

PROGRAMA DE POSGRADO

**MAESTRIA
EN AGROFORESTERÍA Y AGRICULTURA SOSTENIBLE**

**EVALUACIÓN PRODUCTIVA Y POTENCIAL DE MITIGACIÓN DE LA
PRODUCCION DE METANO DEL PASTO (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752)
EN SISTEMAS SILVOPASTORILES MEJORADOS EN EL TRÓPICO HÚMEDO
DE COSTA RICA**

**PROYECTO DE TESIS SOMETIDO A CONSIDERACIÓN DE LA DIVISIÓN DE
EDUCACIÓN Y EL PROGRAMA DE POSGRADO
COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE**

KENIA LIZETH DAVID LAGOS

TURRIALBA, COSTA RICA

OCTUBRE, 2020

Este anteproyecto de tesis de maestría ha sido aceptado, en su presente forma, por los co-directores de tesis y los miembros del Comité Consejero del (de la) estudiante **Kenia Lizeth David Lagos**, por la Unidad de Biometría y por la Decanatura de la Escuela de Posgrado del CATIE, por lo que se considera que llena los requisitos para poder ser presentado ante la comunidad científica de CATIE.

FIRMANTES:



Cristobal Villanueva, M.Sc.
Codirector de la tesis

Muhammad Ibrahim, Ph.D.
Codirector de la tesis

Danilo Pezo, Ph.D.
Miembro del Comité Consejero

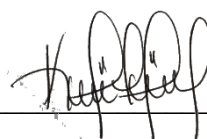


Rein van der Hoek, Ph.D.
Miembro del Comité Consejero



Fernando Casanoves, Ph.D.
Unidad de Biometría

Roberto Quiroz Guerra, Ph.D.
Decano de la Escuela de Posgrado



Kenia Lizeth David
Candidato

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS/HIPOTESIS	3
3.1. Objetivo general	3
3.2. Objetivos específicos	4
3.3. Enfoque de investigación	4
3.4. Preguntas de investigación	5
3.5. Hipótesis.....	5
4. MARCO REFERENCIAL	5
4.1. Rol de la estabilidad en la producción forrajera para la adaptación de sistemas ganaderos al cambio climático.	5
4.2. Sistemas silvopastoriles (SSP)	7
4.3. Uso de leñosas perennes y su importancia en SSP	7
4.3.1. Botón de oro (<i>Tithonia diversifolia</i>)	7
4.3.2. <i>Leucaena diversifolia</i>	8
4.4. Gramíneas.....	9
4.4.1. Pasto Cayman.....	9
4.5. Producción de metano	10
5. METODOLOGÍA	12
5.1. Descripción del sitio	12
5.1.1. Lugar y periodo de estudio:	12
5.2. Establecimiento del ensayo.....	12
5.2.1. Diseño experimental.....	12
5.3. Disponibilidad de biomasa y calidad forrajera:	14
5.3.1. Diseño experimental.....	14
5.4. Variables a medir	14
5.4.1. Disponibilidad de biomasa:	14
5.4.3. Calidad nutricional:.....	15
5.5. Producción diaria y calidad de leche.....	16
5.5.1. Diseño experimental.....	16
5.5.2. Producción y calidad de leche	17
5.4. Metano <i>in vitro</i>	17
5.7. Análisis de los datos	18
5.8 Resultados esperados	19
6. CRONOGRAMA	20
7. PRESUPUESTO	21
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Enfoque de la investigación	4
Cuadro 2. Identificación de tratamientos.....	13
Cuadro 3. Distribución de plantas en los tratamientos.	13
Cuadro 4. Distribución de los tratamientos para metano in vitro.....	18

Índice de Figuras

Figura 1. Localización del estudio	12
---	----

Lista de Acrónimos

IPCC	Panel intergubernamental de expertos para el cambio climático
GEI	Gases de efecto invernadero
FAO	Organización de las naciones unidas para la Agricultura y la alimentación
SSP	Sistemas Silvopastoriles
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
PC	Proteína cruda
PRV	Pastoreo Racional Voisin
CATIE	Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
GLMMs	Modelos Lineales Generalizados Mixtos
ANDEVA	Análisis de varianza
UA	Unidad animal
FND	Fibra neutro detergente
FAD	Fibra ácido detergente
F:C	Relación Forraje:Concentrado
DEL	Días en lactancia
BCA	Bloques completos al azar
DCA	Diseño completo al azar
DGC	Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves

