



HARINA DE FORRAJE DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA*: EFECTO EN INDICADORES FISIOLÓGICOS Y DE LA BIOQUÍMICA SANGUÍNEA DE DOS CATEGORÍAS AVÍCOLAS

TITHONIA DIVERSIFOLIA FORAGE MEAL: EFFECT ON PHYSIOLOGICAL INDICATORS AND BLOOD BIOCHEMISTRY OF TWO POULTRY CATEGORIES

LOURDES SAVÓN*, BÁRBARA RODRÍGUEZ, IDANIA SCULL,
 YSNAGMY VÁZQUEZ, MAGALY HERRERA, T.E. RUIZ

Instituto de Ciencia Animal, C. Central, km 47½, San José de las Lajas, Código Postal: 32700, Mayabeque, Cuba

*Email: lourdeslsavonvaldes@gmail.com

La utilización e investigación de recursos vegetales que son abundantes en el trópico reviste gran importancia para la alimentación de especies monogástricas, sobre todo la avícola, debido a la deficiente producción de cereales y a las limitaciones financieras para su adquisición. *Tithonia diversifolia* (tithonia) por sus características agronómicas y su buena producción de biomasa es una alternativa atractiva para garantizar una producción sostenible. En este artículo se presentan los resultados de investigaciones que se condujeron para evaluar el efecto del consumo de harina de forraje de *T. diversifolia* material vegetal 10 en indicadores fisiológicos de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal, así como indicadores de la bioquímica sanguínea de dos categorías avícolas. Para ello se determinó la composición química y los metabolitos secundarios presentes en el material vegetal. Se estudiaron cinco niveles de harina de forraje de la arborea (0, 5, 10, 15 y 20 %) y cuatro niveles (0, 10, 15 y 20 %) como sustituto parcial de la harina de maíz/soya en dietas para pollos de engorde de 42 días y pollitas de reemplazo de ponedoras de 18 semanas de edad, respectivamente. Se evaluó el impacto de su consumo en: 1) indicadores morfométricos macroscópicos de órganos digestivos: buche, proventrículo, molleja, intestino delgado, ciegos e intestino grueso y accesorios (hígado y páncreas) del tracto gastrointestinal; 2) indicadores morfométricos microscópicos (evaluación histopatológica); 3) evaluación cuantitativa de los cambios morfométricos en la estructura de los órganos estudiados con el consumo de harina de forraje de *T. diversifolia* material vegetal 10 en reemplazo de ponedoras y 4) determinación de indicadores de la bioquímica sanguínea en ambas categorías. Los datos se analizaron al considerar la capacidad morfofuncional del sistema digestivo y órganos accesorios en la categoría avícola referida. Los resultados obtenidos contribuyeron a la valoración de la respuesta fisiológica e influyeron en el establecimiento de los niveles adecuados de *T. diversifolia* para lograr una producción animal sostenible.

Palabras clave: aves, harina de forraje de *Tithonia diversifolia*, indicadores morfométricos, indicadores sanguíneos, órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal

The use and research of plant resources that are abundant in the tropic have great importance for the monogastric species feeding, above all the poultry due to the poor production of cereals and to the financial limitations for their acquisition. *Tithonia diversifolia* (tithonia) for its agronomic characteristics and its good biomass production is an attractive alternative to guarantee a sustainable production. In this paper are show the results of researchers that were performed to evaluate the effect of *T. diversifolia* plant material 10 forage meal intake on physiological indicators of digestive organs and accessories of the gastrointestinal tract, as well as blood biochemistry indicators of two poultry categories. For this the chemical composition and secondary metabolites present in the plant material were determined. A total of five level of the tree forage meal (0, 5, 10, 15 and 20 %) were studied and four levels (0, 10, 15 and 20 %) as partial substitution of the corn/soybean meal in diets for 42 days broilers and replacement pullets of laying hens of 18 weeks respectively. The impact of their intake was evaluated in: 1) macroscopic morphometric indicators of digestive organs: crop, proventriculus, gizzard, small intestine, caeca, large intestine and accessories (liver and pancreas) of the gastrointestinal tract; 2) microscopic morphometric indicators (histopathologic evaluation); 3) quantitative evaluation of the morphometric changes in the structure of the studied organs with the intake of *T. diversifolia* plant material 10 forage meal in laying hens replacement and 4) determination of the blood biochemistry indicators in both categories. The data were analyzed when considering the morphofunctional capacity of the digestive system and accessory organs in the mentioned poultry category. The results obtained contributed to the assessment of the physiological response and influence on the establishment of the adequate levels of *T. diversifolia* to achieve a sustainable animal production.

Key words: birds, blood indicators, digestive organs and accessories of the gastrointestinal tract, morphometric indicators, *Tithonia diversifolia* forage meal

Recibido: 02 de abril de 2024

Aceptado: 25 de julio de 2024

Conflicto de intereses: No existe conflictos de intereses entre los autores

Declaración de contribución de autoría CRediT: Lourdes L. Savón: **Conceptualización, Investigación, Curación de datos, Análisis formal, Redacción - borrador original.** Bárbara Rodríguez: **Conceptualización, Investigación, Análisis formal, Redacción - borrador original.** Idania Scull: **Investigación, Análisis formal, Redacción - borrador original.** Ysnagmy Vázquez: **Investigación, Análisis formal, Redacción - borrador original.** Magaly Herrera: **Investigación, Curación de datos, Redacción - borrador original.** T.E. Ruiz: **Investigación, Administración de proyectos, Recursos.**



Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



Introducción

Según FAO (2018) en la actualidad, la utilización de las denominadas plantas arbóreas y arbustivas en sustitución de fuentes tradicionales como la soya y el maíz en la dieta de especies monogástricas, entre ellas la avícola, constituye una alternativa alimentaria muy atractiva porque disminuye el costo de las raciones por concepto de sustitución de importaciones y propicia un sistema de alimentación más diverso y sostenible. Entre éstas sobresale *Tithonia diversifolia* material vegetal 10 que se caracteriza por su disponibilidad y excelente valor nutritivo (Scull et al. 2019).

En los países de la región de Latinoamérica y el Caribe como México, Colombia y Cuba se desarrollaron investigaciones para establecer el nivel de consumo de tithonia como harina de hojas o follaje en pollos de engorde (Gutiérrez-Castro y Hurtado-Nery 2019). También se empleó la tithonia como harina de forraje (hojas + tallos tiernos) en pollos de engorde (Rodríguez et al. 2020) o en gallinas ponedoras y sus reemplazos (Rodríguez et al. 2018, Fuentes-Martínez et al. 2019, Vázquez et al. 2021 y Vázquez et al. 2023). La mayoría de los trabajos refieren los aspectos nutricionales como comportamiento productivo, rendimiento de la canal, muy pocos lo relacionado con la respuesta fisiológica del sistema digestivo y sus órganos accesorios, así como el análisis del perfil bioquímico sanguíneo (Gutiérrez-Castro y Corredor -Mateus 2019) en cada una de estas categorías.

El estudio tiene como objetivos mostrar las investigaciones realizadas en el Instituto de Ciencia Animal para evaluar el efecto en indicadores fisiológicos y de la bioquímica sanguínea al incluir diferentes niveles de harina de forraje de *T diversifolia* material vegetal 10 como sustituto parcial de harina de maíz/soya en dietas en pollos de engorde y pollitas de reemplazo de ponedoras de 42 días y 18 semanas de edad, respectivamente.

