

## Characterization of the floral structure and evaluation of seeds production from different materials of *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray. in Cuba

### Caracterización de la estructura floral y evaluación de la producción de semillas de diferentes materiales de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A. Gray. en Cuba

Idalmis Rodríguez García, C. Padilla Corralea and Yolaine Medina Mesa  
*Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas. Mayabeque, Cuba*  
 Correo electrónico: [irodriguez@ica.co.cu](mailto:irodriguez@ica.co.cu)

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

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

Yolaine Medina Mesa: <http://orcid.org/0000-0003-0869-2665>

In order to characterize the reproductive structure, the production and seed germination of different materials of *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray, a total of three experiments were performed at different times and five plant materials were evaluated (3, 10, 16, 23, 25). The harvest of ten heads (2018 and 2019) was carried out by means of a random sampling at five points on the diagonal of the field. The evaluated materials constitute the treatments. A completely random design was used for the analysis of the variables diameter (cm) and seed heads weight (g), number and weight (mg) of full and empty seeds and of PGS seed heads<sup>-1</sup>. To the total number and the germination percentage of seed at different times 3, 5, 7 and 30 days) a simple classification non-parametric analysis of variance was performed. The studied materials showed phenotypic differences in terms of their reproductive structure. The seed heads of material 25 had a higher diameter. Material 16, due to its higher weight, distinguished itself from the rest of the evaluated materials. The waste from the seed heads is approximately 71.18 % of their total weight. The seed production of materials 10, 23 and 25 is very similar with respect to the total number of seeds in the seed heads, as well as the number of empty seeds. However, material 23 showed a lower number of full seeds ( $P \leq 0.0005$ ). These results contribute to the knowledge of the reproductive characteristics of each specific material, which will allow the development of future studies related to the gametic seed production strategy.

Key words: *gametic seed, Tithonia, germination, inflorescences.*

In Cuba, Ruíz *et al.* (2017) determined the characteristics that are contrasting, in terms of morphological traits and seed germination percentage, from a group of *Tithonia* materials, collected in different edaphoclimatic regions of the country (29 of the central-western zone in 2006 and 52 of the central-eastern zone in 2015).

In the world today, this plant is of great interest for animal feeding. In Cuba, it is considered one of the cheapest ways to supply protein, so the search for economic alternatives for the reproduction and propagation of this species through gametic way constitutes a challenge and a priority for the scientific

Para caracterizar la estructura reproductiva, la producción y la germinación de semillas de diferentes materiales de *Tithonia diversifolia* Hemsl.) A. Gray, se desarrollaron tres investigaciones en diferentes momentos y se evaluaron cinco materiales vegetales (3, 10, 16, 23, 25). Se realizó la cosecha de diez cabezuelas (2018 y 2019) mediante un muestreo al azar en cinco puntos en la diagonal del campo. Los materiales evaluados constituyen los tratamientos. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para el análisis de las variables diámetro (cm) y peso de las cabezuelas (g), número y peso (mg) de semillas llenas y vacías y de SPG cabezuelas<sup>-1</sup>. Al número total y al por ciento de germinación de las semillas (en diferentes momentos 3, 5, 7 y 30 días) se les realizó análisis de varianza no paramétrico de clasificación simple. Los materiales estudiados presentaron diferencias fenotípicas en cuanto a su estructura reproductiva. Las cabezuelas del material 25 tuvieron mayor diámetro. El material 16, por su mayor peso, se distinguió del resto de los materiales evaluados. El desecho de las cabezuelas es, aproximadamente, de 71.18 % de su peso total. La producción de semillas de los materiales 10, 23 y 25 es muy similar con respecto al número total de semillas presentes en las cabezuelas, así como al número de semillas vacías. Sin embargo, el material 23 mostró menor número de semillas llenas ( $P \leq 0.0005$ ). Estos resultados contribuyen al conocimiento de las características reproductivas de cada material específico, lo que permitirá desarrollar trabajos futuros, relacionados con la estrategia de producción de semilla gámica.

Palabras clave: *semilla gámica, Tithonia, germinación, inflorescencias*

En Cuba, Ruíz *et al.* (2017) determinaron las características que resultan contrastantes, en cuanto a rasgos morfológicos y porcentaje de germinación de las semillas, a partir de un grupo de materiales de *Tithonia*, colectados en diferentes regiones edafoclimáticas del país (29 de la zona centro-occidental en 2006 y 52 de la zona centro-oriental en 2015).

En el mundo, actualmente, esta planta es de gran interés para la alimentación animal. En Cuba se considera como una de las formas más económicas de suministrar proteína, por lo que la búsqueda de alternativas económicas para la reproducción y propagación de esta especie por vía gámica constituye un reto y una prioridad

community.

The objective of this research was to characterize the reproductive structure, production and seed germination from different materials of *Tithonia diversifolia* Hemsl. A. Gray.

### Materials and Methods

The research was developed in a red eutric ferrallitic soil (Hernández *et al.* 2015), at the Miguel Sistach Naya experimental station, from Instituto de Ciencia Animal, located in Mayabeque, Cuba. The plant materials of *T. diversifolia* corresponded to those proposed by Ruíz *et al.* (2014) for cut or grazing. The characterization of the floral structure was determined in three researchers and the evaluation of seed production was developed in experiment 2.

*Experiment 1.* The samplings were carried out in plots of 0.028 ha, established in August 2018, with the objective of producing seeds. The evaluated materials were 10, 23 and 25. They were harvested in an area of 50 seed heads<sup>-1</sup> of the flowering of November 2018.

*Experiment 2.* In the same field of the previous experiment, a total of 50 heads<sup>-1</sup> from November 2019 flowering were harvested.

*Experiment 3.* The materials evaluated were 3, 10, 16 and 23. The inflorescences were collected from fields of *T. diversifolia*, established in July 2015. The sampling area consisted of five 25 m<sup>2</sup> plots.

In experiments 2 and 3, the harvest was carried out in previously established fields. For this, a uniformity cut of the area was made in May, with the intention of causing the appearance of uniform flowering flows, which occurred in the last week of October in all the studied materials. The best time of seed harvest was reached in the first half of November.

