

Effect of regrowth age and climatic factors on primary metabolites content of *Tithonia diversifolia*

Efecto de la edad de rebrote y factores climáticos en el contenido de metabolitos primarios de *Tithonia diversifolia*

Y. Ramírez-Pérez¹, Rocio C. Herrera-Herrera², D. M. Verdecia-Acosta^{3*}, R.S. Herrera García⁶, E. Chacón-Marcheco⁴, J. L. Ledea-Rodríguez⁵ and J. L. Ramírez-De la Ribera³

¹St. Nicholas University: School of Veterinary Medicine, Dominica

²Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Universitaria CP: 110150, Loja, Ecuador

³Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Granma, Apartado Postal 21, Bayamo, CP. 85 100, Granma, Cuba.

⁴Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Técnica Estatal de Cotopaxi. Cantón Latacunga, El Ejido, sector San Felipe, Ecuador.

⁵Investigador independiente, México

⁶Instituto de Ciencia Animal Apdo. 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: dverdeciaacosta@gmail.com

Y. Ramírez-Pérez: <https://orcid.org/0000-0002-9085-3255>

Rocio C. Herrera-Herrera: <https://orcid.org/0000-0002-4136-4746>

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

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

E. Chacón-Marcheco: <https://orcid.org/0000-0001-9590-6451>

J.L. Ledea-Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0001-5195-1496>

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

Primary metabolites, very abundant in nature, are essentials for the physiological development of the plant; which are in great amount and of easy extraction. With the objective of evaluating the effect of the plant maturity and the climatic factors on the primary metabolites content in *Tithonia diversifolia* the experiment was developed, according to a random block design, with three treatments (60, 120 and 180 days) and four replications. Contents of nitrogen, glucose, fructose and sucrose were evaluated through analysis of variance, correlation and regression with the SPSS statistical system, version 22.0. The contents of nitrogen, glucose, sucrose and fructose during the two seasonal periods in *T. diversifolia* decreased with the regrowth age (from 60 up to 180 days) in 13.15, 0.008, 0.015 and 0.007 g.kg⁻¹ for the rainy period, while for the dry season were 17.39, 0.002, 0.003 and 0.0009 g.kg⁻¹, respectively. Quadratic regression equations were fitted with the regrowth age for all the indicators. All regression coefficients were higher to 0.95 for primary metabolites in both seasonal periods, except for sucrose and fructose during the dry season was 0.93 and 0.9, respectively. The correlations were very changeable where the rainy days were related with all primary metabolites during the rainy season, while during the dry season only nitrogen showed significant correlation. The functions explained the close correspondence between growth and the primary metabolites content and the fluctuations found in the sugars influenced by the shrub phenological state and their photosynthetic activity.

Key words: *shrub, equations, age, climate, metabolites, Tithonia*

The productivity and the constituents content of plants is determined by a group of factors inherent to plant and abiotics. In the first case are the biological characteristics and in the second, the soil, climate and

Los metabolitos primarios, muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta; se encuentran presentes en grandes cantidades y son de fácil extracción. Con el objetivo de evaluar el efecto de la madurez de la planta y los factores climáticos en el contenido de metabolitos primarios en *Tithonia diversifolia* se desarrolló el experimento, según un diseño en bloques al azar, con tres tratamientos (60, 120 y 180 días) y cuatro réplicas. Se evaluaron los contenidos de nitrógeno, glucosa, fructosa y sacarosa mediante análisis de varianza, correlación y regresión con el sistema estadístico SPSS versión 22.0. Los contenidos de nitrógeno, glucosa, sacarosa y fructosa durante los dos períodos estacionales en la *T. diversifolia* disminuyeron con la edad de rebrote (de desde 60 hasta 180 días) en 13.15, 0.008, 0.015 y 0.007 g.kg⁻¹ para el período lluvioso, mientras que para el poco lluvioso fueron de 17.39, 0.002, 0.003 y 0.0009 g.kg⁻¹, respectivamente. Se ajustaron ecuaciones de regresión cuadráticas con la edad de rebrote para todos los indicadores. Todos los coeficientes de regresión fueron superiores a 0.95 para los metabolitos primarios en ambos períodos estacionales, excepto para sacarosa y fructosa durante el período poco lluvioso que fue de 0.93 y 0.91, respectivamente. Las correlaciones fueron muy variables donde los días con lluvia se relacionaron con todos los metabolitos primarios durante el período lluvioso, mientras que durante el poco lluvioso solo nitrógeno presentó correlación significativa. Las funciones explican la estrecha correspondencia entre crecimiento y los contenidos de metabolitos primarios, y las fluctuaciones encontradas en los azúcares influenciados por el estado fenológico de la arbustiva y su actividad fotosintética.

Palabras clave: *arbusto, ecuaciones, edad, clima, metabolitos, Tithonia*

La productividad y el contenido de constituyentes de las plantas está determinada por un grupo de factores inherentes al vegetal y abióticos. En el primer caso se encuentran sus características biológicas y en el segundo, el suelo, clima y

management (Herrera *et al.* 2017a). These aspects have particular importance nowadays, due to the high price of raw materials for the production of concentrate foods for animals and the fertilizers for grass cultivation (Estrada-Jiménez *et al.* 2019).

The use of shrubs in livestock systems has great importance during the last years, due to its nutritional, productive and environmental contribution (Schultze-Kraft *et al.* 2018) and among them *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray highlighted thanks to their genetic diversity (Del Valle *et al.* 2017), wide adaptation to different environmental conditions (Ruiz *et al.* 2010), high variability in the morphological indicators (Rivera *et al.* 2018), high biomass production (Ruiz *et al.* 2017) and better chemical composition (Londoño *et al.* 2019) than the most of grasses used in the tropic (Herrera *et al.* 2020).

This species, as other plants, have many organic compounds named primary metabolites, among them are in first term, the sugars or carbohydrates, which are produced as the result of the photosynthesis and are used by the plants for many functions, among them, the synthesis of secondary compounds; so these primary compounds are important in the interaction of the plant with their environment.