Para ello se realizaron las investigaciones siguientes:

- Determinar la composición química y los metabolitos secundarios de la harina de forraje de *T. diversifolia*
- Determinar indicadores fisiológicos (morfométricos macroscópicos) de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal, en pollos de engorde y pollitas de reemplazo de ponedoras que consumen cinco niveles (0, 5, 10, 15 y 20 %) y cuatro niveles (0, 10, 15 y 20 %) de harina de forraje de *T. diversifolia*, respectivamente
- Evaluar indicadores morfométricos microscópicos (evaluación histopatológica) con el consumo de cuatro niveles (0, 10, 15 y 20 %) de harina de forraje de *T. diversifolia* en pollitas de reemplazo de ponedoras
- Realizar una evaluación estructural cuantitativa de los cambios morfométricos en los diferentes órganos estudiados de pollitas de reemplazo de ponedoras que consumen los referidos niveles de harina de forraje de *T. diversifolia*.

- Determinar indicadores de la bioquímica sanguínea en pollos de engorde y pollitas de reemplazo de ponedoras que consumen niveles de 0, 5, 10, 15 y 20 % y 0, 10, 15 y 20 % de harina de forraje de *T. diversifolia*, respectivamente.

Materiales y Métodos

En todos los experimentos se utilizó la especie arbórea *Tithonia diversifolia* material vegetal 10 que se estableció en suelo ferralítico rojo típico de rápida desecación y perfil uniforme (Hernández et al. 2019). El material vegetal se cosechó en la Unidad de Pastos y Forrajes “Miguel Sistachs Naya” del Instituto de Ciencia Animal. Se utilizaron hojas y tallos tiernos de la planta con edades de corte entre 60 y 70 días de edad a una altura de 15 cm (Ruiz et al. 2017). La harina de forraje de tithonia se elaboró según Savón et al. (2020).

Caracterización química de la harina de forraje de Tithonia diversifolia: Para el estudio de la composición química se molió 1 kg de la harina de forraje a tamaño de partícula de 1 mm y se almacenó en frascos ámbar hasta el momento del análisis. El análisis de los indicadores de composición química se realizó por sextuplicado

Se realizó un análisis bromatológico para determinar materia seca (MS), proteína bruta (PB) y las cenizas (C) según AOAC (2019). El Ca se cuantificó en un equipo de absorción atómica. La determinación de fósforo (P) se realizó según la metodología de Amaral (1972). También se analizaron los componentes de la pared celular. La fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (Lig) y celulosa (Cel) se determinaron de acuerdo con los procedimientos descritos por Göering y Van Soest (1970). Por último, se realizaron los ensayos del tamizaje fitoquímico a la harina de forraje del material vegetal 10 según Miranda y Cuellar (2000). Se investigó la presencia de 12 grupos funcionales: alcaloides, saponinas, triterpenos/esteroides, taninos, flavonoides, proantocianidinas, coumarinas, quinonas, azúcares reductores, grupos amino, resinas y cardenólidos. Los taninos condensados totales (TCT) se cuantificaron según los procedimientos del ensayo de Porter et al. (1986), modificado por Makkar (2003).

Análisis estadístico: Se realizó análisis de estadística descriptiva (media, desviación estándar y coeficiente de variación (%)). Para el procesamiento de los resultados se utilizó el programa estadístico Infostat (Di Rienzo et al. 2012).

Animales y dietas: Se utilizaron 40 pollos de engorde del híbrido cubano EB₂₄ de 42 días de edad y 32 pollitas de reemplazo de ponedoras White Leghorn L₃₃ de 18 semanas para evaluar el efecto del consumo de tithonia en indicadores morfométricos macroscópicos de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal

de ambos. En las pollitas de remplazo además se realizó una evaluación histopatológica cualitativa y cambios estructurales microscópicos en órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal. Todos los animales procedían de un experimento de comportamiento productivo. Los pollos de engorde se distribuyeron en cinco tratamientos (0, 5, 10, 15 y 20 %) de inclusión del material vegetal, mientras que para las pollitas se incluyeron cuatro niveles (0, 10, 15 y 20 %). La dieta base fue harina de soya como fuente proteica y maíz como fuente energética. En todos los casos se realizaron 8 repeticiones por tratamiento. Durante todo el tiempo de experimentación los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento. Las dietas experimentales se formularon según las recomendaciones nutricionales para el pollo de engorde de [Rostagno et al. \(2017\)](#), mientras que para las pollitas se siguieron las recomendaciones de [UECAN \(2013\)](#). Para la formulación de las dietas de los pollos de engorde, ver [Savón et al. \(2022\)](#) y en el caso de las pollitas ver [Vázquez et al. \(2021\)](#).

Procedimiento experimental: A los 42 días de edad se pesaron 8 aves por tratamiento (total de animales 40), y a las 18 semanas de edad se pesaron las pollitas de remplazo de ponedora (total de animales 32), cuyos pesos se correspondió con el valor promedio de cada tratamiento. La selección se hizo sobre la base del peso promedio de cada grupo de aves sobre un rango del 10 % y se determinaron los indicadores que muestra el procedimiento experimental siguiente.

Indicadores morfológicos de órganos digestivos y accesorios: Las aves se sacrificaron dos horas y treinta minutos después de la ingestión de alimento por el método de desangrado de la vena yugular descrito por [Sánchez \(1990\)](#). Posteriormente, se siguió el procedimiento descrito por [Savón et al. \(2021\)](#). Los datos de los órganos se expresaron como peso absoluto (g) y como peso relativo ($\text{g g peso vivo}^{-1}$ 100). Las longitudes del intestino delgado, los ciegos y el colon-recto se midieron con una cinta métrica.

Evaluación histopatológica: Se utilizaron 32 pollitas de remplazo de ponedoras que se sacrificaron según lo descrito por [Savón et al. \(2021\)](#). Para el examen microscópico se tomaron cuatro muestras de 1 cm² de proventrículo, molleja, intestino delgado (íleon), los ciegos e hígado. La evaluación histopatológica se realizó según POT (05.22.016) en el Laboratorio de Patología del Centro de Toxicología Experimental (CETEX) perteneciente al Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Para ello se utilizó un microscopio Motic, modelo BA410E.

Evaluación histológica (cuantitativa): El proceso se inició realizando la observación de las láminas histológicas con el microscopio óptico MoticBA410E. Seguidamente se capturaron las imágenes correspondientes con una

cámara para microscopía digital instantánea Motican 1080 BMH, con una resolución de 3 megapíxeles, en un aumento de 40× y se analizaron dichas imágenes con el software para tratamiento de imágenes Motic® Images plus 3.0 (Motic China Group Co.).

Para el estudio morfométrico de los cortes histológicos del sistema digestivo se determinaron siete variables por animal que se midieron con ayuda del software de procesamiento y análisis de imágenes: en el proventrículo (altura de la mucosa, μm), diámetro de las yemas glandulares (μm); en la molleja: (altura de la mucosa (μm); en el intestino delgado: altura de las vellosidades (μm), ancho de las vellosidades (μm), profundidad de criptas de Lieberkühn (μm) y en los ciegos: altura de la mucosa (μm).

