

DEGRADACIÓN RUMINAL EFECTIVA DE BOTÓN DE ORO (*TITHONIA DIVERSIFOLIA*)

Victoria Arronis¹, Sergio Abarca¹, Roberto Soto¹

RESUMEN

Degradación ruminal efectiva de botón de oro (*Tithonia diversifolia*). El presente estudio se llevó a cabo entre 2017 y 2018, el objetivo fue determinar la degradabilidad efectiva a nivel ruminal en tres dietas habituales de uno de los forrajes arbustivos más utilizado bajo condiciones de trópico húmedo en Costa Rica, como lo es la *Tithonia diversifolia*, conocido como botón de oro. El estudio se realizó en dos fases; la primera se realizó en la *Estación Experimental La Managua* (EELM), del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA) en Quepos, donde se reprodujo el ecotipo recomendado por INTA de *Tithonia diversifolia*, el cual se cosechó a los 40, 50 y 60 días de rebrote. La segunda fase se realizó en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en Turrialba, donde se secó por liofilización y se analizó la calidad nutricional del material cosechado en la primera fase. Posteriormente, con este mismo material se realizaron pruebas de digestibilidad in situ, velocidad de pasaje, pH y amonía a nivel ruminal en animales de la raza Brahman fistulados al rumen. Los rebrotes de 40 días de edad presentaron las mayores degradaciones ruminales potencial y efectiva. Se concluye que es una alternativa viable para mejorar dietas a base de pasto. El uso de alimento balanceado no afectó negativamente los parámetros de degradación del botón de oro. El mejor potencial alimenticio se observó en las hojas.

Palabras clave: *Tithonia diversifolia*, degradabilidad, digestibilidad, tasa de pasaje, metano entérico.

Keywords: *Tithonia diversifolia*, degradability, digestibility, passage rate, enteric methane.

INTRODUCCIÓN

Este estudio se enmarca dentro del proyecto: Desarrollando sistemas de producción ganaderos competitivos con bajas emisiones de gases de efecto invernadero en América Central, financiado por FONTAGRO-Nueva Zelanda ejecutado por CATIE.

Está claro que la calidad de los forrajes tiene gran influencia en el consumo de materia seca y la emisión de metano entérico de los bovinos

(Van Soest, 1994). En Costa Rica actualmente se ejecuta una estrategia para una ganadería baja en emisiones de carbono, que tiene como base una Acción de Mitigación Nacionalmente Apropriada (NAMA) (MAG 2015), la cual desarrolla acciones tendientes a la medición, registro y verificación (MRV) (MAG, 2020) sobre las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) de los sistemas primarios de las agro-cadenas de leche y carne bovina.

1. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, INTA. Costa Rica. varronis@inta.go.cr, Sede del INTA en Pérez Zeledón, Costa Rica; sbarca@inta.go.cr. y rsoto@inta.go.cr, Sede del INTA en Turrialba, Costa Rica.

En el anterior contexto, se conoce que el follaje de arbustos mejora la calidad de la dieta de los bovinos (Roldan 1981; Medina, 1988; Estrada, 1997; Galindo et al, 2014). No obstante, su uso a nivel práctico ha sido limitado por el costo y esfuerzo en sistemas de corte y acarreo (Montero 2016). El forraje de arbustos está constituido por la porción denominada biomasa comestible, compuesta por hojas, peciolo y tallos verdes de las ramas superiores de los árboles forrajeros susceptibles de ser consumidos como alimento por los herbívoros (Benavidez, 1999). Esta porción comestible constituyó el 49% del peso seco de la biomasa de ramas de *Leucaena sp* (Wencomo y Ortiz, 2012). Los tallos de la biomasa comestible de poro (*Erythrina sp*) representaron en promedio el 30% del peso seco (Rodríguez 1984).