In accordance with Martín (2017) and Isah (2019), their presence and concentration can vary between species and varieties due to biotic factors like biochemical and physiological processes of the plant (Herrera *et al.* 2020) and abiotic factors (geoclimatic factors, seasonal changes, ultraviolet radiation, water availability, temperature, soil composition), aspects that could cause the decrease of the photosynthetic activity of the plant and in consequence, the carbohydrates values decreased (glucose, fructose and sucrose) and are mobilized for the secondary metabolites production; as well as, the nitrogenous nutrients are also used in the synthesis of more complex substances from the plant secondary metabolism like the defense mechanisms (Reyes-Silva *et al.* 2020).

When considered the previous exposed, the objective of this research was to evaluate the effect of the plant maturity and the climatic factors on the primary metabolites content in *Tithonia diversifolia*.

Materials and Methods

Research area, climate and soil. The study was carried out in areas of the Departamento Docente-Productivo from Universidad de Granma, in the southeastern of Cuba, Granma province, at 17.5 km from Bayamo city. Studies during two years (2014-2015) were performed and two seasons were considered, the rainy season (May-October) and dry season (November-April).

The soil in the area was calcic haplustept (Soil Survey Staff 2014), with a pH of 6.2. The content of P₂O₅, K₂O and total N was 2.4; 33.42 and 3 mg/100g of soil,

manejo (Herrera *et al.* 2017a). Estos aspectos cobran en la actualidad particular importancia, debido al elevado precio de las materias primas para la producción de alimentos concentrados para los animales y de los fertilizantes para el cultivo de los pastos. (Estrada-Jiménez *et al.* 2019).

El uso de arbustivas en los sistemas pecuarios ha 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 gracias a su diversidad genética (Del Valle *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 (Herrera *et al.* 2020).

Esta especie, como otras plantas, contienen numerosos compuestos orgánicos denominados metabolitos primarios, entre los que se encuentran en primer término, los azúcares o carbohidratos, que se producen como resultado de la fotosíntesis y son empleados por las plantas para muchas funciones, entre ellas la síntesis de compuestos secundarios; por lo que estos compuestos primarios son importantes en la interacción de la planta con su entorno.

De acuerdo con Martín (2017) e Isah (2019), su presencia y concentración puede variar entre especies y variedades debido a factores bióticos como los procesos bioquímicos y fisiológicos de la planta (Herrera *et al.* 2020) y abióticos (factores geoclimáticos, cambios estacionales, radiación ultravioleta, disponibilidad de agua, temperatura, composición del suelo), aspectos que pueden propiciar la disminución de la actividad fotosintética de la planta y por consiguiente, decrecen los valores de los carbohidratos (glucosa, fructosa y sacarosa) y son movilizados para la producción de metabolitos secundarios; así como, los nutrientes nitrogenados también son destinados a la síntesis de sustancias más complejas provenientes del metabolismo secundario vegetal como los mecanismos de defensa (Reyes-Silva *et al.* 2020).

Al considerar lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la madurez de la planta y los factores climáticos en el contenido de metabolitos primarios en *Tithonia diversifolia*.

Materiales y Métodos

Área de investigación, clima y suelo. El estudio se desarrolló en áreas del Departamento Docente-Productivo de la Universidad de Granma, al sureste de Cuba, en la provincia de Granma, a 17.5 km de la ciudad de Bayamo. Se realizaron estudios durante dos años (2014-2015) y se consideraron dos períodos, el lluvioso (mayo-octubre) y poco lluvioso (noviembre-abril).

El suelo presente en el área fue calcic haplustept (Soil Survey Staff 2014), con pH de 6.2. El contenido de P₂O₅, K₂O y N total fue de 2.4; 33.42 y 3 mg/100g de suelo, respectivamente y 3.6% de materia orgánica.

respectively and 3.6 % of organic matter.

During the rainy season, the rainfalls were of 731.4 mm; the mean, minimum and maximum temperature recorded values of 26.73; 22.31 and 33.92 °C, respectively and the relative humidity was of 80.78; 51.02 and 96.22 %, for the mean, minimum and maximum, respectively. In the dry season, rainfalls reached values of 270 mm; the temperature was of 24.05; 18.29 and 31.58 °C for the mean, minimum and maximum, respectively and the minimum, mean and maximum relative humidity with averages of 76.21; 44.16 and 97.03 %, respectively. Values that correspond with the historical performance for the area.

Treatment and experimental design. A random block design with four replications (plots) was used, considering as treatments the regrowth ages 60, 120 and 180 days.

Procedure. For the established species (*T. diversifolia*) at the beginning of each seasonal period a homogeneity cut at 15 cm soil height was performed. The samplings in each plot (0.5 ha) were carried out taking 10 random plants eliminating the first and the last plant of the plot in order to avoid the border effect. The sample was homogenized and weighed. Later, was manually separated in leaves, petioles and stems, these last with diameter inferior to two cm considering all edible biomass. Later a kilogram per each of the treatments was taken for the laboratory analysis. During the experimental stage irrigation and fertilization was not applied.

Chemical analysis. The samples were dried at room temperature in dark and ventilated room for 12 days. Later, a total of 300g were milled to a particle size of 1mm for each repetition. They were stored in amber bottles at room temperature until their analysis.

It was determined: dry matter (DM) and nitrogenous (N) in accordance with the AOAC (2016), while the contents of glucose, fructose and sucrose according to the qualified method of Lane and Eynon, which is based on the reduction of Cu^{+2} a Cu^{+1} by the reducing sugars, using methyl blue as indicator (AOAC 2016).

Statistical analysis and calculations. The Kolmogorov-Smirnov tests were performed for the normal distribution of data (Massey 1951), homogeneity of variances (Bartlett 1937), as well as the analysis of variance (ANOVA) of double classification and means comparison according to Duncan (1955). To establish the functional relation between sugars and age, the regression equations (linear, quadratic, cubic, logarithmic and Gompertz) were analyzed and the descending method was used. For the choice of the better expression and their goodness of fit the Guerra *et al.* (2003) criteria related with the high value of the determination coefficient (R^2), high significant of the expression and its parameters, low standard errors of the expression and its parameters, residue analysis and concordance test between the observed and estimated

Durante el período lluvioso, las precipitaciones fueron de 731.4 mm; la temperatura media, mínima y máxima registró valores de 26.73; 22.31 y 33.92 °C, respectivamente y la humedad relativa fue de 80.78; 51.02 y 96.22 %, para la media, mínima y máxima, respectivamente. En el período de poco lluvioso, las precipitaciones alcanzaron valores de 270 mm; la temperatura fue de 24.05; 18.29 y 31.58 °C para la media, mínima y máxima, respectivamente y la humedad relativa mínima, media y máxima con promedios de 76.21; 44.16 y 97.03 %, respectivamente. Valores que se corresponden con el comportamiento histórico para la región.