Posteriormente, las imágenes se archivaron en formato JPG para conservar todos los detalles observados al microscopio y a continuación se midieron las variables con ayuda del software de procesamiento y análisis de imágenes Motic. Se contabilizó un área por variable y por animal.

Indicadores de la bioquímica sanguínea: La muestra de sangre se tomó directamente de la vena yugular cuando los animales se sacrificaron. Se utilizaron 40 pollos de engorde y 32 pollitas de remplazo (8 por tratamiento para ambas categorías). En pollos de engorde se determinó: colesterol, glucosa, triglicéridos, proteínas totales, albúmina y las enzimas alanina amino transferasa, aspartato amino transferasa, y el ácido úrico. En el caso de las pollitas de remplazo se analizaron: proteínas totales, colesterol, triglicéridos y glucosa. Todas las determinaciones se realizaron en el suero sanguíneo mediante un analizador automático Cobas integra 400PLUS (Roche Diagnostic System).

Diseño experimental y análisis estadístico: Los resultados del experimento de morfometría de pollos de engorde se analizaron según diseño completamente aleatorizado, se ajustó como covariable el peso al inicio de los animales. Los datos se procesaron con el paquete estadístico InfoStat 2012 ([Di Rienzo et al. 2012](#)). Para la comparación de medias se utilizó la d-óxima de [Duncan \(1955\)](#), para $p < 0.05$, en los casos necesarios.

Para el experimento de indicadores morfométricos macroscópicos de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal de pollitas de remplazo de ponedoras, el diseño y análisis estadísticos fueron similares al empleado en los pollos de engorde.

En el caso de la evaluación morfométrica microscópica de los cambios estructurales en los órganos del sistema digestivo los datos obtenidos a partir de las mediciones realizadas se introdujeron en el paquete estadístico Graphpad, versión 8.1. A partir de los mismos se determinaron los estadígrafos descriptivos para cada indicador que se analizó. La normalidad se determinó por el test de Kolmogorov-Smirnov, corregida por [Lilliefors](#)

(1967). La homogeneidad de varianzas se determinó por el test de Levene (1960). Cuando se cumplieron estas premisas, se realizó Análisis de Varianza (ANOVA) factorial simple teniendo en cuenta la variable grupo experimental; utilizando para determinar las diferencias el test de student. Cuando no se cumplió una o ambas premisas (normalidad u homogeneidad de varianzas), se realizó un análisis no paramétrico a través de la prueba de Kruskal y Wallis (1952), utilizando para determinar las diferencias, la dócima no paramétrica de Dunn (1964). Se trabajó para un nivel de significación de $p < 0.05$.

Resultados y Discusión

Caracterización química y metabolitos secundarios de harina de forraje de T. diversifolia material vegetal 10: La harina de forraje de tithonia del material vegetal 10 mostró un aporte de 24.6 % de proteína bruta, 20.3 % de cenizas, 2.38 % de Ca, 36.07 % de fibra detergente neutro, 32.48 % de fibra detergente ácido y 25.87 % de celulosa, lo que la caracteriza como una fuente proteica alternativa alta en fibra.

El contenido de cenizas es un indicador de la proporción de compuestos inorgánicos presentes en la planta. En este estudio los niveles de cenizas fueron elevados, aspecto que está en correspondencia con las altas concentraciones de Ca que se hallaron y se relacionan con estudios previos (Fuentes-Martínez et al. 2019). A pesar, que la fibra insoluble constituyó el componente mayoritario de la harina, los valores están dentro de lo indicado para alimento animal y son inferiores a los informados por Savón (2010) para un grupo de plantas tropicales.

El valor nutricional de un alimento depende entre otros factores, de la presencia de metabolitos secundarios. Estos compuestos pueden tener efectos beneficiosos o antinutricionales en el animal, en dependencia de su concentración, estructura química y biodisponibilidad, así como, de las características de la especie animal en cuestión (Scull 2018). De los grupos funcionales buscados mediante las pruebas cualitativas del tamizaje fitoquímico se encontraron niveles bajos de alcaloides, compuestos fenólicos y triterpenos, metabolitos que pueden desencadenar una marcada actividad biológica en los animales.

González et al. (2019) informaron la presencia de otros metabolitos secundarios en la planta que no fueron hallados en este estudio como: saponinas, coumarinas y quinonas. Esto se pudiera relacionar con la concentración insuficiente de estos compuestos en la harina para su detección efectiva con los procedimientos utilizados. Lo anterior puede estar determinado por variaciones en el metabolismo de estos compuestos debido a diferencias genéticas y estado fenológico. La ausencia de saponinas, coumarinas y las cantidades bajas de alcaloides y terpenos

apunta a la calidad fitoquímica de la harina de este material como alimento animal. Estos compuestos secundarios esencialmente, pueden ocasionar trastornos nutricionales, pérdida de peso y dificultades gastrointestinales, cuando se encuentran en concentraciones altas o se utilizan en proporciones elevadas en la dieta (Scull et al. 2017).

La cuantificación de las proporciones de compuestos fenólicos mostró valores de 9.83 y 3.85 g/kg de MS para los taninos totales (TT) y taninos condensados (TC), respectivamente referidos a cifras de proteína total (PT) de 19.45 g/kg MS. La baja concentración de TC, TT y PT corrobora los resultados del tamizaje fitoquímico y es comparable con los valores informados por García et al. (2008) en árboles y arbustos forrajeros de uso en la alimentación animal. Al tener en cuenta lo anterior, este grupo de compuestos debe causar efectos benéficos en el animal e incidir de forma positiva en su actividad biológica. Según González-Sierra et al. (2019), la actividad antioxidante que posee la *T. diversifolia* se asocia a la presencia de flavonoides y otros compuestos fenólicos presentes en la planta.

Conclusión: Los resultados de este experimento mostraron que la harina de forraje del material vegetal 10 contiene pequeñas cantidades de compuestos fitoquímicos de gran importancia biológica, que pueden tener un impacto benéfico para la salud y la nutrición de animales monogástricos.

Indicadores morfométricos macroscópicos de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal de pollos y pollitas de reemplazo de ponedoras: Una vez determinada la composición química y los metabolitos secundarios presentes en la harina de forraje de *Tithonia diversifolia* material vegetal 10, se evaluó el efecto del consumo de esta arborea en indicadores morfométricos y órganos accesorios del tracto gastrointestinal de pollos de engorde y pollitas de reemplazo de ponedoras.

En los pollos de engorde, los pesos relativos del tracto gastrointestinal vacío, molleja llena, intestino delgado vacío y colon-recto lleno fueron similares para todos los tratamientos experimentales (tabla 1). Lo anterior implica que el consumo de harina de forraje de tithonia no influyó en los pesos relativos de estos órganos. En contraposición, se observó que el 20 % de este alimento fibroso produjo un incremento del peso de la molleja vacía, que se asocia con una mayor actividad del órgano como resultado de las cantidades crecientes de fibra insoluble provistas por la inclusión de tithonia en las dietas (Jiménez-Moreno et al. 2010).