1. INTRODUCCIÓN

El incremento poblacional para el año 2050 impulsa el crecimiento en la demanda de alimentos aproximadamente en un 50%, en el caso de la leche y carne el aumento sería de 73 y 58%, respectivamente (Gerber *et al* 2013). Este aumento en la demanda de productos de origen animal conlleva a la búsqueda de la máxima eficiencia productiva y consecuentemente la intensificación de los sistemas productivos, buscando con esto aumentar los rendimientos de leche por unidad de área y a la vez conduce a reducción en el número de animales necesarios para satisfacer la demanda, cada vez en menor área disponible (Styles *et al.* 2018).

En Costa Rica el 79% de las fincas destinadas a la producción de leche utilizan el pastoreo como su principal sistema de alimentación (INEC 2019), evidenciando que la intensificación de la producción ganadera se ha basado en el uso eficiente de las pasturas, todo esto en busca de lograr la máxima productividad por área, reducir los costos de producción, mejorar la eficiencia en el uso de los recursos y buscar convertirlos en sistemas sostenibles ante las presiones del cambio climático (Pezo 2018).

Los sistemas de lechería especializada representan el 15.4% y los sistemas doble propósito representan el 21.7% del inventario ganadero de Costa Rica (1,633,467 animales) (INEC 2019). Gran parte de estos sistemas se ubican en condiciones de trópico húmedo, zonas donde las restricciones de humedad son limitadas o inexistentes y propician el crecimiento de las especies forrajeras, permitiendo un alto aporte de biomasa disponible para los animales y dando oportunidad a incrementos en la capacidad de carga de la finca. No obstante, estas zonas productivas enfrentan retos relacionados mayormente a la gestión del recurso forrajero, ya que se ha puesto mayor interés a la cantidad de biomasa y se ha dejado por un lado lo que respecta a la calidad nutricional, siendo necesarios el uso de suplementos externos para mantener la producción y comprometiendo la rentabilidad del sistema productivo (Lezcano *et al* 2012).

La transición hacia la intensificación sostenible de los sistemas de producción de ganado bovino requerirá de la promoción y adopción de forrajes mejorados, así como leguminosas y no leguminosas forrajeras que pueden cumplir un rol estratégico con su aporte de nitrógeno tanto al suelo como a la dieta, y consecuentemente mejorar el valor nutritivo de la dieta de los animales, con menores emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) (Gaviria-Uribe *et al* 2020).

El Panel Intergubernamental de Expertos para el Cambio Climático (IPCC) la ganadería a nivel mundial es responsable del 14.5% de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) de origen antropogénico, y el 65% de estas emisiones proviene del ganado vacuno (IPCC 2007). La producción de leche bovina emite aproximadamente el 20% de GEI entre todos los rubros de producción vacuna. La intensidad de emisiones por kilogramo de proteína animal es más baja en las ganaderías de leche que en las ganaderías de carne, en las cuales se alcanza un 40% de emisiones (Vermeulen *et al* 2012; Gerber *et al* 2013). No obstante, Manzetto *et al.* (2020) compararon mediante análisis de ciclo de vida los sistemas de producción bovina de Costa Rica, encontrando que los sistemas intensivos de lechería especializada reflejan la menor huella potencial de calentamiento global ($1.86 - 2.56 \text{ kg CO}_2 (\text{kg LCGP})^{-1}$) comparado a los sistemas doble propósito, en donde la huella es superior ($4.54 - 5.32 \text{ kg CO}_2 (\text{kg LCGP})^{-1}$). Las diferencias entre estos sistemas son el resultado de la alta productividad, el menor uso de instalaciones y el manejo de las excretas en los sistemas de producción intensiva; además,

concluyen que la alta productividad de los sistemas es representativa de procesos eficientes de en la gestión de pastoreo.