Tratamiento y diseño experimental. Se empleó un diseño en bloques al azar con cuatro réplicas (parcelas), considerándose como tratamientos las edades de rebrote de 60, 120 y 180 días.

Procedimiento. Para la especie ya establecida (*T. diversifolia*) al inicio de cada período estacional se realizó un corte de homogeneidad a 15 cm de altura del suelo. Los muestreos en cada parcela (0.5 ha) se realizaron tomando 10 plantas al azar eliminando la primera y la última de la parcela para evitar el efecto de borde. La muestra se homogenizó y pesó. Con posterioridad se separó, de forma manual, en hojas, peciolo y tallos, estos últimos con diámetro inferior a dos cm considerados todo lo anterior como biomasa comestible. Luego se tomó un kilogramo por cada uno de los tratamientos para los análisis en el laboratorio. Durante la etapa experimental no se aplicó riego ni fertilización.

Análisis químico. Las muestras se secaron a temperatura ambiente en un local oscuro y ventilado durante 12 días. Con posterioridad se molinaron 300 g para cada repetición hasta tamaño de partícula de un milímetro. Se almacenaron en frascos de color ámbar a temperatura ambiente hasta su análisis.

Se determinó: materia seca (MS) y nitrógeno (N) de acuerdo con la AOAC (2016), mientras que los contenidos de glucosa, fructosa y sacarosa según el método de titulación de Lane y Eynon, el cual se fundamenta en la reducción del Cu^{+2} a Cu^{+1} por los azúcares reductores, empleando como indicador azul de metileno (AOAC 2016).

Análisis estadístico y cálculos. Se realizaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov para la distribución normal de los datos (Massey 1951), homogeneidad de las varianzas (Bartlett 1937), así como el análisis de varianza (ANOVA) de clasificación doble y comparación de medias según Duncan (1955). Para establecer la relación funcional entre azúcares y edad, se analizaron las ecuaciones de regresión (lineales, cuadráticas, cúbicas, logarítmicas y Gompertz) y se utilizó el método descendente. Para la elección de la mejor expresión y su bondad de ajuste se tuvieron en cuenta los criterios de Guerra *et al.* (2003) relacionados con el alto valor del coeficiente de determinación (R^2), alta significación de la expresión y sus parámetros, bajos errores estándar de la expresión y sus parámetros, análisis de residuos y prueba de concordancia entre los valores observados y estimados.

values were taken into account.

The correlation coefficients (Visauta 2007) were established between primary metabolites (nitrogen, glucose, sucrose and fructose) with the age and climatic factors. For all the above, the statistic program SPSS version 22.0 (IBM 2015) was used.

Results

The contents of nitrogen, glucose, sucrose and fructose in *T. diversifolia* decreased with the regrowth age in 13.15, 0.008, 0.015 and 0.007 g.kg⁻¹ in the rainy season; while, for the dry season were of 17.39, 0.002, 0.003 and 0.0009 g.kg⁻¹, respectively (table 1).

Se establecieron los coeficientes de correlación (Visauta 2007) entre los metabolitos primarios (nitrógeno, glucosa, sacarosa y fructosa) con la edad y factores climáticos. Para todo esto se empleó el programa estadístico SPSS versión 22.0 (IBM 2015).

Resultados

Los contenidos de nitrógeno, glucosa, sacarosa y fructosa en la *T. diversifolia* disminuyeron con la edad de rebrote en 13.15, 0.008, 0.015 y 0.007 g.kg⁻¹ en el período lluvioso; mientras que, para el poco lluvioso fueron de 17.39, 0.002, 0.003 y 0.0009 g.kg⁻¹, respectivamente (tabla 1).

Table 1. Effect of regrowth age on primary metabolites content

Age, days	Nitrogen, g.kg ⁻¹	Glucose, g.kg ⁻¹	Sucrose, g.kg ⁻¹	Fructose, g.kg ⁻¹
Rainy season				
60	39.52 ^a	0.014 ^a	0.028 ^a	0.014 ^a
120	31.41 ^b	0.005 ^c	0.007 ^c	0.003 ^c
180	26.37 ^c	0.006 ^b	0.013 ^b	0.007 ^b
SE±	1.63	0.001	0.003	0.002
p	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Dry season				
60	46.42 ^a	0.0072 ^a	0.011 ^b	0.0037 ^b
120	41.87 ^b	0.0056 ^b	0.013 ^a	0.007 ^a
180	29.03 ^c	0.0052 ^c	0.008 ^c	0.0028 ^c
SE±	2.22	0.0003	0.0006	0.00054
p	0.0001	0.0001	0.001	0.0001

^{abc} Values with common letters differ to P<0.05 (Duncan 1955)

Quadratic equations were fitted for all the indicators. All the regression coefficients were higher to 0.95 for all metabolites in both seasonal periods except for sucrose and fructose during the dry season that was 0.93 and 0.91, respectively (table 2).

The correlations between sugars and nitrogen (primary compounds) with the climate factors were changeable (table 3). During the rainy season the

Se ajustaron ecuaciones cuadráticas para todos los indicadores. Todos los coeficientes de regresión fueron superiores a 0.95 para todos los metabolitos en ambos períodos estacionales excepto para sacarosa y fructosa durante el poco lluvioso que fue de 0.93 y 0.91 (tabla 2).

