

## Chemical composition, secondary and primary metabolites of *Tithonia diversifolia* related to climate

### Composición química, metabolitos secundarios y primarios de *Tithonia diversifolia* relacionados con el clima

R.S. Herrera<sup>1</sup>, D.M. Verdecia<sup>2</sup>. and J.L. Ramírez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia Animal, Apdo 24 San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup>Universidad de Granma, Bayamo, Cuba

Email: rherrera@ica.co.cu

D.M. Verdecia: <https://orcid.org/0000-0002-4505-4438>

J.L. Ramírez: <https://orcid.org/0000-0002-0956-0245>

R.S. Herrera: <https://orcid.org/0000-0003-1424-6311>

To establish the relationship between chemical composition, secondary metabolites, primary metabolites and digestibility of organic matter, dry matter, protein, NDF and ADF of *Tithonia diversifolia* and climatic factors, the correlation study was carried out. The indicators were: A) chemical composition: ADF, NDF, lignin, cellulose, hemicellulose, cellular content, OM, ash, N, Si, Ca, P and Mg; B) secondary metabolites: total tannins, total phenols, total condensed tannins, fiber-bound condensed tannins, free condensed tannins, alkaloids, saponins, triterpenes, steroids and flavonoids, and C) primary metabolites: glucose, fructose, sucrose, N, verbascose, stachyose and raffinose. Correlation coefficients (r) between climatic factors and chemical composition were variable and the highest values were obtained for cellulose, total rainfall and number of days with rain (-0.69 and -0.73, respectively). For secondary metabolites, total condensed tannins and free condensed tannins stood out with temperatures and indicators of rain (values of r between 0.62 and 0.85) and for the primary metabolites, verbascose and stachyose were better with temperatures (r higher than 0.78). *In vitro* digestibility of DM correlated (r between -0.63 and -0.91) with temperatures, rainfall and their distribution. Similar performance was registered for digestibility of organic matter and the r varied between -0.69 and -0.90. Digestibilities of CP, ADF and NDF only correlated with rainfall and their distribution (r between -0.74 and -0.87). Data showed the specific and variable effect of climate elements in the studied indicators, which is useful for the efficient management of this plant under climate change conditions. It is recommended to consider these results to counteract the negative effect that secondary metabolites of *Tithonia diversifolia* can cause in ruminant feeding systems, apply mathematical modeling to predict the performance of these substances with climatic factors and other aspects of this plant management, as well as extend this type of research to other plants of interest to livestock.

**Key words:** *antinutritional factors, chemical composition, digestibility, temperature, rain*

Since the 90s of last century, it has been argued that cattle rearing in tropical countries has to be profitable and competitive, based on the minimum use of imported inputs, friendly to environment and use of local resources (Roggero *et al.* 1996). This geographical area has the greatest plant biodiversity, but animal feeding systems are mainly based on the use of few plant species.

The use of shrubs in livestock systems has gained great importance in recent years due to its nutritional,

Para establecer la relación entre la composición química, los metabolitos secundarios, los metabolitos primarios y las digestibilidades de la materia orgánica, materia seca, proteína, FDN y FDA de *Tithonia diversifolia* y los factores climáticos, se realizó el estudio de correlación. Los indicadores fueron: A) composición química: FDA, FDN, lignina, celulosa, hemicelulosa, contenido celular, MO, cenizas, N, Si, Ca, P y Mg; B) metabolitos secundarios: taninos totales, fenoles totales, taninos condensados totales, taninos condensados ligados a la fibra, taninos condensados libres, alcaloides, saponinas, triterpenos, esteroides y flavonoides, y C) metabolitos primarios: glucosa, fructosa, sacarosa, N, verbascosa, estaquiosa y rafinosa. Los coeficientes de correlación (r) entre los factores climáticos y la composición química fueron variables y los mayores valores se obtuvieron para la celulosa y la lluvia total y el número de días con lluvia (-0.69 y -0.73, respectivamente); para los metabolitos secundarios sobresalieron los taninos condensados totales y taninos condensados libres con las temperaturas e indicadores de la lluvia (valores de r entre 0.62 y 0.85) y para los metabolitos primarios se destacaron la verbascosa y estaquiosa con las temperaturas (r superiores a 0.78). La digestibilidad *in vitro* de la MS correlacionó (r entre -0.63 y -0.91) con las temperaturas, las lluvias y su distribución. Similar comportamiento registró la digestibilidad de la materia orgánica y el r varió entre -0.69 y -0.90. Las digestibilidades de la PB, FDA y FDN sólo correlacionaron con las lluvias y su distribución (r entre -0.74 y -0.87). Los datos evidenciaron el efecto específico y variable de los elementos del clima en los indicadores estudiados lo cual es de utilidad para el manejo eficiente de esta planta en condiciones del cambio climático. Se recomienda considerar estos resultados para contrarrestar el efecto negativo que pueden causar los metabolitos secundarios de la *Tithonia diversifolia* en los sistemas de alimentación de rumiantes, aplicar la modelación matemática para predecir el comportamiento de estas sustancias con los factores climáticos y otros aspectos del manejo de esta planta, así como extender este tipo de investigación a otras plantas de interés para la ganadería.

**Palabras clave:** *factores antinutricionales, composición química, digestibilidad, temperatura, lluvia*

Desde la década de los 90s del pasado siglo se argumenta que la ganadería en los países tropicales tiene que ser rentable y competitiva, basada en el mínimo uso de insumos importados, amigable con el medio ambiente y empleo de recursos locales (Roggero *et al.* 1996). Esta área geográfica dispone de la mayor biodiversidad de plantas, pero los sistemas de alimentación animal se basan, principalmente, en el empleo de pocas especies vegetales.

El uso de arbustivas en los sistemas pecuarios ha

productive and environmental contribution (Schultze-Kraft *et al.* 2018) and *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray stood out due to its genetic diversity (Del Val *et al.* 2017), wide adaptation to different environmental conditions (Ruiz *et al.* 2010), high variability in morphological indicators (Rivera *et al.* 2018), high biomass production (Ruiz *et al.* 2017) and better chemical composition (Londoño *et al.* 2019) than most of the grasses used in the tropics.

