobrevivencia de la especie, ya que los esquejes más pequeños, en desventaja con los de mayor longitud, pueden realizar un mejor aprovechamiento del sustrato como sucede en otras especies de interés agrícola (Pidi, 1981).

La marcada influencia de los esquejes más gruesos en la cantidad de brotes se explica por el hecho de que las estacas con mayores diámetros presentarían elevada cantidad de tejido meristemático activo y almacenan muchos compuestos de reserva, por lo que no requieren de remanente foliar para enraizar y emitir nuevos brotes, debido a que ya están presentes en el material leñoso suficientes cofactores que estimulan el rebrote y la iniciación de raíces (Weaver, 1987). Este comportamiento no sucede así con aquellos propágulos que presentan poco grosor, donde las yemas no se encuentran desarrolladas, existe limitada división celular y poco o ningún brote activo (Medina *et al.*, 2007). Este resultado, con relación al diámetro de la estaca de *T. diversifolia*, coincide en buena medida con lo obtenido por Corpoica (2001) y Mejía (2009) al evaluar la propagación sexual y asexual de algunas especies arbóreas y arbustivas para su establecimiento en bancos forrajeros quienes recomendaron todos los diámetros para la reproducción a gran escala de las especies evaluadas. Considerando que las variables medidas en esta investigación no presentaron tendencias en todos los casos definidas con los diámetros estudiados, para la propagación asexual de *Tithonia* se pueden emplear estacas entre 1 y 4,9 cm para transplantar con éxito este material.

El efecto sustancial del número de yemas en el crecimiento se debió, quizás, a que en los esquejes con menor cantidad de yemas (2 y 3) la inversión de las reservas químicas (carbohidratos, lípidos y hormonas reguladoras) se concentran en una menor cantidad de puntos de crecimiento, lo cual trae consigo un mayor vigor y desarrollo morfo-estructural en los vástagos formados (Pineda, 2004).

El hecho de que no se haya observado un efecto significativo de los factores estudiados en el número de ramas, su diámetro y en la cantidad de hojas por rama pone de manifiesto que estas variables no dependen de las características de la estaca, sino del

patrón de distribución de las ramas y de la arquitectura particular de *T. diversifolia*.

En el Cuadro 3 se muestra la interacción significativa diámetro de la estaca x longitud de la estaca x número de yemas sobre la altura diferencial en la etapa inicial de crecimiento. La mayor altura diferencial se observó en las estacas más pequeñas (10 y 20 cm), con diámetros entre 1 y 3,9 cm, siempre con el máximo número de yemas (5). Esto podría deberse a que las estacas finas suelen presentar una mayor concentración endógena de auxinas, por situarse próxima a la zona de su producción (ápices caulinares) (Lampert *et al.*, 1999; Hartmann y Kester, 2000) interviniendo directamente en la elongación y el crecimiento de la planta (Pineda, 2004).

En la Figura 1 se presenta la interacción significativa longitud de la estaca x número de yemas sobre la longitud de la rama. La longitud de la rama se vio favorecida con las estacas más pequeñas (10 y 20 cm) que presentaron 3 y 4 yemas. Independientemente de la longitud de la estaca con 5 yemas se observaron valores elevados (10,20-10,97 cm). Se debe destacar, que esta variable se vio influenciada drásticamente por todos los factores en estudio. En este sentido, la mayor elongación quizás se debe a una estrategia de sobrevivencia de la planta cuando los esquejes plantados no son los más favorecidos desde el punto de vista estructural.

En la Figura 2 se muestra el efecto del diámetro de la estaca en la longitud de la rama. Con las estacas finas (diámetros entre 1,0 y 2,9 cm) se obtuvieron los mayores valores de longitud de la rama. Igual que para el caso de la altura diferencial, este comportamiento puede explicarse basado en que las estacas finas presentan mayor concentración de auxinas endógenas y éstas básicamente, estimulan el crecimiento y la elongación, incrementando la extensibilidad de la pared celular (Pineda, 2004) y por consiguiente se produce una mayor dimensión de las ramas. Considerando que todos los factores evaluados influyeron significativamente en la altura diferencial y el número de brotes de la planta, se puede resaltar la importancia de la selección de los niveles idóneos de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca para propagar la especie en la fase de vivero y su posterior trasplante a campo.

