

## Gamic seed production of *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. sowing and establishment

## Producción de semilla gámica de *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. siembra y establecimiento

C. Padilla Corrales and Idalmis Rodríguez García

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

*Email: cpadilla@ica.co.cu*

César Padilla Corrales: <http://orcid.org/0000-0002-6794-8694>

Idalmis Rodríguez García: <http://orcid.org/0000-0001-5897-5431>

This review aims to spread the advances in the production of gamic seed of *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. and the establishment in this way. The germination of this species is reported, as well as the ways to increase it through dormancy detection, seed conservation, types of substrates and their performance under laboratory and nursery conditions, as well as the variables related to the morphostructure of seedlings until transplantation. It is shown that germination percentages between 50 and 90 % can be reached when the seeds are harvested at the optimum moment and treatments that favor viability and germination are applied. The integral agronomic management allowed defining the best harvest time and the effects on different practices that allow the appearance of uniform flowering flows and obtaining yields of the order of 20-30 kg of pure germinable seed (PGS). Results are discussed and reported on the real possibility of achieving satisfactory establishments and acceptable biomass production when different practices are used to protect gamic seeds with plant and organic wastes. It is showed for the first time, the advantages of the sowings by gamic seed in relation to the plantations by cuttings and in bags for the forage yield (11.68 vs 9.48 and 9.92 t DM.ha<sup>-1</sup>) and for the populations (10.55 vs 5.88 and 10.88 plants.m<sup>-2</sup>) respectively, in the establishment cut. The advances made allow the promotion of seed production and achieve a greater introduction and generalization of this species, which in turn can contribute to an increase in food production.

**Key words:** *Germination, Tithonia diversifolia, pure germinable seed (PGS), establishment, production and gamic reproduction.*

### INTRODUCTION

*Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray stands out for its high ecological and productive plasticity, which contributes to be considered the most accepted protein plant by farmers in Cuba and other regions of the world (Paniagua-Hernández *et al.* 2020). New researches, related to the impact of climate change on the presence and potential distribution of *Tithonia*, reveal that for all the evaluated scenarios the effect would be beneficial, so there are not affectations for this crop and they can continue to play the role it represents in animal feeding (Durant *et al.* 2020).

One of the main limitations for the extension of this species is that the propagation is carried out almost 100 % through the use of cuttings, which are easy to acquire from other crops, but it should be noted

La presente reseña tiene como objetivo divulgar los avances en la producción de semilla gámica de *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. y el establecimiento por esta vía. Se informa sobre la germinación de esta especie, así como, las vías para incrementar la misma a través de la detección de dormancia, conservación de la semilla, tipos de sustratos y su comportamiento en condiciones de laboratorio y vivero, así como las variables relacionadas con la morfoestructura de las plántulas hasta el trasplante. Se demuestra que se pueden alcanzar porcentajes de germinación entre 50 y 90 % cuando las semillas se cosechan en el momento óptimo y se aplican tratamientos que favorecen la viabilidad y germinación. El manejo agronómico integral permitió definir el mejor momento de cosecha y los efectos de diferentes prácticas que permiten la aparición de flujos uniformes de floración y obtener rendimientos del orden de 20-30 kg de semilla pura germinable (SPG). Se discuten e informan resultados sobre la posibilidad real de lograr establecimientos satisfactorios y producción de biomasa aceptable cuando se emplean diferentes prácticas de protección de la semilla gámica con residuos vegetales y orgánicos (arropes). Se demuestra por primera vez, las ventajas de las siembras por semilla gámica en relación con las plantaciones por estacas y en bolsa para el rendimiento de forraje (11.68 vs 9.48 y 9.92 t MS.ha<sup>-1</sup>) y para las poblaciones (10.55 vs 5.88 y 10.88 plantas.m<sup>-2</sup>) respectivamente, en el corte de establecimiento. Los avances logrados permiten potenciar la producción de semillas y alcanzar mayor introducción y generalización de esta especie, que a su vez puede contribuir al incremento de la producción de alimentos.

**Palabras clave:** *Germinación, Tithonia diversifolia, semilla pura germinable (SPG), establecimiento, producción y reproducción gámica.*

### INTRODUCCIÓN

*Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray se destaca por su alta plasticidad ecológica y productiva, lo cual contribuye a que se considere la planta proteica más aceptada por los ganaderos en Cuba y otras regiones del mundo (Paniagua-Hernández *et al.* 2020). Nuevas investigaciones, relacionadas con el impacto del cambio climático sobre la presencia y distribución potencial de *Tithonia*, revelan que para todos los escenarios evaluados el efecto sería beneficioso, por lo que no se prevén afectaciones para este cultivo y pueden continuar desempeñando el rol que representa en la alimentación animal (Durant *et al.* 2020).

Una de las limitaciones fundamentales para la extensión de esta especie es que la propagación se realiza casi en un 100 % mediante el uso de estacas, que son fáciles de adquirir de otros cultivos, pero cabe resaltar que este tipo

that this type of propagation have some difficulties such as the cost of transportation and storage that can only be done for short periods, without affecting the quality of cuttings (Sánchez *et al.* 2014). Solving the previous problem constituted a challenge for the scientific community in the last 10 years, which implied developing comprehensive researchers that would optimize the germination and conservation processes of the gamic seed. As well as, to establish the scientific and technical bases for seeds production and the establishment of this plant in this way in Cuba and other regions of the world.

Faced with the problem and the challenge exposed, the purpose of this review is to make available to farmers, managers, researchers, professors and students from the livestock sector, a document where the advances in the production of gamic seed were collected and analyzed and in the establishment in this way.

### ANTECEDENTS

The *Tithonia* genus belongs to *Asteraceae* family, *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. is one of the twelve species that comprise this genus which are native to Central America. However, there is evidence of high levels of genetic diversity in all populations from other continents such as China (Jing *et al.* 2012) and Africa, where most of the researches carried out shows this (Etejere and Oleyinka 2014 and Obiakara and Forcade 2018). In general, the approach of these researchers, in both regions, is mainly aimed at evaluating ecological and dispersal aspects.

Similarly, in the American continent, the genetic diversity of *T. diversifolia* and its great capacity for adaptation and survival are evaluated (Rivera 2020). However, most of the researches have mainly focused on its capacity to produce biomass, evaluate its quality and fundamentally its use in animal feeding.

There is very little information on the characterization of different specimens, materials or cultivars of this species. In Cuba, since 2006 (Ruíz *et al.* 2017), the contrasting characteristics were determined, in terms of morphological traits and germination percentage, of a group of *Tithonia* materials collected in different edaphoclimatic regions of the country (29 materials from the central-western zone, 2006 and 52 materials from the central-eastern zone, 2015).

Inayat (2009) refers to the presence of five materials in the national herbarium of Quito (provenance from the northwestern Pichincha and in Napo province) and in Mexico Del Val *et al.* (2014) carried out a study of genetic diversity with molecular markers type SSR (Simple Sequence Repeats) and characterized *T. diversifolia* plants from different areas of Michoacán and Mexico City and others found in the plant germplasm bank of Fundación Produce Michoacán A. C., these authors obtained 11 ADN samples that are preserved in the Molecular Biology Laboratory from the Technological

de propagación presenta algunas dificultades como es el costo en la transportación y el almacenamiento que sólo se puede realizar durante periodos cortos, sin afectar la calidad de las estacas (Sánchez *et al.* 2014). Resolver la problemática anterior constituyó un reto para la comunidad científica en los últimos 10 años, que implicaba desarrollar investigaciones integrales que optimizaran los procesos de germinación y conservación de la semilla gámica. Así como, establecer las bases científicas y técnicas para la producción de semillas y el establecimiento de esta planta por esta vía en Cuba y otras regiones del mundo.

Ante la problemática y el reto planteado, el propósito de esta reseña es poner a disposición de productores, directivos, investigadores, profesores y estudiantes del sector ganadero, un documento donde se recogen y analizan integralmente los avances en la producción de semilla gámica y en el establecimiento por esta vía.

### ANTECEDENTES

El género *Tithonia* pertenece a la familia *Asteraceae*, (*Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. es una de las doce especies que comprenden este género que son originarias de Centro América. Sin embargo, existen evidencias de altos niveles de diversidad genética en todas las poblaciones de otros continentes tales como China (Jing *et al.* 2012) y África, donde la mayoría de las investigaciones realizadas así lo demuestran (Etejere y Oleyinka 2014 y Obiakara y Forcade 2018). Por lo general, el enfoque de estas investigaciones, en ambas regiones, está dirigido fundamentalmente a evaluar aspectos ecológicos y de dispersión.

De igual forma, en el continente americano se evalúa la diversidad genética de *T. diversifolia*, y su gran capacidad de adaptación y sobrevivencia (Rivera 2020). No obstante, la mayor parte de las investigaciones se ha centrado principalmente en la capacidad de la misma de producir biomasa, evaluar su calidad y fundamentalmente su empleo en la alimentación animal.

Existe muy poca información sobre la caracterización de diferentes especímenes, materiales o cultivares de esta especie. En Cuba, desde el año 2006 (Ruíz *et al.* 2017) se determinaron las características contrastantes, en cuanto a los rasgos morfológicos y al porcentaje de germinación, de un grupo de materiales de *Tithonia* colectados en diferentes regiones edafoclimáticas del país (29 materiales de la zona centro-occidental, 2006 y 52 materiales de la zona centro-oriental, 2015).

Inayat (2009) hace referencia a la presencia de cinco materiales en el herbario nacional de Quito (procedencias del noroccidente de Pichincha y en la provincia de Napo) y en México Del Val *et al.* (2014) realizaron un estudio de diversidad genética con marcadores moleculares tipo SSR (Simple Sequence Repeats) y caracterizaron plantas de *T. diversifolia* de diferentes zonas de Michoacán y Ciudad México y otras que se encuentran en el banco de germoplasma de plantas de Fundación Produce Michoacán A.C., estos autores obtuvieron 11 muestras de ADN que

Institute of Tlajomulco, Jalisco.

Holguín *et al.* (2015) in Colombia, evaluated the response in the forages production of 44 introductions of *T. diversifolia*, from several localities in the central west of the country, which are established in a collection at the Centro Experimental Universidad Nacional Palmira headquarters (CEUNP) Candelaria.

Recently, Rivera (2020) reports the genetic diversity of this shrub in materials collected in Colombia and Mexico, this author evaluated 31 populations and determined differences in the evaluation of reproductive aspects between genotypes except for the drying time of achenes and the percentage of rudimentary seeds.

### PROPAGATION EXPERIENCES OF *TITHONIA DIVERSIFOLIA* BY GAMIC SEED

The first propagation experiences of *Tithonia diversifolia* (tree marigold) by gamic seed were obtained, in Colombia, by spreading the branches with flowers or peduncles that have lost their petals, on an organic substrate under a polyshade as protection against solar radiation and the raindrops. The obtained seedlings are carefully selected, either for transplanting them into nursery bags or for sowing them directly in well-prepared soils (Galindo *et al.* 2011 and Romero *et al.* 2014).

Subsequently, different researchers related to the characterization of gamic seed were carried out and studies performed in Brazil (Saavedra, 2016) highlighted the importance of knowing how phenology and physiology influence on the formation of seeds and their quality. However, the obtained results so far in this regard have not considered comprehensive studies to determine how phenological changes affect floral structures over time and in the formation and physiological maturation of seeds and define a technology for obtaining of quality seed that favors its commercialization.

The previous was a great challenge for the scientific community to achieve an efficient technology in the production of *T. diversifolia* seed by gamic way. In this sense, different researchers (Santos-Gally *et al.* 2017, Padilla *et al.* 2018, Mattar *et al.* 2019 and Santos-Gally *et al.* 2019) contribute to the knowledge of biology and the factors that influence on the percentage of germination of gamic seed and constitute an important source of information on the aspects covered in this review.