El follaje de *Tithonia diversifolia* es uno de los forrajes arbustivos más utilizado bajo condiciones de trópico húmedo en Costa Rica, conocido como botón de oro (Arronis, 2014). Es una especie arbórea forrajera de alta digestibilidad (La O, et al. 2014; Gallego et al. 2014). Endémica de Centroamérica, que se da desde el nivel del mar hasta los 2200 msnm, donde se han identificado 34 ecotipos (Arronis 2015). Es de **fácil propagación en agroecosistemas subtropicales y tropicales húmedos, subhúmedos y montañosos** (González, et al 2014; Murgueitio et al 2015). Hay evidencias de que esta planta

acumula tanto nitrógeno en sus hojas como las leguminosas; con altos niveles de fósforo, un gran volumen radicular y habilidad para recuperar nutrientes del suelo (CIPAV 2004). Es de rápido crecimiento y baja demanda de insumos y manejo para su cultivo (Ríos 2002). Mahecha y Rosales (2005) resaltan el potencial de *Tithonia diversifolia* como forrajera. Puede alcanzar una alta concentración de carbono (C) en su biomasa aérea, mayor de 77 t/ha/año (Zavala et al 2007). La inclusión de *Tithonia diversifolia* en los sistemas silvopastoriles intensivos mejora la calidad de la dieta tradicional basada principalmente en gramíneas contribuyendo en la reducción de la emisión de metano (Donney's et al 2014). Se ha reportado que *Tithonia 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 Galindo et al (2018). Existe evidencia de que esta planta es un adecuado complemento a las dietas basadas en pastos tropicales (Mahecha et al. 2005; Medina et al 2009; Gallego 2016; Ruiz et al 2016).

El objetivo del presente trabajo fue observar la dinámica de la degradación ruminal y estimar la degradación ruminal efectiva del forraje de *Tithonia diversifolia* ecotipo Quepos-INTA.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material de *Tithonia diversifolia* utilizado fue producido en el banco forrajero de la Estación Experimental La Managua INTA en Quepos, en una zona de vida, de Bosque Muy Húmedo Tropical Basal (Holdridge 1978); con una precipitación anual de 4000 mm, y una temperatura diaria promedio de 26 °C. Se recolectaron muestras a los 40, 50, y 60 días de rebrote. El material se tomó de seis plantas por cada edad. Cada muestra se sub-dividió en dos sub-muestras. La

primera de aproximadamente de 300 g para la caracterización nutricional por edad (cuadro1), y la segunda se leofilizó hasta obtener 1,0 kg de MS para las pruebas en animales. Del rebrote de 50 días se obtuvo por separado una porción de hojas y otra de tallos de aproximadamente 350 g cada. Una sub-muestra de biomasa comestible a 50 días de rebrote fue analizada en el Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Nacional para detección de metabolitos secundarios.

Cuadro 1. Caracterización de la calidad nutricional del folrraje de *Tithonia diversifolia* utilizado. Quepos, Costa Rica. 2017.

Rebrote	PC	FDA	FDN	Lignina	Cenizas
Días	%	%	%	%	%
40	19,8	29,4	35,2	6,2	9,8
50	14,4	42,9	48,0	6,8	11,0
60	10,6	37,0	42,2	7,2	11,4

Las evaluaciones de degradación *in situ* y velocidad de pasaje se realizaron en CATIE situado a 640 m de altura en una zona de vida de Bosque Tropical Húmedo Premontano (Holdridge1978), con una precipitación anual de 2645 mm y una temperatura diaria promedio anual de 22,3°C. Se utilizaron tres animales fistulados al rumen de la raza Brahman de 2,5 años de edad y con peso promedio de 426 kg, procedentes la Estación Experimental Los Diamantes (INTA) y colocados en corrales individuales donde rotaron por tres dietas diferentes: solamente pasto, pasto más 2,5 kg MS *Tithonia diversifolia* y pasto más 2,5 kg MS de concentrado. El pasto se ofreció a libre consumo y fue king grass (*Pennisetum purpureum* * *Pennisetum thyphoides*).