Las ganaderías tradicionales de baja producción, donde predominan sistemas de pastoreo extensivos con gramíneas en monocultivo, generan niveles superiores de emisiones entéricas, producto de la baja gestión del hato, dietas con alta proporción de alimentos con bajo valor nutritivo y pasturas degradadas; por otro lado, en los sistemas industrializados con altos niveles productivos, las emisiones derivadas directamente de la producción, la alimentación y el estiércol, son fuentes importantes de emisiones junto a la fermentación entérica (Gerber *et al.* 2013).

Esta problemática requiere de la incorporación e implementación de prácticas que contribuyan a mejorar los sistemas productivos mediante el uso de especies forrajeras adaptadas a cada sistema, contribuyendo a la adaptación y mitigación de los efectos del cambio climático y logrando el máximo incremento en la eficiencia productiva y la rentabilidad. De este modo, existe gran potencial para manejar y recuperar áreas degradadas por inadecuado manejo del pastoreo, mediante la incorporación de árboles en los sistemas ganaderos. Diversos estudios han provisto la evidencia de cómo los sistemas silvopastoriles (SSP) son una alternativa para el desarrollo sostenible del sector agropecuario (Milera 2013).

Los SSP son considerados alternativas productivas de ganar-ganar, ya que sus objetivos y principios de gestión están orientados al incremento de la productividad de los sistemas pecuarios con beneficios colaterales al ambiente. Donde se logra incrementar los ingresos mediante la diversificación de productos, mejorando la resiliencia ante el cambio climático a través de las condiciones micro climáticas que los árboles y arbustos proveen a los animales y las pasturas. Además, aprovechando los beneficios de mitigación en la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero e incrementando el secuestro de carbono en la biomasa y sistema radicular de los árboles, arbustos y las pasturas (Ibrahim *et al.* 2001).

Las asociaciones de árboles, arbustivas y pastos mejorados representan una alternativa promisoría para la producción animal en el trópico (López-Vigoa 2017). Estas asociaciones producen mayor cantidad de biomasa de alta calidad durante todo el año (López *et al.* 2015b citado por López-Vigoa 2017) y se logra mejor balance de nutrientes en los animales; obteniendo mejoras en condición corporal y una alta respuesta inmune junto a un entorno favorable que permitirá incrementar el bienestar animal y con ello una mejor resiliencia (López-Vigoa 2017).

Existe un gran número de arbustos y árboles, tanto especies leguminosas como no leguminosas con gran potencial para la producción de rumiantes (Topps 1992, Vandermeulen *et al.* 2018 citado por Ku-Vera *et al.* 2020b). Estos mejoran la calidad nutricional de la dieta del ganado en pastoreo, mediante el aumento de la concentración de proteína dietética y reducen la producción de metano por efecto de metabolitos secundarios como taninos y saponinas presentes en las plantas (Mayorga *et al.* 2014 citado por Benaouda *et al.* 2017). La presencia de altas concentraciones de metabolitos secundarios vegetales como taninos y su relación con la reducción de emisiones de metano (Herrero 2016) se da a través de una variedad de mecanismos implícitos en el microbioma del rumen (Ku-Vera *et al.* 2020b).

En un estudio de fermentación *in vitro* realizado por Cardona-Inglesias *et al.* (2017) donde incluyeron *Thitonia diversifolia* como parte de la dieta en un SSP comparado con kikuyo en monocultivo, encontraron una reducción de la producción de metano de 24.8% y 27.4% a las

24 y 48 h respectivamente, además de la alta digestibilidad que presentó a las 24 horas. Así mismo, Albores-Moreno y colaboradores (2019) encontraron una reducción 12.78% de producción de metano en el rumen al incorporar un 30% de follaje de *Leucaena leucocephala*.