### BOTANICAL CHARACTERIZATION OF THE REPRODUCTIVE STRUCTURE OF *TITHONIA*

Researchers aimed at promoting adequate commercial seed production of this plant require broadening the biological knowledge of the inflorescence and the formation of the achene. The botanical characterization of *T. diversifolia* inflorescences constitutes a topic widely

se conservan en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Jalisco.

Holguín *et al.* (2015) en Colombia, evaluaron la respuesta en la producción de forrajes de 44 introducciones de *T. diversifolia*, provenientes de varias localidades del centro occidente del país, las cuales están establecidas en una colección en el Centro Experimental Universidad Nacional sede Palmira (CEUNP) Candelaria.

Recientemente, Rivera (2020) reporta la diversidad genética de esta arbustiva en materiales colectados en Colombia y México, estos autores evaluaron 31 poblaciones y determinó diferencias en la evaluación de los aspectos reproductivos entre los genotipos a excepción del tiempo de secado de aquenios y del porcentaje de semillas rudimentarias.

### EXPERIENCIAS DE PROPAGACIÓN DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* POR SEMILLA GÁMICA

Las primeras experiencias de propagación de *Tithonia diversifolia* (botón de oro) por semilla gámica se obtuvieron, en Colombia, esparciendo las ramas con flores o pedúnculos que han perdido sus pétalos, sobre un sustrato orgánico bajo una polisombra como protección contra la radiación solar y las gotas de lluvia. Las plántulas logradas se entresacan con mucha delicadeza, bien sea para trasplantarlas en bolsas de vivero o para sembrarlas directamente en suelos bien preparados (Galindo *et al.* 2011 y Romero *et al.* 2014).

Posteriormente, se realizaron diferentes investigaciones relacionadas con la caracterización de la semilla gámica y estudios realizados en Brasil (Saavedra, 2016) destacaron la importancia de conocer cómo influye la fenología y la fisiología en la formación de semillas y su calidad. Sin embargo, los resultados obtenidos hasta el momento en este sentido no contemplaron los estudios de forma integral para determinar cómo inciden los cambios fenológicos de las estructuras florales en el tiempo y en la formación y maduración fisiológica de las semillas y definir una tecnología para la obtención de semilla de calidad que propicie su comercialización.

Lo anterior puso un gran reto a la comunidad científica para alcanzar una tecnología eficiente en la producción de semilla de *T. diversifolia* por vía gámica. En este sentido, diferentes investigaciones (Santos-Gally *et al.* 2017, Padilla *et al.* 2018, Mattar *et al.* 2019 y Santos-Gally *et al.* 2019) contribuyen al conocimiento de la biología y los factores que influyen en el porcentaje de germinación de la semilla gámica y constituyen una fuente de información importante de los aspectos tratados en esta reseña.

### CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DE LA ESTRUCTURA REPRODUCTIVA DE *TITHONIA*

Las investigaciones dirigidas a propiciar la adecuada producción de semilla comercial de esta planta obligan a ampliar el conocimiento biológico de la inflorescencia y la formación del aquenio. La caracterización botánica de las inflorescencias de *T. diversifolia* constituye un tema

addressed by different authors (Wang *et al.* 2008, Pérez *et al.* 2009, González-Castillo *et al.* 2014 and Saveedra 2016). However, there is little scientific knowledge of the physiological and reproductive performance of *Tithonia*, which limits the advance in its domestication as a multipurpose species.

Studies on the cytogenetics and the characterization of the reproductive strategy of this species (Alcorcés *et al.* 2007) show that between 15 and 26 % of empty fruit and 50 and 62 % of non-viable seed are produced in achenes; only 18 and 22 % of the produced seed has the ability to germinate. The low germination percentage (20 %) of the achenes is associated with the high percentage of sterile pollen (65 %) lacking sperm nucleus, which is attributed to the low sexual reproduction that it have. Other reasons for the sterility of pollen are related to the problems that occur in the meiotic division, where lagging chromosomes are observed in anaphase I, avoiding the dragging of chromosomes towards the poles, which can misalign a chromosome, generating negative signals that identify the cell (Guerra *et al.* 2007).

According to Santos-Gally *et al.* (2020) the heteromorphism in the seed heads of *T. diversifolia* is mainly characterized by differences between central and peripheral achenes, which could represent a strategy for this species to adapt to adverse environmental conditions. These authors point out that central achenes have edges (potentially associated with zoocoria dispersion), weak latency and higher rate and germination success, however, peripheral achenes lack structures associated with dispersal and have a lower germination rate and success.

According to La Duke (1980) the *T. diversifolia* seed heads have around 80 to 120 tubular flowers, which in this case are the ones that form the seeds or achenes. Some of the values reported in the literature are in these ranges, such is the case of the studies by Silva *et al.* (1990) reporting 89.9 seeds. seed heads<sup>-1</sup> in Brazil. Etejere and Olayinka (2014 and 2015) in Nigeria found lower values of 32-62 seeds heads<sup>-1</sup> and in Cuba Rodríguez *et al.* (2021) determined, in three evaluated materials (10, 23 and 25), values of 63.52, 56.63 and 75.87 seeds. seed heads<sup>-1</sup>, respectively.

However, in other regions higher values are reported. In China, Wang *et al.* (2004) determined between 164.20 and 231.00 seeds. seed heads<sup>-1</sup> and in Nigeria, Muoghalu and Chuba (2005) and Muoghalu (2008) show values of 179.70 and between 136 - 144 seeds. seed heads<sup>-1</sup>, respectively. On the other hand, Mattar *et al.* (2019) in Brazil show values higher than 189.80 seeds.

The above shows the complexity of the gametic seed production of this species. Similarly, the indicators reported on the weight of 1000 seeds and the number of seedlings per kg of seed (table 1) shows great variability in the literature.

ampliamente abordado por diferentes autores (Wang *et al.* 2008, Pérez *et al.* 2009, González-Castillo *et al.* 2014 y Saveedra 2016). Sin embargo, existe poco conocimiento científico del comportamiento fisiológico y reproductivo de *Tithonia*, que limita el avance en su domesticación como especie multipropósito.

Estudios sobre la citogenética y la caracterización de la estrategia reproductiva de esta especie (Alcorcés *et al.* 2007) señalan que en los aquenios se produce entre 15 y 26 % de fruto vano y 50 y 62 % de semilla no viable; tan solo el 18 y 22 % de la semilla producida tiene la capacidad de germinar. El bajo porcentaje de germinación (20 %) de los aquenios, se asocia al alto porcentaje de polen estéril (65 %) carente de núcleos espermáticos, lo que se atribuye a la baja reproducción sexual que presenta. Otras razones de la esterilidad del polen están relacionadas con los problemas que se presentan en la división meiótica, donde se observan cromosomas rezagados en el anafase I, evitando así el arrastre de los cromosomas hacia los polos, lo que puede desalinearse un cromosoma, generando señales negativas que identifican la célula (Guerra *et al.* 2007).

Según Santos-Gally *et al.* (2020) el heteromorfismo presente en las cabezuelas de *T. diversifolia*, se caracteriza principalmente por diferencias entre aquenios centrales y periféricos, lo cual pudiera representar una estrategia de esta especie para adaptarse a las condiciones ambientales adversas. Estos autores señalan que los aquenios centrales presentan aristas (potencialmente asociadas con dispersión zoocoria), latencia débil y mayor tasa y éxito de germinación, sin embargo, los aquenios periféricos carecen de estructuras asociadas con la dispersión y tienen menor tasa de germinación y éxito.

Según La Duke (1980) las cabezuelas de *T. diversifolia* presentan alrededor de 80 a 120 flores tubulares, que en este caso son las que forman las semillas o aquenios. Algunos de los valores informados en la literatura se encuentran en estos rangos, tal es el caso de los trabajos de Silva *et al.* (1990) que informan 89.9 semillas.cabezuelas<sup>-1</sup> en Brasil. Etejere y Olayinka (2014 y 2015) en Nigeria encontraron valores inferiores de 32-62 semillas cabezuelas<sup>-1</sup> y en Cuba Rodríguez *et al.* (2021) determinaron, en tres materiales evaluados (10, 23 y 25), valores de 63.52, 56.63 y 75.87 semillas.cabezuelas<sup>-1</sup>, respectivamente.

Sin embargo, en otras regiones se reportan valores superiores. En China, Wang *et al.* (2004) determinaron entre 164.20 y 231.00 semillas.cabezuelas<sup>-1</sup> y en Nigeria, Muoghalu y Chuba (2005) y Muoghalu (2008) señalan valores de 179.70 y entre 136 - 144 semillas.cabezuelas<sup>-1</sup>, respectivamente. Por otra parte, Mattar *et al.* (2019) en Brasil indican valores superiores a 189.80 semillas.

Lo anterior demuestra la complejidad de la producción de semilla gámica de esta especie. De igual forma los indicadores informados sobre el peso de 1000 semillas y cantidad de plántulas por kg de semilla (tabla 1) presentan gran variabilidad en la literatura.

En este sentido, los valores informados están en el rango desde 1 a 7.6 g. En este caso, la comparación es

Table 1. Results of the weight of 1000 seeds and number of seeds per kilogram of seeds found by different authors

Country	Weight of 1000 seeds, g	Estimated number of seeds per kg of seed	Authors
Colombia	-	17000.00	Romero <i>et al.</i> (2014)
	7.35	136054.00	Gallego- Castro (2016)
	-	100000.00	Cortez <i>et al.</i> (2019)
Costa de Marfil	2.40	409836.06	Tiebre <i>et al.</i> (2012)
Nigeria	6.42	155763.00	Etejere y Olayinka
	7.50	133333.00	(2014)
México	1.00	1000000.00	del Val <i>et al.</i> (2014)
Cuba	6.20	166000.00	Padilla <i>et al.</i> (2020)

In this sense, the reported values are in the range from 1 to 7.6 g. In this case, the comparison is very difficult to carry out because it is necessary to know, if it was made based on full seeds (formed) or was quantified based on total seeds in the sample (full + empty), it is also important to specify the percentage purity of the sample or lot, to optimize the germination processes and guarantee the sowing and establishment of the species in this way.

The estimates of the number of seedlings per kg of seeds reported show a higher variability with minimum values of 17 000 seedlings determined in Colombia up to one million seedlings per kg of seed obtained in Mexico.

### SEED GERMINATION

Although it is true that there are advances in the studies of the germination of this species, everything has not yet been resolved. Precisely, there is no coincidence if the *T. diversifolia* seeds have some kind of latency, since some authors (Agboola *et al.* 2006, Wen 2015 and Santo Gally *et al.* 2020) show that the seeds of this species have dormancy and others (Mattar *et al.* 2019 and Rodríguez *et al.* 2021) show that this species does not have latency.

Added to this is the lack of coincidence in relation to germination, since some researchers report that this species has low germination, reporting values between 25-35 % (Peters *et al.* 2002, Inayat, 2009, Angelovici *et al.* 2010 and Saavedra, 2016), however, there are other results that show that it is possible to exceed this seed quality indicator, reaching acceptable germinations between 60 and 90 % (Etejere and Oleyinka 2014) and Santo Gally *et al.* 2020).

In Cuba in the period 2017-2021 several researchers were developed where the germination percentage of different genetic materials collected in the central and western region of the country was evaluated. The germination capacity (table 2) ranged from 5 to 92 %, depending on the plant material. However, these same materials evaluated later showed percentages higher than 40 %, this variability may be related to the seed quality and the criteria that were used to define the best harvest time.

muy difícil de realizar pues es necesario conocer, si se realizó sobre la base de semillas llenas (formadas) o se cuantificó basado en semillas totales de la muestra (llenas + vacías), resulta importante además precisar el porcentaje de pureza de la muestra o lote, para optimizar los procesos de germinación y garantizar la siembra y establecimiento de la especie por esta vía.

Los estimados de la cantidad de plántulas por kg de semillas informados muestran una variabilidad aún mayor con valores mínimos de 17 000 plántulas determinados en Colombia hasta un millón de plántulas por kg de semilla obtenido en México.