The sampling was carried out according to the phenological state of seed heads, proposed by Padilla *et al.* (2018) (green seed heads with withered petals and without petals and seed heads with bracts and dry peduncles, brown). A total of 10 seed heads were taken at five sampling points, randomly and diagonally. The diameter (cm) was determined with a vernier, as well as their green weight (g). Then, the drying and postharvesting was carried out to obtain the seeds. From 10 heads, the DM percentage, total dry weight (g), waste weight (difference between the total weight of heads and the seeds weight, g), weight of full and empty seeds (mg) and of the PGS seed heads<sup>-1</sup> were evaluated. The latter were calculated from the weight of full seeds plots<sup>-1</sup> and the germination percentage and the weight of 1000 full seeds (g). The weight of seeds and seed heads was determined on an analytical balance (TE12S, Sartorius).

The total number of seeds was quantified and they were classified as full and empty, determining their hardness to the touch. The germination percentage was evaluated by means of a germination test, placing 100

para la comunidad científica.

El objetivo de esta investigación fue caracterizar la estructura reproductiva, producción y germinación de semillas de diferentes materiales de *Tithonia diversifolia* Hemsl) A. Gray.

### Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en un suelo ferralítico rojo éutrico (Hernández *et al.* 2015), en la estación experimental Miguel Sistach Naya, del Instituto de Ciencia Animal, ubicado en Mayabeque, Cuba. Los materiales vegetales de *T. diversifolia* se correspondieron con los propuestos por Ruíz *et al.* (2014) para corte o pastoreo. La caracterización de la estructura floral se determinó en tres investigaciones y la evaluación de la producción de semillas se desarrolló en el experimento 2.

*Experimento 1.* Los muestreos se realizaron en parcelas de 0.028 ha, establecidas en agosto del 2018, con el objetivo de producir semillas. Los materiales evaluados fueron el 10, 23 y 25. Se cosecharon en un área de 50 cabezuelas<sup>-1</sup> de la floración de noviembre del 2018.

*Experimento 2.* En el mismo campo del experimento anterior se cosecharon 50 cabezuelas de la floración de noviembre del 2019.

*Experimento 3.* Los materiales evaluados fueron el 3, 10, 16 y 23. Las inflorescencias se recolectaron de campos de *T. diversifolia*, establecidos en julio de 2015. El área de muestreo la constituyeron cinco parcelas de 25 m<sup>2</sup>.

En los experimentos 2 y 3, la cosecha se realizó en campos establecidos con anterioridad. Para ello se hizo, en mayo, un corte de uniformidad del área, con la intención de provocar la aparición de flujos uniformes de floración, que se produjeron en la última semana de octubre en todos los materiales estudiados. El mejor momento de cosecha de la semilla se alcanzó en la primera quincena de noviembre.

El muestreo se realizó según el estado fenológico de cabezuelas, propuesto por Padilla *et al.* (2018) (cabezuelas verdes con pétalos marchitos y sin pétalos y cabezuelas con brácteas y pedúnculos secos, color marrón). Se tomaron 10 cabezuelas en cinco puntos de muestreo, al azar y en diagonal. Se determinó el diámetro (cm) con un pie de rey, así como el peso verde (g) de las mismas. Luego, se realizó el secado y postcosecha para obtener las semillas. De las 10 cabezuelas se evaluó el porcentaje de MS, peso seco total (g), peso del desecho (diferencia entre el peso total de las cabezuelas y el peso de semillas, g), peso de semillas (mg) llenas y vacías y de la SPG cabezuelas<sup>-1</sup>. Estas últimas se calcularon a partir del peso de semillas llenas parcelas<sup>-1</sup> y el por ciento de germinación y el peso de 1000 semillas llenas (g). El peso de las semillas y de las cabezuelas se determinó en una balanza analítica (TE12S, marca Sartorius).

Se cuantificó el número total de semillas y se clasificaron en llenas y vacías, determinando su dureza al tacto. El porcentaje de germinación se evaluó mediante prueba de germinación, poniendo 100 semillas llenas por placa de Petri y cuatro réplicas, como lo indica la norma

full seeds per Petri dish and four replications, as indicated by the International Seed Testing Association standard (ISTA 2015). A cotton substrate was used which was moistened with distilled water. The dishes were placed under laboratory conditions, at room temperature (26-28 °C) and natural light. The percentage of total germination at 30 days (and at three times at 3, 5 and 7 days after germination), the number of germinated seedlings in the dishes and the DM percent were determined.

The theoretical assumptions of the analysis of variance were verified for all variables, from Shapiro and Wilk (1965) test for the normality of the errors and the Levene (1960) test for the homogeneity of variance.

The variables diameter (cm) and total weight of seed heads (g), number of full and empty seeds, the weight of each one and of the PGS seed heads<sup>-1</sup> fulfilled the assumptions. The ANAVA was performed according to a completely random design, where the evaluated materials constituted the treatments. Duncan (1955) test was used to compare the means. The data were processed using the statistical package Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012).

The variables total number and germination percentage of seeds (at different times and total) did not fulfill with the theoretical assumptions of the ANAVA. Subsequently, the data transformations  $\sqrt{x}$  were applied for the variable total number of seeds and  $\arcsin \sqrt{\%}$ , for the variables expressed in %. However, these ones did not improve this compliance, so a simple classification non-parametric analysis of variance was performed (Kruskal Wallis) and the Conover (1999) test was applied to compare the mean ranges.

The variables number of seedlings and their DM percent did not fulfill with the theoretical assumptions of the ANAVA. The  $\sqrt{x}$  and  $\arcsin \sqrt{\%}$  transformation did not improve the cited assumptions, so a non-parametric random block analysis of variance (Friedman) was performed, with a 3\*3 factorial arrangement. The factors were the evaluated materials (10, 23 and 25) and the moments the number of germinated days (3, 7 and 10). For the comparison of mean ranges, the Bonferroni (1936) test was applied.