In addition to the previously mentioned benefits, this plant contains secondary metabolites (Verdecia 2014) that, due to its chemical characteristics, give it added value since its extracts can be used as insecticide and herbicide, among other properties (Miranda *et al.* 2015 and Ejelonu *et al.* 2017).

Plants (pastures, forages and shrubs, among others) used as food, in tropical areas, show marked seasonal yield, which responds to the existence of two well-defined climatic seasons (rainy and dry periods). *Tithonia* does not escape this effect and its lower yield has been evidenced in dry season (Ruiz *et al.* 2016, 2017; Verdecia *et al.* 2018 and Paumier *et al.* 2020).

Considering the above, the objective of this study was to determine the relationship between chemical composition and secondary metabolites of *Tithonia diversifolia* with some climatic factors.

### Materials and Methods

Data obtained by Verdecia (2014) was used. This data came from an experiment with *Tithonia diversifolia* of two years of established in plots of 0.5 ha in a completely randomized design and five replications, in a brown soil with carbonate (Hernández *et al.* 1999). It showed 6.2 of pH, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O and N contents of 2.4, 33.4 and 3.0 mg/100g of soil, respectively, and 3.6% of organic matter. Mean temperature and annual rainfall of the experimental period were 25.6 °C and 1,083 mm, respectively, while historical values were, in the same order, 25.2 °C and 1000 mm. No irrigation or fertilization was used.

Samples were taken from 10 random plants per replicate (240 samples in total), cut at 15 cm above soil level and were composed of leaves, petioles and stems smaller than 2.0 cm. The material was homogenized, dried in a circulating air oven at 65°C for 72 h until constant weight and ground until reaching a particle size of 1 mm. An amount of 600 samples were analyzed in the two experimental years.

DM, N, ash, OM, P, Ca and Mg (AOAC 2000) were determined, as well as NDF, ADF, lignin, cellulose, hemicellulose, cellular content and silica (Goering and Van Soest 1970), phenols and total tannins (Makkar 2003), total condensed, free condensed and fiber-bound condensed tannins (Porter *et al.* 1985), flavonoids (Boham and Kocipai-Abyazan 1944), saponins (Obdoni and Ochuko 2001), triterpenes (Fan and He 2006), steroids (Galindo *et al.* 1989) and alkaloids (Muzquiz *et al.* 1994). There were also determinations of *in vitro*

tomado gran importancia durante los últimos años, debido a su contribución nutricional, productiva y ambiental (Schultze-Kraft *et al.* 2018) y entre ellas sobresalió *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray debido a su diversidad genética (Del Val *et al.* 2017), amplia adaptación a diferentes condiciones ambientales (Ruiz *et al.* 2010), elevada variabilidad en los indicadores morfológicos (Rivera *et al.* 2018), alta producción de biomasa (Ruiz *et al.* 2017) y mejor composición química (Londoño *et al.* 2019) que la mayoría de los pastos utilizados en el trópico.

Además de las bondades señaladas con anterioridad, esta planta contiene metabolitos secundarios (Verdecia 2014) que, debido a sus características químicas, le confieren valor agregado ya que sus extractos se pueden emplear como insecticida y herbicida, entre otras propiedades (Miranda *et al.* 2015 y Ejelonu *et al.* 2017).

Las plantas (pastos, forrajes y arbustos, entre otras) empleadas en el trópico para la alimentación presentan marcado rendimiento estacional, lo que responde a la existencia de dos estaciones climáticas bien definidas (período lluvioso y poco lluvioso). La *Tithonia* no escapa a este efecto y se ha evidenciado su menor rendimiento en el período poco lluvioso (Ruiz *et al.* 2016, 2017; Verdecia *et al.* 2018 y Paumier *et al.* 2020).

Al considerar lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue determinar la relación entre la composición química y los metabolitos secundarios de *Tithonia diversifolia* con algunos factores climáticos.

### Materiales y Métodos

Se emplearon los datos obtenidos por Verdecia (2014) de un experimento de *Tithonia diversifolia* de dos años de establecida en parcelas de 0.5 ha en un diseño completamente al azar y cinco réplicas, en suelo Pardo con carbonato (Hernández *et al.* 1999) con pH 6.2, contenidos de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O y N de 2.4, 33.4 y 3.0 mg/100g de suelo, respectivamente y 3.6% de materia orgánica. La temperatura media y las precipitaciones anuales del período experimental fueron 25.6 °C y 1083 mm, respectivamente mientras que los valores históricos fueron, en el mismo orden, 25.2 °C y 1000 mm. No se empleó riego ni fertilización.

Las muestras se tomaron de 10 plantas al azar por réplica (240 muestras en total) cortadas a 15 cm sobre el nivel del suelo y estaban compuestas por hojas, peciolo y los tallos menores de 2,0 cm, se homogenizó el material, se secó en estufa de circulación de aire a 65 °C durante 72 h hasta peso constante y se molió hasta alcanzar tamaño de partícula de 1 mm. Se analizaron 600 muestras en los dos años experimentales.

Se determinaron: MS, N, cenizas, MO, P, Ca y Mg (AOAC 2000); FDN, FDA, lignina, celulosa, hemicelulosa, contenido celular y sílice (Goering y Van Soest 1970); fenoles y taninos totales (Makkar 2003); taninos condensados totales, condensados libres y condensados ligados a la fibra (Porter *et al.* 1985); flavonoides (Boham y Kocipai-Abyazan 1944); saponinas (Obdoni y Ochuko 2001); triterpenos (Fan y He 2006); esteroides (Galindo *et al.* 1989) y alcaloides (Muzquiz *et al.*

digestibilities of DM, CP, ADF and NDF (Ankom 2000) and of OM (Aumont *et al.* 1995) and sugars by gas-liquid chromatography. In addition, maximum, minimum and mean temperatures were quantified, as well as total rain and number of days with rain between samplings.