Velocidad de pasaje

La estimación de la velocidad de pasaje de se realizó una vez en cuatro novillos que consumían *Tithonia diversifolia*, utilizando fibra de la misma especie impregnada con óxido de cromo como marcador de fase sólida. La impregnación con cromo se hizo de acuerdo con la técnica propuesta por Uden (1980) y modificada por Kass y Rodríguez (1989). El porcentaje de cromo (Cr) ligado fue 6,97%, por lo tanto, la cantidad suministrada de fibra amordantada fue de 104 g. Esta se introdujo directamente al rumen a través de la fístula contenida en una bolsa de papel que se rompió en lo profundo del saco ventral del rumen y se mezcló con el contenido ruminal. La colección de heces se hizo directamente del recto, tomando como tiempo cero el momento de depositar la fibra, a partir del cual los tiempos de muestreo fueron: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 40, 48, 56, 68, 80, 104, y 123 horas. El cálculo se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Van Soest et al (1994) de acuerdo con el siguiente modelo matemático:

Ec. 3

$$[Cr_{MS}] = [Cr_i] * k_1 / (k_2 - k_1) * (e^{(k_1(t-TT))} - e^{(k_2(t-TT))})$$

Donde:

$[Cr_{MS}]$ = concentración de cromo en la materia seca de las heces

$[Cr_i]$ = concentración inicial de cromo en rumen al tiempo cero

k_1, k_2 = tasa de paso

TT = tiempo de tránsito

La estimación de la tasa de pasaje en el rumen (k_1) se asoció con el coeficiente b de la primera regresión y este se multiplicó por 2,303 (\ln_{10}) y 100 para expresarla como porcentaje por hora. Igualmente se procedió para la tasa de pasaje del tracto posterior (segunda regresión). Pero calculado a partir de la diferencia entre los valores extrapolados de la primera regresión y observados en los tiempos inmediatamente anteriores al tiempo donde se produjo la máxima excreción de cromo.

Degradación ruminal “*in situ*”

Para la determinación de la degradación “*in situ*” de la *Tithonia diversifolia*, se les ofreció una ración equivalente al 30% del consumo estimado en materia seca a tres animales fistulados. La evaluación tuvo una duración de 31 días, con 22 días de acostumbramiento y tres de medición por cada corrida de degradación. Se incubó por duplicado material molido a 2 mm (5 gr de forraje) en bolsas de dacrón de aproximadamente 17,0 cm de largo por 9,0 de ancho, con un poro de 52µ. Los tiempos de incubación fueron de: 1, 2, 4, 12, 18, 24, 36, 48 y 72 horas de acuerdo con la técnica descrita por Orskov et al (1980).

El cálculo de degradación *in situ* de la materia seca (MS) se realizó mediante la fórmula:

Ec. 1

$$\% \text{ Degrad} = \frac{\text{Cantidad inicial} + \text{Cantidad residual}}{\text{Cantidad inicial}} * 100$$

El modelo a utilizado en todos los casos es el propuesto por Orskov (1982), en el cual el porcentaje de material degradado (p) después de un tiempo (t) puede describirse con la ecuación:

Ec. 2

$$p = a + b (1 - e^{-ct})$$

Donde:

p = porcentaje de degradación acumulada en el tiempo t

a = intercepto de la curva de degradación cuando t = 0 (fracción inmediatamente disponible)

b = fracción que se degrada por acción microbiana

c = constante a la cual la fracción descrita como b es degradada por hora

La degradación efectiva (real) se estimó mediante la ecuación (EC.2) al tiempo promedio “t” de retención en el retículo-rumen.

Determinación de parámetros de la fermentación ruminal

Se obtuvieron muestras de licor ruminal a las 9:00 am y 3:00 pm después del suministro diario de *Tithonia diversifolia*, para determinación del pH mediante lectura directa de “pHmetro” de mano. Así como 100 ml de licor en un recipiente de vidrio para determinación de N a través de micro-Kjeldahl modificado (Kass y Rodríguez 1989).

Diseño experimental

Para las variables de la degradación ruminal obtenidos de la ecuación Ec.2, se utilizó un cuadrado latino con tres novillos, tres edades de rebrote y tres dietas de acuerdo con la metodología de Lucas (1983) para diseños de sobrecambio en alimentación de animales, con el siguiente modelo matemático:

Ec. 4

$$y_{ijk} = \mu + \sigma_i + \rho_j + \tau_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = Variable en el i-esimo animal, de la j-esima edad, de la k-esima dieta

σ_i = Efecto del el i-esimo animal (tres animales)

ρ_j = Efecto del j-esima edad (tres días de rebrote)

τ_k = Efecto del k-esima dieta (tres dietas)

ε_{ijk} = error aleatorio

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de pasaje de la biomasa comestible

El cuadro 2 presenta los resultados asociados a la velocidad de pasaje de la porción comestible de *T. diversifolia*.