Se debe garantizar el uso de especies adaptadas, que tengan excelente respuesta a la captación de energía solar, que garanticen altos rendimientos de biomasa, eficiencia en la captación de CO₂ y toleren las condiciones que garantizan el manejo adecuado del pastoreo o bien de áreas que se destinan al corte y acarreo; logrando ayudar a la resolución de los problemas mencionados mediante la intensificación de cada sistema y la incorporación del concepto de diversidad. (Milera 2013). En ese sentido, es necesario que todo sistema productivo utilice los recursos locales para obtener la mayor rentabilidad al lograr la reducción de los costos respecto al de los alimentos con altos niveles de granos y cereales (Wanapat 2009).

2. JUSTIFICACIÓN

Ante la creciente demanda de alimentos y la limitante de recursos para una población creciente, surge la necesidad de buscar la mejora en la eficiencia alimenticia en los animales de granja, fundamentándose en obtener la mayor cantidad de productos de alto valor biológico (carne y leche) con la menor cantidad de recursos alimenticios. Los sistemas silvopastoriles se han convertido en una herramienta para la gestión de la eficiencia productiva; reconociendo que los forrajes constituyen la base de la alimentación en los sistemas productivos ganaderos dedicados a la producción de leche y que estos se convierten en productos de origen animal de alto valor biológico a bajo costo, Así mismo, mejoran la competitividad y la gestión climática y ambiental de los sistemas productivos ganaderos.

El pasto Cayman (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752) es una forrajera nueva que se está incorporando en los sistemas de producción de leche y carne como monocultivo, pero se carece de información científica que respalde los procesos adecuados de manejo que faciliten la toma de decisiones y permitan obtener el máximo potencial productivo con el menor impacto ambiental. Son reducidos los estudios que evalúan el asocio de gramíneas con árboles forrajeros (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) en condiciones de pastoreo en trópico húmedo. A pesar de la alta producción de biomasa del pasto en estas condiciones no hay datos suficientes sobre hábitos de selectividad por parte de los animales en estas especies arbóreas que tienen rasgos funcionales diferentes.

Por esta razón la presente investigación está orientada a evaluar el desempeño productivo de este pasto, tanto en monocultivo como en asocio con las leñosas forrajeras arriba mencionadas. Lo anterior con el objetivo de lograr una mayor producción de biomasa de alta calidad nutricional y con esto mejorar la eficiencia de conversión de los nutrientes contenidos en las especies forrajeras evaluadas hacia la producción de leche. En este sentido, se estaría promoviendo un modelo de producción más autónomo, competitivo y resiliente al cambio climático con bajas emisiones de carbono.

3. OBJETIVOS/HIPOTESIS

3.1. Objetivo general

Evaluar la disponibilidad del componente forrajero, desempeño productivo y potencial de mitigación en la producción de metano *in vitro* en sistemas silvopastoriles mejorados; basados en pasto Cayman (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752) solo, y en asocio con *Thitonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia* en el trópico húmedo de Costa Rica.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1 Determinar la disponibilidad y calidad nutricional del forraje en sistemas basados en pasto Cayman (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752) como monocultivo y en asocio con leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*).

3.2.2 Evaluar el efecto de las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) en la producción y calidad de leche en vacas cruzadas

3.2.3 Estimar la producción de metano *in vitro* en dietas basadas en diferentes proporciones de pasto Cayman (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752), *Tithonia diversifolia*, *Leucaena diversifolia* y alimento balanceado.

3.3. Enfoque de investigación

El desarrollo de la investigación es de tipo observacional cuantitativo debido a la naturaleza de la investigación, utilizando un diseño experimental con parcelas divididas en bloques completos aleatorizados, con tres tratamientos (Cayman monocultivo, Cayman en asocio con *Tithonia diversifolia* y Cayman en asocio con *Leucaena diversifolia*), con cuatro repeticiones (parcelas). Donde se evaluará la disponibilidad, determinando la producción de biomasa y calidad nutricional de las especies forrajeras. Producción y calidad de leche utilizando un diseño completo al azar con medidas repetidas en el tiempo. Para la producción de metano *in vitro* se realizarán las combinaciones bajo los criterios de diferentes relaciones forraje:concentrado (100:0, 80:20, 70:30, 60:40) y el componente forraje (Cayman:*T.diversifolia* y *L. diversifolia*) en una proporción dada (100:0, 80:20 y 70:30), donde se utilizará la metodología establecida por Theodorou y colaboradores (1994).