### Composición química y degradabilidad ruminal

Cuadro 3. Interacción diámetro de la estaca x longitud de la estaca (LE) x número de yemas (NY) en la altura diferencial de *T. diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento (8 semanas).

LE	NY	Rango de diámetros			
		1,0-1,9	2,0-2,9	3,0-3,9	4,0-4,9
cm		----- cm -----			
10	2	12,51d†	13,35cd	13,97c	14,20c
	3	13,25cd	13,76cd	13,38cd	11,61d
	4	14,18c	14,68c	14,31c	12,53d
	5	17,50a	18,01a	17,63a	15,86b
20	2	15,27b	15,77b	15,40b	13,63cd
	3	12,68d	13,18cd	12,81d	11,04de
	4	13,60cd	14,11c	13,73cd	11,96d
	5	16,93a	17,43a	17,06a	15,29b
30	2	14,09c	14,60c	14,22c	12,45d
	3	11,50d	11,91d	11,63d	9,86ef
	4	12,43d	12,93d	12,56d	10,79e
	5	15,75b	16,26ab	15,88ab	14,11c
40	2	12,30d	12,80d	12,43d	10,66e
	3	9,71f	10,21ef	9,84ef	8,07f
	4	10,63e	11,14d	10,76e	8,99f
	5	13,96c	14,46c	14,09c	12,32d

† Medias con diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,05) (EE de la interacción: 0,22)

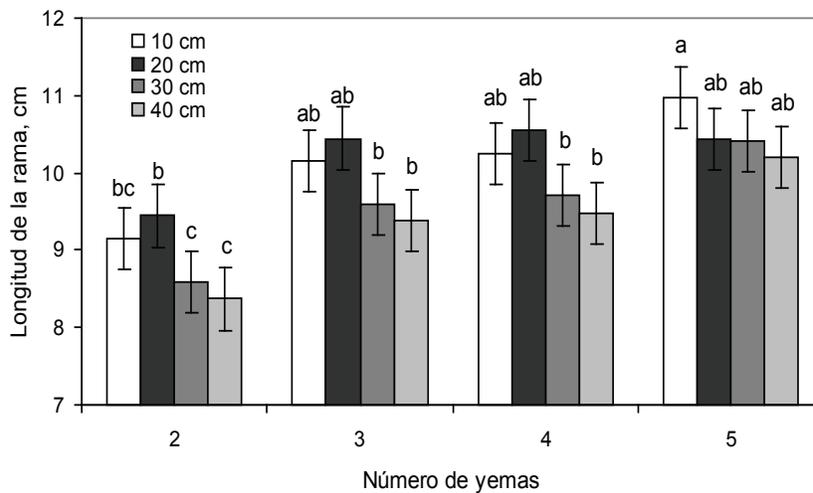


Figura 1. Interacción longitud de la estaca x número de yemas en la longitud de la rama de *T. diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. Medias con diferentes letras indican diferencias significativas a P<0,05.

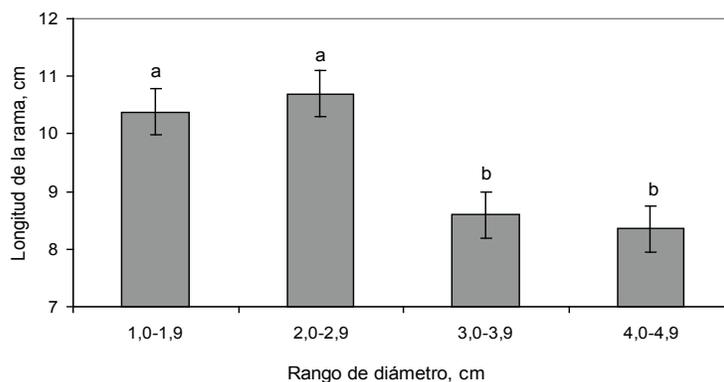


Figura 2. Efecto del diámetro de la estaca en la longitud de la rama de *T. diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. Medias con diferentes letras indican diferencias significativas a  $P < 0,05$ .

La composición química del follaje de *T. diversifolia*, en dependencia de los tratamientos, se muestra en el Cuadro 4. En este sentido, no se observó efecto significativo de los factores, a excepción de las concentraciones de CHST. Estos resultados quizás ponen de manifiesto que el metabolismo primario de la especie, expresado en sus variables más representativas, es independiente de la estructura morfo-estructural de los propágulos y que quizás solamente los compuestos de reservas inicialmente presentes en los esquejes sí se encuentran relacionados con el comportamiento germinativo del material de propagación.