Correlation coefficients (Visauta 2007) were established between secondary metabolites (total phenols, total tannins, fiber-bound condensed tannins, free condensed tannins, alkaloids, saponins, triterpenes, flavonoids and steroids), as well as chemical composition (NDF, ADF, lignin, cellulose, hemicellulose, cellular content, organic matter, ash, nitrogen, Si, Ca, P and Mg); digestibilities of OM, DM, CP, ADF, NDF, and sugars (verbascose, stachyose, raffinose, glucose, fructose and sucrose) of *Tithonia diversifolia* with some climatic factors (maximum, minimum and mean temperatures, number of days with rain and total rain).

## Results

The correlation between climate factors and chemical composition was variable (table 1). The highest coefficients (r) were obtained for P, with the maximum temperature (0.64) and mean temperature (0.63), OM and ash with the minimum temperature (0.62 and -0.62, respectively), cellulose with the maximum temperature, total rainfall and number of days with rains (-0.62, -0.69 and -0.73, in the same order) and nitrogen (N) with rains and their distribution (-0.81 and -0.82, respectively). For the rest of the chemical composition indicators, correlations were low or not significant.

Table 1. Correlation coefficients (r) between chemical composition and climate factors

Dependent variables, %	Independent variables				
	Temperature, °C			Rain, mm	
	Maximum	Minimum	Mean	Total	# of days
NDF	-0.15NS	-0.45*	-0.33 NS	0.31 NS	0.35 NS
ADF	-0.29 NS	-0.48*	-0.42 NS	0.32 NS	0.39 NS
Lignin	0.15 NS	-0.18 NS	-0.04 NS	0.49*	0.56*
Cellulose	-0.62**	-0.29 NS	-0.46*	-0.69**	-0.73**
Hemicellulose	0.31 NS	-0.22 NS	0.15 NS	0.07 NS	0.04 NS
Cell content	0.14 NS	0.45*	0.33 NS	-0.31 NS	-0.36 NS
Organic matter	0.47*	0.62**	0.55*	0.53*	0.55*
Ashes	-0.48*	-0.62**	-0.56*	-0.54*	-0.56*
Si	-0.10 NS	-0.19 NS	-0.19 NS	0.20 NS	0.29 NS
Ca	0.50*	-0.60**	-0.58**	-0.29 NS	-0.17 NS
P	0.64**	0.49*	0.63**	0.18 NS	0.25 NS
Mg	-0.29 NS	-0.35 NS	-0.30 NS	-0.14 NS	-0.008 NS
N	-0.45*	-0.23 NS	-0.33 NS	-0.81***	-0.82***

\*P<0.05 \*\*P<0.01

NS: not significant

The highest correlations (table 2) were found: between total phenols, total condensed tannins, fiber-bound condensed tannins and free condensed tannins with maximum temperature (between 0.67 and 0.89) and mean temperature (between 0.63 and 0.85); for total condensed tannins and free condensed tannins with the minimum temperature (0.77 and 0.76, respectively) and these same compounds with total rain (0.72 and 0.79, respectively) and with number of days with rain (0.64

1994); digestibilidades in vitro de la MS, PB, FDA y FDN (Ankom 2000) y de la MO (Aumont *et al.* 1995) y azúcares por cromatografía gas-liquido. Además, se cuantificaron las temperaturas máximas, mínimas y medias, así como la lluvia total y el número de días con lluvias entre los muestreos realizados.

Se establecieron los coeficientes de correlación (Visauta 2007) entre los metabolitos secundarios (fenoles totales, taninos totales, taninos condensados ligados a la fibra, taninos condensados libres, alcaloides, saponinas, triterpenos, flavonoides y esteroides); la composición química (FDN, FDA, lignina, celulosa, hemicelulosa, contenido celular, materia orgánica, cenizas, nitrógeno, Si, Ca, P y Mg); las digestibilidades de la MO, MS, PB, FDA, FDN, y los azúcares (verbascosa, estaquiosa, rafinosa, glucosa, fructosa y sacarosa) de *Tithonia diversifolia* con algunos factores climáticos (temperaturas máxima, mínima y media, número de días con lluvias y lluvia total).

## Resultados

La correlación entre los factores climáticos y la composición química fue variable (tabla 1). Los mayores coeficientes (r) se obtuvieron para: el P con la temperatura máxima (0.64) y la temperatura media (0.63); la MO y ceniza con la temperatura mínima (0.62 y -0.62, respectivamente); la celulosa con la temperatura máxima, la lluvia total y el número de días con lluvias (-0.62, -0.69 y -0.73, en ese mismo orden) y el nitrógeno (N) con las lluvias y su distribución (-0.81 y -0.82, respectivamente). Para el resto de los indicadores de la composición química las correlaciones fueron bajas o no significativas.

Las mayores correlaciones (tabla 2) se encontraron: entre los fenoles totales, taninos condensados totales, taninos condensados ligados a la fibra y taninos condensados libres con la temperatura máxima (entre 0.67 y 0.89) y temperatura media (entre 0.63 y 0.85); para los taninos condensados totales y taninos condensados libres con la temperatura mínima (0.77 y 0.76, respectivamente) y estos mismos compuestos con la lluvia total (0.72 y 0.79, respectivamente) y con el número de días con

and 0.77, respectively). For the rest of the secondary metabolites, correlations were low or not significant.

(0.64 y 0.77, respectivamente). Para el resto de los metabolitos secundarios las correlaciones fueron bajas o no significativas.

Table 2. Correlation coefficients (r) between secondary metabolites and climate factors

Dependent variables	Independent variables				
	Temperature, °C			Rain, mm	
	Maximum	Minimum	Mean	Total	# of days
Total tannins	0.40 NS	0.29 NS	0.34 NS	0.51*	0.58*
Total phenols	0.67**	0.57*	0.63**	0.48*	0.52*
Total condensed tannins	0.88***	0.77***	0.85***	0.72***	0.64**
Fiber-bound condensed tannins	0.63**	0.56*	0.63**	0.45*	0.33 NS
Free condensed tannins	0.89***	0.76***	0.84***	0.79***	0.77***
Flavonoids	0.20 NS	-0.28 NS	-0.16 NS	0.46*	0.50*
Alkaloids	-0.10 NS	-0.33 NS	-0.19 NS	0.45*	0.42 NS
Saponins	-0.26 NS	-0.45*	-0.38 NS	0.31 NS	0.34 NS
Triterpenes	0.06 NS	-0.27 NS	-0.13 NS	0.42 NS	0.47*
Steroids	0.01 NS	-0.29 NS	-0.16 NS	0.48*	0.52*

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001  
NS: not significant

The highest coefficients between verbascose and stachyose (0.78-0.90) were obtained with temperatures (maximum, minimum and mean). For the rest of sugars, no relationship was found with temperatures, while relationships were low or not significant with rains and their distribution (table 3).