Las correlaciones entre los azúcares y nitrógeno (compuestos primarios) con los factores del clima fueron variables (tabla 3). Durante el período lluvioso

Table 2. Relation of the regrowth age with the nitrogen content and *Tithonia diversifolia* sugars

Indicators	a	b	c	R ²	SE±
Rainy season					
Nitrogen	50.551	-0.206	0.000399	0.99	0.3470
Glucose	00.031	-0.000367	0.0000013	0.97	0.0010
Sucrose	00.072	-0.001	0.0000033	0.96	0.0020
Fructose	00.039	-0.001	0.0000012	0.95	0.0010
Dry season					
Nitrogen	44.016	0.101	-0.001	0.99	0.4850
Glucose	00.010	-0.000049	0.00000014	0.99	0.0001
Sucrose	00.004	0.000155	-0.00000074	0.93	0.0004
Fructose	-00.006	0.000206	-0.00000089	0.91	0.0004

a: quadratic term b: linear term c: independent term
R² all to p<0.001

higher coefficient (r) values were for sucrose with the rainy days and maximum temperature (-0.92 and -0.69, respectively); nitrogen with minimum, mean temperature and rainy days (-0.47, -0.46 and -0.87, respectively); glucose with minimum, mean temperature and rainy days (-0.65, -0.65 and -0.69, respectively) and fructose with the minimum relative humidity and rainy days (-0.88, -0.46 and -0.68, respectively) it is important to highlighted that the rainy days were related with all the indicators. In the dry season only the N correlated with the minimum and mean temperature, the mean, maximum, minimum relative humidity, total rainfalls and rainy days(-0.68, -0.72, -0.65, -0.65, 0.76 and -0.94, respectively) and fructose with mean, maximum temperature and total rainfalls (0.65, -0.59 and 0.58, respectively).

los valores de coeficiente (r) superiores fueron para sacarosa con los días con lluvia y temperatura máxima (-0.92 y -0.69, respectivamente); nitrógeno con la temperatura mínima, media y días con lluvia (-0.47, -0.46 y -0.87, respectivamente); glucosa con temperatura mínima, media y días con lluvia (-0.65, -0.65 y -0.69, respectivamente) y fructosa con la humedad relativa mínima, lluvias totales y días con lluvia (-0.88, -0.46 y -0.68, respectivamente), vale destacar que los días con lluvia se relacionaron con todos los indicadores. En el período poco lluvioso solo el N correlacionó con la temperatura mínima y media, la humedad relativa media, máxima, mínima, lluvias totales y días con lluvia (-0.68, -0.72, -0.65, -0.65, 0.76 y -0.94, respectivamente) y la fructosa con temperatura máxima, media y lluvias totales (0.65, -0.59 y 0.58, respectivamente)

Table 3. Correlation between primary metabolites content and climatic factors

Dependent variables, %	Independent variables							
	Temperature, °C			Relative humidity, %			Rainfalls, mm	
	Max.	Min.	Mean	Mean	Max.	Min.	Total	# of days
Rainy season								
Nitrogen	-0.33	-0.47*	-0.46*	-0.31	-0.328	0.20	-0.30	-0.87**
Glucose	0.014	-0.65*	-0.65*	0.03	0.15	-0.18	-0.52*	-0.69*
Sucrose	-0.69*	-0.31	-0.31	-0.04	-0.068	-0.23	-0.17	-0.92**
Fructose	-0.24	-0.44	-0.44	-0.21	-0.238	-0.88**	-0.46*	-0.68*
Dry season								
Nitrogen	0.33	-0.68*	-0.72**	-0.65**	-0.65*	-0.65*	0.76**	-0.94**
Glucose	-0.13	-0.001	0.14	-0.01	-0.008	-0.007	-0.14	0.099
Sucrose	0.32	0.03	-0.33	0.04	0.04	0.042	0.32	-0.22
Fructose	0.66*	0.21	-0.59*	0.24	0.24	0.24	0.58*	-0.29

Max: maximum Min: minimum

*P<0.01 ** P<0.001 *** P<0.0001

Discussion

The reduction of primary metabolites (table1) has been described by Salas *et al.* (2015), Méndez *et al.* (2018) and Paumier *et al.* (2018), whose found in *Phaseolus vulgaris*, *Moringa oleifera* y *Gliricidia sepium* that values of carbohydrates and nitrogenous compounds were closely related with the succession of phenological events, from the early growth up to the flowers formation and flowering. From the last one, the general decrease of sugars and protein compounds begin, since the performance of energy metabolites in accordance to the morpho- structural variations depends on the species, nutritional state and edaphoclimatic conditions in which it is cultivate.

The obtained models and the higher values of R² reported in table 2 are similar to those informed by Herrera *et al.* (2017ab), Paumier *et al.* (2018) and Verdecia *et al.* (2018), when evaluating the age effect and climatic factors in the nitrogen content in forage species in Valle del Cauto. They associate the N

Discusión

La disminución de los metabolitos primarios (tabla 1) ha sido descrita por Salas *et al.* (2015), Méndez *et al.* (2018) y Paumier *et al.* (2018), quienes en *Phaseolus vulgaris*, *Moringa oleifera* y *Gliricidia sepium* encontraron que los valores de carbohidratos y compuestos nitrogenados estaban estrechamente correlacionados con la sucesión de los eventos fenológicos, desde el crecimiento temprano hasta la formación de las flores y floración. A partir de este último, comenzó el decrecimiento general de los azúcares y compuestos proteicos, ya que el comportamiento de los metabolitos energéticos en correspondencia con las variaciones morfo-estructurales depende de la especie, estado nutricional y condiciones edafoclimáticas en la cual se cultiva.

Los modelos obtenidos y los elevados valores de R² reportados en la tabla 2 son similares a los informados por Herrera *et al.* (2017ab), Paumier *et al.* (2018) y Verdecia *et al.* (2018), al evaluar el efecto de la edad y los factores

decrease with the cut frequency due to the reduction of the protein compounds synthesis, the decrease of the amount of leaves, increase of the fraction stems and increase of the structural carbohydrates synthesis (cellulose and hemicellulose) and phenolic compounds (lignin).

Other authors as Torres-Navarrete *et al.* (2019), associate this performance with the high proportion of stems in the sample, since, usually, in the literature are reported N values of approximately 33.6 g/kg DM in leaves, while in the stems range between 11.2 and 22 g/kg DM. Generally, the observed values in the analyzed plants are similar to those of the temperate legumes. The founded contents are in the range established by Camacho-Escobar *et al.* (2020) for tropical legumes, given importance to the results of this study.

On the other hand, Rivera *et al.* (2018) stated that *T. diversifolia* is a plant which is characterized of having excellent quality, due to its low fiber content and good relation of nutrients in their foliage, mainly high content of nitrogenous compounds in its first vegetative phase. Herrera *et al.* (2020) and Paumier *et al.* (2020), founded nitrogen concentrations of 26-46 g/kg of DM, while Verdecia *et al.* (2021) notified similarities regarding the content and nitrogen variability of *T. diversifolia* and *G. sepium*, emphasizing the importance of using the combination of legume forage species in animal feeding.