Cuadro 2. Parámetros de pasaje de la materia seca de *Tithonia diversifolia*. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Parámetro	Tiempo de tránsito	Retención retículo rumen	Retención tracto posterior	Tasa de pasaje retículo rumen	Tasa de pasaje tracto posterior
Unidades	horas			% / hora	
Promedio	14,6	18,8	5,8	5,5	17,7
Rango (mín. – máx.)	14,7-16,4	15,2-22,5	4,8-6,8	4,4-9,4	14,7-20,7

En relación con la tasa de pasaje de arbustos forrajeros el rango de variación es alto, debido a las partes de planta involucradas, la relación hoja/tallo y grado de lignificación de los tallos. Estrada (1997) reporta una tasa de pasaje en el retículo rumen para hojas de morera (*Morus* sp.) entre 8,2 a 8,7 %/h, con niveles de retención en el retículo rumen entre 12,2 y 13,5 horas. Mientras que Abarca (1988) trabajando con material comestible de poró (*Erythrina poeppigiana*) reporta tasas de (4,7 y 5,3 %/h), con tiempos de retención entre 18,7 y 21,1 horas. Por otra parte, en pastos de baja calidad; Pulido (1990) con paja de jaragua (*Hiparrhenia rufa*), encontró tasa de 3,4 y 3,9 sin tratar y tratadas con urea respectivamente hasta con 30 horas de permeancia en el rumen y 20 horas en el tracto posterior, lo que asoció a consumos bajos de 2% del peso vivo.

Degradación de la materia seca de la biomasa comestible

En el cuadro 3 se observan los parámetros de degradación de la materia seca de la biomasa comestible para las diferentes edades de rebrote. En la fracción “a” (fracción inmediatamente disponible), no se observó diferencias entre las edades de 40 y 60 días de rebrote, mientras la edad de 50 días fue significativamente más baja. Para la fracción “b” la cual necesita acción microbiana para su degradación, se observó que la edad de 40 días presentó un valor significativamente mayor que las otras dos edades. La degradación potencial fue significativamente mayor a los 40 días de rebrote con respecto a las otras dos. Para las tasas de degradación “c” de la materia seca de la fracción “b” las edades 40 y 60 fueron significativamente diferentes, mientras que la de 50 no mostró diferencias entre los rebrotes de 40 y 60 días. Las tres edades se comportaron diferente en relación con la digestibilidad efectiva.

Cuadro 3. Parámetros de degradación ruminal de la materia seca de *Tithonia diversifolia* a tres edades de rebrote. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Edades	Fracción “a”	Fracción “b”	Tasa “c”	Degradación Potencial	Degradación Efectiva
Días	%		% / hora	%	
40	30,4 a	48,3 a	0,07 a	78,7 a	61,8 a
50	25,5 b	35,7 b	0,08 ab	61,3 b	50,3 b
60	29,0 a	34,9 b	0,09 b	63,9 b	55,1 c
EE	0,76	1,17	0,0005	0,74	0,85

En las tres edades la degradación potencial fue superior al 60%, lo que se considera adecuado para un forraje tropical, siendo similar a los valores observados en otros follajes arbustivos como: brotes no mayores de 20 cm de *Leucaena leucocephala* y madero negro (*Gliricidia sepium*) reportados por Roldan (1981), y muy superior a los valores reportados para poró (*Erythrina poeppigina*) por Medina (1988), y dentro del rango reportado por Cardona et al (2017) de degradación ruminal para esta especie de 65% *in vivo*, y 67% *in situ*, a las 48 horas. La digestibilidad efectiva a los 40 días de rebrote fue semejante a las hojas de morera (*Morus alba*) evaluadas por Estrada (1997) siendo la mejor edad de rebrote.