### GERMINACIÓN DE SEMILLAS

Si bien es cierto que existen avances en los estudios de la germinación de esta especie aún todo no está resuelto. Precisamente, no existe coincidencia en cuanto a si las semillas de *T. diversifolia* presentan algún tipo de latencia, ya que, algunos autores (Agboola *et al.* 2006, Wen 2015 y Santo Gally *et al.* 2020) indican que las semillas de esta especie presentan dormancia y otros (Mattar *et al.* 2019 y Rodríguez *et al.* 2021) señalan que esta especie no presenta latencia.

A ello se agrega la falta de coincidencia en relación con la germinación, pues algunos investigadores reportan que esta especie tiene baja germinación informando valores entre 25-35 % (Peters *et al.* 2002, Inayat, 2009, Angelovici *et al.* 2010 y Saavedra, 2016), sin embargo, existen otros resultados que indican que es posible rebasar este indicador de calidad de la semilla alcanzando germinaciones aceptables entre el 60 y 90 % (Etejere y Oleyinka 2014) y Santo Gally *et al.* 2020).

En Cuba en el periodo 2017-2021 se desarrollaron varias investigaciones donde se evaluó el porcentaje de germinación de diferentes materiales genéticos colectados en la región centro y occidente del país. La capacidad de germinación (tabla 2), osciló desde 5 hasta 92 %, en dependencia del material vegetal. Sin embargo, estos mismos materiales evaluados posteriormente mostraron porcentajes superiores al 40 %, esta variabilidad puede estar relacionada con la calidad de la semilla y los criterios que se utilizaron para definir el mejor momento de cosecha.

Según Etejere y Oleyinka (2014), la profundidad de

Table 2. Germination percentage of different *T. diversifolia* materials evaluated in Cuba

Plant material									Authors
3	5	10	13	16	17	23	24	25	
19.00	19.00	4.00	89.00	49.00	92.00	19.00	22.00	89.00	Ruíz <i>et al.</i> (2018)
-	-	43.70	-	-	-	-	-	-	Rodríguez <i>et al.</i> (2019)
58.25	-	54.75	-	53.25	-	52.00	-	-	Padilla <i>et al.</i> (2021)
-	-	44.22	-	-	-	53.61	-	60.90	Rodríguez <i>et al.</i> (2021)

According to Etejere and Oleyinka (2014), the sowing depth is a factor that significantly affects the germination percentage. These authors determined in pots, germination at different depths (0, 0.5, 1.5, 2.5 and 3.5 cm) with respect to the soil surface, the highest germination percentage occurred at depth 0 cm (85 %), and decreased as depth increased. At depths from 0 to 2.5 cm the emergence occurred around 5 days, and at the depth of 3.5 cm the emergence started from the sixth day.

The differences in the germination percentages, both in laboratory researchers and in field sowings of gamica seed, may be due to the fact that the seeds were not collected at the best harvest time when the seeds were formed and have completed their maturation, because when this happens, seeds that are not completely formed are harvested, which induces a lower weight of 1000 seeds, germination percentage and production of pure germinable seed (PGS).

Akinola *et al.* (2000) in Nigeria studied six methods for breaking the dormancy of conserved seeds of *T. diversifolia* for 11 months (under environmental conditions). The methods of hot water at 80 and 100 °C and dry air at 80 and 100 °C, concentrated sulfuric acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and 10 % hydrogen peroxide. These authors evaluated different exposure times to the treatments (0, 2.5, 5, 10, 15 and 20 minutes) and reached germination percentages higher than 65 % with the hot water treatment at 80 and 100 °C (10 and 15 minutes).

Recent studies by Padilla *et al.* (2021) when studying the effect of fixed and alternating temperatures and moistening with running water on the germination of *Tithonia*, showed that when the performance for a period of 30 days was evaluated (at intervals of 10 days) there were no differences between treatments. However, the high percentage of total germination of the seeds (76 and 84 %) is interesting, highlighting that in the first 10 days 67-75 % of them managed to germinate. In addition, less germination was required for the interval of 20-30 days, so it is not justified to extend the germination tests for more than 21 days.

Rodríguez *et al.* (2019) evaluated the germination percentage, under laboratory conditions, in Petri dishes and in bags in the nursery of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) material 10 where a total germination of 43.7 % was achieved in the bags and

siembra es un factor que afecta de forma significativa el porcentaje de germinación. Estos autores determinaron en macetas, la germinación a diferentes profundidades (0, 0.5, 1.5, 2.5 y 3.5 cm) respecto a la superficie del suelo, el mayor porcentaje de germinación se presentó en la profundidad 0 cm (85 %), y disminuyó en la medida que aumentaba la profundidad. En las profundidades de 0 a 2.5 cm la emergencia ocurrió alrededor de los 5 días, y en la profundidad de 3.5 cm la emergencia inició a partir del sexto día.

Las diferencias en los porcentajes de germinación, tanto en las investigaciones en laboratorio como en siembras en campo de semilla gámica, pueden estar dadas porque las semillas no fueron recolectadas en el mejor momento de cosecha cuando las simientes estuvieran formadas y hayan completado su maduración, pues cuando esto ocurre, se cosechan semillas que no están completamente formadas lo que induce un menor peso de 1000 semillas, porcentaje de germinación y producción de semilla pura germinable (SPG).

Akinola *et al.* (2000) en Nigeria estudiaron seis métodos para la ruptura de la dormancia de semillas conservadas de *T. diversifolia* durante 11 meses (bajo condiciones ambientales). Los métodos de agua caliente a 80 y 100 °C y aire seco a 80 y a 100 °C, ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y peróxido de hidrogeno 10 %. Estos autores evaluaron diferentes tiempos de exposición a los tratamientos (0, 2.5, 5, 10, 15 y 20 minutos) y alcanzaron porcentajes de germinación superiores al 65 % con el tratamiento de agua caliente a 80 y 100 °C (10 y 15 minutos).

Trabajos recientes de Padilla *et al.* (2021) al estudiar el efecto de temperaturas fijas, alternas y humedecimiento con agua corriente en la germinación de *Tithonia*, indicaron que cuando se evaluó el comportamiento por un periodo de 30 días (a intervalos de 10 días) no hubo diferencias entre tratamientos. No obstante, resulta interesante el alto porcentaje de germinación total de las semillas (76 y 84 %), destacándose que en los primeros 10 días logró germinar el 67-75 % de las mismas. Además, se precisó una menor germinación para el intervalo de 20–30 días, por lo que no se justifica alargar las pruebas de germinación por más de 21 días.

Rodríguez *et al.* (2019) evaluaron el porcentaje de germinación, en condiciones de laboratorio, en placas de Petri y en bolsas en vivero de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) material 10 donde se alcanzó una germinación total de

54.9 % under laboratory conditions. The performance of some variables related to the morphostructure of the seedlings during the 45 days that their nursery stage lasted showed that *Tithonia* had a linear growth rate in height and number of leaves. This showed that the performance of this species under nursery conditions is adequate and allows obtaining vigorous seedlings ready for direct transplantation to the field with heights of 28.9 cm at 45 days after sowing. It is considered that it is at this time that the transplant to the field should be carried out since, due to the characteristics of flexibility that the stems of this species have, it is not advisable to wait any longer to avoid losses due to their fractionation.

Other results obtained in researches performed in Colombia show the efficiency of the use of nurseries to obtain seedlings, as long as the strictest protection measures for germinated seedlings are followed until transplantation (Solarte *et al.* 2013 and Summ 2015). Sanabria and Ávila (2015) determined seedling heights of 13.3 cm at 14 days after sowing and 69.7 cm at 60 days.

Many species require specific substrates to express their true germination potential. In this sense, Padilla *et al.* (2021) evaluated the germination percentage of *Tithonia diversifolia* material 16 using four substrates: Petri dishes using ground, cotton; cartons for transporting eggs using ground and in a moistened jute bag. The lowest germination percentage (7.75 %) occurred in the substrate of moistened jute bags. This negative result is important, since this practice is common in many farmers who carry out germination tests using this method and the germination power of the seed lot that is evaluated fundamentally in small seeds can be underestimated. In the rest of treatments, germination had a similar performance that ranged between 55-60 %. It was significant in this sense that when recycled cardboard containers with ground were used, good germination (60 %) was achieved, as was the case when Petri dishes with cotton and ground were used, which is the most widely used practice at the level of seed laboratories. This allows for several options to evaluate the germination percentage of this species.

Etejere and Olayinka (2015) also confirm the selectivity of this species, showing that the seedlings that emerged from the soil showed higher growth efficiency and vigor (81 %) compared to the seedlings obtained from seeds sown in Petri dishes (19 %).

The results reported in Cuba and other regions of the world in terms of the germination percentage show the possibility of using gametic seed for the propagation of this species, so the next step in the technological chain is the seed conservation.

## SEED CONSERVATION

Research experiences carried out in Brazil (Mattar

43.7 % en las bolsas y 54.9 % en condiciones de laboratorio. El comportamiento de algunas variables relacionadas con la morfoestructura de las plántulas durante los 45 días que duró su etapa de vivero demostró que la *Tithonia* tuvo una tasa de crecimiento lineal en altura y número de hojas. Ello indicó que el comportamiento de esta especie en condiciones de vivero es adecuado y permite obtener plántulas vigorosas listas para su trasplante directo al campo con alturas de 28.9 cm a los 45 días de sembradas. Se considera, que es en este momento en que se debe realizar el trasplante al campo ya que, por las características de flexibilidad que poseen los tallos de esta especie no es recomendable esperar más tiempo para evitar pérdidas por fraccionamiento de los mismos.

Otros resultados obtenidos en investigaciones realizadas en Colombia demuestran la eficiencia del uso de viveros para obtener posturas, siempre y cuando se cumplan las más estrictas medidas de protección de las plántulas germinadas hasta su trasplante (Solarte *et al.* 2013 y Summ 2015). Sanabria y Ávila (2015) determinaron alturas de las plántulas de 13.3 cm a los 14 días después de sembradas y 69.7 cm a los 60 días.

Muchas especies exigen de sustratos específicos para expresar su verdadero potencial de germinación. En este sentido, Padilla *et al.* (2021) evaluaron el porcentaje de germinación de *Tithonia diversifolia* material 16 utilizando cuatro sustratos: placas de Petri empleando tierra, algodón; envases de cartón de transportar huevos empleando tierra y en saco de yute humedecido. El menor porcentaje de germinación (7.75 %) se produjo en el sustrato de sacos de yute humedecidos. Este resultado negativo resulta importante, pues esta práctica es común en muchos productores que realizan las pruebas de germinación empleando este método y se puede subestimar el poder germinativo del lote de semilla que se evalúa fundamentalmente en semillas pequeñas. En el resto de los tratamientos la germinación tuvo un comportamiento similar que osciló entre 55-60 %. Fue significativo en este sentido el hecho de que cuando se emplearon envases de cartón reciclados con tierra, se logró buena germinación (60 %) al igual que cuando se emplearon placas de Petri con algodón y tierra, que es la práctica más utilizada a nivel de los laboratorios de semilla. Ello permite disponer de varias opciones para evaluar el porcentaje de germinación de esta especie.

Etejere y Olayinka (2015) también confirman la selectividad de esta especie, indican que las plántulas que emergieron del suelo mostraron mayor eficiencia de crecimiento y vigor (81 %) en comparación con las plántulas obtenidas de semillas sembradas en placas de Petri (19 %).

Los resultados reportados en Cuba y otras regiones de mundo en cuanto al porcentaje de germinación demuestran la posibilidad del empleo de semilla gámica para la propagación de esta especie por lo que el siguiente paso en la cadena tecnológica lo constituye la conservación de la semilla.

2018) show seed conservation results based on two storage conditions (refrigerated and non-refrigerated environment) and two storage times (6 and 12 months). The refrigerated environment provided the highest percentages of seed germination, in addition, the speed of germination increased throughout the storage time. The seeds showed a high germination percentage after 12 months of storage, both under refrigerated and non-refrigerated conditions.