The trees quality varied in the different biomass components. Leaves has high nutrients concentrations than the branches and stems, and this variation has also related with the age, having the young leaves more nitrogen content than older leaves (Lodoño *et al.* 2018). These results coincide with those reported for this species (Gallego-Castro *et al.* 2017, Cerdas-Ramírez 2018 and Rodríguez *et al.* 2019).

The variability in the sugars with the age is due to the differentiated photosynthetic capacity of each species, related with the content of minerals and potassium, which is the mediator of metabolism and of the primary carbohydrates transport in the plant (Martín 2017).

The content of soluble carbohydrates is link to the morpho-structural development of plants. The concentrated reserves of these compounds, in fewer amounts, in the growing points (buds) favor the leaves concentrations of saccharides after the regrowth emission. However, although in general way these aspects are described, from the physiological point of view, the performance of energetic metabolites in function of morphologic variations depends on the species, nutritional state and edaphoclimatic conditions in which it is cultivated (Cao *et al.* 2011).

Li *et al.* (2018) when referring to the carbohydrates movement stated, that reserve content reach it higher value in the old leaves at the beginning of the flowering

climáticos en el contenido de nitrógeno en especies forrajeras en el Valle del Cauto. Asociaron la disminución del N con la frecuencia de corte debido a la reducción de la síntesis de compuestos proteicos, a la disminución de la cantidad de hojas, aumento de la fracción tallo e incremento de la síntesis de carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) y compuestos fenólicos (lignina).

Otros autores como Torres-Navarrete *et al.* (2019), asociaron este comportamiento con la alta proporción de tallos en la muestra, ya que, usualmente, en la literatura se reportan valores de N de aproximadamente 33.6 g/kg MS en las hojas, mientras que en los tallos oscila entre 11.2 y 22 g/kg MS. Generalmente, los valores observados en las plantas analizadas son similares a los de las leguminosas templadas. Los contenidos encontrados, están en el rango establecido por Camacho-Escobar *et al.* (2020) para las leguminosas tropicales, confiriéndole importancia a los resultados del presente trabajo.

Por otra parte, Rivera *et al.* (2018) plantearon que la *T. diversifolia* es una planta que se caracteriza por presentar excelente calidad, por su bajo contenido en fibra y buena relación de nutrientes en su follaje, principalmente alto contenido de compuestos nitrogenado en sus primeros estadios vegetativos. Herrera *et al.* (2020) y Paumier *et al.* (2020), encontraron concentraciones de nitrógeno de 26-46 g/kg de MS, mientras que Verdecia *et al.* (2021) notificaron similitudes en cuanto al contenido y variabilidad del nitrógeno de la *T. diversifolia* y *G. sepium*, lo que enfatiza la importancia de utilizar la combinación de especies forrajeras leguminosas en la alimentación animal.

La calidad de las arbóreas varía en los diferentes componentes de la biomasa. Las hojas presentan mayores concentraciones de nutrientes que las ramas y los tallos, y esta variación también se ha relacionado con la edad, presentado las hojas jóvenes más contenido de nitrógeno que hojas de edades más prolongadas (Lodoño *et al.* 2018). Estos resultados coinciden con los notificados para esta especie (Gallego-Castro *et al.* 2017, Cerdas-Ramírez 2018 y Rodríguez *et al.* 2019).

La variabilidad en los azúcares con la edad se debe a la diferenciada capacidad fotosintetizadora de cada especie, relacionado con el contenido de minerales como el potasio, el cual es mediador del metabolismo y del transporte de los carbohidratos primarios en las plantas (Martín 2017).

El contenido de carbohidratos solubles está ligado al desarrollo morfo-estructural de las plantas. Las reservas concentradas de estos compuestos, en menor cantidad, en los puntos de crecimiento (yemas) favorecen las concentraciones foliares de los sacáridos después de la emisión del rebrote. No obstante, aunque de forma general estos aspectos están descritos, desde el punto de vista fisiológico, el comportamiento de los metabolitos energéticos en función de las variaciones morfológicas depende de la especie, estado nutricional y condiciones edafoclimáticas en la cual se cultiva (Cao *et al.* 2011).

Li *et al.* (2018) al referirse a la movilización de los carbohidratos plantearon, que el contenido de reserva

and were moving during the fruit development but, observed the faster decrease of reserves in roots and leaves during the flowering, with a transitional increase of them at the beginning of the abscission of fruits and marked decrease up to a lower value at the end of the physiological abscission period, with which the fruit nutrition depends on the photosynthesis than of the tree reserves. Aspects that can explain what occur in this research.

The fluctuations of the non structural carbohydrates of *E. variegata* at the ages of 60 and 120 days found by Verdecia *et al.* (2020a) were attributed to genetic factors, edaphoclimatic conditions and the used cultivation techniques. The plant maturity, the transport and storing conditions, are important when evaluating the carbohydrates content, if it taking into account that the fructose is synthesized during the first growing stages. The sugars concentrations in *Tithonia* were similar to those obtained in the foliage of other non-legumes plants like *Morus alba*, *Trichantera gigantea*, *Cnidioscolum aconitifolium* and *Ficus carica* (García *et al.* 2008). However, the amounts were lower to that informed in some legumes of traditional use as forage (Yang *et al.* 2018), in which the value of these compounds in mature foliage has been determined. These confirm the above described, where the intervention of different factors in the content of those sugars is explained.

On this matter, it is known that generally the non-legumes compared with legumes has higher amount of soluble carbohydrates when both groups are in the same phenological state (Flores-Villa *et al.* 2020). However, it has been showed in different experimental conditions, that the biomass age influence on the concentration of carbon hydrates (Guerreiro *et al.* 2018).

Salvucci *et al.* (2010) when studied the content of glucose, fructose and sucrose in *Parthenium argentatum* foliage found the higher concentrations during the rainy season, due to the higher photosynthetic activity and consequently increase of carbohydrates formation. Brueckner *et al.* (2010) found 0.09 - 0.11; 0.15 - 0.16 and 0.03 - 0.04 g/kg DM of glucose, fructose and sucrose, respectively, values higher than those reported in this study. This could be attributed to the differences in the experimental conditions and of species.