En relación a las dietas de los animales en las cuales se incubó el forraje de *T. diversifolia*

(Cuadro 4) no se observaron diferencias significativas para las fracciones a y b, así como para la degradación potencial. Las tasas de degradación de la fracción “b” las dietas de solamente pasto y pasto más *T diversifolia* fueron significativamente diferentes entre sí, mientras la dieta con pasto más concentrado no presentó diferencias con respecto a las otras dos. La degradación efectiva fue mayor en las dietas con suplementos (*T. diversifolia* y concentrado) respecto a la de solamente pasto. Los resultados de las tasas y la degradación efectiva, observados en este estudio indican que: para análisis de digestibilidad *in vitro* o *in situ* de forrajes arbustivos tropicales como este, es imperativo que los animales donantes de licor ruminal o donde se va a incubar el material a probar, estén consumiendo el forraje a probar.

Cuadro 4. Parámetros de degradación ruminal de la materia seca de *Tithonia diversifolia* a tres dietas diferentes. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Dietas	Fracción “a”	Fracción “b”	Tasa “c”	Degradación Potencial	Degradación Efectiva
	%		% / hora	%	
Pasto	27,4 a	40,2 a	0,07a	67,6 a	52,4 a
Pasto + Concentrado	28,9 a	39,4 a	0,08 ab	68,3 a	56,9 b
Pasto + T diversifolia	28,6 a	39,4 a	0,09 b	67,9 a	57,3 b
EE	1,1	1,6	0,01	1,1	0,85

Se observó un efecto animal para tasa de degradación “c” y digestibilidad efectiva, donde un mismo animal presentó valores significativamente menores a los otros dos. Lo anterior sugiere que incluso en razas adaptadas a los forrajes y ambiente tropical puede darse diferencias en el comportamiento de consumo de algunos animales.

Degradación de la hoja y el tallo (50 días de rebrote)

Se observaron diferencias significativas entre hojas y tallos, para las fracciones “a” inmediatamente disponible, “b” acción microbiana y degradación potencial. No se obtuvo diferencias para la tasa de degradación de la fracción b, aunque se observó una tendencia a ser mayor en la hoja con respecto al tallo (Cuadro 5). Tampoco se observó diferencias en relación las dietas para las dos porciones de la planta bajo estudio.

Cuadro 5. Parámetros de degradación ruminal de la materia seca de hojas y tallos de *Tithonia diversifolia* a 50 días de rebrote. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Biomasa comestible	Fracción “a”	Fracción “b”	Tasa “c”	Degradación Potencial
Parte	%		%/hora	%
Hoja	28,6 a	70,6 a	0,11 a	98,9 a
Tallo	24,3 b	32,3 b	0,07 a	56,7 b
EE	1,1	1,4	0,02	0,6

De acuerdo con los datos anteriores, y considerando que el tallo constituye la mayor proporción de la masa comestible, este tiene una gran influencia en el nivel de degradación que alcance el forraje ofrecido. Por lo tanto, en sistemas de suplementación de corte y acarreo es fundamental observar la relación tallo/hoja, debido a

que la proporción de forraje de *T. diversifolia* con volúmenes elevados de tallo podría generar una reducción de la digestibilidad de la ingesta total. Mientras, los sistemas a “ramoneo” donde el animal puede seleccionar mejor la porción y cantidad a consumir podrían producir una mejora efectiva en la degradación promedio de la ingesta.