Los niveles de PC oscilaron entre 21,3 y 23,7% MS, los cuales fueron similares a los informados en otras especies forrajeras tropicales con la misma edad de la biomasa (60 días) y a su vez coinciden con el rango descrito por Mahecha y Rosales (2005) cuando esta especie se encuentra en estado vegetativo. Los contenidos de PV, PS y PC-FDN se consideran bajos, teniendo en cuenta las sobresalientes concentraciones foliares de PC, lo cual permite plantear que una parte del nitrógeno en esta especie es no proteico y que existe una porción de la fracción nitrogenada que no presenta una marcada solubilidad por encontrarse posiblemente unida a la pared celular. No obstante, la cantidad de proteína retenida en la fracción fibrosa es muy baja, si se consideran los resultados informados por Sarma *et al.* (2000) en el follaje de numerosas especies tropicales utilizadas para la alimentación animal, en las cuales los valores de PC-FDN oscilaron entre 27 y 80%, en función de la

cantidad de nitrógeno total. Asimismo, el follaje de *T. diversifolia*, considerando el perfil proteico, podría ser utilizado con éxito como fuente proteica de elevado valor biológico en la alimentación de los animales monogástricos.

Los contenidos de FDN y FDA fueron ligeramente más bajos que los informados tradicionalmente en el follaje de la especie y en otros árboles y arbustos de amplia distribución en el trópico (Sarma *et al.* 2000; García *et al.*, 2006). No obstante, estos resultados quizás se encuentren relacionados con las características del material de procedencia, ya que el follaje de todos los tratamientos presentaba poca edad (60 días), coincidiendo con el final de la etapa de vivero. Además, es conocido la influencia determinante que tiene la edad de la biomasa, la fenología y la época, fundamentalmente, en los niveles de los componentes fibrosos de los forrajes (García, 2003).

Los niveles de P fueron relativamente elevados al compararlos con los reportados en árboles y arbustos forrajeros en Venezuela (García *et al.*, 2006) y coinciden con los informados por Mahecha *et al.* (2007) en una evaluación nutricional realizada en la especie. No obstante, la concentración de este mineral en el follaje no justifica la inclusión de *T. diversifolia* como dieta única en la alimentación animal.

La mayor concentración de CHST en el follaje proveniente de las estacas más grandes, de mayor diámetro y la de menor cantidad de yemas, quizás sugiere que el estatus energético del follaje en esta especie se encuentra relacionado positivamente con

Cuadro 4. Influencia de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca de *T. diversifolia* en la composición bromatológica de la biomasa.

Factor	Nivel	PC†	PV	PS	PC-FDN	FDN	FAD	P	CHST	Almidón	Ceniza
----- % -----											
Longitud, cm	10	23,37	12,64	9,54	5,23	33,27	27,37	0,38	9,65c‡	5,76	7,65
	20	21,27	13,38	10,32	5,74	34,47	27,74	0,40	10,25b	5,38	7,38
	30	22,72	13,20	9,20	5,37	33,98	26,27	0,36	11,57a	4,55	7,94
	40	23,38	12,62	10,06	5,27	34,38	27,74	0,36	11,76a	5,62	8,02
	EE±	3,85	2,26	1,98	1,02	4,32	3,12	0,07	0,65	1,04	1,02
Diámetro, cm	1,0-1,9	21,97	12,73	10,37	4,79	34,94	26,38	0,38	10,48b	6,27	7,98
	2,0-2,9	23,65	12,63	10,35	5,24	35,87	26,28	0,36	10,65b	5,53	7,58
	3,0-3,9	22,18	12,38	9,49	5,26	34,28	27,53	0,37	12,92a	5,75	8,12
	4,0-4,9	20,37	12,93	9,39	5,01	34,26	27,38	0,36	12,76a	6,73	7,86
	EE±	3,28	2,49	1,79	1,21	4,38	2,65	0,05	0,79	1,15	1,22
Número de yemas	2	20,76	13,48	10,62	5,12	36,27	26,72	0,37	11,82a	5,71	8,24
	3	21,53	12,48	9,69	5,54	35,27	27,80	0,36	11,58a	6,65	7,98
	4	21,78	12,93	10,43	5,36	35,38	27,10	0,38	10,93b	5,65	8,05
	5	20,37	13,46	9,43	5,31	34,92	26,29	0,37	9,94c	6,60	7,76
	EE±	2,93	2,02	1,99	1,32	4,27	2,26	0,08	0,65	1,43	1,58

† PC: proteína cruda, PV: proteína verdadera, PS: proteína soluble, PC-FDN: proteína unida a la fibra detergente neutro, FDN: fibra detergente neutro, FAD: fibra detergente ácido, P: fósforo, CHST: carbohidratos solubles totales.