In this sense, Rodríguez *et al.* (2021) when evaluating three types of containers (plastic bottles with screw top, paper bags and nylon bags), and two storage conditions (cold room and environmental conditions), for the conservation of botanical seed of *T. diversifolia* material 10 began a study with seeds that had been harvested for 30 days and germinations higher than 60 %. The germination percentage of the seeds stored in the cold room ranged between 52.33 and 44.14 % for 60 and 540 days. A completely different performance, for the same period, was observed in those stored in the environment, that the seeds experienced a progressive drop in germination until reaching 12.67 % at 540 days. The differences between the two storage methods show the deterioration suffered by the seeds when stored at room temperature. After 365 days the seeds stored in the environment lost germination. Thus, for the 660 and 720 days after the start of storage, only the effect of the type of container with seeds that remained in the cold room was evaluated.

*Tithonia* seeds in the postharvest stage, previous to the beginning of storage, do not significantly deteriorate; while by increasing the storage time under uncontrolled conditions, they age at a progressive rate and lose germination after one year. Cold storage is recommended for the conservation of *T. diversifolia* seeds for long periods of time, as well as the use of the evaluated containers (plastic bottles, paper and nylon bags).

As can be seen, the analyzed results show the possibility of obtaining and using the gametic seed of this species for its propagation, as well as being satisfactorily preserved for periods of time of up to two years. However, guaranteeing the quality of seed alone does not allow reaching the levels of generalization and use of this species. The production of seed by gametic way needs to specify the yields of full seed and PGS ha<sup>-1</sup> at the level of the primary farmer. This constituted a challenge for the scientific community and is what we propose to analyze below.

#### **ADVANCES IN THE TECHNOLOGICAL PROCESS TO PRODUCE GAMIC SEED OF TREE MARIGOLD**

In Colombia, various authors (Mahecha *et al.* 2015, Gallego-Castro, 2016 and Mahecha *et al.* 2017) made a first approach to the production of sexual seed of

#### **CONSERVACIÓN DE LA SEMILLA**

Experiencias de investigaciones realizadas en Brasil (Mattar 2018) muestran resultados de conservación de las semillas en función de dos condiciones de almacenamiento (ambiente refrigerado y no refrigerado) y dos tiempos de almacenamiento (6 y 12 meses). El ambiente refrigerado proporcionó los porcentajes más altos de germinación de semillas, además, la velocidad de germinación aumentó a lo largo del tiempo de almacenamiento. Las semillas mostraron alto porcentaje de germinación después de 12 meses de almacenamiento, tanto en condiciones refrigeradas como no refrigeradas.

En este sentido, Rodríguez *et al.* (2021) al evaluar tres tipos de envases (frascos plásticos con tapa de rosca, bolsas de papel y bolsas de nailon), y dos condiciones de almacenamiento (cámara fría y condiciones ambientales), para la conservación de semilla botánica de *T. diversifolia* material 10 inició un estudio con semillas que tenían 30 días de cosechadas y germinaciones superiores al 60 %. El porcentaje de germinación de las semillas almacenadas en la cámara fría osciló entre 52.33 y 44.14 % para 60 y 540 días. Un comportamiento completamente diferente, para ese mismo periodo, se observó en las almacenadas al ambiente, que las semillas experimentaron una caída progresiva de la germinación hasta llegar a 12.67 % a los 540 días. Las diferencias entre ambos métodos de almacenamiento indican el deterioro que sufren las semillas cuando se almacenan a temperatura ambiente. A partir de los 365 días las semillas almacenadas al ambiente perdieron la germinación. Es así que, para los 660 y 720 días posteriores al inicio del almacenaje sólo se evaluó el efecto del tipo de envase con semillas que permanecieron en la cámara fría.

Las semillas de *Tithonia* en la etapa de postcosecha, previo al inicio del almacenamiento, no se deterioran perceptiblemente; mientras que al aumentar el tiempo de almacenaje en condiciones no controladas las mismas envejecen a un ritmo progresivo y pierden la germinación después de un año. Se recomienda el almacenamiento en cámara fría para la conservación de las semillas de *T. diversifolia* por largos períodos de tiempo, así como la utilización de los envases evaluados (frascos plásticos, bolsas de papel y de nailon).

Como se puede apreciar los resultados analizados demuestran la posibilidad de obtener y utilizar la semilla gámica de esta especie para su propagación, así como se logra conservar satisfactoriamente por períodos de tiempo de hasta dos años. Sin embargo, garantizar la calidad de la semilla por sí sola no permite alcanzar los niveles de generalización y utilización de esta especie. La producción de semilla por vía gámica necesita de precisar los rendimientos de semilla llena y SPG ha<sup>-1</sup> a nivel del productor primario. Ello constituyó un reto para la comunidad científica y es lo que se propone analizar a continuación.



tree marigold where they characterized the number of stems and flowers, weight of fresh and dry flowers and number of seeds per plant and showed the possibility of a seed production from flower buds and calculated that 1 kg of seed contains 100 000 seeds. These novel results for that moment, showed the need to carry out new researchers at the field level that would facilitate the availability of a technology for the production of filled seed and PGS ha<sup>-1</sup> and create the scientific bases for the production of commercial gamica seed.

The gamica seed production of this species is largely defined by the best harvest time. In general, the criteria used to determine the best harvest time for different species and varieties are the fixed dates after the appearance of anthesis, inflorescence color, moisture content, seed shelling, seed weight and fix the harvest time from the beginning of massive flowering (Padilla *et al.* 2018, Saavedra 2016, Suárez *et al.* 2018, Mattar *et al.* 2019, Santos-Gally *et al.* 2019, Padilla *et al.* 2020 and Santos-Gally *et al.* 2020).

However, regardless of the method used in each research, the practical recommendation must be accompanied by phenological and morphological changes, as well as quantitative and qualitative information that allow defining in the field the precise moment that the harvest should be carried out by the technicians and primary farmers.

At the Institute of Animal Science from Cuba Padilla *et al.* (2018) showed for the first time in the three phenological stages of inflorescence development that there is the presence of formed seeds able to germinating (seed heads with green bracts and withered petals, seed heads with green bracts without petals and seed heads with bracts and dry brown peduncles).

It was pointed out that when it is harvested in the state of green bracts without petals, there is the lowest weight of full seeds and the highest weight of empty per seed heads. With this, it was defined that in this phenological state of the seed heads, the empty seeds have not yet shelled and the full ones have not completed their formation and physiological maturation. On the other hand, the germination percentage was higher (48.25 %) when the seed heads were harvested with bracts and dry brown peduncles compared to those harvested with green bracts and without petals (34.50 %), however, the production of filled seed was inverse (192 and 156 mg. seed head<sup>-1</sup>, respectively). Hence, to specify the best harvest time, the production of PGS. seed head<sup>-1</sup> must be taken into account, which was similar in both treatments, this is the most transcendental indicator for the technological output of gamica seed production of tree marigold.

On the other hand, when analyzing the weight of 1000 seeds, it was observed that when the seed heads are harvested in the phenological state of green bracts

## AVANCES DEL PROCESO TECNOLÓGICO PARA PRODUCIR SEMILLA GÁMICA DE BOTÓN DE ORO

En Colombia diversos autores (Mahecha *et al.* 2015, Gallego-Castro, 2016 y Mahecha *et al.* 2017) realizaron una primera aproximación a la producción de semilla sexual de botón de oro donde caracterizaron el número de tallos y flores, peso de flores frescas y secas y cantidad de semillas por plantas e indicaron la posibilidad de una producción de semilla a partir de los botones florales y calcularon que 1 kg de semilla contiene 100 000 semillas. Estos resultados novedosos para ese momento, indicaron la necesidad de realizar nuevas investigaciones a nivel de campo que propiciara disponer de una tecnología para la producción de semilla llenas y SPG ha<sup>-1</sup> y crear las bases científicas para la producción de semilla gámica comercial.

La producción de semilla gámica de esta especie se define en gran medida por el mejor momento de cosecha. En general, los criterios utilizados para determinar el mejor momento de cosecha para diferentes especies y variedades son las fechas fijas después de la aparición de la antesis, color de las inflorescencias, contenido de humedad, desgrane de las semillas, peso de las semillas y fijar el momento de cosecha a partir del inicio de la floración masiva (Padilla *et al.* 2018, Saavedra 2016, Suárez *et al.* 2018, Mattar *et al.* 2019, Santos-Gally *et al.* 2019, Padilla *et al.* 2020 y Santos-Gally *et al.* 2020).

Sin embargo, independiente del método empleado en cada investigación, la recomendación práctica debe ir acompañada de los cambios fenológicos y morfológicos, así como una información cuantitativa y cualitativa que permita definir en el campo el momento preciso que se debe realizar la cosecha por los técnicos y productores primario.

En el Instituto de Ciencia Animal de Cuba Padilla *et al.* (2018) demostraron por primera vez en los tres estados fenológicos de desarrollo de la inflorescencia que hay presencia de semillas formadas capaces de germinar (cabezuelas con brácteas verdes y pétalos marchitos, cabezuelas con brácteas verdes sin pétalos y cabezuelas con brácteas y pedúnculos secos de color marrón).

Se puntualizó que cuando se cosecha en el estado de brácteas verdes sin pétalos existe el menor peso de semillas llenas y el mayor de las vacías por cabezuelas. Con ello se definió que en este estado fenológico de las cabezuelas, las semillas vacías aún no han desgranado y las llenas no han completado su formación y maduración fisiológica. Por otra parte, el porcentaje de germinación fue mayor (48.25 %) cuando las cabezuelas se cosecharon con brácteas y pedúnculos secos color marrón en comparación con las que se cosecharon con las brácteas verdes y sin pétalos (34.50 %), sin embargo, la producción de semilla llenas fue inversa (192 y 156 mg.cabezuela<sup>-1</sup>, respectivamente). De ahí, que para precisar el mejor momento de cosecha hay que tener en cuenta la producción de SPG.cabezuela<sup>-1</sup>, la que fue similar en ambos tratamientos, este es el indicador más transcendental

and withered petals, there is still no complete formation of the seed, which allows concluding that the best time of seed harvest is achieved when the panicles are harvested in the state of green seed heads without petals and seed heads with bracts and dry brown peduncles where there is a greater formation and maturation of the seeds, this is the period where the production of full seeds and the germination percentage was compensated.

The previous results allowed advancing in other studies (Padilla *et al.* 2021) to define the best harvest time that included a greater range of characterization of harvest times according to the phenological and morphological changes that occur in seed heads in the time and evaluating the yields of filled seed and PGS.

Photo 1 and 2 show the phenological changes that occur in the seed heads during the process of maturation and formation of achenes and the phenological stages that produce seeds are defined according to the morphology of the seed heads, as well as color changes that occur from the beginning of massive flowering. This moment occurs when of the total number of stems with inflorescences in the field, half have flowers and buds, while the other half are in the seed phase (seed heads with green bracts and withered petals, seed heads with green bracts and yellow corollas, seed heads with green bracts and

para la salida tecnológica de la producción de semilla gámica de botón de oro.

Por otra parte, al analizar el peso de 1000 semillas se observó que cuando se cosechan las cabezuelas en estado fenológico de brácteas verdes y pétalos marchitos, todavía no hay una formación completa de la semilla, lo que permite concluir que el mejor momento de cosecha de la semilla, se logra cuando las panículas se cosechan en el estado de cabezuelas verdes sin pétalos y cabezuela con brácteas y pedúnculos secos color marrón donde hay una mayor formación y maduración de las semillas, este es el periodo donde se alcanzó compensar la producción de semillas llenas y el porcentaje de germinación.

Los resultados anteriores permitieron avanzar en otros estudios (Padilla *et al.* 2021) para definir el mejor momento de cosecha que incluyera un rango mayor de caracterización de los momentos de cosecha de acuerdo a los cambios fenológicos y morfológicos que se producen en las cabezuelas en el tiempo y evaluando los rendimientos de semilla llenas y SPG.