Los mayores coeficientes entre la verbascosa y la estaquiosa (0.78-0.90) se obtuvieron con las temperaturas (máxima, mínima y media). Para el resto de los azúcares no se encontró relación con las temperaturas, mientras que con las lluvias y su distribución las relaciones fueron bajas o no significativas (tabla 3).

Table 3. Correlation coefficients (r) between sugars and climate factors

Dependent variables	Independent variables				
	Temperature, °C			Rain, mm	
	Maximum	Minimum	Mean	Total	# of days
Verbascose	0.78***	0.90***	0.88***	0.39 NS	0.39 NS
Stachyose	0.78***	0.87***	0.86***	0.55*	0.46*
Raffinose	-0.12 NS	0.03 NS	0.20 NS	-0.40 NS	-0.53*
Glucose	0.19 NS	0.35 NS	0.31 NS	-0.24 NS	-0.35 NS
Fructose	0.25 NS	0.32 NS	0.32 NS	-0.11 NS	-0.20 NS
Sucrose	0.23 NS	0.34 NS	0.32 NS	-0.17 NS	-0.27 NS

\*P<0.05 \*\*\*P<0.001  
NS: not significant

DM *in vitro* digestibility (DMI<sub>VD</sub>) and of organic matter (OMD) were negatively correlated with temperatures, rains and their distribution, while in true digestibility (TD), correlations were significant only with temperatures. The highest correlations between digestibilities of protein (CPD), acid detergent fiber (ADFD) and neutral detergent fiber (NDFD) were obtained with rains and their distribution, although the latter also correlated with minimum temperature (table 4).

La digestibilidad *in vitro* de la MS (DI<sub>VMS</sub>) y de la materia orgánica (DMO) correlacionaron negativamente con las temperaturas, las lluvias y su distribución, mientras que en la verdadera (DV) las correlaciones fueron significativas solo con las temperaturas. Las mayores correlaciones entre las digestibilidades de la proteína (DPB), de la fibra detergente ácida (DFDA) y fibra detergente neutra (DFDN) se obtuvieron con las lluvias y su distribución, aunque esta última también correlacionó con la temperatura mínima (tabla 4).

Table 4. Correlation coefficients (r) between digestibilities and climate factors

Dependent variables	Independent variables				
	Temperature, °C			Rain, mm	
	Maximum	Minimum	Mean	Total	# of days
DMI <sub>VD</sub>	-0.80***	-0.63**	-0.74***	-0.91***	-0.89***
TD	0.82***	0.61**	0.72**	0.56*	0.55*
OMD	-0.81***	-0.69**	-0.76**	-0.90***	-0.88***
CPD	-0.53*	-0.37 NS	-0.46	-0.85***	-0.87***
ADFD	-0.34 NS	-0.09 NS	-0.20 NS	-0.74**	-0.77**
NDFD	-0.34 NS	-0.79**	-0.19 NS	-0.74**	-0.76**

\*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001  
NS: not significant

### Discussion

Most of research on yield and quality of pastures, forages and other crops of interest for livestock are carried out in field experiments and differences in the results have been explained by regrowth age, frequency and cutting height, fertilization, irrigation, management, species and varieties, among other factors. While the aspects of the climate have been treated in a general way through the performance of its indicators in seasonal periods.

It is established science that climate features (temperatures, rainfall, humidity and some others) act in an interrelated manner on yield and quality of pastures. However, in the current research, the hypothesis of studying the individual influence of some climate factors (temperatures, rainfall and their distribution) on chemical composition, secondary metabolites and digestibility of *Tithonia diversifolia*, was used. For this, climate data corresponding to each growth period were used in which samplings and chemical analyzes of studied indicators, during two years, were carried out. In this way, enough data was obtained to establish accurate correlations. Furthermore, it was considered significant when the correlation coefficient reached a value superior to 0.60 and a significance higher than  $P < 0.05$ .

References indicate the benefits of the chemical composition of *Tithonia*, characterized by high protein values, moderate contents of fiber elements and acceptable mineral content, which vary depending on agronomic management (variety, frequency and cutting height, fertilization, regrowth age and some other aspects) to which the plant is subjected. However, information shows high variability of values of chemical composition indicators with management (Verdecia *et al.* 2011, Rivera *et al.* 2018 and Londoño *et al.* 2019).

Correlation coefficients between indicators of chemical composition and climate factors were, in general, low and with high variability, except cellulose, OM and P (table 1). Negative correlation found between cellulose and maximum temperature could be possibly related to the fact that maximum temperatures were higher than optimum temperature for plant growth and had a negative influence on it. However, correlations with rain and its distribution were negative and significant, indicating the possible alteration of the synthesis of this compound. This confirms the findings of Nava *et al.* (2019), when they studied the effect of rain on this crop.

Negative and highly significant correlations of N with rain and its distribution could be related to the dilution effect suffered by N, as well as the probable decrease in the absorption capacity, by the root, of this element due to the existence of a humidity gradient in the soil that does not favor the referred process (Taiz and Zeiger 2010).

### Discusión

La mayoría de las investigaciones que se realizan sobre el rendimiento y calidad de los pastos, forrajes y otros cultivos de interés para la ganadería se realizan en experimentos de campo y las diferencias en los resultados se han explicado mediante la edad de rebrote, frecuencia y altura de corte, fertilización, riego, manejo, especies y variedades, entre otros factores. Mientras que los aspectos del clima han sido tratados de forma general mediante el comportamiento de sus indicadores en los períodos estacionales.