‡ Medias con letras distintas entre filas presentan diferencias significativas ( $P < 0,01$ ).

el desarrollo morfo-estructural de las ramas y que las reservas concentradas de estos compuestos en una menor cantidad de puntos de crecimiento (yemas) favorece las concentraciones foliares de sacáridos después de la emisión del rebrote. No obstante, aunque de forma general estos aspectos han sido descritos, desde el punto de vista fisiológico, el comportamiento de los metabolitos energéticos en función de las variaciones morfo-estructurales es muy dependiente de la especie, del estado nutricional y de las condiciones edafoclimáticas en la cual se cultiva (Pineda, 2004).

La concentración de CHST y almidón en *Tithonia* fueron similares a las obtenidas en el follaje de otras plantas no leguminosas tales como *Morus alba*, *Trichantera gigantea*, *Cnidoscolum aconitifolium* y *Ficus carica* (García y Medina, 2006). Sin embargo, la cantidad de carbohidratos fue superior a lo informado en algunas leguminosas de uso tradicional como forraje (Benavides, 1994), en las cuales se ha determinado el nivel de estos compuestos en follajes maduros. Al respecto, es bien conocido que generalmente, las especies no leguminosas,

comparadas con las leguminosas, presentan mayor cantidad foliar de CHS cuando las especies de ambos grupos se encuentran en un mismo estado fenológico (García, 2003). Sin embargo, se ha demostrado, en diferentes condiciones experimentales, que la edad de la biomasa influye drásticamente en la concentración de los hidratos de carbono (Pineda, 2004).

Con relación a los contenidos de ceniza, estos fueron inferiores a los reportados por otros autores en la especie, sobretodo si se considera que algunos de los miembros de la familia Asteraceae almacenan en el follaje cantidades sustanciales de sales inorgánicas, aspecto que las diferencia de un gran número de leguminosas (García y Medina, 2006).

Por otra parte, en el Cuadro 5 se muestran los resultados de la composición fitoquímica y la degradabilidad ruminal a las 48 horas. No se observaron diferencias significativas en la concentración de ninguno de los metabolitos secundarios cuantificados, la actividad biológica de los inhibidores de tripsina ni en la degradabilidad ruminal. Al parecer, el metabolismo secundario en la especie tampoco presenta conexión con las particularidades

Cuadro 5. Influencia de la longitud, el diámetro y el número de yemas de la estaca de *T. diversifolia* en los niveles de metabolitos secundarios y la degradabilidad ruminal de la biomasa.

Factor	Nivel	FT†	ET	TerpT	Cum	Camg	I	TIA	TIU	DMS	DPC
		----- % -----					mg/g	µ/g	----- % -----		
Longitud, cm	10	0,78	2,67	1,03	0,05	0,44	58,36	1,12	308	69,72	75,78
	20	0,64	2,54	1,11	0,06	0,47	54,76	1,21	375	70,74	72,74
	30	0,80	2,70	1,14	0,04	0,39	57,75	1,09	365	72,83	72,84
	40	0,75	2,68	1,21	0,04	0,30	54,89	1,10	376	68,93	73,83
EE±		0,35	0,37	0,20	0,02	0,15	6,86	0,20	26	5,89	6,83
Diámetro, cm	1,0-1,9	0,68	2,73	1,26	0,07	0,48	59,95	1,24	375	71,63	76,37
	2,0-2,9	0,87	2,92	1,32	0,06	0,43	57,84	1,18	367	73,73	75,38
	3,0-3,9	0,76	2,60	1,27	0,06	0,38	58,48	1,19	375	70,74	76,94
	4,0-4,9	0,75	2,75	1,19	0,05	0,39	57,49	1,20	348	69,86	74,73
EE±		0,21	0,51	0,33	0,02	0,19	5,95	0,15	45	6,73	4,33
Número de yemas	2	0,77	2,62	1,37	0,04	0,40	57,63	1,16	374	73,44	74,84
	3	0,81	2,58	1,26	0,05	0,37	55,85	1,19	347	70,73	74,44
	4	0,83	2,49	1,38	0,06	0,36	56,93	1,20	362	71,39	74,47
	5	0,79	2,65	1,39	0,05	0,41	57,38	1,15	383	69,72	72,63
EE±		0,34	0,31	0,26	0,03	0,23	6,84	0,31	38	4,84	75,87