### Results and Discussion

Little is known about the floral structure of the capitulum or seed head, the anatomy of flowers and the developmental changes of the floral organs of *T. diversifolia*. However, researchers of other *Asteracea* species, performed by Oba *et al.* (2017) and Ibañez *et al.* (2017) on the external and internal structure of flowers and the characterization of the development stages of the seed heads allowed to better understand the reproductive characteristics of this family, and to clarify the cause of the low efficiency of seed propagation. In Cuba, Padilla *et al.* (2018) showed in *T. diversifolia* that

del International Seed Testing Association (ISTA 2015). Se utilizó un sustrato de algodón que se humedeció con agua destilada. Las placas se colocaron en condiciones de laboratorio, a temperatura ambiente (26-28 °C) y luz natural. Se determinó el porcentaje de germinación total a los 30 días (y en tres momentos a los 3, 5 y 7 días de germinadas), el número de plántulas germinadas en las placas y el por ciento de MS de las mismas.

Se verificaron los supuestos teóricos del análisis de varianza para todas las variables, a partir de las dójima de Shapiro y Wilk (1965) para la normalidad de los errores y la dójima de Levene (1960) para la homogeneidad de varianza.

Las variables diámetro (cm) y peso total de las cabezuelas (g), número de semillas llenas y vacías, el peso de cada una y de la SPG cabezuelas<sup>-1</sup> cumplieron los supuestos. Se realizó el ANAVA según diseño completamente aleatorizado, donde los materiales evaluados constituyeron los tratamientos. Para la comparación de las medias se utilizó la dójima de Duncan (1955). Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012)

Las variables número total y porcentaje de germinación de las semillas (en diferentes momentos y total) no cumplieron con los supuestos teóricos del ANAVA. Posteriormente, se aplicaron las transformaciones de datos  $\sqrt{x}$  para la variable número total de semillas y  $\arcsin \sqrt{\%}$ , para las variables expresadas en %. No obstante, estas no mejoraron dicho cumplimiento, por lo que se realizó análisis de varianza no paramétrico de clasificación simple (Kruskal Wallis) y se aplicó la dójima de Conover (1999) para la comparación de los rangos medios.

Las variables número de plántulas y su por ciento de MS no cumplieron con los supuestos teóricos del ANAVA. La transformación  $\sqrt{x}$  y  $\arcsin \sqrt{\%}$ , no mejoró los supuestos citados, por lo que se realizó análisis de varianza no paramétrico de bloque al azar (Friedman), con arreglo factorial 3\*3. Los factores fueron los materiales evaluados (10, 23 y 25) y los momentos el número de días germinados (3, 7 y 10). Para la comparación de rangos medios se aplicó la dójima de Bonferroni (1936).

### Resultados y Discusión

Poco se sabe acerca de la estructura floral del capítulo o cabezuela, la anatomía de flores y los cambios de desarrollo de los órganos florales de *T. diversifolia*. Sin embargo, las investigaciones de otras especies de *Asteracea*, realizadas por Oba *et al.* (2017) e Ibañez *et al.* (2017) sobre la estructura externa e interna de las flores y la caracterización de las etapas de desarrollo de las cabezuelas permitieron comprender mejor las características reproductivas de esta familia, y dilucidar la causa de la baja eficiencia de la propagación de las semillas. En Cuba, Padilla *et al.* (2018) demostraron en *T. diversifolia* que a partir de los cambios fenológicos que se

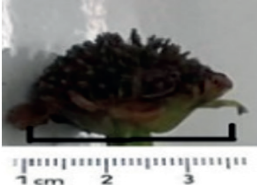
from the phenological changes that occur in the heads, the optimal harvest time can be defined, and with this it is possible to significantly increase the germination percentage, weight of 1000 seeds and yield of PGS. The mentioned authors, based on their results, clarified the prevailing criterion, which states that the seeds of this species have low germination and viability.

The studied materials have phenotypic differences in terms of their reproductive structure (table 1). The heads from material 25 showed higher diameter and green weight of the heads (table 2), with respect to the other materials. However, they did not differ from material 23, in terms of weight (GM and DM) and DM percentage of the floral structure (table 2 and 3). Material 16 showed phenotypic characteristics, in terms of its reproductive structure (diameter and weight of the seed heads), which distinguished it from the other materials evaluated in experiment 3.

producen en las cabezuelas, se puede definir el momento óptimo de cosecha, y que con ello se logra incrementar significativamente el porcentaje de germinación, peso de 1000 semillas y rendimiento de SPG. Los autores citados, a partir de sus resultados, dilucidaron el criterio que prevalecía, y que plantea que las semillas de esta especie tienen baja germinación y viabilidad.

Los materiales estudiados presentan diferencias fenotípicas, en cuanto a su estructura reproductiva (tabla 1). Las cabezuelas del material 25 presentaron mayor diámetro y peso verde de las cabezuelas (tabla 2), con respecto a los demás materiales. Sin embargo, no difirieron del material 23, en cuanto al peso (MV y MS) y porcentaje de MS de la estructura floral (tabla 2 y 3). El material 16 presentó características fenotípicas, en cuanto a su estructura reproductiva (diámetro y peso de las cabezuelas), que lo distinguieron de los demás materiales evaluados en el experimento 3.

Table 1. Performance of seed heads diameter (cm) of different materials



Experiments	Materials					SE±	p
	10	23	25	3	16		
1	1.95 <sup>c</sup>	2.05 <sup>b</sup>	2.36 <sup>a</sup>	-	-	0.019	<0.0001
2	2.43 <sup>b</sup>	2.35 <sup>c</sup>	2.97 <sup>a</sup>	-	-	0.027	<0.0001
3	2.45 <sup>b</sup>	2.34 <sup>c</sup>	-	2.51 <sup>b</sup>	2.58 <sup>a</sup>	0.022	<0.0001

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  Duncan (1955)

Table 2. Green weight of seed heads from different materials, g

Experiments	Plant materials					SE±	p
	10	23	25	3	16		
1	0.18	0.15	0.19	-	-	0.01	0.13
2	0.11 <sup>b</sup>	0.10 <sup>b</sup>	0.42 <sup>a</sup>	-	-	0.03	<0.0001
3	0.31 <sup>b</sup>	0.30 <sup>b</sup>	-	0.32 <sup>b</sup>	0.44 <sup>a</sup>	0.02	0.0001

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  Duncan (1955)

According to González-Castillo *et al.* (2014), the heads can reach up to four cm in diameter. In this case, the values showed in the literature are between 2.5 and 3.5 cm. Dispersion studies of this species, developed by Wang *et al.* (2004 and 2008) in five geographically different regions of China, point out that the diameter of the seed heads was 2.6 to 3.2 cm.