Regarding the correlation between nitrogen, glucose, sucrose and fructose with the age and climatic factors (tabla3), the results coincide with those found by Herrera *et al.* (2017 ab), Paumier *et al.* (2018) and Herrera *et al.* (2020) who founded higher correlation coefficients (r) between regrowth age, total rainfalls and rainy days with the nitrogen and sugars.

In this sense, Hernández-Espinoza *et al.* (2020) explained that the stress produced by abiotics factors affects the kinetic of carbohydrates metabolism,

alcanza su máximo valor en las hojas adultas al principio de la floración y se movilizan durante el desarrollo del fruto pero, observó la rápida disminución de las reservas presentes en raíces y hojas durante la floración, con un aumento transitorio de estos al inicio de la abscisión de los frutos y franca disminución hasta un valor mínimo al final del período de abscisión fisiológica, con lo cual la nutrición del fruto pasa a depender de la fotosíntesis más que de las reservas del árbol. Aspectos que pueden explicar lo ocurrido en esta investigación.

Las fluctuaciones de los carbohidratos no estructurales de la *E. variegata* a las edades de 60 y 120 días encontradas por Verdecia *et al.* (2020a) fueron atribuidas a factores genéticos, condiciones edafoclimáticas, y las técnicas de cultivo utilizadas. La maduración de la planta, las condiciones de transporte y almacenamiento, son importantes a la hora de evaluar el contenido en carbohidratos, si se tiene en cuenta que la fructosa se sintetiza durante las primeras etapas del crecimiento. Las concentraciones de azúcares en *Tithonia* fueron similares a las obtenidas en el follaje de otras plantas no leguminosas tales como *Morus alba*, *Trichantera gigantea*, *Cnidioscolum aconitifolium* y *Ficus carica* (García *et al.* 2008). Sin embargo, las cantidades fueron inferiores a lo informado en algunas leguminosas de uso tradicional como forraje (Yang *et al.* 2018), en las cuales se ha determinado el valor de estos compuestos en follajes maduros. Esto corrobora lo descrito con anterioridad, donde se explica la intervención de diferentes factores en los contenidos de dichos azúcares.

Al respecto, es conocido que generalmente las no leguminosas comparadas con las leguminosas presentan mayor cantidad foliar de carbohidratos solubles cuando ambos grupos se encuentran en el mismo estado fenológico (Flores-Villa *et al.* 2020). Sin embargo, se ha demostrado en diferentes condiciones experimentales, que la edad de la biomasa influye en la concentración de los hidratos de carbono (Guerreiro *et al.* 2018).

Salvucci *et al.* (2010) al estudiar el contenido de glucosa, fructosa y sacarosa en el follaje de *Parthenium argentatum* encontraron las mayores concentraciones durante el período de lluvias, debido a la mayor actividad fotosintética y por consiguiente incremento de la formación de carbohidratos. Por su parte, Brueckner *et al.* (2010) hallaron 0.09 - 0.11; 0.15 - 0.16 y 0.03 - 0.04 g/kg MS de glucosa, fructosa y sacarosa, respectivamente valores estos superiores a los registrados en el presente estudio. Esto se puede atribuir a las diferencias en las condiciones experimentales y de especie.

En cuanto a la correlación entre nitrógeno, glucosa, sacarosa y fructosa con la edad y los factores climáticos (tabla3), los resultados alcanzados coinciden con los encontrados por Herrera *et al.* (2017 ab), Paumier *et al.* (2018) y Herrera *et al.* (2020) quienes encontraron elevados coeficientes de correlación (r) entre la edad de rebrote, lluvias totales y días con lluvias con el nitrógeno y los azúcares.

in a way that the balance of environmental factors influence on the source-utilization relation and, therefore the final accumulation of this compounds in the storage organs. Hence, that in the improvement process of the different species and genotypes selection had been taking into account that these can endure the exigencies caused by the adverse abiotics conditions, for that, the fit capacity or tolerance of plants to this conditions don't be limited.

Herrera *et al.* (2017a) when correlate the chemical composition and climatic variables in this species established some hypothesis: a) all seems to be that the changes in the chemical composition are less sensitive to temperature variations; b) it is more important the rainfalls distribution than the total of them in the variability of chemical composition. In addition if these results are compared with those obtained in meadow grasses, as well as those reached in *Leucaena* are totally different. (Herrera *et al.* 2017 b), so it could be established the third hypothesis that are variations in the intensity and elements which intervene in the synthesis of the mentioned compounds. As hypothesis those needs specific researchers which explain this performance.

Conclusions

The regrowth age had marked effect on the primary metabolites content (nitrogen, glucose, fructose and sucrose) which explain the close relation, thorough the established regression equations. Regarding climatic factors the correlations were changeable as being marked during the rainy season, while in the dry season only nitrogen and fructose were related. This maintains that the higher variability and mobility of the main primary metabolites is due to the plant physiological processes.

Conflict of interest

There is not conflict of interest between the authors.

Author's contribution

Y. Ramírez-Pérez: Scientific idea, research design, data analysis, article writing

D.M. Verdecia-Acosta: Scientific idea, research design, data analysis, article writing

J.L. Ramírez-de la Ribera: Scientific idea, research design, data analysis, article writing

E. Chacón-Marcheco: Data analysis, article writing

R.C. Herrera-Herrera: Data analysis, article writing

J.L. Ledea-Rodríguez: Análisis de datos, escritura del artículo

R.S. Herrera García: Scientific idea, research design, data analysis, article writing

En este sentido, Hernández-Espinoza *et al.* (2020) plantearon que el estrés producido por los factores abióticos afecta la cinética del metabolismo de los carbohidratos, de manera que el balance de los factores ambientales influye en la relación fuente-utilización y, por tanto, la acumulación final de estos compuestos en los órganos de almacenamiento. De ahí, que en el proceso de mejoramiento de las diferentes especies y selección de genotipos se tenga en cuenta que estas puedan soportar las exigencias causadas por las condiciones abióticas adversas, para que, la capacidad de ajuste o tolerancia de las plantas a estas condiciones no sea limitada.

Por su parte, Herrera *et al.* (2017a) en esta especie al correlacionar la composición química y las variables climáticas establecieron varias hipótesis: a) todo parece indicar que los cambios en la composición química son menos sensibles a las variaciones de la temperatura; b) es más importante la distribución de las lluvias que el total de ellas en la variabilidad de la composición química. Además, si se comparan estos resultados con los obtenidos en las gramíneas pratenses, así como los alcanzados con la *Leucaena* son totalmente diferentes (Herrera *et al.* 2017 b), por lo que se pudiera establecer la tercera hipótesis de que existen variaciones en la intensidad y elementos que intervienen en la síntesis de los referidos compuestos. Como hipótesis, estas necesitan de investigaciones específicas que expliquen este comportamiento.