Cuadro 1. Enfoque de la investigación

Objetivos específicos	Observacional cuantitativo	Experimental cuantitativo
1. Determinar la disponibilidad de biomasa y calidad nutricional del forraje en sistemas basados en pasto Cayman (<i>Brachiaria</i> híbrido cv. CIAT BRO2/1752) como monocultivo y en asocio con leñosas forrajeras (<i>Tithonia diversifolia</i> y <i>Leucaena diversifolia</i>).	X	
2. Evaluar el efecto del pasto Cayman (<i>Brachiaria</i> híbrido cv. CIAT BRO2/1752) en monocultivo y en asocio con leñosas forrajeras (<i>Tithonia diversifolia</i> y <i>Leucaena diversifolia</i>) en la producción y calidad de leche en vacas cruzadas.	X	

3. Estimar el potencial de mitigación del pasto Cayman en sistemas de monocultivo y en asocio con <i>Tithonia diversifolia</i> y <i>Leucaena diversifolia</i> suplementado con alimento balanceado, mediante la producción de metano <i>in vitro</i> .		X
--	--	---

3.4. Preguntas de investigación

3.4.1 ¿Cuál es la disponibilidad de biomasa del pasto Cayman en monocultivo y en asocio con las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*)?

3.4.2 ¿Cuál es la calidad nutricional del pasto Cayman y de las forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*)?

3.4.3 ¿Cuál es el efecto de la alimentación en los sistemas de pastoreo de pasto Cayman y de las forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) sobre la producción y calidad de leche producida?

3.4.4 ¿Cuánto son las emisiones de metano *in vitro* del pasto Cayman solo, en asocio con las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) y con las diferentes combinaciones de suplemento balanceado.

3.4.5.¿Como la integración de las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) con pasto Cayman incrementa la producción de forraje y la cantidad de proteína en el sistema?

3.5. Hipótesis

3.5.1 **H1:** La disponibilidad de biomasa y calidad nutricional del pasto Cayman en asocio con *Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia* es mayor que establecido en sistemas de monocultivo.

3.5.2 **H2:** La producción y composición de la leche es diferente en el asocio del pasto Cayman con *Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia* en comparación con el monocultivo.

3.5.3 **H3:** La adición de alimento balanceado modifica las emisiones de metano *in vitro* en dietas de pasto Cayman con las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) en diferentes proporciones.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1. Rol de la estabilidad en la producción forrajera para la adaptación de sistemas ganaderos al cambio climático.

El interés por la intensificación sostenible en sistemas productivos del trópico húmedo, donde los forrajes, además de ser la fuente principal de alimentación, son la opción más económica y

práctica para el ganado (Rosales y Pinzón 2005), que junto a un adecuado manejo son claves para lograr sistemas de producción competitivos, sostenibles y de bajas emisiones de carbono (Manzetto *et al.* (2020). En el trópico húmedo, se dan condiciones climáticas que permiten obtener altas producciones de biomasa durante gran parte del año (Wing Ching-Jones 2008), sin embargo, el bajo consumo por parte de los animales y la reducida calidad nutricional de las pasturas consecuencia de la baja gestión de estas, son limitantes en estas condiciones (Lezcano *et al.* 2012).

Se han seleccionado especies mejoradas de pasto basado en atributos relacionados a su capacidad productiva, su calidad nutricional y la adaptación a diferentes condiciones edafoclimáticas. Siendo el pasto Cayman una de estas alternativas por su tolerancia a altos niveles de humedad en el suelo, alta producción de forraje y altos contenidos de proteína (Arango *et al.* 2016), no obstante, las emisiones de GEI asociadas a esta especie son aún desconocidas (Gaviria-Urbe *et al.* 2020). También la integración con otras especies no leguminosas como la *T. diversifolia* y leguminosas como *L. diversifolia*, presentan bondades relacionadas al alto consumo de forrajes de superior calidad nutricional, al mismo tiempo que se asegura la persistencia de las pasturas y consecuentemente se logra la sostenibilidad a largo plazo con relación a la capacidad de fijación de nitrógeno (Palma & Gonzales-Rebeldes 2018).