The waste weight (table 3) of heads is approximately 71.18 % of the total weight. It is very important to know this data for the processing of seeds, since the amount of seeds wastes to be separated during the benefit process is considerable. Materials 23 and 25 showed a higher DM percentage and a higher weight of waste material, which could be associated with the specific characteristics of the material.

The high DM content in the seed heads is an important trait to consider. According to Marcos Filho (2015), this variable can influence on the process of seed formation, considering that a higher accumulated dry mass is a signal that the seeds have reached

Según González-Castillo *et al.* (2014), las cabezuelas pueden llegar a alcanzar hasta cuatro cm de diámetro. En este caso, los valores indicados en la literatura se encuentran entre 2.5 y 3.5 cm. Estudios de dispersión de esta especie, desarrollados por Wang *et al.* (2004 y 2008) en cinco regiones de China, geográficamente diferentes, señalan que el diámetro de las cabezuelas fue de 2.6 a 3.2 cm.

El peso del desecho (tabla 3) de las cabezuelas es, aproximadamente, 71.18 % del peso total. Es muy importante conocer este dato para el procesamiento de las semillas, ya que es considerable la cantidad de residuos de las semillas a separar durante el proceso de beneficio. Los materiales 23 y 25 presentaron mayor porcentaje de MS y mayor peso del material de desecho, lo que se pudiera asociar a las características específicas del material.

Elevados contenidos de MS en las cabezuelas es un rasgo importante a considerar. Según Marcos Filho (2015), esta variable puede influir en el proceso de formación de la semilla, al considerar que una mayor masa seca acumulada es una indicación de que las



Table 3. Weight and DM percentage of floral structure from three *Tithonia* materials

Variables	Materials			SE±	p
	10	23	25		
Weight GM heads, g	1.88	1.50	1.95	0.07	0.07
Weight DM heads, g	0.59 <sup>b</sup>	0.64 <sup>ab</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.01	0.02
Waste weight (DM) heads, mg	0.42 <sup>b</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	0.01	0.02
DM percentage heads, %	34.16 <sup>b</sup>	44.11 <sup>a</sup>	39.94 <sup>a</sup>	0.04	0.07

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  Duncan (1955)

their physiological maturity, when there is no more translocation of assimilates from the plant to the seeds. In this sense, Morales-Nieto *et al.* (2012) show that the seed weight is the best indicator to define that they achieved their physiological maturity and are suitable for harvest.

According to Romero-Saritama (2018), morphological and physiological studies in seeds from woody species are of great importance and their knowledge allows relating the adaptation of these species to the edaphoclimatic conditions where they develop and, in turn, makes it possible to draw strategies for its conservation and extension. This author studied the regenerative morphological traits of seeds from different species in the dry forests of Ecuador. Among the main traits or characteristics that he evaluated are the tolerance to desiccation (most of the species have low moisture content, between 3 and 7 %), the size (average between 10 x 6 mm in length and width respectively), weight (mass less than 3 g) and shape (presence of developed embryos).

The morphological traits of *Tithonia* seeds, like those of most Asteraceae, allow a greater dissemination of them. According to Santos-Gally *et al.* (2020), heteromorphism (differences between central and peripheral achenes in a head) in *T. diversifolia* could represent a strategy of this species for its adaptation to uncertain environmental conditions. These authors point out that the central achenes have beard (potentially associated with zoocorous dispersion), weak latency and higher germination rate and success, at least in one of the two evaluated populations. Peripheral achenes lack structures associated with dispersion and have a lower germination and success rate.

Studies carried out in Rwanda (Seburanga 2014) showed that up to 18 % of the immature achenes of a head can be removed by canaries (*Serinus capistratus*), so it is necessary to consider the affectations that can be presented by birds in seed production.

In the three materials (figure 1), seeds production was very similar with respect to the total number of seeds in the heads, as well as in relation to the number of empty seeds. However, material 23 showed a lower number of full seeds ( $P \leq 0.0005$ ).

In each of the evaluated materials, the number of full seeds, determined by inflorescence (head), was below that reported in the literature for other regions. In

semillas han alcanzado su madurez fisiológica, cuando no hay más translocación de asimilados de la planta a las semillas. En este sentido, Morales-Nieto *et al.* (2012) indican que el peso de la semilla es el mejor indicador para definir que lograron su maduración fisiológica y están aptas para la cosecha.

Según Romero-Saritama (2018), los estudios morfológicos y fisiológicos en semillas de especies leñosas son de gran importancia y su conocimiento permite relacionar la adaptación de estas especies a las condiciones edafoclimáticas donde se desarrollan y, a su vez, posibilita trazar las estrategias para su conservación y extensión. Este autor estudió los rasgos morfológicos regenerativos de las semillas de diferentes especies en los bosques secos de Ecuador. Entre los principales rasgos o características que evaluó se destacan la tolerancia a la desecación (la mayoría de las especies presentan bajos contenidos de humedad, entre 3 y 7 %), el tamaño (promedio entre 10 x 6 mm de largo y ancho respectivamente), peso (masa menor a 3 g) y forma (presencia de embriones desarrollados).

Los rasgos morfológicos de las semillas de *Tithonia*, al igual que los de la mayoría de las Asteraceae, permiten una mayor diseminación de las mismas. Según Santos-Gally *et al.* (2020), el heteromorfismo (diferencias entre aquenios centrales y periféricos en una cabezuela) en *T. diversifolia* pudiera representar una estrategia de esta especie para su adaptación a condiciones ambientales inciertas. Estos autores señalan que los aquenios centrales presentan aristas (potencialmente asociadas con dispersión zoocorosa), latencia débil y mayor tasa y éxito de germinación, al menos en una de las dos poblaciones evaluadas. Los aquenios periféricos carecen de estructuras asociadas con la dispersión y tienen menor tasa de germinación y éxito.