La longitud relativa del intestino delgado de las aves fue similar para todos los tratamientos experimentales, con excepción del tratamiento 10 % de harina de forraje de tithonia que disminuyó con respecto a los niveles de 15 y 20 % de sustitución. En cuanto a los ciegos, la longitud relativa del ciego izquierdo de las aves que

consumieron la dieta control, 5 y 10 % de inclusión de harina de forraje de tithonia no difirieron entre sí, pero sí se incrementó con los niveles de 15 y 20 %. Esto se debe a una respuesta fisiológica que se provoca por el aumento del tiempo de permanencia de las partículas fibrosas en este órgano, la acción de la masa microbiana y productos finales de fermentación. Estas secciones dentro del tubo digestivo son el único lugar donde se produce la digestión de la fibra dado la actividad fermentativa que

poseen las bacterias y hongos celulolíticos ahí presentes (Rodríguez *et al.* 2012). La magnitud de la respuesta se puede afectar por la composición físico-química de la fibra presente en la dieta (Savón 2010).

El consumo de 20 % de harina de forraje de tithonia ocasionó un incremento del peso relativo del buche tanto lleno como vacío (tabla 2). El consumo elevado de fibra insoluble aportado por la harina de forraje de tithonia incrementó el volumen del órgano y alteró su morfología.

Tabla 1. Peso relativo (g g⁻¹ PVx100) y longitud relativa (cm órgano⁻¹ PVx100) de órganos digestivos de pollos de engorde que recibieron diferentes niveles de harina de forraje de tithonia. (Covariable significativa)

Tratamientos Indicadores	Niveles de harina de forraje de tithonia (%)					Signif. Covariables	Signif.
	0	5	10	15	20		
Peso vivo	2160 ^a	2204 ^a	2113 ^a	2091 ^a	1933 ^b		
Tracto gastrointestinal vacío	6.60 (±0.21)	6.50 (±0.22)	6.44 (±0.20)	7.02 (±0.20)	6.94 (±0.24)	p=0.0055	p=0.2510
Molleja llena	3.24 (±0.17)	3.50 (±0.18)	2.87 (±0.17)	3.42 (±0.17)	3.25 (±0.20)	p=0.0172	p=0.0969
Molleja vacía	1.95 ^b (±0.08)	2.13 ^b (±0.09)	2.11 ^b (±0.08)	2.42 ^a (±0.08)	2.40 ^a (±0.10)	p=0.0251	p=0.0032
Intestino delgado vacío	3.04 (±0.12)	2.87 (±0.13)	2.73 (±0.12)	3.04 (±0.12)	2.74 (±0.15)	p=0.0014	p=0.2247
Colon recto lleno	0.35 (±0.04)	0.41 (±0.05)	0.43 (±0.04)	0.47 (±0.04)	0.39 (±0.05)	p=0.0107	p=0.4562
Longitud relativa Intestino delgado	9.72 ^{ab} (±0.28)	9.24 ^{ab} (0.30)	8.93 ^b (±0.27)	10.39 ^a (±0.27)	10.09 ^a (±0.33)	p=0.0014	p=0.0070
Longitud ciego izquierdo	0.99 ^b (±0.03)	1.05 ^{ab} (±0.04)	1.04 ^{ab} (±0.03)	1.13 ^a (±0.03)	1.13 ^a (0.03)	p=0.0101	p=0.0453
Longitud ciego derecho	0.92 (±0.03)	0.97 (±0.03)	0.98 (±0.03)	1.06 (±0.04)	1.05 (±0.04)	p=0.0413	p=0.0762

^{ab} Medias con letras distintas en la fila difieren significativamente p<0.05 (Duncan 1955)

Tabla 2. Pesos relativos (g g PV⁻¹x100) de órganos digestivos llenos y vacíos de pollos de engorde que recibieron diferentes niveles de harina de forraje de tithonia (Covariable NS)

Tratamientos Indicadores	Niveles harina de forraje de tithonia (%)					EE (±), Signif.
	0	5	10	15	20	
Peso vivo	2160 ^a	2204 ^a	2113 ^a	2091 ^a	1933 ^b	42.06, p=0.0009
TGI lleno	10.42 ^b	11.00 ^b	9.64 ^b	11.87 ^b	14.47 ^a	0.73, p= 0.0005
Buche lleno	0.93 ^b	1.95 ^b	1.48 ^b	1.96 ^b	4.05 ^a	0.48, p=0.0007
Buche vacío	0.47 ^b	0.45 ^b	0.56 ^b	0.52 ^b	0.79 ^a	0.05, p=0.0004
Proventrículo lleno	0.56	0.52	0.50	0.49	0.49	0.04, p=0.7316
Proventrículo vacío	0.48	0.42	0.39	0.41	0.42	0.03, p=0.2803
Intestino delgado lleno	4.76 ^a	4.03 ^b	3.56 ^c	4.51 ^{ab}	4.81 ^a	0.23, p=0.0020
Colon-recto vacío	0.21	0.21	0.25	0.23	0.23	0.02, p=0.4377
Ciegos lleno	0.70 ^a	0.81 ^b	0.84 ^b	1.01 ^{ab}	1.13 ^a	0.08, p=0.0033
Ciegos vacío	0.44	0.39	0.40	0.41	0.41	0.02, p=0.7267
Longitud colon-recto	0.48	0.46	0.57	0.1	0.57	0.04, p=0.0517
Grasa abdominal	1.46	1.41	1.39	1.58	1.70	0.14, p=0.4609

^{abc} Medias con letras distintas en la fila difieren a p<0.05 (Duncan 1955)

El consumo de harina de forraje de tithonia no influyó en los pesos relativos del proventrículo lleno y vacío, del colon recto vacío y de la grasa abdominal (tabla 2). Sin embargo, sí se observó un incremento significativo del peso relativo de los ciegos llenos, en relación con el tratamiento control con niveles crecientes de fibra.

Lo anterior, no se debió a procesos fermentativos que ocurre en esta sección del tracto gastrointestinal, ya que el ciego vacío no mostró diferencias entre tratamientos. Es posible que la fibra contenida en la digesta, arrastre agua en su matriz y esto origine que se incremente el contenido de los ciegos. La longitud relativa del colon-recto fue similar. El análisis de los órganos accesorios del tracto gastrointestinal (hígado y páncreas) no mostró diferencias entre tratamientos.

En cuanto a las pollitas de reemplazo de ponedoras, se halló que la inclusión del 15 y 20 % de la harina de forraje de tithonia incrementó el peso relativo del tracto gastrointestinal vacío de las aves, lo que se asocia con el aumento de su capacidad digestiva al consumir este alimento voluminoso (Savón et al. 2019). Estos niveles, también aumentaron el peso relativo de la molleja, efecto similar al que se observó anteriormente en pollos de engorde.

Un resultado interesante se obtuvo en la longitud relativa del intestino delgado (cm/gPVx100) que se incrementó con los niveles de harina de forraje de tithonia (8.89, 9.20, 9.59 y 10.43 para 0, 10, 15 y 20 %, respectivamente) ($p < 0.0515$), muy cerca de $p < 0.05$. Esto indica que hay diferencias desde el punto de vista biológico.

La longitud del intestino delgado pudiera relacionarse con la superficie de la mucosa intestinal y un incremento de ésta implicaría una mayor absorción de nutrientes, lo que conllevaría a un buen desarrollo corporal de la futura ponedora (Savón et al. 2017). Esto necesariamente incide en la respuesta productiva y reproductiva de las pollitas. La longitud del colon-recto no se alteró con los diferentes niveles de harina de forraje de tithonia en la dieta. La harina no influyó en los restantes indicadores fisiológicos evaluados.