Como parte de las medidas propuestas para adaptar los sistemas productivos al cambio climático se plantea el establecimiento y gestión adecuada de los sistemas de producción de forrajes. Los sistemas ganaderos a nivel mundial están en dependencia de la disponibilidad de los recursos naturales, lo que provoca que se vean afectados en gran medida por la variabilidad climática estacional y anual, llevando esto a la reducción en la disponibilidad del recurso forrajero y por consiguiente mermas en el desempeño y productividad animal (Steinfeld *et al.* 2009; Nardone *et al.* 2010; Berrang-Ford *et al.* 2010; Dulal *et al.* 2011).

Según Villanueva *et al.* (2009) los árboles o arbustos dispersos en potreros son fundamental para la adaptación al cambio climático. Así mismo, Murgueitio *et al.* (2014) afirman que la presencia de árboles en los potreros produce sombra, permite la reducción de la temperatura, mantiene la humedad de los suelos logrando una mayor productividad y calidad de los forrajes y además reduce la estacionalidad de la producción de carne y leche obteniendo estabilidad de la producción en el tiempo. De acuerdo con Navas (2003) en un estudio realizado con diferentes arreglos silvopastoriles (árboles en grupo, árboles individuales y cercas vivas) en comparación a pastos en monocultivo, encontró que para los SSP las temperaturas eran menores, reportando diferencias de 3.6 °C, 2.9 °C y 1.7 °C, respectivamente. Además, Navas & Montaña (2019) en un estudio estableciendo *T. diversifolia* para bancos forrajeros midieron la macrofauna al inicio y al final, encontrando un efecto positivo sobre la macrofauna del suelo, donde esta especie favoreció la reaparición de termitas, lombrices y hormigas, donde inicialmente no había.

Según DeRamus *et al.* (2003) la mejor estrategia de mitigación de metano es mediante la mejora de las dietas de los rumiantes, donde se mejore el aporte energético de los alimentos utilizados en la alimentación con mínimos efectos en el ambiente. Existe evidencia que las dietas con leguminosas y especies arbóreas en los SSP tienen efectos positivos en la reducción de emisiones, además, de mostrar mejoría en las características edáficas y de bienestar animal (Carmona *et al.* 2005). De acuerdo con Herrero *et al.* (2016) una excelente gestión de los pastizales podría potencialmente revertir las pérdidas de carbono en el suelo y secuestrar cantidades importantes de carbono en suelos de pastoreo y esto podría ser una opción viable, ya que se puede implementar mediante prácticas que mejoren la producción de forraje.

4.2. Sistemas silvopastoriles (SSP)

Según Pezo e Ibrahim (1996) un sistema silvopastoril se consolida como una opción de producción pecuaria que bajo un sistema de manejo integral se tiene la presencia de leñosas perennes (árboles o arbustos), que interactúan con los componentes tradicionales de los sistemas pecuarios (forrajeras herbáceas y animales). Según Ku Vera *et al.* (2014) por los múltiples beneficios que los SSP presentan, estos han sido presentados como una opción dentro de la producción sostenible, ya que además del incremento en la cantidad de biomasa forrajera, se evidencia un incremento en la calidad nutritiva o mayor contenido de nutrientes que son disponibles al consumo por parte de los animales.

Rivera y colaboradores (2015) encontraron una mayor productividad por unidad de área de 35% en los sistemas silvopastoriles respecto al pastoreo convencional, dicho incremento productivo se explica por la calidad de la dieta, menores tenores de fibra y elevado aporte de proteína, lo que permite hacer un mejor uso del suelo y una mejor gestión de los recursos.