Estudios realizados en Rwanda (Seburanga 2014) se demostró que hasta 18 % de los aquenios inmaduros de una cabezuela pueden ser removidos por los canarios (*Serinus capistratus*), por lo que es necesario considerar las afectaciones que se pueden presentar por parte de las aves en la producción de semillas.

En los tres materiales (figura 1), la producción de semillas fue muy similar con respecto al número total de semillas presentes en las cabezuelas, así como en relación con el número de semillas vacías. Sin embargo, el material 23 presentó menor número de semillas llenas ( $P \leq 0.0005$ ).

En cada uno de los materiales evaluados, el número de semillas llenas, determinado por inflorescencia (cabezuela), estuvo por debajo de lo informado en la

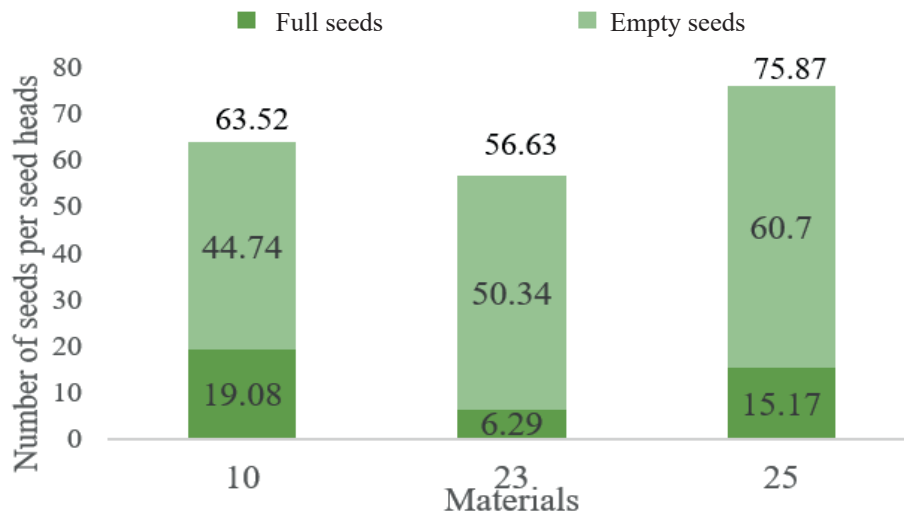


Figure 1. Gamic seed production of three *Tithonia* materials

China, Wang *et al.* (2004) determined between 164.2 and 231 seeds per heads. In Nigeria, Muoghalu and Chuba (2005) and Muoghalu (2008) showed values of 179.7 and between 136 - 144 seeds, respectively. According to Mattar *et al.* (2019), each inflorescence of *T. diversifolia* can produce about 189.8 seeds.

In other researchers, values closer to the range determined in this study are reported, such is the case of the studies of Etejere and Olayinka (2014 and 2015) (32-62 seeds seed heads<sup>-1</sup>) in Nigeria and Silva *et al.* (1990) (89.9 seed heads<sup>-1</sup>) in Brazil. In Cuba, studies by Padilla *et al.* (2018), where the optimal harvest time is defined according to the phenological development of the seed head maturity, the number of full seeds per seed head was 11, 31 and 23, when they were harvested in the state of seed heads with green bracts and withered petals, green bracts without petals, and dry brown bracts and peduncles, respectively. It was showed that in the crops in the youngest stages of seed head development, the presence of full seeds was lower (11) with respect to that of empty seeds, which was higher (53). It was also observed that in the more mature seed heads it is reduced to 22 empty seeds per seed head.

However, the above, in dispersion studies of the populations of this species (Sun *et al.* 2007), carried out in China, higher values of seed production were reported (80 000 to 160 000 achenes m<sup>-2</sup>). According to Gallego-Castro (2016), in the edaphoclimatic conditions of the high tropics from Antioquia region in Colombia, the average number of flowers per plant is 88.7, and each flower produces, on average, 61.2 seeds. The discussion of the indicators number of seed, germination percent and weight of heads, as well as the weight of 1000 seeds depends on the type of seed and the precise information (full or total seeds and the purity of the lot), which sometimes it is not showed in the researchers methodology.

In Colombia, Saavedra (2016) characterized the

literatura para otras regiones. En China, Wang *et al.* (2004) determinaron entre 164.2 y 231 semillas por cabezuelas. En Nigeria, Muoghalu y Chuba (2005) y Muoghalu (2008) señalaron valores de 179.7 y entre 136 - 144 semillas, respectivamente. De acuerdo con Mattar *et al.* (2019), cada inflorescencia de *T. diversifolia* puede producir cerca de 189.8 semillas.

En otras investigaciones se informan valores más cercanos al rango determinado en este estudio, tal es el caso de los trabajos de Etejere y Olayinka (2014 y 2015) (32-62 semillas cabezuelas<sup>-1</sup>) en Nigeria y de Silva *et al.* (1990) (89.9 semillas cabezuelas<sup>-1</sup>) en Brasil. En Cuba, estudios de Padilla *et al.* (2018), donde se define el momento óptimo de cosecha de acuerdo con el desarrollo fenológico de maduración de la cabezuela, el número de semillas llenas por cabezuela fue de 11, 31 y 23, cuando se cosecharon en el estado de cabezuelas con brácteas verdes y pétalos marchitos, brácteas verdes sin pétalos y brácteas y pedúnculos secos color marrón, respectivamente. Se evidenció que en las cosechas en los estadios más jóvenes de desarrollo de la cabezuela, la presencia de semillas llenas fue menor (11) con respecto al de semillas vacías, que fue mayor (53). Se observó además, que en las cabezuelas de mayor maduración se reduce a 22 semillas vacías por cabezuela.