Conclusiones: Los pesos relativos de los órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal de pollos de engorde EB₃₄, a excepción de la longitud relativa del ciego izquierdo, no se modifican hasta el 10 % de inclusión de harina de forraje de tithonia en la dieta.

En pollitas de reemplazo de ponedoras L₃₃ de 18 semanas, la inclusión hasta 20 % de harina de forraje de tithonia no modifica los pesos relativos de los órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal. Sin embargo, incrementa la longitud del intestino delgado, lo que sugiere una mayor absorción de nutrientes y un efecto beneficioso por su consumo.

Efecto del consumo de harina de forraje de tithonia en la histología de órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal de pollitas de reemplazo de ponedoras: En el caso de las pollitas de reemplazo debido a la importancia de esta categoría, se realizó un estudio histopatológico con el fin de indagar si el consumo de tithonia era capaz de provocar una lesión a nivel de los tejidos de los órganos digestivos y accesorios de esta categoría.

Se analizaron el proventrículo, molleja, ciegos e hígado. Se observó que los cambios hallados a nivel de tejido en el proventrículo, molleja e hígado no eran atribuibles al consumo de tithonia, ya que se encontraron tanto en animales controles como los que consumieron harina de forraje de tithonia.

El hallazgo más importante se identificó en los ciegos, donde se observó una hipertrofia moderada de las tonsilas cecales que se presentó en los animales de los tratamientos experimentales y con una incidencia del 50, 25 y 12.5 % para los grupos de 2, 3 y 4, respectivamente. Las tonsilas cecales son un tejido linfóide especializado y su hipertrofia pudo estar relacionada con la administración del material vegetal en estudio. Estas estructuras se exponen de manera directa al bolo alimenticio durante el proceso de digestión, que contiene alimento, agentes patógenos o vacunas. Esto permite el reconocimiento de antígenos con la producción de respuestas inmunes efectoras en este nivel. El hecho de que la incidencia de este cambio fuera mayor en el grupo administrado con el nivel más bajo de tithonia puede estar relacionado con la individualidad de la respuesta inmune de cada individuo. Lo anterior tiene una gran importancia en el estudio de la respuesta inmune.

Evaluación estructural cuantitativa de los cambios morfométricos en órganos digestivos de pollitas de reemplazo de ponedoras, que consumen harina de forraje de T. diversifolia: La dieta es uno de los factores más importantes en la modulación del desarrollo estructural y funcional del intestino. El cambio de dieta al que se enfrenta el animal, se acompaña de modificaciones en las funciones digestivas y de transporte con lo que se adquieren las características del órgano maduro. Es por ello que es importante realizar un estudio morfométrico de estructuras del sistema digestivo con el fin de cuantificar los cambios asociados a la administración de las dietas con la inclusión de diferentes niveles de harina de forraje de tithonia.

La tabla 3 señala el estudio morfométrico de los valores de los estadígrafos media y desviación estándar de cada variable evaluada, por grupo experimental. Se puede observar que sólo hubo diferencias estadísticas significativas en el ancho de las vellosidades intestinales, entre el grupo control y el administrado con el 20 % de la harina de tithonia ($p = 0.0153$). Este resultado posiblemente esté asociado a la administración de la mayor concentración

Tabla 3. Valores medios y desviación estándar de las variables estudiadas por grupo experimental

VARIABLES MORFOMÉTRICAS ANALIZADAS	Control	10 % HTD	15 % HTD	20 % HTD
Diámetro de las yemas proventriculares	1745, DE=269.7	1828, DE=262.8	1835, DE=259.2	1789, DE=372.3
Altura de la mucosa del proventrículo (µm)	828.4, DE=125.4	969.8, DE=125.4	849.0, DE=115.8	958.8, DE=155.1
Altura de la mucosa de la molleja (µm)	977.5, DE=210.5	951.4, DE=501.0	1034, DE=382.5	853.0, DE=55.25
Altura de las vellosidades intestinales (µm)	1402, DE=543.9	1649, DE=319.4	1566, DE=591.3	2014, DE=288.5
Ancho de las vellosidades intestinales (µm)	161.9 ^a , DE=131.1	363.9 ^b , DE=92.22	345.0 ^b , DE=179.5	411.9 ^a , DE=45.84
Profundidad criptas intestinales (µm)	138.6, DE=62.44	170.9, DE=39.50	173.3, DE=66.80	194.3, DE=37.11
Altura de la mucosa del ciego (µm)	1150, DE=421.6	1633, DE=438.0	1349, DE=373.1	1427, DE=296.1

^{a,b,c} Medias con letras distintas difieren a P<0.05 [Dunn \(1964\)](#)

DE: Desviación estándar

(20 %) de harina de forraje de tithonia y confirma el incremento hallado en la longitud del intestino delgado en el estudio de los indicadores morfométricos macroscópicos.

En la [figura 1](#) se muestran las diferencias entre el ancho de las vellosidades del íleon de las aves que recibieron la dieta control (A) y las del tratamiento con 20 % de inclusión de harina de forraje de tithonia (B).

El resto de las variables estudiadas no difirieron entre tratamientos. Es importante destacar que, aunque no se observó diferencia estadística significativa en cuanto a la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas entre los grupos experimentales, los resultados muestran incremento de los valores en la medida que aumenta la concentración del alimento en la dieta.

Conclusión: Los resultados en los experimentos de morfometría de las pollitas de reemplazo permiten recomendar la inclusión 20 % de harina de forraje de *Tithonia diversifolia* en la formulación de dietas para esta categoría avícola.

Indicadores de la bioquímica sanguínea en pollos de engorde y pollitas de reemplazo de ponedoras que consumen niveles diferentes de harina de forraje de T. diversifolia: Los indicadores de la bioquímica sanguínea son recursos que se utilizan para evaluar el estado fisiológico y estimar el comportamiento nutricional del animal, a vez que proporciona un conocimiento del metabolismo y del funcionamiento de órganos como el riñón e hígado de las aves ([Gutiérrez-Castro y Corredor-Mateus 2019](#)) y su determinación es una herramienta importante en el seguimiento de la salud de todas las especies.

En la [tabla 4](#) se muestran indicadores de la bioquímica sanguínea de pollos de engorde de 42 días de edad alimentados con harina de forraje de tithonia.