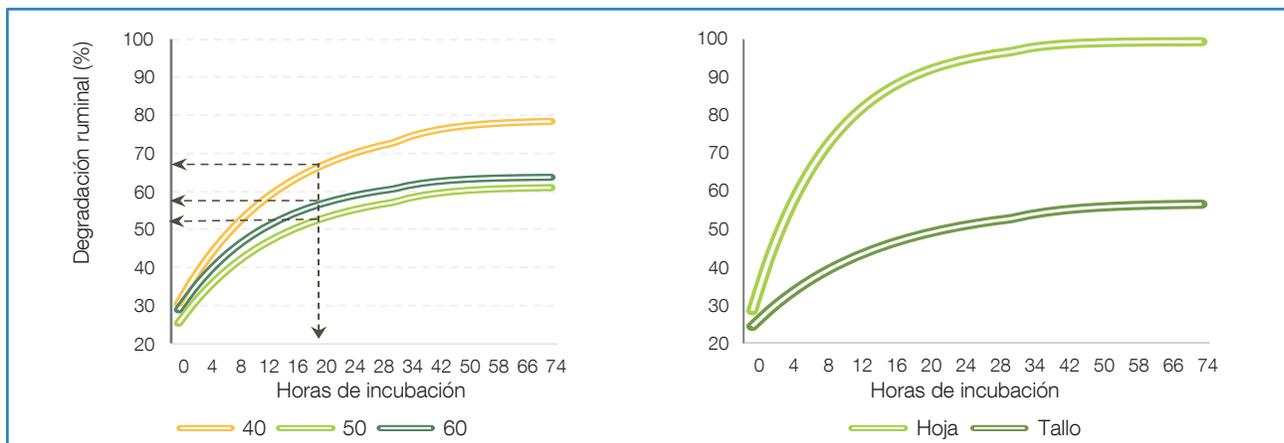


Figura 1. Curva de degradación ruminal efectiva y potencial de biomasa comestible de *Tithonia diversifolia* a tres edades de rebrote, hoja y tallo. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Parámetros de la fermentación ruminal

No se obtuvo diferencias significativas entre dietas para el pH ruminal siendo el promedio $6,99 \pm 0,15$. Sin embargo, se observó diferencias, entre días y entre la mañana y la tarde debido al manejo de la alimentación, concordado con lo reportado por Medina (1988) cuando suplemento forraje de poró (*Erythrina poeppigiana*). Se considera que los niveles de pH observados en los alimentos suplementados (concentrado y *Tithonia*) están en el rango apropiado para una adecuada fermentación

de los forrajes (Orskov 1982). Shirley (1986) cita que con un pH entre 7,5 y 7,0 se obtuvo la mejor degradación de la FDN de pasto Orchardgrass (*Dactylis glomerata*).

Para los niveles de nitrógeno amoniacal, se observó diferencias entre la dieta solamente pasto y pasto más concentrado, la dieta con *T. diversifolia* no fue diferente a las dos anteriores (figura 2).

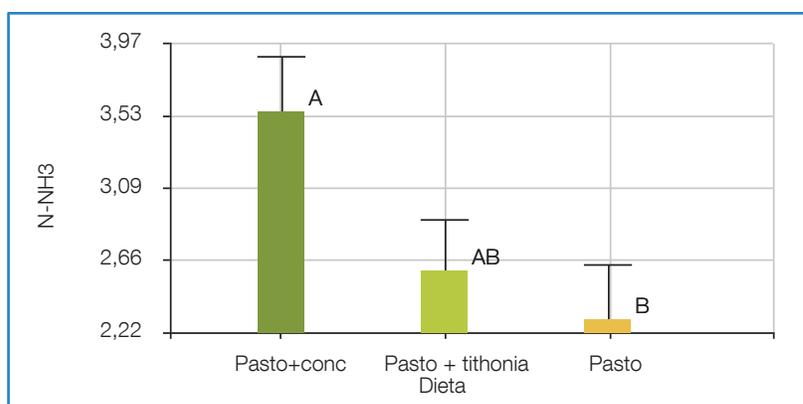


Figura 2. Niveles de $N-NH_3$ ruminal de animales alimentados con base en pasto king grass (*Pennisetum purpureum* * *Pennisetum thyphoides*) suplementado con concentrado o *Tithonia diversifolia*. Turrialba, Costa Rica. 2017.

Los valores obtenidos en esta investigación son más altos que los reportados por Holguin (2016) utilizando ensilado de pastos con *Tithonia*, pero más bajos que los reportados por Medina (1988) con mezclas de poró (*E. poeppigiana*) y Estrada (1997) para niveles de suplementación similares.