No obstante a lo anterior, en estudios de dispersión de las poblaciones de esta especie (Sun *et al.* 2007), realizados en China, se informan valores superiores de producción de semillas (80 000 a 160 000 achenes m<sup>-2</sup>). Según Gallego-Castro (2016), en las condiciones edafoclimáticas del trópico alto de la región de Antioquia en Colombia, el número de flores promedio por planta es de 88.7, y cada flor produce, como promedio, 61.2 semillas. La discusión de los indicadores número de semilla, por ciento de germinación y peso de cabezuelas, así como el peso de 1000 semillas depende del tipo de semilla y de la información precisa (semillas llenas o total y la pureza del lote), que en ocasiones no se indica en la metodología de las investigaciones.

germination performance of the sexual seed of *T. diversifolia* from different sources. To do this, he collected seeds in four departments, where the ancient presence of the species has been recorded (Meta, Antioquia, Caldas and Valle del Cauca). The seed viability tests showed that more than 15 % of the produced fruits are empty, more than 9 % of the seed is rudimentary, and more than 50 % of the produced seeds have some malformation that makes them non-viable. Therefore, approximately 74 % of the fruits produced by this species do not form a seed, and do not develop into new individuals.

The material 25 highlighted for the higher weight of 1000 seeds (6.54 g) (table 4). The values of the weight of 1000 seeds were higher than those determined by Ayeni *et al.* (1997). According to these authors, the populations of *T. diversifolia* that grows in the south west of Nigeria have values between 2.5 and 2.6 g. Wang *et al.* (2004) and Sun *et al.* (2007), in China, determined figures between 4.64 and 6.50 g, when carrying out studies in various regions of Yunan province. Gallego (2016) reports a weight of 7.36 g per 1000 seeds, which is higher than that obtained in this research. The materials 10 and 25 do not differ in terms of the weight of PGS per seed heads, which may be associated with the similar weight obtained from the full seeds.

En Colombia, Saavedra (2016) caracterizó el desempeño germinativo de la semilla sexual de *T. diversifolia* de diferentes procedencias. Para ello recolectó semillas en cuatro departamentos, donde se ha registrado la presencia antigua de la especie (Meta, Antioquia, Caldas y Valle del Cauca). Las pruebas de viabilidad de las semillas mostraron que más del 15 % de los frutos producidos son vanos, más del 9 % de la semilla es rudimentaria, y más del 50 % de las semillas producidas presentan alguna malformación que las hace no viables. Por lo tanto, aproximadamente, 74 % de los frutos producidos por esta especie no forman semilla, y no se convierten en nuevos individuos.

El material 25 se destaca por el mayor peso de 1000 semillas (6.54 g) (tabla 4). Los valores del peso de 1000 semillas resultaron superiores a los determinados por Ayeni *et al.* (1997). Según estos autores, las poblaciones de *T. diversifolia* que abundan al sur oeste de Nigeria presentan valores entre 2.5 y 2.6 g. Wang *et al.* (2004) y Sun *et al.* (2007), en China, determinaron cifras entre 4.64 y 6.50 g, al realizar estudios en varias regiones de la provincia de Yunan. Gallego (2016) informa un peso de 7.36 g por cada 1000 semillas, lo que resulta superior a lo obtenido en esta investigación. Los materiales 10 y 25 no difieren en cuanto al peso de SPG por cabezuelas, lo que puede estar asociado al peso similar, obtenido de las semillas llenas.

Table 4. Weight of 1000 seeds and PGS heads<sup>-1</sup> of three *Tithonia* materials

Variables	Materials			SE ±	p
	10	23	25		
Weight of 1000 seeds, g	5.26 <sup>b</sup>	5.69 <sup>b</sup>	6.54 <sup>a</sup>	0.20	0.0005
PGS, mg per heads	3.79 <sup>a</sup>	1.60 <sup>b</sup>	5.48 <sup>a</sup>	1.13	0.0014
Weight of full per heads, mg	0.09 <sup>a</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.008	0.0010
Weight of empty seeds per heads, mg	0.07 <sup>b</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.007	0.0400

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  Duncan (1955)

In Cuba, Ruíz *et al.* (2018) report on the germination capacity of some of the studied materials. Regarding the morphological characteristics and seed germination, Rivera *et al.* (2018) determined for the material 25 values higher than those of this study (73%) (table 5). However, for materials 10 and 23, the germination percentages obtained here were higher (44 and 53 % respectively) than those reported by these authors (6.5 and 20 %).

En Cuba, Ruíz *et al.* (2018) informan acerca de la capacidad de germinación de algunos de los materiales estudiados. Con respecto a las características morfológicas y la germinación de la semilla, Rivera *et al.* (2018) determinaron para el material 25 valores superiores a los del presente estudio (73 %) (tabla 5). Sin embargo, para los materiales 10 y 23, los porcentajes de germinación obtenidos aquí fueron superiores (44 y 53 %, respectivamente) a los referidos por estos autores (6.5 y 20 %).

Table 5. Germination percentage of different *T. diversifolia* materials

Indicator	Plant material			p
	10	23	25	
Percentage of total germination	10.60 (44.22) SD =8.15	16.20 (53.61) SD =10.97	19.70 (60.90) SD =20.31	0.0658
Germination percentage 72hours	16.20 <sup>ab</sup> (37.10) SD =6.08	10.15 <sup>b</sup> (27.50) SD =10.54	20.15 <sup>a</sup> (51.10) SD =23.38	0.0376

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  (Bonferroni 1936).

SD= Standard deviation ( ) mean ranges

In Mexico, Santos-Gally *et al.* (2017, 2019) obtained in this species germination percentage higher than 90 % in laboratory germination tests, while in field sowings they were between 50 and 70 %. A higher germination percentage (81 %) reached Etejere *et al.* (2014), when sowing sexual seed in pots. These authors determined that the sowing depth is a factor that significantly affects the germination percentage. Likewise, they evaluated the germination response at different depths (0, 0.5, 1.5, 2.5 and 3.5 cm) with respect to the soil surface. They observed that the highest germination percentage occurred at depth 0 cm, and decreased as depth increased. At depths of 0 to 2.5 cm, the emergence occurred approximately five days later, and at depths of 3.5 cm it started from the sixth day.

Padilla *et al.* (2020) propose to cover the seed with small amounts of cattle manure in each niche, to promote stable conditions for the germination and survival of young plants, which causes a better development of them.