Es ciencia constituida que los integrantes del clima (temperaturas, lluvias, humedad, entre otros) actúan de forma interrelacionada en el rendimiento y calidad de los pastos. Sin embargo, en la presente investigación se empleó la hipótesis de estudiar la influencia individual de algunos factores del clima (temperaturas, lluvias y su distribución) en la composición química, metabolitos secundarios y digestibilidad de la *Tithonia diversifolia*. Para ello, se emplearon los datos climáticos correspondientes a cada período de crecimiento donde se efectuaron los muestreos y los análisis químicos de los indicadores estudiados durante dos años. De esta forma se obtenían suficientes datos para establecer las correlaciones con precisión. Además, se consideró como significativo cuando el coeficiente de correlación alcanzó valor superior a 0.60 y significación superior a  $P < 0.05$ .

La literatura señala las bondades de la composición química de la *Tithonia*, caracterizada por altos valores de proteína, moderados contenidos de elementos fibrosos y aceptables tenores de minerales, los que varían en dependencia del manejo agronómico (variedad, frecuencia y altura de corte, fertilización y edad de rebrote, entre otros aspectos) a que sea sometida la planta. Sin embargo, la información muestra alta variabilidad de los valores de los indicadores de la composición química con el manejo (Verdecia *et al.* 2011, Rivera *et al.* 2018 y Londoño *et al.* 2019).

Los coeficientes de correlación entre los indicadores de la composición química y los factores climáticos fueron, en general, bajos y con alta variabilidad, con excepción de la celulosa, la MO y el P (tabla 1). La correlación negativa encontrada entre la celulosa y la temperatura máxima pudiera estar relacionada, quizás, con el hecho de que las temperaturas máximas fueran superiores a la temperatura óptima para el crecimiento de la planta e influyera negativamente en él. Sin embargo, las correlaciones con la lluvia y su distribución fueron negativas y significativas lo que indica la posible alteración de la síntesis de este compuesto. Esto reafirma lo encontrado por Nava *et al.* (2019) al estudiar el efecto de lluvia en este cultivo.

Las correlaciones negativas y altamente significativas del N con la lluvia y su distribución pudieran estar relacionada con el efecto de dilución que sufre el N, así como la probable disminución de la capacidad de absorción, por la raíz, de este elemento al existir un gradiente de humedad en el suelo que no favorece el referido proceso (Taiz y Zeiger 2010).

Variability in the mineral composition of *Tithonia* has been reported depending on the management, including the climate, to which it is subjected (Verdecia 2014 and Guatusmal-Gelpud 2020). In the case of minerals (Si, Ca and Mg), no adjustments were found or they were low with climate factors, which could indicate some independence from climate factors, aspects that need future research. Nevertheless, the highest correlations only corresponded to P with the maximum and mean temperatures. The above could indicate that the absorption of this element is favored with the increase of maximum and mean temperatures.

Rivera *et al.* (2018), in their article, compiled information on secondary metabolites of *Tithonia* and pointed out the diversity of chemical compounds that make them up, as well as the variety of effects they produce in the animal. In this way, saponins have antibacterial activity and intervene in the decrease or removal of protozoa from the rumen. Flavonoids have antimicrobial properties and terpenoids can reduce the peptidolytic activity of ruminal bacteria and effectively inhibit the growth of ruminal bacteria involved in ammonia production. This variety of chemical compounds that flavonoids, alkaloids, saponins, triterpenes, and steroids are constituted by, could be responsible for the variable relationships between these secondary metabolites and climate factors, with a low correlation coefficient in the current research. For this reason, future experiments are needed to deepen in this response, as well as its effect on animals.

In relation to tannins, these are high molecular weight polyphenolic compounds with different properties, there are several classifications and these compounds can inhibit enzymes (cellulases and pectinases), produce alterations in cell walls, reduction of CH<sub>4</sub> emissions and affect the transport of carbohydrates and amino acids, among other functions (Makkar *et al.* 1988, Makkar 2003 and Rivera *et al.* 2018).

The chemical determination of these compounds requires specific analytical procedure, generally expensive, which is why their qualitative determination is frequently used (Lezcano *et al.* 2012 and Sandoval-Pelcastre *et al.* 2020). However, like all qualitative analytical procedure, it depends on several factors (age and part of the sampled plant, concentration of the compound in the material and sensitivity of the reagent to be used) so the result may be variable and not reflect the true composition of the sample.

In *Tithonia diversifolia*, Gallego-Castro *et al.* (2017) found variations in the content of phenolic compounds when they studied different sowing systems. Scull *et al.* (2008) found differences in the phenolic content of among leaves, stems and the whole plant, and Verdecia *et al.* (2011) determined the effect of regrowth age and season in several phenolic compounds.

In the present research, the best correlations were

Se ha informado variabilidad en la composición mineral de la *Tithonia* en dependencia del manejo, incluido el clima, a que es sometida (Verdecia 2014 y Guatusmal-Gelpud 2020). En el caso de los minerales (Si, Ca y Mg) no se encontraron ajustes o estos fueron bajos con los factores del clima, lo cual pudiera indicar cierta independencia a los factores climáticos, aspectos estos que necesitan investigaciones futuras. Sin embargo, las mayores correlaciones sólo correspondieron al P con las temperaturas máxima y media. Lo anterior pudiera indicar que la absorción de este elemento se favorece con el incremento de las temperaturas máximas y medias.

Rivera *et al.* (2018) en su artículo recopilaron la información sobre los metabolitos secundarios de la *Tithonia* y señalaron la diversidad de compuestos químicos que los conforman, así como la variedad de efectos que producen en el animal: las saponinas tienen actividad antibacteriana e intervienen en la disminución o eliminación de los protozoos del rumen; los flavonoides tienen propiedades antimicrobianas y los terpenoides pueden reducir la actividad peptidolítica de las bacterias ruminales e inhiben efectivamente el crecimiento de las bacterias ruminales implicadas en la producción de amoníaco. Esta variedad de compuestos químicos constitutivos de los flavonoides, alcaloides, saponinas, triterpenos y esteroides pudieran ser los responsables de que las relaciones entre estos metabolitos secundarios y los factores del clima fueran variables y de bajo coeficiente de correlación en la presente investigación. Por ello, se precisan futuros experimentos para profundizar en esta respuesta, así como su efecto en el animal.