† FT: polifenoles totales, ET: esteroides totales, TerpT: terpenos totales, Cum: cumarinas, Camg: compuestos amargos, I: porcentaje de inhibición de la tripsina, TIA: actividad del inhibidor de tripsina, TIU: unidades de tripsina inhibidas, DMS: degradabilidad de la materia seca a las 48 h, DPC: degradabilidad de la proteína cruda a las 48 h.

fisiológicas de la semilla vegetativa, al menos en la etapa inicial de crecimiento, aún cuando es conocido que estos compuestos se encuentran estrechamente relacionados con la edad biológica de la planta y la madurez del follaje (García, 2004; García y Medina, 2005). En este sentido, los contenidos de FT, Cum y la actividad biológica de los inhibidores de proteasas fueron bajos. Sin embargo, la concentración de ET, TerpT y el porcentaje de inhibición de la tripsina resultaron elevados, aunque los datos obtenidos son difícilmente comparables, considerando que existe muy poca literatura disponible en la cual se describan los niveles de estos metabolitos en la especie. De ahí la importancia de establecer rangos de concentraciones de los principales compuestos tóxicos, con el objetivo de realizar estudios nutricionales posteriormente con animales.

Por otra parte, aunque se han estudiado las características de los isoprenoides presentes en el follaje de algunas Asteráceas, incluyendo a *T. diversifolia*, no se reportan datos cuantitativos, sino determinaciones estructurales de compuestos

biológicamente activos presentes en la biomasa de la especie (Lamaty *et al.*, 1991; Manut *et al.*, 1992). Asimismo se ha determinado que los miembros de esta familia presentan una fracción polifenólica insignificante, lo cual es muy positivo desde el punto de vista nutricional (García *et al.*, 2006). Sin embargo, la presencia cuantiosa de terpenoides, lactonas y piranos en la parte comestible de *Tithonia* constituye un tema que debe ser investigado con mayor profundidad, aun cuando solamente se ha informado efecto citotóxico de un grupo pequeño de metabolitos en la especie (Mungarulire *et al.*, 1993) y además empíricamente no se han observados problemas relacionados con toxicidad aguda y efectos fisiológicos adversos en animales alimentados con dietas experimentales a base de esta arbustiva (Ríos, 1997; Lauser *et al.*, 2006). Al respecto, estudios integrales han determinado que en las plantas compuestas, las sesquiterpenlactonas constituyen una de las estructuras de mayor interés fitoquímico, debido a sus potencialidades farmacológicas y por su influencia marcada en la aceptabilidad de algunos tipos de animales, debido a que éstos compuestos le

confieren a los forrajes un acentuado sabor amargo (Personious *et al.*, 1987; Villalba y Provenza, 2005; García *et al.*, 2008).

En otro sentido, aunque los valores de inhibición de la tripsina fueron considerables (54,8-59,9), la actividad biológica de estos compuestos antinutricionales fue baja, si se comparan con las obtenidas por Sotelo *et al.* (1999) en especies forrajeras utilizando el mismo método de análisis. Estos resultados no afectan integralmente las excelentes características de la fracción proteica de la especie, ya que tempranamente se reconoció que la TIA y TIU constituyen los indicadores más viables para estimar la acción detrimental, en términos biológicos, de los inhibidores de proteasas en la nutrición (Kakade *et al.*, 1974).