The non-parametric analysis of variance of random blocks with factorial arrangement did not show significant interaction, so the main effects for the variable number of seedlings and DM percentage can be seen (table 6).

En México, Santos-Gally *et al.* (2017, 2019) obtuvieron en esta especie porcentajes de germinación superiores al 90 % en pruebas de germinación de laboratorio, mientras que en siembras en campo fueron entre 50 y 70 %. Un porcentaje de germinación superior (81%) alcanzaron Etejere *et al.* (2014), al realizar la siembra de semilla sexual en macetas. Estos autores determinaron que la profundidad de siembra es un factor que afecta de forma significativa el porcentaje de germinación. Asimismo, evaluaron la respuesta de la germinación a diferentes profundidades (0, 0.5, 1.5, 2.5 y 3.5 cm) con respecto a la superficie del suelo. Observaron que el mayor porcentaje de germinación se presentó en la profundidad 0 cm, y disminuyó en la medida que aumentaba la profundidad. En las profundidades de 0 a 2,5 cm, la emergencia se produjo, aproximadamente, a los cinco días, y en la profundidad de 3,5 cm inició a partir del sexto día.

Padilla *et al.* (2020) proponen cubrir la semilla con pequeñas cantidades de estiércol vacuno en cada nicho, para propiciar condiciones de estabilidad para la germinación y sobrevivencia de las plantas jóvenes, lo que provoca un mejor desarrollo de las mismas.

El análisis de varianza no paramétrico de bloques al azar con arreglo factorial no mostró interacción significativa, por lo que se dejan ver los efectos principales para la variable número de plántulas y

Table 6. Number of germinated plants and DM percentage of the seedlings from different *T. diversifolia* materials

Indicators	Materials			Moments: number of germinated days		
	10	23	25	3	5	7
Number of seedlings	30.60 <sup>c</sup> (5.50) SD=24.49	43.67 <sup>b</sup> (7.93) SD=18.76	60.68 <sup>a</sup> (16.67) SD=24.57	54.82 <sup>a</sup> (15.70) SD=29.92	44.75 <sup>ab</sup> (8.87) SD=23.42	35.10 <sup>b</sup> (5.66) SD=19.66
p	<0.0001	0.0006				
% DM	32.36 <sup>b</sup> (4.14) SD=5.23	59.67 <sup>a</sup> (10.94) SD=6.53	45.37 <sup>ab</sup> (8.05) SD=3.08	45.33 (8.60) SD=6.81	40.89 (6.69) SD=5.70	50.89 (7.73) SD=4.66
p		<0.0001			0.2246	

Means with different letters in each row differ at  $P \leq 0.05$  (Bonferroni 1936).

SD= Standard deviation ( ) mean ranges

Seedling emergence is probably the most important phenological event that influences on the success of a plantation. It represents the moment in which a seedling becomes independent of the non-renewable seminal reserves, originally produced by its parents, and it is when photosynthetic autotrophism begins.

Once the emergence of the radicle has occurred and the seedling growth has started, the latter uses the nutrient reserves stored in the seed during the development phase, in order to support its growth. The efficiency with which this process occurs is probably related to the vigor and growth rate of the seedling, which in turn influences on the probability of a successful emergence in the field and in the establishment of the plant (Hilhorst and Bradford, 2000).

porcentaje de MS de las mismas (tabla 6).

La emergencia de las plántulas es, probablemente, el evento fenológico más importante que influye en el éxito de una plantación. Representa el momento en el cual una plántula se hace independiente de las reservas seminales no renovables, originalmente producidas por sus progenitores, y es cuando comienza el autotrofismo fotosintético.

Una vez que ha ocurrido la emergencia de la radícula y se ha iniciado el crecimiento de la plántula, esta última utiliza las reservas de nutrientes almacenadas en la semilla durante la fase de desarrollo, con vistas a apoyar su crecimiento. La eficiencia con que ocurre este proceso está relacionada, probablemente, con el vigor y la tasa de crecimiento de la plántula, lo que a su vez influye en la probabilidad de una emergencia exitosa en el campo y en



In material 23, despite having the lower number of seeds per seed heads and weight of PGS, it can be seen that the DM percentage of seedlings was higher. Similarly, the seedlings from material 25 showed higher values. This performance and its relation with the vigor and growth rate of the seedlings can be associated with a physiological response of the material to guarantee greater survival.

It is concluded that the endorsed materials show differences, regarding the floral structure and the number of seeds per seed heads, as morphological characteristics, and in their germination.

The results obtained in this study contribute to the knowledge of the reproductive characteristics of this plant and of each specific material, which will allow the development of future studies related to the gametic seed production strategy.

#### Conflict of interest

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

#### Author's contribution

Idalmis Rodríguez García: Original idea, conducting the experiment, writing the manuscript

César Padilla Corrales: Experimental design, writing the manuscript

Yolaine Medina Mesa: Statistical analysis

el establecimiento de la planta (Hilhorst y Bradford, 2000).

En el material 23, a pesar de presentar el menor número de semillas por cabezuelas y peso de SPG, se puede apreciar que el porcentaje de MS de las plántulas fue superior. De igual forma, las plántulas del material 25 presentaron valores superiores. Este comportamiento y su relación con el vigor y la tasa de crecimiento de las plántulas, se puede asociar con una respuesta fisiológica del material para garantizar mayor sobrevivencia.

Se concluye que los materiales avalados muestran diferencias, en cuanto a la estructura floral y el número de semillas por cabezuelas, como características morfológicas, y en su germinación.