Conclusiones

La edad de rebrote tuvo efecto marcado en los contenidos de metabolitos primarios (nitrógeno, glucosa, fructosa y sacarosa), lo que explican la estrecha relación, a través de las ecuaciones de regresión establecidas. En cuanto a los elementos climáticos la correlación fueron variables al ser marcada durante el período lluvioso, mientras que en el poco lluvioso solo el nitrógeno y la fructosa se relacionaron. Esto sustenta que la mayor variabilidad y movilidad de los principales metabolitos primarios se debe a los procesos fisiológicos del vegetal.

Conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses entre los autores

Contribución de los autores

Y. Ramírez-Pérez: Idea científica, diseño de la investigación, análisis de datos, escritura del artículo

D.M. Verdecia-Acosta: Idea científica, diseño de la investigación, análisis de datos, escritura del artículo

J.L. Ramírez-de la Ribera: Idea científica, diseño de la investigación, análisis de datos, escritura del artículo

E. Chacón-Marcheco: Análisis de datos, escritura del artículo

R.C. Herrera-Herrera: Análisis de datos, escritura del artículo

J.L. Ledea-Rodríguez: Análisis de datos, escritura del artículo

R.S. Herrera García: Idea científica, diseño de la investigación, análisis de datos, escritura del artículo

References

- AOAC, G. W. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed., Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5, Available: <http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>>. [Consulted: September 22, 2016].
- Bartlett, M. 1937. "Properties of sufficiency and statistical tests". Proceedings of the Royal Society of London. Serie A 160(2): 268–282. ISSN:1467-985X DOI: <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109>.
- Brueckner, B., Schwarzbach, A. & Schrödter, R. 2010. "Correlation between sugar and saponin contents and sensory attributes of white asparagus". J. Verbr. Lebns. 5: 305-311. ISBN 978-607-17-0414-6. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00003-010-0595-x>.
- Camacho-Escobar, M.A., Ramos-Ramos, D.A., Ávila-Serrano, N.Y., Sánchez-Bernal, E.I. & López-Garrido, S.J. 2020. "Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes". Terra Latinoamericana. 38(2): 443-453. ISSN: 1870—9982. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.629>.
- Cao, H., Hwang, J. & Chen, X. 2011. "Carbohydrate-containing natural products in medicinal chemistry. Opportunity, challenge and scope of natural products in Medicinal Chemistry". Chem. Inform. 44(23): 411-431. ISSN:1522-2667. DOI: <https://doi.org/10.1002/CHIN.201323203>.
- Cerdas-Ramírez, R. 2018. "Extracción de nutrientes y productividad del botón de oro (*Tithonia diversifolia*) con varias dosis de fertilización nitrogenada". InterSedes. 39(19):172-187. ISBN 3-926446-66-8. DOI: <https://doi.org/10.15517/isucr.v19i39>.
- Del Valle, 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.
- Duncan, D.B. 1955. "Multiple range and multiple F test". Biometrics. 11(1): 1-42. ISBN:-. DOI: <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- Estrada-Jiménez, P.M., Ramírez-De la Ribera, J.L. & Verdecia-Acosta, D.M. 2019. "Aplicación de minería de datos en la estimación de componentes fitoquímicos". Revista ROCA. 15(2): 177-186. ISSN: 2074-0735.
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A.O. & Narro-Céspedes, R.I. 2020. "Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios". TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 23: 1-17. ISSN: 2395-8723. DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>.
- 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". Agron. Mesoam. 28(1):213-222. ISBN: 978-607-7953-80-7 DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21671>.
- García, D.E., Medina, M.G., Clavero, T., Cova, L.J., Domínguez, C. & Baldizán, A. 2008. "Caracterización nutritiva del follaje de seis especies forrajeras con énfasis en sus perfiles polifenólicos". Revista Científica FCV-LUZ 18(3): 188-196. ISSN: 0798-2259. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592008000200011.
- Guerra, C. W., Cabrera, A. & Fernández, L. 2003. "Criteria for the selection of statistical models in scientific research". Cuban Journal of Agricultural Science, 37(1): 3–10, ISSN: 2079-3480
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sánchez, A., Apone, F., Abdel-Salam, E.M., Qahtan, A.A., Alatar, A.A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J.F., Siddiqui, K.S., Hernández-Sotomayor, T. & Faisal, M. 2018. "Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists". Genes. 9(309):1-15. ISSN: 2073-4425. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes9060309>.
- Hernández-Espinoza, D.F., Lagunes-Espinoza, L.C., López-Herrera, M.A., Ramos-Juárez, J.A., González-Garduño, R. & Oliva-Hernández, J. 2020. Edad de rebrote de *Erythrina americana* Miller y concentración de compuestos fenólicos en el follaje. Madera y Bosques. 26(1): e2611826. <https://doi.org/10.21829/myb.2020.2611826>.
- Herrera, R.S., Verdecia, D.M. & Ramírez, J.L. 2020. "Chemical composition, secondary and primary metabolites of *Tithonia diversifolia* related to climate". Cuban Journal of Agricultural Science. 54(3): 425-433. ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/976>.
- Herrera, R.S., Verdecia, D.M., Ramírez, J.L., García, M. & Cruz, A.M. 2017a. "Secondary metabolites of *Leucaena leucocephala*. Their relationship with some climate elements, different expressions of digestibility and primary metabolites". Cuban Journal of Agricultural Science. 51 (1): 107-116. ISSN: 2079-3480. <http://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/690>.
- Herrera, R.S., Verdecia, D.M., Ramírez, J.L., García, M. & Cruz, A.M. 2017b. "Relation between some climatic factors and the chemical composition of *Tithonia diversifolia*". Cuban Journal of Agricultural Science. 51 (2): 1-9. ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/719>.
- IBM. (2015). SPSS. SPSS Statistics for Windows, version 22. 0 (SPSS Inc., Chicago, ILL., USA). Retrieved October 2, 2016, from <http://www-03.ibm.com/software/products/en/spss-statistics>
- Isah, T. 2019. "Stress and defense responses in plant secondary metabolites production". Biological Research. 52(39): 1-25. ISSN: 0717-6287. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>.
- Li, M., Li, P., Ma, F., Dandekar, A.M. & Cheng, L. 2018. "Sugar metabolism and accumulation in the fruit of transgenic apple trees with decreased sorbitol synthesis". Horticulture Research. 5(60): 1-11. ISSN 2052-7276. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-018-0064-8>.
- Londoño, J., Mahecha, L. & Angulo, J. 2018. "Desempeño agronómico y valor nutritivo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray para la alimentación de bovinos". Revista Colombiana de Ciencia Animal. 11(1): 1-13. ISSN: 2027-4297. DOI: <https://doi.org/10.24188/recia.v0.n0.2019.693>.
- Londoño, J., Mahecha, L. & Angulo, J. 2019. "Desempeño agronómico y valor nutritivo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray para la alimentación de bovinos". Revista Colombiana de Ciencia Animal, 11(1): 28-41, ISSN: 2027-4297, DOI: <http://dx.doi.org/10.24188/recia.v11.n1.2019.693>.