En la foto 1 y 2 aparecen los cambios fenológicos que se presentan en la cabezuela en el proceso de maduración y formación de los achenios y se definen los estados fenológicos que producen semillas de acuerdo a la morfología de la cabezuela, así como los cambios de color que se producen a partir del inicio de la floración masiva. Este momento ocurre cuando del total de tallos con presencia de inflorescencias presentes en el campo,



Photo 1. Inflorescences that do not produce seeds. A- Closed bud, B- Open bud, C- Flower



Photo 2. Inflorescences that produce seeds. D- Seed heads with green bracts and withered petals, E- Seed heads with green bracts and yellow corollas, F- Seed heads with green bracts and brown corollas, G- Seed heads with dry bracts and peduncles (brown)

brown corollas and seed heads with dry bracts and peduncles, colored brown).

The results show that the harvest should be carried out when in the field between 80-93 % of the total inflorescences that produce seeds predominate and the presence of seed heads with dry bracts and peduncles colored brown ranges between 20-60 %, this can be achieved between the 12 and 20 days after the massive flowering started (figure 1).

la mitad presenta flores y botones, mientras que la otra mitad está en la fase semillas (cabezuelas con brácteas verdes y pétalos marchitos, cabezuelas con brácteas verdes y corolas amarillas, cabezuelas con brácteas verdes y corolas de color marrón y cabezuelas con brácteas y pedúnculos secos, color marrón).

Los resultados demuestran que la cosecha se debe realizar cuando en el campo predomine entre 80-93 % del total de inflorescencias que producen semillas y la presencia

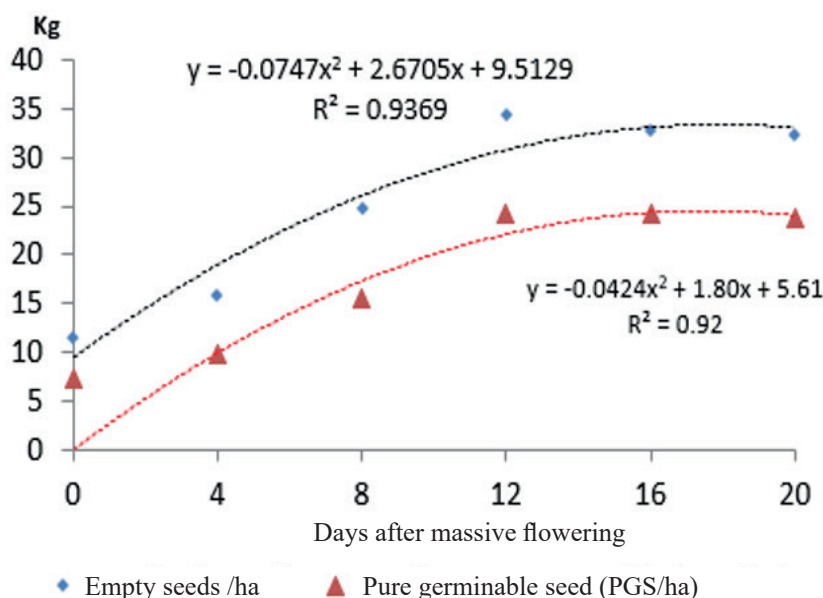


Figure 1. Performance of seed production during the harvest period

This performance is supported by the fact that at this precise moment is when the highest weights of full seeds of the stems with flowers and full seeds heads<sup>-1</sup> are achieved. This criterion is also validated by the weight of the germinated seedlings and the weight of 1000 seeds, which were also the indicators with the best performance for that same harvest time and confirms the need for the seeds to complete their formation and physiological maturation before being harvested. These results are novel, because for the first time it is possible to define quantitatively and qualitatively the best harvest time for the tree marigold at the field level, where yields of the order of 33 kg ha<sup>-1</sup> of filled seeds and 24 kg of PGS ha<sup>-1</sup> were achieved when the harvest is carried out between 12 and 20 days after the massive flowering begins. These yields are considered good, if it is taken into account that one kilogram of seed contains around 166,000 full seeds according to the *Tithonia* plant materials studied (Padilla *et al.* 2020).

After defining the best harvest time, Padilla *et al.* (2021) evaluated three cut moments (May-July-September) in four outstanding materials (3, 10, 16 and 23) for a period of three years. The results of this research allowed defining the preponderant role of the moment of application of predetermined cuts to promote massive flow of flowering in the fertile stems of this species.

de cabezuelas con brácteas y pedúnculos secos color marrón oscile entre 20-60 %, esto puede lograrse entre los 12 y 20 días de iniciada la floración masiva (figura 1).

Avala este comportamiento el hecho de que en este preciso momento es cuando se logran los mayores pesos de semillas llenas de los tallos con flores y semillas llenas. cabezuelas<sup>-1</sup>. Este criterio también lo validan el peso de las plántulas germinadas y el peso de 1000 semillas que también fueron los indicadores con mejor comportamiento para ese mismo momento de cosecha y confirma la necesidad de que las semillas completen su formación y maduración fisiológica antes de ser cosechadas. Estos resultados son novedosos, pues por primera vez se logra definir cuantitativa y cualitativamente el mejor momento de cosecha para el botón de oro a nivel de campo, donde se alcanzaron rendimientos del orden de los 33 kg ha<sup>-1</sup> de semillas llenas y 24 kg de SPG ha<sup>-1</sup> cuando se realiza la cosecha entre 12 y 20 días de iniciada la floración masiva. Estos rendimientos se consideran buenos, si se tiene en cuenta que un kilogramo de semilla contiene alrededor de 166 000 semillas llenas según los materiales vegetales de *Tithonia* estudiados (Padilla *et al.* 2020).

Posteriormente a la definición del mejor momento de cosecha, Padilla *et al.* (2021) evaluaron tres momentos de corte (mayo-julio-septiembre) en cuatro materiales destacados (3,10, 16 y 23) por un periodo de tres años. Los resultados de esta investigación permitieron definir el

With this, a greater uniformity of the phenological development of the seed heads was guaranteed over time, affecting the formation and more uniform maturation of the seeds that facilitates the definition and precision of the best harvest time.

The agronomic management with the use of different moments of applying cuts, allowed to define, in the first place, that the four materials used did not have a uniform response, thus material 16 was the only one that managed to produce seed from the second year of study when the cut was applied in July, the other evaluated materials did not achieve it. Furthermore, when cutting in September none of the plant materials produced seed from the second year. This defined the plant's need for a period of 4-6 months to achieve the formation of fertile stems and the development and formation of seeds, which constitutes a novel scientific result for the species. This period coincides with the beginning of the rainy period, after stabilizing the rainfalls in Cuba, where the climatic conditions of daylight and temperature occur that favor massive flowering and the formation and physiological development of the seed with acceptable germination percentages and higher yields of pure germinable seed.

Independent of the interactions that occurred between the time of applying the cut and the materials studied for the first year; when the four materials were fully evaluated, the 16th highlighted for the highest yields of full seeds, PGS, and weight of 1000 seeds, mainly when cutting was applied in July to cause massive and uniform flows of fertile stems.

The gametic seed production reached by material 16 in this study is of the order of 49.45 -98.89 kg.ha<sup>-1</sup> of full seed and 26.63- 53.26 kg.ha<sup>-1</sup> PGS for the second and third year. This excellent yield was greatly favored because the harvest was carried out at the optimum time according to Padilla *et al.* (2020) and this confirms the hypothesis that the production of gametic seed of *Tithonia diversifolia* is possible. In addition, it contributes to the scientific knowledge that there are marked differences in the production of seeds between the studied plant materials. The previous supports the genetic differences of these materials that were reported by Ruíz *et al.* (2018) in the biomass production for its use in cutting and grazing.

Although it is true that material 16 highlighted, also materials 3, 10 and 23 reached acceptable PGS yields, taking into account that a kg of full seeds can have around 166 600 seeds with more than 95 % purity and germination percentages between 50-80 %, it should then be considered that these materials should also be used in the production programs of gametic seeds of this species.

#### **SOWING AND ESTABLISHMENT BY GAMIC SEED**

As mentioned above, until the 2010-2017 period there

papel preponderante del momento de aplicación de cortes predeterminados para propiciar flujos masivos de floración en los tallos fértiles de esta especie. Con ello se garantizó una mayor uniformidad del desarrollo fenológico de las cabezuelas en el tiempo, incidiendo en la formación y maduración más uniforme de las semillas que facilita definir y precisar con más exactitud el mejor momento de cosecha.

El manejo agronómico con el empleo de diferentes momentos de aplicar cortes, permitió definir, en primer lugar, que los cuatro materiales empleados no tuvieron una respuesta uniforme, así el material 16 fue el único que logró producir semilla a partir del segundo año de estudio cuando se aplicó el corte en el mes de julio, los demás materiales evaluados no lo lograron. Además, al cortar en septiembre ninguno de los materiales vegetales produjo semilla a partir del segundo año. Ello definió la necesidad de la planta de un periodo de 4-6 meses para alcanzar la formación de tallos fértiles y el desarrollo y formación de las semillas, lo que constituye un novedoso resultado científico para la especie. Este periodo coincide con el inicio del periodo lluvioso, después de estabilizadas las precipitaciones en Cuba, donde acontecen las condiciones climáticas de horas luz y temperatura que propician la floración masiva y la formación y desarrollo fisiológico de la semilla con aceptables porcentajes de germinación y mayores rendimientos de semilla pura germinable.

Independiente de las interacciones que se produjeron entre el momento de aplicar el corte y los materiales estudiados para el primer año; cuando se evaluaron integralmente los cuatro materiales se destacó el 16 por los mayores rendimientos de semillas llenas, SPG, y peso de 1000 semillas, fundamentalmente cuando se aplicó el corte en los meses de julio para provocar flujos masivos y uniformes de tallos fértiles.

La producción de semilla gámica alcanzada por el material 16 en este estudio es del orden de 49.45 - 98.89 kg.ha<sup>-1</sup> de semilla llena y 26.63- 53.26 kg.ha<sup>-1</sup> SPG para el segundo y tercer año. Este excelente rendimiento se favoreció en gran medida porque la cosecha se realizó en el momento óptimo según Padilla *et al.* (2020) y ello confirma la hipótesis de que es posible la producción de semilla gámica de *Tithonia diversifolia*. Además, aporta al conocimiento científico que existen diferencias marcadas en la producción de semillas entre los materiales vegetales estudiados. Lo anterior avala las diferencias genéticas de estos materiales que fueron informadas por Ruíz *et al.* (2018) en la producción de biomasa para su empleo en corte y pastoreo.

Si bien es cierto que el material 16 se destaca, también los materiales 3, 10 y 23 alcanzaron aceptables rendimientos de SPG, teniendo en cuenta que un kg de semillas llenas puede tener alrededor de 166 600 semillas con más de 95 % de pureza y porcentajes de germinación entre 50-80 %, se debe entonces considerar que estos materiales también deben ser empleados en los programas de producción de semillas gámica de

was no information available showing the possibility of sowing this species directly in the gametic seed field. In this sense, there is a deficiency in literary records on the propagation through this way.

The propagation of this plant is done almost 100 % through the use of cuttings, which are easy to acquire from other crops. Several are the researchers related to the plantation of the tree marigold by agamic seed (Almeida *et al.* 2009, González *et al.* 2013, Zapata and Vargas 2014, Lourenco *et al.* 2015 and Gallego-Castro *et al.* 2017) where it is define different aspects such as: stem section, planting form and even the application of synthetic auxins to stimulate rooting was evaluated (dos Santos Silva *et al.* 2018). However, it should be highlighted that this type of propagation have some difficulties such as transport and storage that can only be carried out during short periods, without affecting the quality of cuttings (Sánchez *et al.* 2014), in addition to the increase in planting costs .