Se concluye que: la mejor edad de acuerdo con los parámetros de degradación, pasaje amonio y pH ruminal observados en este estudio

fue la de 40 días de rebrote. El forraje de *Tithonia diversifolia*, en una relación hoja/tallo adecuada constituye una alternativa viable para mejorar dietas a base de pasto de baja calidad. El uso de 2,5 kg de alimento balanceado comercial no afectó negativamente los parámetros de degradación del botón de oro, por lo que es posible su combinación. El mejor potencial alimenticio se observó en las hojas, por lo que es necesario innovar en sistemas que favorezcan el consumo de esta parte de la planta.

LITERATURA CITADA

Abarca, S. 1988. Efecto de la suplementación con poro (*Erythrina poeppigiana*) y melaza sobre la producción de leche de vacas pastoreando estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*). Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, CR. 68p.

Arronis, V. 2014. Bancos forrajeros de energía y proteína como estrategia para enfrentar los efectos negativos del cambio climático. INTA - CORFOGA. 13 p.

Arronis, V. 2015. Validación de la utilización del forraje botón de oro (*Tithonia diversifolia*), en sistemas intensivos de producción de carne en la Región Brunca. Informe Final. Departamento Pecuario. INTA. San José, Costa Rica. 29 p.

Benavides, J. 1999. Árboles y arbustos forrajeros: una alternativa agroforestal para la ganadería. In: Agroforestería para la Producción Animal en Latinoamérica. FAO Producción y sanidad animal 143: 449-477.

Cardona, L; Mahecha, L; Angulo J. 2017. Effect on off *in vitro* fermentation of mixture of *Tithonia diversifolia*, *Cenchrus clandestinum* and polyunsaturated fats. Mesoamerican Agronomy 28:405-426.

CIPAV. 2004. Sistema Agroforestal, Banco de forraje de leñosas, árboles y arbustos en Sistemas Silvopastoriles. Cali, Colombia 102 p.

Donney's, G; Molina, IC; Rivera, JE.; Villegas, G; Chará, J; Barahona, R. 2015. Producción *in vitro* de metano de dietas ofrecidas en sistemas silvopastoriles intensivos con *Tithonia diversifolia* y sistemas tradicionales. CIPAV. III Congreso SS – VIII Congreso de AF. 661-667p.

Estrada, X. 1997. Efecto de sustitución de King grass (*Pennisetum purpureum* * *Pennisetum typhoides*) por morera (*Morus* sp) sobre los parámetros de degradación y fermentación ruminal de cuatro forrajes de calidad contrastante. Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, CR. 65p.

Galindo, J; Blanco, G; Rodríguez, I. 2018. Silvopastoral system with *Tithonia diversifolia*: effect on the rumen microbial populations of cows. Instituto de Ciencia Animal. Revista Pastos y Forrajes. 41(4):273-278.

Galindo, J; González, N; Scull, I; Marrero, Y. 2014. Efecto de *Samanea saman*, *Albizia ibbebeck* y *Tithonia diversifolia* en la población de meta-nógenos y en la ecología microbiana ruminal. Instituto de Ciencia Animal. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 46(3):1-7.

Gallego, L. 2016. Evaluación agronómica y análisis productivo (*Tithonia diversifolia*) como suplemento alimenticio de vacas lecheras en trópico alto. Tesis M.Sc. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Gallego, LA.; Mahecha, L.; Angulo, J. 2014. Potencial forrajero de *Tithonia diversifolia* (HAG) en la producción de vacas lecheras. Agronomía Mesoamericana 25(2):393-403.

González, JC; Hahn von Hessberg, C; Narvaez, W. 2014. Características botánicas de *Tithonia diversifolia* y su uso en la alimentación animal. Boletín Científico. p. 45-58.

Holdridge, L 1978. Ecología basada en zonas de vida. San José, Costa Rica, IICA. 216 p.