En relación con los taninos, estos son compuestos polifenólicos de elevado peso molecular con diferentes propiedades, existen varias clasificaciones y estos compuestos pueden inhibir enzimas (celulasas y pectinasas), producir alteraciones en las paredes celulares, reducción de emisiones de CH<sub>4</sub> y afectar el transporte de carbohidratos y aminoácidos, entre otras funciones (Makkar *et al.* 1988, Makkar 2003 y Rivera *et al.* 2018).

La determinación química de estos compuestos necesita marchas analíticas específicas, por lo general de elevado costo, por lo que es frecuente que se emplee su determinación cualitativa (Lezcano *et al.* 2012 y Sandoval-Pelcastre *et al.* 2020). Sin embargo, como toda marcha analítica cualitativa depende de varios factores (la edad y parte de la planta muestreada, concentración del compuesto en el material y sensibilidad del reactivo a utilizar) por lo que el resultado puede ser variable y no reflejar la verdadera composición de la muestra.

En *Tithonia diversifolia* Gallego-Castro *et al.* (2017) encontraron variaciones en el contenido de compuestos fenólicos cuando estudiaron diferentes métodos de siembra; Scull *et al.* (2008) hallaron diferencias en el contenido de polifenoles entre las hojas, tallos y planta íntegra y Verdecia *et al.* (2011) determinaron el efecto de la edad de rebrote y la estación del año en varios compuestos fenólicos.

En la presente investigación las mejores correlaciones se obtuvieron en los taninos condensados totales y los taninos

obtained in total condensed tannins and free condensed tannins with temperatures (maximum, minimum and average) and rains and their distribution, which evidences the positive effect of climate factors on concentration of these chemical compounds of *Tithonia*. Therefore, it would be of interest to know what would be the limit value of temperatures and rainfall that would promote appropriate values of these compounds that do not negatively influence on physiology and nutrition of animals that consume this plant.

In relation to sugars, information is limited and has been based on the qualitative determination of reducing sugars. In the current research, the best correlations were found in verbascose and stachyose with temperatures (maximum, minimum and mean). These sugars are composed by galactose, glucose and fructose molecules in proportions 2:1:1 and 3:1:1 for stachyose and verbascose, respectively. However, there was no correlation between glucose and fructose with climate factors, which attracted attention, since these substances are the basis for the synthesis of verbascose and stachyose, classified as oligosaccharide and tetrasaccharide, respectively. In addition, these compounds, when consumed, can produce flatulence and have a negative effect on animal nutrition. Therefore, all these aspects require future research.

Digestibility indicates the efficiency of use of an indicator (DM, OM, CP, NDF and ADF, among others) by the animal, and it has been reported that it depends on pasture management, as well as internal factors such as content of fiber compounds, lignin and silica, among other aspects (Valenciaga *et al.* 2009ab). On the other hand, La O *et al.* (2012), when studying different digestibilities (DM, OM, ADF, NDF) of various ecotypes of *Tithonia diversifolia*, found variability of values among ecotypes. As these compounds of the plant vary according to the climatic season, it is expected that digestibility will also fluctuate and, therefore, climate factors can be considered to indirectly influence on digestibility.

In the references consulted, no article similar to the present study was found and it was interesting to find the negative and significant influence between maximum, minimum and mean temperatures (correlation coefficient between -0.63 and -0.81) and the DMIVD and OMD, but rains and their distribution also showed negative and highly significant correlation coefficients (between -0.88 and -0.91). Nevertheless, for CPD, NDFD and ADFD, the highest negative and significant correlations were obtained with rainfall and its distribution. These elements could serve as an alert to carry out the efficient management of this species during rainy period, characterized by high temperatures and precipitations.

Results of the current study, considering that climate elements (temperatures, rainfall and its distribution) act individually and/or interrelated, evidenced the specific and variable response of climate factors in the studied indicators, which is useful for the efficient management of this plant under climate change

condensados libres con las temperaturas (máxima, mínima y media) y las lluvias y su distribución, lo que evidencia el efecto positivo de los factores del clima en la concentración de estos compuestos químicos de la *Tithonia*. Por ello, sería de interés conocer cuál sería el valor límite de las temperaturas y lluvias que propiciara valores apropiados de estos compuestos que no influyan negativamente en la fisiología y nutrición de los animales que consumen esta planta.

En relación con los azúcares la información es limitada y ha estado fundamentada en la determinación cualitativa de azúcares reductores. En la presente investigación las mejores correlaciones se encontraron en la verbascosa y estaquiosa con las temperaturas (máxima, mínima y media). Estos azúcares están formados por moléculas galactosa, glucosa y fructosa en proporciones 2:1:1 y 3:1:1 para la estaquiosa y verbascosa, respectivamente. Sin embargo, no hubo correlación entre la glucosa y la fructosa con los factores del clima lo cual llamó la atención, pues estas sustancias son la base a partir de las cuales se sintetizan la verbascosa y estaquiosa, clasificados como oligosacárido y tetrasacárido, respectivamente. Además, estos compuestos al ser consumidos pueden producir flatulencia y ejercer efecto negativo en la nutrición animal. Por ello, todos estos aspectos necesitan de investigaciones futuras.

La digestibilidad señala la eficiencia de utilización por el animal de un indicador (MS, MO, PB, FDN y FDA, entre otros) y se ha informado que ella depende del manejo del pasto, así como de factores internos como el contenido de compuestos fibrosos, lignina y sílice, entre otros aspectos (Valenciaga *et al.* 2009ab). Por otro lado, La O *et al.* (2012) al estudiar diferentes digestibilidades (MS, MO, FDA, FDN) de varios ecotipos de *Tithonia diversifolia* encontraron variabilidad de los valores entre los ecotipos. Como estos compuestos constitutivos de la planta varían con la estación climática, es de esperar que la digestibilidad también fluctúe y por ello se puede considerar que los factores climáticos influyen indirectamente en la digestibilidad.