The experience in Colombia of gametic seed sowings of tree marigold is showed in several researchers such as: Mahecha *et al.* (2015), Gallego- Castro (2016) and Mahecha *et al.* (2017), but in these cases the seedlings obtained in germinators are carefully selected, either to transplant them into nursery bags or to sow them directly in well-prepared soils.

Other more recent experiences in Mexico (Cortez *et al.* 2019 and Uu-Espens *et al.* 2019) also use seedling transplantation, as did Gallego-Castro *et al.* (2015) in Colombia.

The first experiences in Cuba (Padilla *et al.* 2021) when evaluating under field conditions the establishment of *T. diversifolia* sowing by gametic seed and transplanting in bags compared to the traditional method of planting by cuttings, showed that two years after the sowing, the population of stems and tillers. m<sup>2</sup>, leaves, stems and the percentage of leaves, as well as the height and stem diameter were similar in all treatments. There were also not significant differences for the yield, which was of the order of 3.64-4.42 tDM ha<sup>-1</sup> cut<sup>-1</sup> at 90 days.

In other experiments still under development, where the same quantity of seeds and buds of the stems per plots was guaranteed, the possibilities of sowing by gametic seed are more evident in relation to agamic plantations and transplantation in bags. Thus, under field conditions, at 7 days, the sowing by seed had achieved to germinate with a population of 2.63 plants m<sup>-2</sup> while the plantations by cuttings had not yet started germination and at 41 days it reached 3.76 plants m<sup>-2</sup>, a higher value to the planting by stems that only reached 2.60 plants m<sup>-2</sup>.

The results in the first establishment cut at 180 days reaffirm the superiority of the sowing by gametic seed in relation with the plantations by cuttings. Thus, the highest yield (11.68 tDM.ha<sup>-1</sup>) was achieved in the sowing with by gametic seed that differs from

esta especie.

## SIEMBRA Y ESTABLECIMIENTO POR SEMILLA GÁMICA

Como se señala anteriormente, hasta el periodo 2010-2017 no se disponía de información que indicara la posibilidad de hacer siembra de esta especie directamente en el campo de semilla gámica. En este sentido, existe una deficiencia en registros literarios sobre la propagación mediante esta vía.

La propagación de esta planta se realiza casi en un 100 % mediante el uso de estacas, que son fáciles de adquirir de otros cultivos. Varias son las investigaciones relacionadas con la plantación del botón de oro por semilla agámica (Almeida *et al.* 2009, González *et al.* 2013, Zapata y Vargas 2014, Lourenco *et al.* 2015 y Gallego- Castro *et al.* 2017) donde se definen diferentes aspectos tales como: sección del tallo, forma de plantación e incluso se evaluó la aplicación de auxinas sintéticas para estimular el enraizamiento (dos Santos Silva *et al.* 2018). No obstante, cabe resaltar que este tipo de propagación presenta algunas dificultades como el transporte y almacenamiento que sólo se puede realizar durante periodos cortos, sin afectar la calidad de las estacas (Sánchez *et al.* 2014), además del incremento de los costos de plantación.

La experiencia en Colombia de las siembras por semilla gámica de botón de oro se manifiesta en varias investigaciones tales como: Mahecha *et al.* (2015), Gallego- Castro (2016) y Mahecha *et al.* (2017) pero en estos casos se obtienen las plántulas logradas en germinadores y se entresacan con mucha delicadeza, ya sea para trasplantarlas en bolsas de vivero o para sembrarlas directamente en suelos bien preparados.

Otras experiencias más recientes en México (Cortez *et al.* 2019 y Uu-Espens *et al.* 2019) también utilizan el trasplante de plántulas al igual que Gallego-Castro *et al.* (2015) en Colombia.

Las primeras experiencias en Cuba (Padilla *et al.* 2021) al evaluar en condiciones de campo el establecimiento de *T. diversifolia* sembrando por semilla gámica y el trasplante en bolsa en comparación con el método tradicional de plantación por estacas, mostró que dos años después de la siembra, la población de tallos y macollas. m<sup>2</sup>, hojas, tallos y el porcentaje de hojas, así como la altura y el diámetro del tallo resultó similar en todos los tratamientos. Tampoco hubo diferencias significativas para el rendimiento que fue del orden de 3.64- 4.42 tMS ha<sup>-1</sup> corte<sup>-1</sup> a los 90 días.

En otros experimentos aún en desarrollo, donde se garantizó igual cantidad de semillas y yemas de los tallos por parcelas se hacen más evidentes las posibilidades de las siembras por semilla gámica en relación con las plantaciones agámica y el trasplante en bolsas. Así, en condiciones de campo a los 7 días la siembra por semilla había logrado germinar con una población de 2.63 plantas. m<sup>-2</sup> mientras las plantaciones por estacas aún no habían iniciado la germinación y a los 41 días alcanzó 3.76 plantas m<sup>-2</sup>, valor superior a la plantación

the plantations by stem ( $9.92 \text{ tDM}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) and in bags ( $9.48 \text{ tDM}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). So, the populations in the sowing by gamic seed direct to the soil or transplanted in bag ( $10.55$  and  $10.88 \text{ stems}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively) were higher to the ones planted by cuttings ( $5.80 \text{ stems}\cdot\text{m}^{-2}$ ).

In other researchers Padilla *et al.* (2020a) achieved progress on the real possibility of obtaining satisfactory establishments when different protection practices of gamic seed of *T. diversifolia* material 16 were used in a Eutric Red Ferralitic soil. The results showed that, in the population performance, in the samplings carried out at 30 and 60 days after sowing, it could be seen a lower population in the control ( $3 \text{ plants}\cdot\text{m}^{-2}$ ) without covering and there were not differences between the use of organic matter or plant wastes with a population of 8 and  $13 \text{ plants}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively.

The stage of development of the seedlings at 60 days after sowing was favored by covering the seeds with organic matter (OM) where the height, stem diameter and number of leaves stem<sup>-1</sup> had a better performance for this early stage of *Tithonia* establishment by gamic seed. The yields of  $4.00 \text{ tDM}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{cut}^{-1}$  achieved in direct sowings in the field by gamic seed during the establishment phase of *Tithonia*, are acceptable and novel, since no previous reports of biomass production are known, when this way of propagation is used.

Although it is true that applying covering with cattle manure in the early stages of plant development was advantageous for some components of the yield from the first and second cut, it was found that at the end of the study the results are similar for all the evaluated treatments. That is why both treatments should be recommended as coverings (Mulch) to improve germination, survival of young seedlings and biomass production of different *T. diversifolia* materials when sowing under field conditions with botanical seeds are carried out. On the other hand, putting both options in the hands of the primary farmers is practical, since it gives the possibility of choosing the one that is most feasible according to availability and cost at the regional level.

When evaluating different levels of coverings (0, 250, 338 and  $500 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) with vegetable stubble, in the germination, survival and establishment by gamic seed of *T. diversifolia* cv material 10 under field conditions, Padilla *et al.* (2021) showed that the germination percentage was lower at 12 and 30 days after sowing in the control, which was similar to the treatment of  $250 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$  of coverings. In general, there was a linear increase in the germination percentage in the field with the increase in the coverings levels. The fact that with the use of the highest level of coverings ( $500 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), the seeds achieve 28.8 % germination at 12 days and 29.84 % at 30 days with the medium level ( $338 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) after sowing, endorses the benefits of this practice for the establishment of *Tithonia*. The fact that the seeds

por tallos que sólo alcanzó  $2.60 \text{ plantas}\cdot\text{m}^{-2}$ .

Los resultados en el primer corte de establecimiento a los 180 días reafirman la superioridad de las siembras por semilla gámica en relación con las plantaciones por estacas. Así, el mayor rendimiento ( $11.68 \text{ tMS}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) se logró en las siembras por semilla gámica que difiere de las plantaciones por tallo ( $9.92 \text{ tMS}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) y en bolsas ( $9.48 \text{ tMS}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Así, las poblaciones en las siembras por semilla gámica directas al suelo o trasplantada en bolsa ( $10.55$  y  $10.88 \text{ tallos}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectivamente) fueron superiores a las plantadas por estacas ( $5.80 \text{ tallos}\cdot\text{m}^{-2}$ ).

En otras investigaciones Padilla *et al.* (2020a) lograron avances sobre la posibilidad real de obtener establecimientos satisfactorios cuando se emplearon diferentes prácticas de protección de la semilla gámica de *T. diversifolia* cv material 16 en un suelo Ferralítico Rojo Eútrico. Los resultados indicaron que, en el comportamiento de la población, en los muestreos realizados a los 30 y 60 días después de la siembra, se pudo apreciar menor población en el control ( $3 \text{ plantas}\cdot\text{m}^{-2}$ ) sin arropar y no se determinó diferencias entre el empleo de materia orgánica o residuos vegetales con una población de 8 y  $13 \text{ plantas}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectivamente.

El estado de desarrollo de las plántulas a los 60 días después de la siembra, se favoreció al cubrir las semillas con materia orgánica (MO) donde la altura, diámetro del tallo y número de hojas.tallo<sup>-1</sup> tuvieron mejor comportamiento para esta etapa temprana del establecimiento de *Tithonia* por semilla gámica. Los rendimientos de  $4.00 \text{ tMS}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{corte}^{-1}$  alcanzados en siembras directas en campo por semilla gámica durante la fase de establecimiento de *Tithonia*, resultan aceptables y novedosos, pues no se conoce reportes anteriores de producción de biomasa, cuando se utiliza esta vía de propagación.

Si bien es cierto, que aplicar arropes con estiércol vacuno en los estadios tempranos del desarrollo de la planta, resultó ventajoso para algunos componentes del rendimiento a partir del primer y segundo corte, se pudo comprobar que al final del estudio los resultados son similares para todos los tratamientos evaluados. Es por eso que ambos tratamientos deben ser recomendados como arropes (Mulch) para mejorar la germinación, sobrevivencia de las plántulas jóvenes y la producción de biomasa de diferentes materiales de *T. diversifolia* cuando se efectúan siembras en condiciones de campo con semilla botánica. Por otra parte, poner en manos del productor primario las dos opciones, resulta práctico, pues da la posibilidad de escoger la que le resulte más factible de acuerdo a la disponibilidad y costo a nivel de la región.

Al evaluar diferentes niveles de arropes (0, 250, 338 y  $500 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) con rastrojos vegetales, en la germinación, sobrevivencia y establecimiento por semilla gámica de *T. diversifolia* material 10 en condiciones de campo, Padilla *et al.* (2021) indicaron que el porcentaje de germinación fue menor a los 12 y 30 días después de la siembra en el control, que a la vez fue similar al tratamiento de  $250 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$  de arropes. En general, hubo un incremento lineal de porcentaje de germinación en el campo con el aumento

sown in the field in just 12 days managed to germinate 58% with respect to their potential in the laboratory, is a good indicator that enhances the hypothesis of establishing the tree marigold by gametic seed. The previous results are strengthened with the biomass yields reached in the first establishment cut 120 days after sowing of the order of 6 -11 tDM.ha<sup>-1</sup>.cut<sup>-1</sup> and in the second and third cuts made at 90 days, yields of 2.02 tDM.ha<sup>-1</sup>.cut<sup>-1</sup> were obtained in the dry season and up to 6.00 tDM ha<sup>-1</sup> .cut<sup>-1</sup> when it coincided with the rainy season for the best results with the application of coverings levels of plant wastes between 338-500 g.m<sup>-2</sup> (Padilla *et al.* 2021).

In the three cuts made in the establishment phase, the performance of the indicators: population, height, stem diameter and number of leaves and tillers.plant<sup>-1</sup> also showed the beneficial effect of the coverings application, lasting the improvements produced in the early stages of development before undergoing the cut. These results reaffirm the benefits of using vegetable coverings in the establishment of this plant reported by Padilla *et al.* (2020a) in soil and climate conditions similar to that of the study, when the seeds are sown directly into the soil under field conditions.

Establishing a technique of direct sowing of gametic seed in the field constitutes a task of the first order, which would allow the successful establishment of this species. These results make it possible to eliminate the nursery and transplant phase, which constitutes a difficult process, especially when the technological result is aimed at medium and large scale for the sowing and establishment of tree marigold.