- Martín, D.A. 2017. "Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica". *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 9(1):81-104. ISSN: 2145-6453. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>.
- Massey, F.J. 1951. "The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit". *Journal of the American Statistical Association*. 4(543): 68-78. ISSN: 0162-1459. DOI: <https://dx.doi.org/10.2307/2280095>.
- Méndez, Y., Suárez, F.O., Verdecia, D.M., Herrera, R.S., Labrada, J.A., Murillo, B. & Ramírez, J.L. 2018. "Bromatological characterization of *Moringa oleifera* foliage in different development stages". *Cuban Journal of Agricultural Science*. 52(3): 1-10. ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/809>.
- Paumier, M., Méndez-Martínez, Y., Torres, E., Sánchez, A.R., Ramírez, J.L., Herrera, R.S., Santana, A. & Verdecia, D.M. 2020. "Indicators of Yield of *Tithonia diversifolia* in the Zone of Granma Province, Cuba". *Modern Concepts & Developments in Agronomy*. 6(4): MCDA. 000645. ISSN: 2637-7659. DOI: <https://doi.org/10.31031/MCDA.2020.06.000645>.
- Paumier, M., Verdecia, D.M., Ramírez, J.L., Herrera, R.S., Leonard, I., Santana, A. & Méndez, Y. 2018. "El contenido de metabolitos primarios de *Gliricidia sepium* en una zona del Valle del Cauto, Cuba". *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria*. 19(4): 1-8. ISSN 1695-7504. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040418.pdf>.
- Reyes-Silva, J., Salazar-Campos, A. & Ríos-Cortés, H.H. 2020. Metabolitos secundarios de las plantas (angiospermas) y algunos usos interesantes. *UNO Sapiens Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 1* Publicación semestral. 4 (2020): 16-18. ISSN: 2683-2054.
- 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): 1-20. ISSN: 2521-9952.
- Rodríguez, R., Galindo, J., Ruiz, T.E., Solís, C., Scull, I. & Gómez, S. 2019. "Valor nutritivo de siete ecotipos de *Tithonia diversifolia* colectados en la zona oriental de Cuba". *Livestock Research for Rural Development*. 31(8). ISSN: 2521-9952. <http://lrrd.cipav.org.co/lrrd31/8/ruiz31119.html>.
- Ruiz, T. E., Febles, G., Torres, V., González, J., Achang, 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): 291-296, ISSN: 2079-3480.
- 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.
- Salas, R., Ordoñez, E. & Reátegui, D. 2015. "Polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en cuatro variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* l.) crudo seco, remojado y cocido". *Investigación y Amazonía*. 5(1 y 2): 55-62. ISSN: 2224-445X. <https://revistas.unas.edu.pe/index.php/revia/article/view/59/46>.
- Salvucci, M.E., Berta, C., Byers, J.A. & Canarini, A. 2010. "Photosynthesis and assimilate partitioning between carbohydrates and isoprenoid products in vegetatively active and dormant guayule: physiological and environmental constraints on rubber accumulation in a semiarid shrub". *Physiology Plantarum*. 140(4): 368-379. ISSN: 1399-3054. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2010.01409.x>.
- 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).
- Soil Survey Staff. 2014. Keys to soil taxonomy, 12th ed. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service, Washington, United States. ISBN: 978-1-4296-8745-4. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/taxonomy/?cid=nrcs142p2_053580.
- Torres-Navarrete, E., Sánchez-Laiño, A., Espinoza-Guerra, I., Barrera-Álvarez, A., Verdecia, D.M., Ramírez, J.L. & Herrera, R.S. 2019. "Productivity, chemical composition and in situ ruminal degradation kinetics of *Morus alba* at different regrowth ages". *Cuban Journal of Agricultural Science*. 53(4): 447-457. ISSN: 2079-3480. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/924>.
- 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. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/838>.
- Verdecia, D.M., Herrera, R.S., Ramírez, J.L., Leonard, I., Bodas, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., Valdés, C., Arceo, Y., Paumier, M., Santana, A., Álvarez, Y., Méndez-Martínez, Y. & López S. 2020b. "Effect of age of regrowth, chemical composition and secondary metabolites on the digestibility of *Leucaena leucocephala* in the Cauto Valley, Cuba". *Agroforestry Systems*. 94(4): 1247-1253. ISSN: 0167-4366. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0339-y>.
- Verdecia, D.M., Herrera, R.S., Ramírez, J.L., Paumier, M., Bodas, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., Valdés, C., Arceo, Y., Álvarez, Y., Méndez-Martínez, Y. & López, S. 2020a. "*Erythrina variegata* quality in the Cauto Valley, Cuba". *Agroforestry Systems*. 94(4): 1209-1218. ISSN: 0167-4366. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00353-z>
- Visauta, V. B. 2007. Análisis estadístico con SPSS 14: estadística básica. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana, 281 p., ISBN: 978-84-481-5670-1.
- Yang, L., Kui-Shan, W., Xiao, R., Ying-Xian, Z., Feng, W. & Qiang, W. 2018. "Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors". *Molecules*. 23(762): 1-26. ISSN: 1420-3049. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>.

Received: Junio 16, 2022

Accepted: Agosto 15, 2022