En cuanto a la degradabilidad ruminal, los resultados coinciden con los obtenidos en la mayoría de las evaluaciones de valor nutritivo utilizando rumiantes, lo cual demuestra que en la fase inicial de crecimiento, aun cuando no se encuentra en su máximo desarrollo vegetativo, esta especie también mantiene un elevado valor nutritivo de sus fracciones. Teniendo en cuenta la elevada degradación ruminal de la MS y la PC, los resultados son consistentes con los obtenidos en la fracción comestible de otras plantas forrajeras no leguminosas que contienen bajos o nulos contenidos de taninos en la biomasa, tales como *M. alba*, *Hibiscus rosa-sinensis* y *Moringa oleifera* y que constituyen excelentes fuentes suplementarias de proteínas para rumiantes y monogástricos en condiciones tropicales (García *et al.*, 2006).

### CONCLUSIONES

En *T. diversifolia* la cantidad de ramas, el prendimiento, la sobrevivencia, la afectación por plagas y enfermedades, el perfil fitoquímico y la degradabilidad ruminal no presentaron diferencias significativas con respecto a la longitud, el diámetro y la cantidad de yemas de la estaca. Sin embargo, estos factores afectaron drásticamente la altura diferencial de la planta, el número de brotes, la longitud de la rama, la tasa de crecimiento y la concentración de CHST.

De forma general, con estacas de 10 y 20 cm, grosor entre 1 y 3,9 cm y con 5 yemas se obtienen buenos resultados en la etapa inicial de crecimiento,

garantizando un forraje de elevado valor nutricional para la alimentación animal, aun cuando los niveles de ET, TerpT y Camg no son despreciables.

Se deberían realizar ensayos más específicos, a partir de las variables morfo-estructurales que presentaron las mayores fluctuaciones numéricas, para definir integralmente el comportamiento de *T. diversifolia* en condiciones de vivero.

### LITERATURA CITADA

- Adoyo F., J.B. Mukalama y M. Enyola. 1998. El uso de *Tithonia* para controlar termitas en el distrito de Busia, Kenia. LEISA, 13(4): 1-4
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>ta</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, EUA.
- Benavides J.E. 1994. La investigación en árboles forrajeros. En Benavides J.E. (Ed.) Árboles y Arbustos Forrajeros en América Central. Informe Téc. No. 236. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Vol. 1, pp. 3-21.
- Canul J.R., J.G. Escobedo, P.E. Laray M. A. López. 2006. Influencia de la asociación *Gliricidia sepium* - *Tithonia diversifolia* - *Cynodon nlemfuensis* en el rendimiento y componente del forraje. Resúmenes 4<sup>to</sup> Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Animal Sostenible y 3<sup>er</sup> Simposio sobre Sistemas Silvopastoriles para la Producción Ganadera Sostenible. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- Chay A.J., J.G. Escobedo, U. Ramírez, D. Marrufo y J. Gutiérrez. 2006. Productividad de *Tithonia diversifolia* intercalado a *Cynodon nlemfuensis* y *Gliricidia sepium* abonado con ovinaza. Resúmenes 4<sup>to</sup> Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Animal Sostenible y 3<sup>er</sup> Simposio sobre Sistemas Silvopastoriles para la Producción Ganadera Sostenible. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- Corpoica (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria). 2001. Especies promisorias de la Amazonia. Conservación Manejo y utilización del germoplasma. Produmedios. Florencia, Colombia.