Según Ku-Vera *et al.* (2020b) los pastos tropicales se caracterizan por el alto contenido de carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa) y bajos contenidos de proteína, limitando la fermentación anaeróbica de la materia seca impactando en largos periodos de retención en el retículo-rumen lo que induce a mayor producción de metano entérico. Así mismo, Rivera *et al.* (2015) reporta que las especies gramíneas presentan niveles bajos de nutrientes, pero al combinarse con la arbustiva *T. diversifolia* mejoran el aporte total de nutrientes creando un mejor balance nutricional, lo que permite promover el potencial productivo de las vacas de leche, aunado a esto permite una mejor digestibilidad de la dieta logrando un incremento en el consumo voluntario de los animales, lo que se ve reflejado en mayor producción y calidad de la leche producida ((Paciullo *et al.* 2011; Buza et al 2014 citado por Rivera *et al.* 2015).

4.3. Uso de leñosas perennes y su importancia en SSP

4.3.1. Botón de oro (*Tithonia diversifolia*)

Tithonia diversifolia Hemsl. A Gray. es un arbusto de la familia Asterácea, originario del sur de México, América central y parte de Sur América, ampliamente distribuido en la actualidad en los trópicos húmedos y subhúmedos de América Central y del Sur, Asia y África (Crespo *et al.* 2011).

T. diversifolia presenta alta capacidad de adaptación a diferentes pisos altitudinales, encontrándose a partir del nivel del mar hasta 2400 msnm, donde se adapta a suelos de alta y baja fertilidad (Ruiz *et al.* 2012). Tiene alto potencial para la producción de alimento de calidad, debido a que tiene la capacidad de acumular cantidades de nitrógeno en sus hojas de manera similar a las leguminosas, tiene niveles altos de P en sus tejidos debido a que es capaz de absorberlo de profundidades donde no es accesible a los forrajes, alta masa radicular, alta capacidad para extraer los nutrientes del suelo, tolera condiciones de acidez y baja fertilidad en el suelo y es una planta rústica. Además, tiene un crecimiento rápido y es poco exigente de insumos y manejo para su cultivo (Martínez & Leyva 2014).

Rivera y colaboradores en el (2015) compararon un SSP utilizando *T. diversifolia* en una densidad de 5,000 arbustos/ha con pastos (*Urochloa decumbens* y *Urochloa brizantha*) tanto en el SSP como en monocultivo y encontraron que el SSP produjo 243 g de MS/m² y de esto el 15% es aportado por *T. diversifolia* y el sistema convencional reportó 169 g de MS/m² es

decir el SSP reporta un 30% más de producción de biomasa en comparación con el monocultivo. Así mismo reporta una producción de leche por unidad de área 33.1% superior en el SSP, respecto al sistema en monocultivo.

En un estudio realizado por Navas & Montaña (2019) estableciendo *T. diversifolia* a una distancia de 1 x 1 m entre planta y 1.5 m de ancho de callejón, encontraron una producción de biomasa de 25.5 t/ha/año de MS, además encontraron valores de proteína de 14% en el periodo con condiciones de 0 mm de precipitación y 24% en periodo con precipitaciones de 323 mm, cada periodo con duración de 45 días, lo que refleja alto potencial para mejorar los sistemas alimentarios aun en condiciones de sequía.

Según Mejía *et al.* (2017) diferentes estudios muestran la rápida recuperación de *T. diversifolia* en cortes sucesivos y que el momento adecuado de cosecha sin causar deterioro al cultivo es antes de la floración donde se encuentran producciones de biomasa de 31.5 t/ha de materia verde cada 50 días. De acuerdo con Calle & Murgueitio (2010) los valores reportados de proteína a los 30 días de rebrote y prefoliación (50 días) fueron de 28.51% y 27.48%, respectivamente, así mismo Arias (2017) reportó 21.48% de PC a los 50 días de rebrote.

Arias (2017) realizó un estudio sustituyendo 25% y 50% de la MS del suplemento concentrado por *T. diversifolia* en la dieta de vacas lecheras pastoreando pasto estrella (*C. nlemfluensis*), donde encontró producciones diarias de 19.4 kg de leche cuando se sustituyó el 25% de la MS del suplemento concentrado con *T. diversifolia*; siendo esto superior a la sustitución del 50% del suplemento, además de aumentar la producción logró reducir los costos en 9.06% con respecto a la dieta testigo.