En la literatura consultada no se encontró artículo similar al presente estudio y fue interesante encontrar la influencia negativa y significativa entre las temperaturas máxima, mínima y media (coeficiente de correlación entre -0.63 y -0.81) y la DIVMS y DMO, pero las lluvias y su distribución también mostraron coeficientes de correlación negativos y altamente significativos (entre -0.88 y -0.91). Sin embargo, para la DPB, DFDN y DFDA las mayores correlaciones negativas y significativas se obtuvieron con la lluvia y su distribución. Estos elementos pudieran servir de alerta para realizar el manejo eficiente de esta especie en el período lluvioso, caracterizado por altas temperaturas y precipitaciones.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, al considerar que los elementos del clima (temperaturas, lluvias y su distribución) actúan de forma individual y/o interrelacionados, evidenciaron la respuesta específica y variable de los factores del clima en los indicadores estudiados, lo cual es de utilidad para el manejo eficiente de

conditions. Furthermore, it is necessary to consider the need for future studies to counteract the probable negative effect that secondary metabolites of *Tithonia diversifolia* may cause in ruminant feeding systems. It is also necessary to apply mathematical modeling to predict the performance of these substances with climate factors and include other indicators such as duration and intensity of light, as well as consider these results when designing the efficient management of this plant and extend this type of research to other plants of interest for livestock.

esta planta en condiciones del cambio climático. Además, es preciso considerar la necesidad de realizar estudios futuros para contrarrestar el probable efecto negativo que pueden causar los metabolitos secundarios de *Tithonia diversifolia* en los sistemas de alimentación de rumiantes; aplicar la modelación matemática para predecir el comportamiento de estas sustancias con los factores del clima e incluir otros indicadores como la duración e intensidad de la luz; considerar estos resultados al diseñar el manejo eficiente de esta planta y extender este tipo de investigación a otras plantas de interés para la ganadería.

## References

- Ankom Technology. 2000. Procedures for fiber and *in vitro* analysis. Available: <http://www.ankom.com>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA.
- Aumont, G., Caudron, I., Saminadin, G. & Xandé, A. 1995. "Sources of variation in nutritive values of tropical forages from the Caribbean". *Animal Feed Science and Technology*, 51(1-2): 1-13, ISSN: 0377-8401, DOI: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00688-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00688-6).
- Boham, B.A. & Kocipai-Abyazan, R. 1994. "Flavonoids and condensed tannins from leaves of Hawaiian *Vaccinium vaticulatum* and *V. calycynium*". *Pacific Science*, 48(4): 458-463, ISSN: 0030-8870.
- Del Val, R., Miranda, J.M., Flores, M.X., Gómez, J.M., Solorio, B., Solorio, F.J. & González, S. 2017. "Diversidad genética de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray de Michoacán: Análisis con marcadores de ADN-SSR". *Ciencia y Tecnología Universitaria*, 4(3): 9-14, ISSN: 2007-7750.
- Ejelonua, O.C., Elekofehintia, O.O. & Adanlawob, I.G. 2017. "*Tithonia diversifolia* saponin-blood lipid interaction and its influence on immune system of normal wistar rats". *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 87: 589-595, ISSN: 0753-3322, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.017>.
- Fan, J.P. & He, C.H. 2006. "Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(3): 950-956, ISSN: 0731-7085, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.044>.
- Galindo, W., Rosales, M., Murgueitio, E. & Larrahondo, J. 1989. "Sustancias antinutricionales en las hojas de árboles forrajeros". *Livestock Research for Rural Development*, 1(1): 36-47, ISSN: 0121-3784, Available: <<http://www.lrrd.org/lrrd1/1/mauricio.htm>>.
- 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, DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21671>.
- Goering, H.K. & Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analyses: Apparatus, reagent, procedures and some applications. In: *Agriculture Handbook No. 379*. Ed. U.S.D.A. Agricultural Research Service, Department of Agriculture, United States of America, p. 20.
- Guatusmal-Gelpud, C., Escobar-Pachajoa, L.D., Meneses-Buitrago, D.H., Cardona-Iglesias, J.L. & Castro-Rincón, E. 2020. "Producción y calidad de *Tithonia diversifolia* y *Sambucus nigra* en trópico altoandino colombiano". *Agronomía Mesoamericana*, 31(1): 193-208, ISSN: 2215-3608, DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v31i1.36677>.
- Hernández, A., Pérez, J.M. & Boch, D. 1999. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos, Ministerio de Agricultura, La Habana, Cuba, p.64.
- La O, O., González, H., Orozco, A., Castillo, Y., Ruiz, O., Estrada, A., Ríos, F., Gutiérrez, E., Bernal, H., Valenciaga, D., Castro, B.I. & Hernández, Y. 2012. "Chemical composition, *in situ* rumen degradability, and *in vitro* digestibility of *Tithonia diversifolia* ecotypes of interest for ruminant feeding". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 46(1): 47-53, ISSN: 2079-3480.
- Lezcano, Y., Soca, M., Sánchez, L.M., Ojeda, F., Olivera, Y., Fontes, D., Montejo, I.L. & Santana, H. 2012. "Caracterización cualitativa del contenido de metabolitos secundarios en la fracción comestible de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray". *Pastos y Forrajes*, 35(3): 283-292, ISSN: 2078-8452.
- Londoño, J., Mahecha, L. & Angulo, J. 2019. "Desempeño agrónomico y valor nutritivo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray para la alimentación de bovinos". *Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA*, 11(1): 28-41, ISSN: 2027-4297, DOI: <http://dx.doi.org/10.24188/recia.v11.n1.2019.693>.
- Makkar, H.P.S. 2003. "Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds". *Small Ruminant Research*, 49(3): 241-256, ISSN: 0921-4488, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1).
- Makkar, H.P.S., Dawra, R.K. & Singh, B. 1988. "Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(3): 523-525, ISSN: 1520-5118, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00081a600>.
- Miranda, M.A., Varela, R.M., Torres, A., Molinillo, J.M.G., Gualtieri, S.C.J. & Macias, F.A. 2015. "Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*". *Journal of Natural Products*, 78(5): 1083-1092, ISSN: 1520-6025, DOI: <https://doi.org/10.1021/>



acs.jnatprod.5b00040.