- Holguin, V. 2016. Optimización de *Tithonia diversifolia* ensilada como alimento para ovinos de pelo. Tesis Ph.D. Universidad Nacional de Colombia. 163 p.
- Kass, M.; Rodríguez, G. 1989. Evaluación nutricional de Forrajes, Costa Rica CATIE. 43 p.
- La O, O; González, H; Orozco, A; Castillo, Y. 2012. Composición química, degradabilidad ruminal *in situ*, digestibilidad *in vitro* de ecotipos de *Tithonia diversifolia* de interés para la alimentación de rumiantes. Revista Cubana de Ciencias Agrarias 46(1):47-53.
- Lucas, HR. 1983. Design and analysis of feeding experiments with milking dairy cattle. Recopied of an original mimeographed copy, by Biomathematics Graduate Program, Department of Statistic. N.C., North Carolina State University. p. 16-1 a 16-51 (Mimeo. Serie 18).
- Mahecha, L; Rosales, M; 2005. Valor nutricional del botón de oro (*Tithonia diversifolia* HG) en la producción animal en el trópico. Livestock Research for Rural Development. 17(9).
- Medina, M; García, D; González, L. 2009. Variables morfoestructurales y de calidad de la biomasa de *Tithonia diversifolia* en la etapa inicial de crecimiento. Zootecnia Tropical 27:121-134
- Medina, P. 1988. Efecto de la suplementación con poro (*Erythrina poeppigiana*) y melaza sobre la fermentación ruminal y la degradabilidad *in situ* del poro y el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, CR. 94p.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 2015. NAMA Ganadería Costa Rica. 27 p.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). 2020. Metodología de Medición, Reporte y Verificación de la Acción de Mitigación Nacionalmente Apropiaada para la Ganadería Bovina. Periodo 2019-2020. 24p.
- Montero, E. 2016. evaluación de las propiedades fermentativas, nutricionales y el costo de elaboración de ensilaje de Poró (*Erythrina poeppigiana*) y *Cratylia argentea* con niveles crecientes de inclusión de guineo cuadrado (*Musa sp*), para alimentación de rumiantes. Tesis UCR. 60 p.
- Murgueitio, E; Calle, Z; Chará, J. 2015. Sistemas agroforestales, function productiva, socioeconómica y ambiental. Informe Técnico 402. CATIE, Costa Rica – CIPAV, Colombia. 454 p.
- Orskov, ER. 1982. Methods of measuring degradability of feed nitrogen. In: Protein nutrition in ruminants. London, Academy Press. p. 45-63.
- Orskov, ER; Hovell, RO; Mould, F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Producción Animal Tropical (R.D.) 5(3):213-233.
- Pulido, J. Efecto de la amonificación con urea sobre el valor nutritivo y parámetros de digestión ruminal de la paja de jaragua (*Hyparrhenia rufa*). Tesis M.Sc. CATIE. Turrialba, CR. 130p.
- Ríos, CI. 2002. Uso, manejo y producción de botón de oro (*Tithonia diversifolia*). Tres especies vegetales promisorias. CIPAV, Colombia. 211 p.
- Rodríguez, R. 1984. Producción de biomasa del poro (*Erythrina poeppigiana* (walpers) O.F. Cook) y king grass (*Pennisetum purpureum* x *P. Typhoides*) intercalados, en función de la densidad de siembra y frecuencia de poda del poro. Tesis CATIE. 53p.
- Roldan, G. 1981. Degradación ruminal de algunos forrajes proteicos en función del consumo de banano verde suplementario. Tesis M.Sc. UCR/ CATIE. Turrialba, CR. 71p.
- Ruiz, T; Alonso, J; Febles, G; Galindo, J. 2016. *Tithonia diversifolia*: I. Estudio de diferentes materiales para conocer el potencial de biomasa y calidad nutritivo. Instituto de Ciencia Animal, Cuba. 20(3):63-82.
- Shirley, R. 1986. Nitrogen and energy nutrition of ruminants. University of Florida. Gainesville. Pp 44.
- Van Soest, P. 1994. Nutritional Ecology of Ruminant. 2nd ed. Cornell University. USA. 479 p.
- Wencomo, H; Ortiz, R. 2012. Comportamiento de la disponibilidad de biomasa y la composición química en 23 accesiones de *Leucaena spp*. Pastos y Forrajes. 35(1): 43-56.
- Zavala, Y; Rodríguez, JC; Cerrato, M. 2007. Concentración de carbono y nitrógeno a 6 frecuencias de poda en *Tithonia diversifolia* y *Morus alba*. Revista Tierra Tropical. 3:221.