### GENERAL CONSIDERATIONS

Due to its productive response and persistence in livestock systems as forage or grazing plant, today *Tithonia diversifolia* constitutes the preferred species by farmers in Cuba within the protein plants group. However, its accelerated implementation has been limited by not having a technology for the production of seed and establishment by gametic way and eliminating the difficulties that its vegetative propagation by cuttings represents. The results obtained in Cuba provide a technology that integrates the production of seed and the establishment by gametic way, which constitutes a novel scientific contribution that will make possible a greater production and commercialization of seed.

The alternative of propagation by gametic way puts in the hands of farmers, technicians and managers a more feasible biological, practical and economic option for the propagation of this species.

Facing the challenge of accelerating the production of seed and its establishment through the gametic way constitutes today an urgent need for the implantation of forage production systems and its use in grazing. There is also no doubt by scientists, farmers and managers that

de los niveles de arropo. El hecho de que con el empleo del mayor nivel de arropo (500 g.m<sup>-2</sup>), las semillas logran 28.8 % de germinación a los 12 días y 29,84% a los 30 días con el nivel medio (338 g m<sup>-2</sup>) después de la siembra, avala los beneficios de esta práctica para el establecimiento de *Tithonia*. El hecho de que las semillas sembradas en campo en solo 12 días lograron germinar el 58 % con respecto al potencial de estas en el laboratorio, es un buen indicador que potencia la hipótesis de establecer el botón de oro por semilla gámic. Los resultados anteriores se fortalecen con los rendimientos de biomasa alcanzados en el primer corte de establecimiento a los 120 días de la siembra del orden de 6 - 11 tMS.ha<sup>-1</sup>.corte<sup>-1</sup> y en el segundo y tercer cortes realizados a los 90 días se obtuvieron rendimientos de 2.02 tMS.ha<sup>-1</sup>.corte<sup>-1</sup> en el periodo poco lluvioso y hasta 6.00 tMS ha<sup>-1</sup>.corte<sup>-1</sup> cuando coincidió con el periodo lluvioso para los mejores resultados con la aplicación de niveles de arropes de residuos vegetales entre 338-500 g.m<sup>-2</sup> (Padilla *et al.* 2021).

En los tres cortes realizados en la fase de establecimiento, el comportamiento de los indicadores: población, altura, diámetro del tallo y el número de hojas e hijos.planta<sup>-1</sup> también evidenciaron el efecto beneficioso de la aplicación de arropes, perdurando las mejoras producidas en los primeros estadios de desarrollo antes de someterse al corte. Estos resultados reafirman los beneficios del empleo de arropes vegetales en el establecimiento de esta planta reportado por Padilla *et al.* (2020a) en condiciones de suelo y clima similares al del estudio, cuando las semillas son sembradas directamente en el suelo en condiciones de campo.

Establecer una técnica de siembra directa de semilla gámic en el campo constituye tarea de primer orden, lo cual permitiría el establecimiento exitoso de esta especie. Estos resultados permiten eliminar la fase de vivero y trasplante que constituye un proceso engorroso sobre todo cuando el resultado tecnológico está dirigido a la mediana y gran escala para la siembra y establecimiento de botón de oro.

### CONSIDERACIONES GENERALES

Por su respuesta productiva y persistencia en los sistemas ganaderos como planta para forraje o pastoreo hoy día *Tithonia diversifolia* constituye la especie preferida por los productores en Cuba dentro del grupo de las plantas proteicas. No obstante, su implantación acelerada se ha visto limitada por no contar con una tecnología para la producción de semilla y establecimiento por vía gámic y eliminar las dificultades que representa su propagación vegetativa por estacas. Los resultados obtenidos en Cuba aportan una tecnología que integra la producción de semilla y el establecimiento por vía gámic, lo cual constituye un novedoso aporte científico que posibilitará una mayor producción y comercialización de semilla.

La alternativa de propagación por vía gámic pone en manos de productores, técnicos y directivos una opción biológica, práctica y económica más factible para la

this is the best option for the accelerated propagation of the species for the medium and large productive scale due to the biological, practical and economic limitations that vegetative plantations imply, which is the method currently used.

To guarantee the introduction of these results, it is recommend training and advising farmers, technicians and managers in the achieved technology and ensuring that the equipment and implements for harvesting and post-harvesting of seeds are guaranteed by specialized enterprises.

#### Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

#### Author's contribution

César Padilla Corrales: Original idea, data analysis, writing the manuscript

Idalmis Rodríguez García: Data analysis, writing the manuscript

propagación de esta especie.

La experiencia lograda en los últimos años en Cuba, con la introducción y explotación de esta planta, indican la necesidad de priorizar la disponibilidad de semilla en cantidad y calidad al inicio del periodo lluvioso, por lo que disponer de semilla gámica en ese momento resulta la opción más segura, si se tiene en cuenta que la ganadería no dispone de riego para garantizar los volúmenes de semilla vegetativa necesarios en el momento apropiado que deben realizarse las plantaciones.

Enfrentar el reto de acelerar la producción de semilla y su establecimiento por vía gámica constituye hoy día una necesidad impostergable para la implantación de los sistemas de producción de forraje y su uso en pastoreo. Tampoco existe duda por los científicos, productores y directivos que esta es la mejor opción para la propagación acelerada de la especie para la mediana y gran escala productiva por las limitaciones biológicas, prácticas y económicas que implican las plantaciones vegetativas, que es el método que se emplea en la actualidad.

Para garantizar la introducción de estos resultados se recomienda la capacitación y asesoría a productores, técnicos y directivos en la tecnología lograda y que se garanticen los aseguramientos de equipos e implementos para la cosecha y postcosecha de las semillas por las empresas especializadas.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses

#### Contribucion de los autores

César Padilla Corrales: Idea original, análisis de datos, escritura del manuscrito

Idalmis Rodríguez García: Análisis de datos, escritura del manuscrito

## REFERENCES

- Agboola, D.A., Idowu, W.F. & Kadiri, M. 2006. "Seed germination and seedling growth of the Mexican sunflower *Tithonia diversifolia* (Compositae) in Nigeria, África". Revista de Biología Tropical, 54(2): 395-402, ISSN: 0034-7744.
- Akinola, J.O., Larbi, A., Farinu, G.O & Odunsi, A.A. 2000. "Seed treatment methods and duration effects on germination of wild sunflower". Experimental Agriculture, 36(1): 63-69, ISSN: 1469-4441. <https://doi.org/10.1017/S0014479700361075>.
- Alcorcés, N., Lárez, A & Mayz, J. 2007. "Adiciones al conocimiento citogenético de *Tithonia diversifolia* (hems.) A. gray (*Asteraceae*)". Acta Botánica Venezolana, 30(2): 267-275, ISSN: 0084-5906.
- Almeida, A.P., da Silva Xavier, A y de Arruda, L. A. M. 2009. "Influência do tipo de estaca na propagação de *Tithonia diversifolia* (Hemsley) Gray". Environmental Research, 3: 39-46, ISSN: 1096-0953.
- Angelovici, R., Galili, G., Fernie, A.R & Fait, A. 2010. "Seed desiccation: a bridge between maturation and germination". Trends in Plant Science, 15(4): 211–218, ISSN: 1878-4372. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.01.003>.
- Cortez, D.E.C., Blandon, O.J.O & Vélez, S.A.T. 2019. "Experiencias en campo a partir de la reproducción sexual de botón de oro *Thitonia diversifolia*—semillero de investigación sipass". Revista Agricolae & Habitat, 2(1), ISSN: 2665-3176. <https://doi.org/10.22490/26653176.3522>.
- Del Val, R., Miranda, J.M., Xochitl, M., Solorio, B., Solorio, F.J., Gómez, J.F. & González, S. 2014. "Diversidad genética de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) gray de Michoacán: análisis con marcadores de ADN-SSR". Ciencia y tecnología universitaria, 4(3), ISSN: 2007-7750.
- dos Santos Silva, A. M., da Silvam, L. D., Santos, M. V., da Cruz, P. J. R & Titon, M. 2018. "Propagação vegetativa de *Tithonia diversifolia* com ácido indolbutírico. Livestock Research for Rural Development, 30(5), Article #90, ISSN: 0121-3784, Available: <http://www.lrrd.org/lrrd30/5/alex30090.html>.
- Durant, N., Lenin, J., Ruíz, J.A., González, D., García, J., Martínez, S & Crespo, M. 2020. "Impacto del cambio climático en la distribución potencial de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray en México". Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 11: 93-106, ISSN: 2448-6698. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11s2.4705>.