- Galindo W., M. Rosales, E. Murgueitio y J. Larrahondo. 1989. Sustancias antinutricionales en las hojas de árboles forrajeros. *Livest. Res. Rural Dev.*, 1(1): <http://www.lrrd.org/lrrd1/1/mauricio.htm>
- García D.E. 2003. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). Tesis Maestría. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- García D.E. 2004. Principales factores antinutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación. *Pastos y Forrajes*, 27(2): 101-111.
- García D.E. y M.G. Medina. 2005. Metodología para el estudio de los compuestos polifenólicos en especies forrajeras. Un enfoque histórico. *Zootecnia Trop.*, 23(3): 261-296.
- García D.E. y M.G. Medina. 2006. Metodologías para la evaluación de especies arbóreas y arbustivas en sistemas silvopastoriles. Memorias (CD ROM). Curso Nacional sobre Metodologías para el Manejo y Evaluación de Sistemas Agroforestales. INIA. Trujillo, Venezuela.
- García D.E., M.G. Medina, J. Humbría, C.E. Domínguez, A. Baldizán, L.J. Cova y M. Soca. 2006. Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. *Arch. Zootecnia*, 55(212): 373-384.
- García D.E., M.G. Medina, L.J. Cova, J. Humbría, A. Torres y P. Moratinos. 2008. Preferencia caprina por especies forrajeras con amplia distribución en el estado Trujillo, Venezuela. *Arch. Zootecnia*, 57(220): 403-413.
- Giraldo C., Z. Calle, I. Armbrrecht y J. Montoya. 2006. Efecto de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) sobre herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Formicidae). Resúmenes 4<sup>to</sup> Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Animal Sostenible y 3<sup>er</sup> Simposio sobre Sistemas Silvopastoriles para la Producción Ganadera Sostenible. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- Hartmann H. y D. Kester. 2000. Propagación de Plantas. Principios Prácticos. 8<sup>va</sup> ed. Editorial Continental. Ciudad de México, México.
- Hoyos J. 1999. Plantas tropicales ornamentales de tallo herbáceo. Monografía N° 46. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Caracas, Venezuela.
- Kass D. 1999. Proyecto *Tithonia diversifolia*. *Agrofor. Amér.*, 16(23): 1-5.
- Kakade M.L., J.J. Rackis, J.E. McGhee y G. Puski. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, 51: 376-382.
- Lamaty G., C. Menut, P.H.A. Zollo, J.R. Kuate, J.M. Bessiere y J. Kodou. 1991. Aromatic plants of tropical central Africa. III. Constituents of the essential oil of the leaves of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray from Cameroon. *J. Esse. Oil Res.*, 3(6): 399-402.
- Lampert R., E. Franco y C. Dias. 1999. Enraizamiento de estacas de diferentes diámetros en *Platanus acerifolia* (Aiton) Willdenow. *Ciência Florestal*, 9(2): 127-136.
- Lauser D., K. Rivas y M. Torres. 2006. Evaluar la ganancia diaria de peso en animales de raza cebuina en crecimiento sometidos a una dieta que incluye botón de oro (*Tithonia diversifolia*). Resúmenes 13<sup>to</sup> Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. Univ. Nac. Exp. "Rómulo Gallegos", San Juan de los Morros, Guárico, Venezuela.
- Lezcano S.Q. y R. González. 2000. Metodología para la Evaluación de Alimentos de Consumo Animal. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Machado R. 2006. Adaptabilidad de gramíneas y leguminosas en suelos hidromórficos del humedal Ciénaga de Zapata. Establecimiento. *Pastos y Forrajes*, 29(2): 155-167.
- Mahecha E. y M. Rosales. 2005. Valor nutricional del follaje de botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Helmsl.) Gray, en la producción animal en el trópico. *Livest. Res. Rural Dev.*, 17 (9): <http://www.lrrd.org/lrrd17/9/mahel7100.htm>
- Mahecha L., J.P. Escobar, J.F. Suárez y L.F. Restrepo. 2007. *Tithonia diversifolia* (Helmsl.) Gray (botón de oro) como suplemento forrajero de vacas F<sub>1</sub>