Los indicadores séricos del metabolismo proteico: proteínas totales, albúmina y relación albúmina/globulina no difirieron entre tratamientos, a excepción del ácido úrico. En relación con las proteínas totales se informan como valores normales 30-50 g/L ([Miranda et al. 2007](#)) y 35.6 ± 0.34 g/L

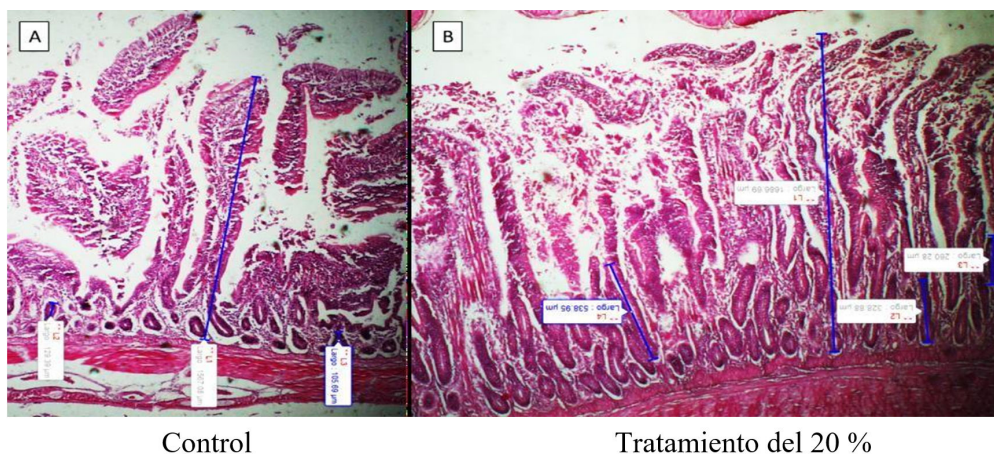


Figura 1. Análisis histológico del ancho de las vellosidades del íleon

Tabla 4. Indicadores de la bioquímica sanguínea de pollos de engorde que reciben harina de forraje de tithonia

Tratamientos Variables	Niveles de harina de forraje de tithonia (%)					EE (±), Signif.
	0	5	10	15	20	
A/G	0.80	0.79	0.88	0.86	0.84	0.07, p=0.8574
PT (g/L)	25.26	28.30	25.36	26.19	28.61	1.76, p=0.5122
ALB (g/L)	10.78	11.96	11.08	12.45	12.39	0.56, p=0.1421
ALAT (U/L)	2.63	2.13	2.00	3.00	2.38	0.42, p=0.4596
ASAT (U/L)	224.38	258.88	243.88	251.13	235.50	12.36, p=0.3360
CHOL (mmol/L)	3.42	3.53	3.45	4.03	3.80	0.18, p=0.0936
GLU (mmol/L)	12.30	12.68	12.43	13.40	12.87	0.75, p=0.8551
TG (mmol/L)	1,39	1.50	1.56	1.69	1.68	0.17, p=0.7126
AU (mmol/L)	278.50 ^b	305.38 ^b	275.00 ^b	396.63 ^a	330.50 ^{ab}	29.91, p=0.0424

ALB: albúmina, A/G: relación albúmina/globulina, GLU: glucosa, PT: proteínas totales, TG: triglicéridos, AU: ácido úrico, CHOL: colesterol, ASAT: Alanina asparto transferasa, ALAT: alanina amino transferasa.

^{ab} Medias en una misma fila con letras distintas difieren a $p < 0.05$ Duncan (1955)

(Nunes *et al.* 2018), en tanto que Café *et al.* (2012) indican cifras de 26.5 g/L que se aproximan a las obtenidas en este experimento. Al respecto, las diferencias se pueden deber a la influencia de diversos factores como las dietas, raza y condiciones ambientales en que se ejecutaron los experimentos.

Los valores de albúmina se ubicaron dentro del intervalo conocido para este indicador (10.8 - 16 g/L), según Gálvez *et al.* (2009), lo que sugiere que los niveles de harina de forraje de tithonia estudiados, no afectaron la síntesis de proteína a nivel hepático. En relación con las globulinas (teniendo en cuenta que se calculan como la diferencia entre las proteínas totales y la albúmina) fueron muy bajos comparados con los obtenidos por Gutiérrez-Castro y Corredor-Mateus (2019) (17-20 g/L) con harina de tithonia (no específica si es de hoja o de forraje). A pesar de esto, la relación albúmina/globulina se considera bastante favorable e indicativa de que las aves se encontraban bien desde el punto de vista nutricional, ya que se halla cerca de 1 que es la relación óptima.

El ácido úrico sérico depende tanto de la calidad como de la cantidad de proteínas suministradas en la dieta. La cifra más elevada se halló con el nivel de 15 % de harina de forraje de tithonia que difirió ($p < 0.0424$) en 118.13 $\mu\text{mol/L}$ del control, aunque fue similar al 20 % de inclusión de este alimento, la que a su vez no difirió del control.

La determinación de ácido úrico se realiza para evaluar la función renal de los animales. Es el principal producto del catabolismo proteico en las aves, constituyendo entre el 60 y 80 % del total de nitrógeno excretado en la orina, por lo cual concentraciones séricas superiores a 308.57 $\mu\text{mol/L}$, sugieren alteración de la función renal. Rodríguez (2017) y Gutiérrez-Castro y Corredor-Mateus (2019) hallaron que

las dietas con mayores sustituciones de harina de forraje de tithonia mostraron los mayores valores ácido úrico, por lo que se infiere que al consumir las aves un mayor porcentaje de proteína, se incrementa la excreción de ácido úrico.

Las enzimas alanina amino transferasa. y aspartato amino transferasa mostraron valores normales para todos los tratamientos, por lo que el consumo de niveles de hasta 20 % de harina de forraje de tithonia no ocasionó trastornos en la salud de los animales. Estas enzimas refieren el estado de la función hepática. De estos resultados se puede inferir que, dado que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, las aves no presentaron problemas hepáticos que se pudieran atribuir a las dietas suministradas.

Los indicadores del metabolismo energético: glucosa, colesterol y triglicéridos no difirieron entre tratamientos. Los dos primeros se hallaron en el intervalo normal para la especie: glucosa (11-21 mmol/L) y colesterol (2.58-5.17 mmol/L) según Gálvez *et al.* (2009) y Holguín *et al.* (2009), respectivamente. En el caso de los triglicéridos, las cifras fueron superiores a 0.45-1.35 $\mu\text{mol/L}$ señalado por Nunes *et al.* (2018).

En el caso de las pollitas de remplazo, los indicadores de la bioquímica sanguínea: proteínas totales, ácido úrico, colesterol y triglicéridos (tabla 5) no difirieron con el incremento de los niveles de harina de forraje de tithonia. Las proteínas totales se hallaron en los intervalos normales de 30-50 g/L (Miranda *et al.* 2007). Se observó que la cifra más elevada de ácido úrico se encontró con el 20 % de harina de forraje de tithonia y representó un incremento de 83.00, 90.50 y 150.32 $\mu\text{mol/L}$ respecto al 0, 10 y 15 % de harina de forraje de tithonia, respectivamente. Nótese que el 15 % representa la mitad de la concentración sérica de la inclusión del 20 % de harina de forraje de tithonia (338.00 $\mu\text{mol/L}$). Este último resultado se debe analizar, ya

Tabla 5. Indicadores sanguíneos de pollitas de reemplazo de ponedoras (1-18 semanas)

Tratamiento Indicadores	Niveles de harina de forraje de tithonia (%)				EE(±), Signif.
	Control	10	15	20	
PT (g/L)	41.03	43.80	47.05	43.15	±2.32, p=0.3649
AU, umol/L	255.00	244.50	187.68	338.00	±46.77, p=0.2088
Col, mmol/L	3.11	3.06	3.53	3.38	±0.23, p=0.4701
TG, mmol/L	0.95	1.08	1.26	0.98	±0.17, p=0.5761

Col: colesterol, PT: proteínas totales, TG triglicéridos, AU: ácido úrico

que según se refirió en el experimento anterior, el ácido úrico, producto final del catabolismo proteico en las aves, se incrementa con los niveles de proteína (Gutiérrez-Castro y Corredor-Matheus 2019).