- Etejere, E. & Olayinka, U. 2014. "Seed production, germination, emergence and growth of *Tithonia diversifolia* (HEMSL) A. Gray as influenced by different sowing depths and soil types". American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 14(5): 440-444, ISSN: 1990-4053. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2014.14.05.12331>.
- Etejere, E.O & Olayinka, B. U. 2015. "Seed Production, Germination, Emergence and Growth of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray as Influenced by Different Sowing Depths and Soil Types". Albanian Journal Agricultural Sciences, 14(3): 294-299, ISSN: 2218-2020.
- Galindo, A., Romero, O.M., Murgueitio, E. & Calle, Z. 2011. "El botón de oro: Un caso innovador sobre cómo propagarlo". Revista Carta FEDEGAN, 126: 72-75, ISSN: 0123-2312.
- Gallego-Castro, L.A. 2016. Evaluación agronómica y análisis productivo del botón de oro como suplemento alimenticio de vacas lecheras en trópico alto. MSc. Thesis. Universidad de Antioquia, Antioquia, Colombia.
- Gallego-Castro, L.A., Ledesma, L. M y Arizala, J. A. 2015. Crecimiento y desarrollo de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray en condiciones de trópico alto. Memorias 3<sup>o</sup> Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles-VIII Congreso Internacional de Sistemas Agroforestales, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Gallego-Castro, L.A., Mahecha-Ledesma, L & Angulo-Arizala, J. 2017. "Calidad nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray bajo tres sistemas de siembra en el trópico alto". Agronomía Mesoamericana, 28(1): 213-222, ISSN: 2215-3608.
- González, D., Ruíz, T.E & Díaz, H. 2013. "Stem section and planting method: its effect on *Tithonia diversifolia* biomass production". Cuban Journal of Agricultural Science, 47(4): 425-429, ISSN: 2079-3480.
- González-Castillo, J.C., Hahn Von-Hessberg, C.M y Narváez-Solarte, W. 2014. "Características botánicas de *Tithonia diversifolia* (Asterales: *Asteraceae*) y su uso en la alimentación animal". Boletín Científico Centro de Museos de Historia Natural de la Universidad de Caldas, 18(2): 45-58, ISSN: 0123-3068.
- Guerra, N., Lárez, A & Mayz, J. 2007. "Adiciones al conocimiento citogenético de *Tithonia diversifolia* (HEMSL.) A. Gray (Asteraceae)". Acta Botánica Venezolana, 30(2): 267-275, ISSN: 0084-5906.
- Holguín, V.A., Ortiz, S., Velasco, A. & Mora-Delgado, J. 2015. "Evaluación multicriterio de 44 introducciones de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray en Candelaria, Valle del Cauca". Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 62(2): 57-72, ISSN: 2357-3813. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v62n2.51995>.
- Inayat, A. 2009. Influencia de las fases lunares (Menguante y Luna llena) sobre la propagación vegetativa del botón de oro *Tithonia diversifolia* para la formación de un banco de proteína. Diploma Thesis. Facultad de Ingeniería de Ciencias Agropecuarias, Escuela Politécnica del Ejército, El Prado, Quito, Ecuador.
- Jing, Y., Ling, T., Ya-Li, G & Wei-Bang, S. 2012. "Genetic Diversity of an Alien Invasive Plant Mexican Sunflower (*Tithonia diversifolia*) in China". Weed Science, 60(4): 552-557, ISSN: 1550-2759. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00175.1>.
- La Duke, J.C. 1980. Systematics of *Tithonia* desf. Ex *gmelin* (COMPOSITAE, HELIANTHEAE). PhD Thesis. Graduate School of the Ohio State University, USA, p. 187.
- Lourenco, J.D.P., Matos, A.D.O., de Meirelle, A.C & da Silva, R.L. & Lourenco, F. S. 2015. Estudos preliminares sobre a propagação vegetativa de *Tithonia diversifolia*. In: Embrapa Amazônia Ocidental-Artigo em Anais de Congresso (ALICE). Congresso Brasileiro De Agroecologia. Belém, Pará, Brasil.
- Mahecha, L., Angulo, J. & Barragán, W. 2015. Efecto de la sombra en cambios estructurales de *Brachiarias* asociadas a *T. diversifolia* y/o *C. argentea*. In: Memorias 3<sup>o</sup> Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles / compilado por Pablo L. Peri. 1st Ed. Ed. INTA. Santa Cruz, Argentina, p.294, ISBN: 978-987-521-611-2.
- Mahecha-Ledesma, L., Angulo-Arizala, J. & Barragán-Hernández, W. 2017. "Calidad nutricional, dinámica fermentativa y producción de metano de arreglos silvopastoriles". Agronomía Mesoamericana, 28(2): 371-387, ISSN: 2215-3608. <https://doi.org/10.15517/MA.V28I2.22750>.
- Mattar, E. 2018. Propagação e conservação de espécies arbustivas de uso múltiplo: *Tithonia diversifolia* e *Cratylia argentea*. PhD Thesis. Universidade Federal de Viçosa, Vicosa, Brasil.
- Mattar, E., Vianna, T.T., Pereira, W.D., Brasileiro, B.P., Hilst, P.C. & Días, D.F. 2019. "Physiological quality of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray seeds as a function of harvest period and storage conditions". Bulgarian Journal of Agricultural Science, 25(6): 1133-1142. ISSN: 1310-0351.
- Muoghalu, J.I. 2008. "Growth, reproduction and resource allocation of *Tithonia diversifolia* and *Tithonia rotundifolia*". Weed Research, 48(2): 157-162, ISSN: 1365-3180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2007.00613.x>.
- Muoghalu, J.I. & Chuba, D.K. 2005. "Seed germination and reproductive strategies *Tithonia* species". Applied Ecology and Environmental Research, 3(1): 39-46, ISSN: 1589-1623.
- Obiakara, M. & Forcade, Y. 2018. "Climatic niche and potential distribution of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray in Africa. Africa". PLoS ONE, 13(9): e0202421, ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202421>.
- Padilla, C., Rodríguez, I., Ruíz, T.E., Herrera, M. 2018. "Determinación del mejor momento de cosecha de semilla gámica, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray". Livestock Research for Rural Development, 30(4), Article #71, ISSN: 0121-3784, Available: <http://www.lrrd.org/lrrd30/4/idal30071.html>.
- Padilla, C., Rodríguez, I., Ruíz, T.E., Herrera, M. 2021. Evaluación del establecimiento y producción de biomasa a partir de la semilla gámica y agámica de *Tithonia diversifolia*. In: Informe Final de Proyecto: Diversificación, mejoramiento y multiplicación de recursos fitogenéticos de especies productoras de forrajes de alta calidad para la alimentación animal. Departamento de Pastos y Forrajes, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, pp. 304-307.
- Padilla, C., Rodríguez, I., Ruíz, T.E., Herrera, M., Mesa, Y., Sarduy, L. & Díaz, L. 2020a. "Mejor momento de cosecha en producción y calidad de semilla gámica de *Tithonia* según estado fenológico de la estructura floral". Livestock Research for Rural Development 32(3), Article #146, ISSN: 0121-3784, Available: <https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd32/9/idal32146.htm>.

- Padilla, C., Rodríguez, I., Ruíz, T.E., Ojeda, M., Sarduy, L. & Díaz, L. 2020b. "Evaluación de diferentes prácticas de protección de la semilla gámica en el establecimiento de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray vc material 16". *Livestock Research for Rural Development*, 32(3), Article #50, ISSN: 0121-3784, Available: <https://lrrd.cipav.org.co/lrrd32/3/idal32050.html>.
- Paniagua-Hernández, L.D., Arias-Gamboa, L.M., Alpízar-Naranjo, A., Castillo-Umaña, M.Á., Camacho-Cascante, M.I., Padilla-Fallas, J.E. & Campos-Aguilar, M. 2020. "Efecto de la densidad de siembra y edad de rebrote en la producción y composición bromatológica de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray". *Pastos y Forrajes*, 43(4): 275-283, ISSN: 2078-8452.
- Pérez, A., Montejó, I., Iglesias, J., López, O., Martín, G., García, D., Idolkis, M & Hernández, A. 2009. "*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray". *Pastos y Forrajes*, 32(1): 1-15, ISSN: 2078-8452.
- Peters, M., Franco, I.H., Schmidt, A. & Hincapié, B. 2002. Especies forrajeras multipropósito: opciones para productores de Centroamérica. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Rivera, J.H. 2020. Variabilidad fenotípica y genética de *Tithonia diversifolia* (hemsl.) A. Gray, una planta para la producción animal sostenible en Colombia. PhD Thesis. Medellín, Antioquia, Colombia.
- Rodríguez, I., Padilla, C & Medina, Y. 2021. Características de la estructura floral y evaluación de la producción de semillas de diferentes materiales de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. en Cuba. In: Informe Final de Proyecto: Diversificación, mejoramiento y multiplicación de recursos fitogenéticos de especies productoras de forrajes de alta calidad para la alimentación animal. Departamento de Pastos y Forrajes, Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba, pp. 304-307.
- Rodríguez, I., Padilla, C. & Ojeda, M. 2019. "Características de la germinación de la semilla gámica de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray y su comportamiento en condiciones de vivero". *Livestock Research for Rural Development*, 31(5), Article #69, ISSN: 0121-3784, Available: <http://www.lrrd.org/lrrd31/5/idalma31069.html>.
- Romero, O., Galindo, A., Murgueitio, E. & Calle, Z. 2014. "Primeras experiencias en la propagación del botón de oro (*Tithonia diversifolia*, Hemsl. Gray) a partir de semillas para la siembra de sistemas silvopastoriles intensivos en Colombia". *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3): 525-528, ISSN: 1870-0462.
- Ruíz, T.E., Alonso, J., Febles, G.J., Galindo, J.L., Savon, L.L., Chongo, B., Martínez, Y., La O, O., Cino, D.M., Crespo, G.J., Mora, L., Valenciaga, N., Padilla, C., Rodríguez, B., Muir, L., Rivero, A., Hernández, N. 2017. Evaluación de materiales recolectados de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray en Cuba. Chará, J., Peri, P. y Rivera J., (eds). Actas IX Congreso Sistemas Silvopastoriles. Aporte a los objetivos de desarrollo sostenible. Cali, Colombia, p. 486.
- Ruíz, T.E., Febles, G., Achan, G., Díaz, H. & González, J. 2018. "Capacidad germinativa de semilla gámica de materiales colectados de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray en la zona centro-occidental de Cuba". *Livestock Research for Rural Development*, 30(5), Article #81, ISSN: 0121-3784, Available: <http://www.lrrd.org/lrrd30/5/ruiz30081.html>.
- Saavedra, S. 2016. Fenología y fisiología de semillas de botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. MSc. Thesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Sanabria, E. & Ávila, I. 2015. Producción de follaje de la especie botón de oro (*Tithonia diversifolia*) utilizando 5 técnicas de siembra con fines de alimentación animal. Diploma Thesis. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Colombia.
- Sánchez, L. Marcela., Hernández, Marcela & Sánchez, H. 2014. "Dynamics agro technique and germination for efficient development of *Tithonia diversifolia*". *Sistemas de Producción Agroecológica*, 5(2): 59-81, ISSN: 2248-4817.
- Santos-Gally, R., Boege, K., Fornoni, F. & Domínguez, C. 2017. Ganadería sostenible en la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México: el equilibrio entre la producción y la conservación de la biodiversidad. Chará, J., Peri, P. & Rivera, J., (eds). Actas IX Congreso Sistemas Silvopastoriles. Aporte a los objetivos de desarrollo sostenible. Cali, Colombia, p. 318.
- Santos-Gally, R., Muñoz, M. & Franco, G. 2019. Efecto de la latencia sobre la germinación de *Tithonia diversifolia* (*Asteraceae*). X Congreso Internacional de sistemas silvopastoriles por una producción sostenible. Libro de Actas. Rivera, J., Peri, P., Char, J., Díaz, M., Colcombet, L. & Murgueitio, E. (eds). Ed. CIPAV, ISBN: 978-958-9386-91-0, p. 420.
- Santos-Gally, R., Muñoz, M. & Franco, G. 2020. "Fruit heteromorphism and germination success in the perennial shrub *Tithonia diversifolia* (*Asteraceae*)". *Flora*, 271: 151686, ISSN: 0367-2530. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151686>.
- Silva, N.P.C., da Veiga, M. de J.V. & Machado, V.L.L. 1990. "Visiting insects of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (*Compositae*) during their flowering period". *Bioikos*, 12(1/2): 19-28, ISSN: 0102-9568.
- Solarte, L.H., Murgueitio, E., González, J.G., Uribe, F. & Manzano, L. 2013. Protocolo para la siembra de botón de oro y leucaena en potreros con praderas mejoradas para el establecimiento de sistemas silvopastoriles intensivos. Fundación CIPAV, Bogotá, Colombia.
- Suárez, J., Ayala, K. & Gómez, J.C. 2018. Sistemas Silvopastoriles Intensivos SSPi. In: Proyecto Ganadería Colombiana Sostenible. Available: [www.ganaderiacolombianasostenible.co](http://www.ganaderiacolombianasostenible.co).
- Summ, D. 2015. Como cultivar el botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en Colombia. Available: <http://www.monografias.com/trabajos101/como-cultivar-boton-oro-colombia/como-cultivar-boton-oro-colombia.html>, [Consulted: May 15, 2015].
- Tiebre, M.S., Kassi, N.J., Kouadio, Y.J. & N'Guessan, E.K. 2012. "Etude de la biologie reproductive de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (*Asteraceae*): Espèce non indigène invasive en Côte d'Ivoire". *Journal of Asian Scientific Research*, 2(4): 200-211, ISSN: 2226-5724.
- Uu-Espens, C.E.A., Escobedo-Cabrera, A., Cabañas-Gallardo, A.J., Chay-Canul, V., Díaz- Echeverría, F., Casanova-Lugo, F. & Piñeiro-Vázquez, A.T. 2019. "Establecimiento de un banco de forraje de *Tithonia diversifolia* en el sur de Quintana Roo, México". *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 6: 1289-1294, ISSN: 2007-9559.
- Wang, S.H., Sun, W. & Cheng, X. 2004. "Attributes of plant proliferation, geographic spread and the natural communities invaded by naturalized alien plant species *Tithonia diversifolia* in Yunnan, China". *Acta Ecologica Sinica*, 24(3): 444-449, ISSN: 1872-2032.
- Wang, S.H., Sun, W.B., Cheng, X. & Yang, Y.M. 2008. "Reproductive characteristics of *Tithonia diversifolia* and its geographical spread in Yunnan Province of South-West China". *Acta Ecologica Sinica*, 28(3): 1307-1313, ISSN: 1872-2032.

- Wen, B. 2015. "Effects of High Temperature and Water Stress on Seed Germination of the Invasive Species Mexican Sunflower". PLoS ONE, 10(10): e0141567, ISSN: 1932-6203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141567>.
- Zapata, A. & Vargas, J.E. 2014. Botón de oro: Manual para su establecimiento y manejo en sistemas ganaderos. 1st Ed. Ed. Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia.

**Received: June 27, 2021**

**Accepted: August 1, 2021**