- (Holstein por Cebú). *Livest. Res. Rural Dev.*, 17 (9): <http://www.lrrd.org/lrrd19/2/mahe19016.htm>.
- Makkar H.P.S. 2003. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. A Laboratory Manual. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands.
- Medina M.G., D.E. García, T. Clavero, J.M. Iglesias y J.G. López. 2007. Evaluación inicial de la Morera (*Morus alba* L.) en condiciones de vivero. *Zootecnia Trop.*, 25(1): 45-56.
- Mehrez A.Z. y E.R. Ørskov. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci.*, 88: 645-649.
- Mejía M. 2009. Estudio de propagación sexual y asexual de algunas especies promisorias de la Amazonia Colombiana: copoazú, *Theobroma grandiflorum* Wild ex Spreng (Shum); arazá, *Eugenia stipitata* Mc Vaugh y camu camu, *Myrciaria dubia*. Red de la Extensión Académica de la Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: [http://www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/especies/Vegetales/41\\_CopuazuMejia.htm](http://www.reuna.unalmed.edu.co/temporales/memorias/especies/Vegetales/41_CopuazuMejia.htm)
- Menut C., G. Lamaty, P.H.A. Zollo, J.R. Kuate, J.M. Bessiere y P.H. Amvam-Zollo. 1992. Aromatic plants of tropical central Africa. IX. Chemical composition of flower essential oils of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray from Cameroon. *J. Esse. Oil Res.*, 4(6): 651-653.
- MINSAP. 2000. Análisis fitoquímico preliminar para plantas medicinales. Análisis de sesquiterpenlactosas,  $\alpha$ - $\beta$  lactosas,  $\sigma$ -lactonas, cumarinas y cardiotónicos. Ministerio de Salud Pública. La Habana, Cuba.
- Mungarulire J., C.H. Franz, R. Seitz y N. Verlet. 1993. Some developments in the search for cytotoxic constituents from Rwandese medicinal plants. *Acta Hort.*, 333: 211-216.
- Murgueitio E., M. Rosales y M.E. Gómez. 2001. Agroforestería para la Producción Animal Sostenible. Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria. Cali, Colombia.
- Pacheco J.J y L.A. Pérez. 1989. Malezas de Venezuela. Aspectos botánicos, ecológicos y formas de combate. Monsanto de Venezuela. San Cristóbal, Venezuela.
- Personious T.L., C.L. Nwambolt, J.R. Stephens y R.C. Keiser. 1987. Crude terpenoid influence on mule deer preference for sagebrush. *J. Range Manag.*, 40(1): 84-87.
- Pidi N. 1981. La multiplicación de las Plantas. Editorial de Vecchi. Barcelona, España.
- Pineda M. 2004. Resúmenes de fisiología vegetal. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba, España.
- Ramírez U., J.G. Escobedo, P.E Lara y A.J. Chay. 2006. Productividad agronómica del arbusto forrajero *Tithonia diversifolia* en Yucatán México. Resúmenes 4<sup>to</sup> Congreso Latinoamericano de Agroforestería para la Producción Animal Sostenible y 3<sup>er</sup> Simposio sobre Sistemas Silvopastoriles para la Producción Ganadera Sostenible. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- Ríos C.I. 1997. Botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. En Rosales M., J.D. Chara, A. Zapata, P.M. Castro (Eds.) Árboles y Arbustos Forrajeros Utilizados en la Alimentación Animal como Fuente Proteica. 2<sup>da</sup> ed. Colciencias-CIPAV. Cali, Colombia. pp 115-126.
- Ríos C.I y A. Salazar. 1995. Botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray) una fuente proteica alternativa para el trópico. *Livest. Res. Rural Dev.*, 6(3): <http://www.lrrd.org/lrrd6/3/9.htm>.
- Ríos C.I. 1999. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray, una planta con potencial para la producción sostenible en el trópico. En Sánchez M.D. y M. Rosales (Eds.) Agroforestería para la Producción Animal en América Latina. Estudio FAO Producción y Sanidad Animal N° 143. FAO, Roma. Italia. pp. 311-325.
- Salazar A. 1992. Evaluación agronómica del botón de oro (*Tithonia diversifolia*-familia compuesta) y el pinocho (*Malvaviscus penduliflorus*-familia Malvaceae). Informe de becarios de la fundación Centro para la Investigación en Sistemas

- Sostenibles de Producción Agropecuaria. Cali, Colombia.
- Sarma R.K., B. Singh y T.K. Bhat. 2000. Nitrogen solubility, protein fractions, tannins and *in sacco* dry matter digestibility of tree fodders of Shiwalik range. *Indian J. Anim. Nutr.*, 17(1): 1-7.
- Schnee L. 1984. Plantas Comunes de Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca. Caracas, Venezuela.
- Sotelo A., P. Migliaro, A. Toledo y J. Contreras. 1999. Chemical composition, digestibility and antinutritional factors content of two wild legumes: *Styphonolobium burseroides* and *Acacia bilimekii*. *Plant Foods Huma. Nutr.*, 54: 59-65.
- Van Noordwijk M., K. Hairah, S. Partoharjono, R.V. Labios y D. Garraty. 1997. Food-based production systems as sustainable alternatives for imperata grasslands. *Agrofor. Syst.*, 36: 55-63.
- Villalba J.J. y F.D. Provenza. 2005. Foraging in chemical diverse environments: energy, protein and alternative foods influence ingestion of plant secondary metabolites by lams. *J. Chem. Ecol.*, 31(1): 123-130.
- Visauta B. 1998. Estadística Multivariante. Mc-Graw Hill Interamericana. Madrid, España.
- Weaver R.J. 1987. Reguladores del Crecimiento de las Plantas en la Agricultura. 5<sup>ta</sup> ed. Trillas. Ciudad de México, México.