Los indicadores del metabolismo lipídico colesterol y triglicéridos tampoco difirieron entre tratamientos. El colesterol se encontró en el rango normal de (2.58-5.12 mmol/L) estipulado para las aves (Holguín et al. 2009).

Llama la atención que los niveles de colesterol son similares a los obtenidos con los pollos de engorde. Según Sturkie (2000) citado por Martínez (2004) las fracciones lipídicas, están afectadas por el estado fisiológico y nutritivo del ave.

Desde el punto de vista fisiológico, este tipo de aves manifiesta un incremento en el metabolismo lipídico comparado con pollos de ceba (Osorio y Florez 2011 y Osorio y Florez 2018). Desafortunadamente, no se determinaron los lípidos totales que hubieran podido esclarecer las diferencias en la acumulación lipídica entre machos y hembras.

Conclusiones

Los indicadores del metabolismo proteico sérico (proteínas totales, albúmina y relación A/G) así como los indicadores del metabolismo energético (glucosa, colesterol y triglicéridos) no difirieron con la inclusión de hasta 20 % de harina de forraje de tithonia en la dieta de pollos de engorde de 42 días de edad, excepto el ácido úrico que se incrementó.

Las enzimas alanino amino transferasa (ALAT) y aspartato aminotransferasa (ASAT) no difirieron entre tratamientos y se mantuvieron en los rangos normales con el suministro de hasta 20 % de harina de forraje de tithonia en la dieta de pollos de engorde de 42 días de edad, lo que avala la buena función hepática de los animales.

Los indicadores de la bioquímica sanguínea: proteínas totales, ácido úrico, colesterol y triglicéridos, no difirieron con el incremento de hasta 20 % harina de forraje de tithonia en sustitución del maíz/soya de la dieta de pollitas de reemplazo de ponedoras.

Perspectivas futuras

Como resultado del análisis general de estas investigaciones se puede plantear:

- Es necesario cuantificar los metabolitos secundarios mayoritarios que se hallan presentes en la harina de forraje de tithonia material vegetal 10 y valorar su actividad biológica
- En pollos de engorde es imprescindible realizar un estudio histopatológico de los órganos digestivos y accesorios del tracto gastrointestinal para valorar si existen daños causados por el consumo de la harina de forraje de material vegetal 10.
- Analizar los cambios estructurales microscópicos de los órganos digestivos del tracto gastrointestinal de pollos de ceba que reciben harina de forraje de tithonia material vegetal 10.
- En pollitas de reemplazo de ponedoras realizar estudios de retención aparente de nutrientes con vistas a corroborar los resultados que se obtuvieron en los estudios microscópicos morfométricos.
- Extender estos estudios a otras especies avícolas productivas.

Referencias

- Amaral, A. 1972. Técnicas analíticas para evaluar macro nutrientes en cenizas de caña de azúcar. Laboratorio de nutrición de la caña. Escuela de Química. Universidad de La Habana, Cuba.
- AOAC Official Methods of Analysis. Association of Analytical Chemists. 2019. 21st Edition, Washington DC, USA.
- Café, M., Pereira, F., Ribeiro, H., Bueno de Mattos, M., Mundim, A. & Prazeres, C. 2012. Biochemical blood parameters of broilers at different ages under thermoneutral environment. *World's Poultry Science Journal*, Suppl. 1: 143-146, ISSN: 1743-4777.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. Grupo InfoStat versión 2012. FCA Universidad Nacional de Córdoba Argentina. [En línea]. Available at: <http://www.infostat.com.ar>

- Duncan, B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 1541-0420. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- Dunn, O.J. 1964. Multiple comparison using rank Sums. *Technometrics*, 6(3): 241-252, ISSN: 1537-2723. <https://doi.org/10.1080/004001706.1964.10490181>.
- Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO). 2018. El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma. Available at: <http://www.fao.org/docrep>. [Consulted: April 16, 2019]
- Fuentes-Martínez, B., Carranco-Jáuregui, M., Barrita-Ramírez, V., Ávila-González, E. & Sanginés-García, L. 2019. Effect of *Tithonia diversifolia* meal on productive e variables in laying hens. *Abanico Veterinario*, 9: 1-12, ISSN: 2007-428X. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.911>
- Gálvez, C.F., Ramírez, G.F. & Osorio, J.M. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Biosalud*, 8(1): 178-188, ISSN: 2462-960X.
- García, D.E., Medina, M.G., Clavero, T., Humbría, J., Baldizán, A. & Domínguez, C.E. 2008. Preferencias de árboles forrajeros por cabras en las zonas bajas de los Andes venezolanos. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XVIII(5): 549- 555, ISSN: 2521-9715.
- Göering, H.K. & Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). USDA - ARS Agric. Handbook. Washington: US Govt. Printing Office. p 20.
- González-Sierra, L., Díaz-Solares, M., Castro-Cabrera, I., Fonte-Carballo, L., Lugo-Morales, Y. & Altunaga-Pérez, N. 2019. Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante total de diferentes extractos de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. *Pastos y Forrajes*, 42(3): 243-248, ISSN: 0864-0394.
- Gutiérrez-Castro, L.L. & Corredor-Mateus, J.R. 2019. Química sanguínea en pollos de engorde alimentados con harina de botón de oro en fase de finalización. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(3): 42-52, ISSN: 1900-9607. <https://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.143.4>.
- Gutiérrez-Castro, L.L. & Hurtado-Nery, V.L. 2019. Uso de la harina de follaje de *Tithonia diversifolia* en la alimentación de pollos de engorde. *Orinoquia*, 23(2): 56-62, ISSN: 2011-2629. <https://doi.org/10.22579/20112629.569>.
- Hernández, A., Pérez-, J.M., Bosch- D. & Castro, N. 2019. La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. *Cultivos Tropicales*, 40(1): a15-e15, ISSN: 1819-4087.
- Holguín, V., Álvarez, P., Moreira, J. & Zambrano, A. 2009. Evaluación del estrés físico y la hepatoprotección en pollos de engorde. [En línea]. Available at: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/1873>. [Consulted: June 10, 2023].
- Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J.M., González-Sánchez, D., Lázaro, R. & Mateos, G.G. 2010. Effects of type and particle size of dietary fiber on growth performance and digestive traits of broilers from 1 to 21 days of age. *Poultry Science*, 89(10): 2197-2212, ISSN: 1525-3171. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00771>.
- Kruskal, W.H. & Wallis, W.A. 1952. Use of ranks on one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47: 583-621, ISSN: 1537-274X. <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>.
- Levene, H. 1960. Robust tests for the equality of variance. *Contributions to Probability and Statistics*. Stanford University Press. pp. 278-292.
- Lilliefors, H.W. 1967. On the Kolmogorov-Smirnov Test for Normality with Mean and Variance Unknown. *Journal of the American Statistical Association*, 62(318): 399-402, ISSN: 1537-274X. <http://doi.org/10.2307/2283970>.
- Makkar, H.P.S. 2003. Cuantificación de taninos en tres and shrub foliage. A laboratory manual Kluber Academic Publisher. Netherlands, 102pp.
- Martínez, M. 2004. Efecto de un hidrolizado enzimático de crema de destilería tratada térmicamente en indicadores del metabolismo lipídico en reemplazo de ponedoras. Tesis en Máster en Bioquímica Nutricional. Facultad de Biología, Universidad de la Habana 63pp.
- Miranda, M. & Cuéllar, A. 2000. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Facultad de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, 40pp
- Miranda, S., Rincón-Reyes, H., Muñoz, R., Higuera, A., Arzaillez-Fischer, A.M. & Urdaneta, H. 2007. Parámetros productivos y química sanguínea en pollos de engorde alimentados con tres niveles dietéticos de harina de granos de frijol (*Vigna unguiculata*) (i) Walp durante la fase de crecimiento. *Revista Científica (Maracaibo)*, 17(2): 150-160, ISSN: 2521-9715.
- Nunes, R.V., Broch, J., Wachholz, L, De Souza, C., Damasceno, J., Oxford, J.H., Bloxham D.J.L., Billard, L. & Pesti, G.M. 2018. Choosing sample sizes for various blood parameters of broiler chickens with normal and non-normal observations. *Poultry Science*, 97(2): 3746-3754, ISSN: 1525-3171. <https://doi.org/10.3382/ps/pey217>.
- Osorio, J.H. & Flórez, J.D. 2011. Diferencias bioquímicas y fisiológicas en el metabolismo de lipoproteínas en aves comerciales. *Biosalud*, 10(1): 88-98, ISSN: 2462-960X.
- Osorio, J.H. & Flórez, J.D. 2018. Comparación de lípidos sanguíneos entre pollos de engorde y gallinas ponedoras. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 65(1): 17-35, ISSN: 2357-3813. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v65n1.72021>.
- Rodríguez, I. 2017. Potencialidades de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray en la alimentación animal. *Livestock Research for Rural Development*, 29, Article # 63, ISSN:

- 2521-9952. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd29/4/idal29063.html>. [Consulted: September 25, 2021].
- Rodríguez, B., Savón, L., Vázquez, Y., Ruiz, T.E. & Herrera, M. 2018. Evaluación de la harina de forraje de *Tithonia diversifolia* para la alimentación de gallinas ponedoras. *Livestock Research for Rural Development*, 30, Article #56, ISSN: 2521-9952. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd30/3/brod30056.html>. [Consulted: March 29, 2021].
- Rodríguez B., Savón, L., Vázquez, Y., Ruiz, T.E. & Herrera, M. 2020. Comportamiento productivo de pollos de engorde alimentados con harina de forraje de *Tithonia diversifolia*. *Livestock Research for Rural Development*, 32, Article #22, ISSN: 2521-995. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd32/2/brod32022.html>. [Consulted: October 18, 2021].
- Rodríguez, Z., Martínez, M., Sarmiento, L., Pérez, M., Dihigo, L.E., Núñez, O., Herrera, F.R. & Hernández, Y. 2012. Harina de forraje de *Mucuna deeringiana* en algunos grupos fisiológicos microbianos e indicadores fermentativos del ciego de pollos de ceba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 46(2): 193-198, ISSN: 0034-7485.
- Rostagno, H.S., Albino, L.F., Hannas, H.I., Donzele, J.L., Sakomura, N.K., Perazzo, F.G., Saraiva, A., Teixeira, M.V., Rodríguez, P.B., Oliveira, R.F., Barreto, S.L. & Brito, C.O. 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ta edição. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. 488p.
- Ruiz, T.E., Alonso, J., Febles, G. J., Galindo, J., Savón, L., Chongo, B., Torres, V., Martínez, Y., La O, O., Gutiérrez, D., Crespo, G.J., Cino D.M., Scull, I. & González, J. 2017. *Tithonia diversifolia*: I. Estudio integral de diferentes materiales para conocer su potencial de producción de biomasa y calidad nutritiva. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 20(3): 63-82, ISSN: 0188-7890.
- Sánchez, A. 1990. Enfermedades de las aves. La Habana, Cuba: ENPES, 285 p.
- Savón, L. 2010. Harina de forrajes tropicales. Fuentes potenciales para la alimentación de especies monogástricas. Tesis presentada en opción del grado científico de Dr. en Ciencias. Instituto de Ciencia Animal. Universidad Agraria de la Habana.
- Savón, L., Mora, L.M., Dihigo, L.E. & Ruiz, T.E. 2017. Use of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in non-ruminants. CHAPTER XII En: Morera, Moringa y *Tithonia* in animal feeding and other interest uses results in Latin America, Cuba and the Caribbean. ISBN: 978-959-7171-72-0.
- Savón, L., Rodríguez, B., Vázquez, Y., Herrera, M. & Ruiz, T. 2019. Indicadores fisiológicos y de la bioquímica sanguínea de pollitas de reemplazo de ponedoras. Convención Internacional Agrodesarrollo, 25-29 octubre, Hotel Meliá Varadero, Matanzas, Cuba
- Savón, L.L., Rodríguez, B., Vázquez, Y., Scull, I., Herrera, M. & Ruiz, T.E. 2022. Immune response and blood biochemistry in broilers fed tithonia forage meal at the finishing stage. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 56(2): 127-134, ISSN: 2079-3480.
- Savón, L., Sánchez, B., Elías, A., Ortega, H.J., Gutiérrez, M., Scull, I. & Herrera, M. 2020. Effect of a dry fermented product on morphological, immunological, histological and health indicators of broilers. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 54 (1): 85-94, ISSN: 2079-3480.
- Savón, L.L., Rodríguez, B., Elías, A., Scull, I., Herrera, M. & Ortega, H.J. 2021. Evaluación biológica de un producto fermentado seco basado en contenido de rumen (Vitarrum) para la alimentación y salud avícola. (folleto). ISBN: 9789597171-85-0.
- Scull, I. 2018. Caracterización química de la harina de forraje de *Mucuna pruriens* (L) DC vc *utilis* (Wallx Wight) L.H. Bailey y su evaluación como antioxidante natural para la alimentación animal. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal - Universidad de La Habana.
- Scull, I., Ruiz, T.E., Savón, L. & Herrera, M. 2019. Potencialidades de la harina de forraje de *T. diversifolia* como alimento alternativo para sistemas de producción avícola Memorias del VIII Congreso Internacional de Ciencias Veterinarias, ISBN: 978-959-7190-35-6.
- Scull, I., Savón, L.L., Hormaza, J.V. 2017. Evaluation of secondary metabolites in the meal of *Stizolobium aterrimum* forage for its use in animal feeding. *Pastos y forrajes*, 40(4): 302-307, ISSN: 2078-8452.
- Unión de Empresas del Combinado Avícola Nacional (UECAN). 2013. Instructivo técnico para la crianza del reemplazo de ponedoras White Leghorn, MINAG.
- Vázquez, Y., Rodríguez, B., Savón, L. & Ruiz, T.E. 2021. Efecto de la harina de forraje de *Tithonia diversifolia* en indicadores productivos de reemplazo de ponedoras White Leghorn L-33. *Livestock Research for Rural Development*, 33, Article #110, ISSN: 2521-9952. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd33/9/33110ysnag.html>. [Consulted: March 26, 2022].
- Vázquez, Y., Rodríguez, B., Savón, L. & Ruiz, T.E. 2023. Comportamiento productivo y química sanguínea en pollitas de reemplazo de ponedoras White Leghorn alimentadas con harina de forraje de *Tithonia diversifolia*. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 11(2): 160-168, ISSN: 2346-3775. <https://www.tropicalgrasslands.info/index.php/tgft/article/view/1232>.