- Muzquiz, M., Cuadrado, C., Ayet, G., de la Cuadra, C., Burbano, C. & Osagie, A. 1994. "Variation of alkaloid components of lupin seeds in 49 genotypes of *Lupinus albus* L. from different countries and location". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7): 1447-1450, ISSN: 1520-5118, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00043a011>.
- Navas-Panadero, A. & Montaña, V. 2019. "Comportamiento de *Tithonia diversifolia* bajo condiciones de bosque húmedo tropical". *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2): 721-732, ISSN: 1682-3419, DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.15066>.
- Obdoni, B.O. & Ochuko, P.O. 2001. "Phytochemical studies and comparative efficacy of the crude extract of some homostatic plants in Edo and Delta States of Nigeria". *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, 8(2): 203-208, ISSN: 1118-0579, DOI: <https://doi.org/10.4314/gjpas.v8i2.16033>.
- Paumier, M., Verdecia, D.M., Ramírez, J.L., Herrera, R.S., Santana, A., Méndez-Martínez, Y., Torres, E. & Sánchez, A.R. 2020. "Indicators of Yield of *Tithonia diversifolia* in the Zone of Granma Province, Cuba". *Modern Concepts & Developments in Agronomy*, 6(4): 670-673, ISSN: 2637-7659, DOI: <https://doi.org/10.31031/MCDA.2020.06.000645>.
- Porter, L., Hrstich, L. & Chan, B. 1985. "The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin". *Phytochemistry*, 25(1): 223-230, ISSN: 0031-9422, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94533-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94533-3).
- Rivera, J.E., Chará, J., Gómez-Leyva, J.F., 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), ISSN: 0121-3784, Available: <<http://www.lrrd.org/lrrd30/12/rive30200.html>>.
- Roggero, P., Bellon, S. & Rosales, M. 1996. "Sustainable feeding systems based on the use of local resources". *Annales de Zootechnie*, 45(Suppl1): 105-118, ISSN: 1297-9651.
- Ruíz, T.E., Alonso, J., Febles, G.J., Galindo, J.L., Savón, L.L., Chongo, B.B., Torres, V., Martínez, Y., La O, O., Gutiérrez, D., Crespo, G.J., Cino, D.M. Scull, I. & González, J. 2016. *Tithonia diversifolia*: I. "Integral study of different materials for their potential biomass production and nutritional quality". *Avances en Investigación Agropecuaria*, 20(3): 63-83, ISSN: 2683-1716.
- Ruiz, T.E., Febles, G.J., Alonso, J., Crespo, G. & Valenciaga, N. 2017. Agronomy of *Tithonia diversifolia* in Latin America and the Caribbean region. In: Mulberry, moringa and tithonia in animal feed, and other uses. Results in Latin America and the Caribbean. Savon, L.L, Gutierrez, O. & Febles, F. (eds.). Ed. FAO-ICA. La Habana, Cuba, pp. 171-202, ISBN: 978-959-7171-72-0.
- Ruíz, T.E., Febles, G., Torres, V., González, J., Achan, G., Sarduy, L. & Díaz, H. 2010. "Assessment of collected materials of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray in the center-western region of Cuba". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 44(3): 285- 289, ISSN: 2079-3480.
- Sandoval-Pelcastre, A.A., Ramírez-Mella, M., Rodríguez-Ávila, N.L. & Candelaria-Martínez, B. 2020. "Tropical trees and shrubs with potential to reduce the production of methane in ruminants". *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(33): 1-16, ISSN: 1870-0462.
- Schultze-Kraft, R., Rao, I.M., Peters, M., Clements, R.J., Bai, C. & Liu, G. 2018. "Tropical forage legumes for environmental benefits: An overview". *Tropical Grasslands*, 6(1): 1-14, ISSN: 2346-3775, DOI: [http://dx.doi.org/10.17138/tgft\(6\)1-14](http://dx.doi.org/10.17138/tgft(6)1-14).
- Scull, I., Savón, L. & Ramos, Y. 2008. Composición química de la harina de forraje de *Tithonia diversifolia* con diferentes edades de corte. Memorias XXI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, La Habana, Cuba.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. 5th Ed. Ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts U.S.A., p. 778, ISBN: 9780878935116.
- Verdecia, D.M. 2014. Composición química y metabolitos secundarios en seis variedades de árboles, arbustos y leguminosas volubles en el Valle del Cauto. PhD Thesis. Universidad de Granma, Cuba, p. 100.
- Valenciaga, D., Chongo, B., Herrera, R.S., Torres, V., Oramas, A. & Herrera, M. 2009a. "Effect of regrowth age on in vitro dry matter digestibility of *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-115". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 43(1): 81-84, ISSN: 2079-3480.
- Valenciaga, D., Herrera, R.S., de Oliveira-Simoes, E., Chongo, B. & Torres, V. 2009b. "Monomeric composition of the lignin from *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-115 and its variation with the regrowth age". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 43(3): 305-310, ISSN: 2079-3480.
- Verdecia, D.M., Herrera, R.S., Ramírez, J.L., Bodas, R., Leonard, I., Giráldez, F.J., Andrés, S., Santana, A., Méndez-Martínez, Y. & López, S. 2018. "Yield components, chemical characterization and polyphenolic profile of *Tithonia diversifolia* in Valle del Cauto, Cuba". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(4): 457-471, ISSN: 2079-3480.
- Verdecia, D.M., Ramírez, J.L., Leonard, I., Álvarez, Y., Bazán, Y., Bodas, R., Andrés, S., Álvarez, J., Giráldez, F. & López, S. 2011. "Calidad de la *Tithonia diversifolia* en una zona del Valle del Cauto". *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 12(5): 1-13, ISSN: 1695-7504
- Visauta, B. 2007. Análisis estadístico con SPSS 14. Estadística básica. 3rd Ed. Ed. McGrawHill/Interamericana, Madrid, España, p. 281, ISBN: 9788448156701.

Received: February 25, 2020

Accepted: June 5, 2020