Los resultados obtenidos en este estudio contribuyen al conocimiento de las características reproductivas de esta planta y de cada material en específico, lo que permitirá desarrollar trabajos futuros, relacionados con la estrategia de producción de semilla gámica.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses

#### Contribución de los autores

Idalmis Rodríguez García: Idea original, condujo el experimento, escritura del artículo

César Padilla Corrales: Diseño de la investigación, escritura del artículo

Yolaine Medina Mesa: Análisis estadísticos

## References

- Ayeni, A.O., Lordbanjou, D.T & Malek, B.A. 1997. "*Tithonia diversifolia* (Mexican sunflower) in south-west Nigeria: occurrence and growth habit". Weed Research, 37(6): 443- 449, ISSN: 1365-3180. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.1997.d01-72.x>.
- Bonferroni, C.E. 1936. Teoria statistica delle clasificación e calcolo delle probabilità. Número 8 de Pubblicazioni del R. Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze, Florence, Italy.
- Conover, W. 1999. Practical Nonparametric Statistics. 3rd Ed. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, p. 608, ISBN: 978-0-471-16068-7.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat. Version 2012 [Windows]. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Available: <http://www.infostat.com.ar>.
- Duncan, D.B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". Biometrics, 11(1): 1-42, ISSN: 0006-341X. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- 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
- 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.
- González-Castillo, J.C; Hahn von-Hessberg, C. & Narváez-Solarte. 2014. "Características botánicas de *Tithonia diversifolia* (ASTERALES: ASTERACEAE) y su uso en la alimentación animal". Boletín Científico Centro de Museos, 18(2), julio-diciembre: 45-58, ISSN: 0123-3068.
- Hernández, A, Pérez, J.M., Bosh, D. & Castro, N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba. 1st Ed. Ed. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, González, O. (ed.), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, p. 93, ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Hilhorst, H.W.M. & Bradford, K.J. 2000. Seed Physiology. International Course on Seed Production and Seed Technology. IAC. Wageningen, The Netherlands, p. 74.
- Ibañez, M.S., Mercado, M.I. Coll-Aráoz, M.V, Zannier, M.L., Grau, A. & Ponessa, G.I. 2017. "Flower structure and developmental stages of the capitulum of *Smallanthus sonchifolius* (Asteraceae): reproductive implications". Journal of Plant Research, 130(2): 327-337, ISSN: 1618-0860. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0904-x>.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2015. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology.

- Geneva, Switzerland.
- Levene, H. 1960. Robust tests for the equality of variance. Contributions to Probability and Statistics. Ed. Stanford University Press, California, USA, pp. 278-292.
- Marcos-Filho, J. 2015. "Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective". *Scientia Agricola*, 72(4): 363-374, ISSN: 1678-992X. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>.
- 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.
- Morales-Nieto, R., Enríquez-Quiroz, J.F., Villanueva-Avalos, J.F., Herrera-Cedano, F., Quero-Carrillo, R., Becerra-Becerra, J., Sánchez-Gutiérrez, R.A. & Jurado-Guerra, P. 2012. Manual para el Establecimiento y Manejo de Semilleros de Especies Forrajeras en México. Folleto Técnico No. 21. Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Guadalajara, Jalisco, México, ISBN: 978-607-425-889-9.
- 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.
- Oba, C., Duarte, A.L., Masetto, Tathiana E., Hartmann C.P., Souza, V. & Leite Karina L. 2017. "Dormancy of safflower seeds: effect of storage and cold stratification". *Journal of Seed Science*, 39(4): 433-439, ISSN: 2151-6146. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v39n4181244>.
- Padilla, C., Rodríguez, Idalmis., 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., Ojeda, M., Sarduy, L. & Díaz, L. 2020. "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>.
- Rivera, J. E., J. Chará., J. F. Gómez-Leyva., Ruíz, T. & Barahona, R. 2018. "Variabilidad fenotípica y composición fitoquímica de *Tithonia diversifolia* A. Gray para la producción animal sostenible". *Livestock Research for Rural Development*, 30(12), Article #200, ISSN: 0121-3784, Available: <http://www.lrrd.org/lrrd30/12/rive30200.html>.
- Romero-Saritama, J.M. 2018. "Seed conservation: An alternative to store germplasm and recover threatened Ecuadorian forests". *Neotropical Biology and Conservation*, 13(1): 74-85, ISSN: 2236-3777. <https://doi.org/10.4013/nbc.2018.131.09>.
- 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>.
- 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. Memorias del IX Congreso Sistemas Silvopastoriles. Aporte a los objetivos de desarrollo sostenible. Cali, Colombia, p. 486.
- Ruíz, T.E., Febles, G.J., Galindo, J., Savón, L., Chongo, B., Torres, V., Cino, D.M., Alonso, J., Martínez, Y., Gutiérrez, D., Crespo, G.J., Mora, L., Scull, I., La O, O., González, J., Lok, S., González, N. & Zamora, A. 2014. "*Tithonia diversifolia*, its possibilities in cattle rearing systems". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 48(1): 79-82, ISSN: 2079-3480.
- 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.
- Santos-Gally R., Boege, K., Fornoni, J. & Domínguez, C. 2017. Ganadería sostenible en la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México: el equilibrio entre la producción y la conservación de la biodiversidad. Memorias del 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). Memorias del 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. Asunción, Paraguay, p. 420, ISBN: 978-958-9386-91-0.
- 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>.
- Seburanga, J.L. 2014. "Evidence for pre-dispersal predation of seeds of *Tithonia diversifolia* by the black-faced canary (*Serinus capistratus*)". *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 832-837, ISSN: 1742-9153. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.962635>.
- Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. "An análisis of variante test for normalita (complete simples)". *Biometrika*, 52(3&4): 591-611, ISSN: 0006-3444. <https://doi.org/10.2307/2333709>.
- 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.
- Sun, W., Chen, G. & Wang, S. 2007. Characteristics of *Tithonia diversifolia*: an alien invasive plant in Yunnan, South-West China. Memories 3rd Global Botanic Gardens Congress. Wuhan, China.

- Wang, S-H., Sun, W. & Cheng, X. 2004. "Attributes of plant proliferation, geografic spred and the natural communities invaded by naturalized alien plant species *Tithonia diversifolia* in Yunnan, China". Acta Ecológica Sinica, 24(3): 444-449, ISSN: 1872-2032.
- Wang, S-H., Sun, W., Cheng, X. & Yan, Y. 2008. "Reproductive characteristics of *Tithonia diversifolia* and its geographical spred in Yunnan province of South-West China". Acta Ecologica Sinica, 28(3): 1307-1313, ISSN: 1872-2032.

**Received: June 25, 2021**

**Accepted: October 4, 2021**