4.3.2. *Leucaena diversifolia*

Árbol o arbusto de crecimiento erecto perteneciente a la familia Fabaceae. Descrita como leguminosa perenne y leñosa, originaria de Centroamérica, nativa de México, Guatemala, Honduras, El Salvador y Nicaragua. Se ubica como la especie más cultivada a nivel mundial después de *L. leucocephala*, donde se diferencia de esta por la mayor tolerancia a acidez de los suelos y adaptabilidad a mayores alturas sobre el nivel del mar que le permiten adaptarse a condiciones frías y lograr mayor producción de biomasa. Como parte de los beneficios ecológicos que hace sobresalir a esta especie resalta su importancia en el control y prevención de la erosión del suelo, mejoras en drenaje y nivel de fertilidad, fijación de N atmosférico con niveles que oscilan entre 38 a 180 kilogramos de nitrógeno por hectárea (Palma & Gonzales-Rebeldes 2018).

La producción de materia seca (hoja) varía entre 10 y 16 toneladas por hectárea, alcanzando niveles de proteína cruda del 23%, 52% FDN, 17% FDA y 53% de digestibilidad in vitro de la materia seca. La incorporación de esta especie a los sistemas productivos pecuarios se da mediante forraje de corta y acarreo, como banco de proteína y mediante asocio con pasturas de tipo gramíneas (Martínez 2014).

En un estudio realizado por Enciso *et al.* (2019) donde compararon el pasto Cayman en monocultivo y en asocio con *L. diversifolia*, encontraron producción de biomasa total de 22.5 ton/ha/año y 32.2 ton/ha/año, respectivamente. Así mismo, encontraron valores de proteína cruda de 6.7% para el pasto Cayman en monocultivo, 8.25% para Cayman en asocio con *L. diversifolia* y 26.7% para *L. diversifolia*, resultados que se vieron reflejados en un aumento de la producción animal del 49% por ha, en comparación con el monocultivo de pasto Cayman.

Peralta y colaboradores (2012) reportan ganancias diarias de peso de 1.25 kg/día, en pastoreo con *Panicum máximum* y *Leucaena Leucocephala* durante tres horas días, versus el testigo solo *Panicum máximum* que solo obtuvo 0.82 kg/día, obteniendo un rendimiento menor del 35% por animal.

Quintero-Anzueta y colaboradores (2017) realizaron un experimento donde compararon pasto Cayman en monocultivo, pasto Cayman en una relación de 70% con 15% de *Canavalia brasiliensis* y 15% de *L.diversifolia*, encontrando niveles de proteína cruda de la gramínea Cayman de 6.8% y en la relación encontraron concentraciones de 11.0% de proteína, mejorando en un 62% la dieta cuando se incorporaron las leguminosas.

4.4. Gramíneas

4.4.1. Pasto Cayman

En los sistemas de pastoreo actual se cuenta con una amplia variedad de materiales genéticos que están disponibles para la alimentación de los rumiantes, donde los pastos del género *Urochloa* están en constante estudio, tanto a nivel de parcelas experimentales como en estudios establecidos dentro de los sistemas productivos; con el objetivo de definir si son una alternativa prometedora para establecer en los sistemas de pastoreo de las ganaderías tropicales de la región. En las gramíneas al igual que en la mayoría de las plantas utilizadas en la alimentación animal, la producción de biomasa está estrechamente relacionada con el régimen o distribución de las precipitaciones, siendo el recurso hídrico uno de los principales factores que afectan su desarrollo. Con bajas precipitaciones o distribución irregular de estas, se propician condiciones de déficit hídrico en el suelo que afecta de manera negativa el crecimiento, desarrollo y la persistencia de las pasturas. (Martin *et al.* 2018).

El pasto Cayman (*Urochloa* híbrido cv. CIAT BRO2/1752) con hábito de crecimiento macollado produce abundantes estolones, que en condiciones de alta humedad modifica su hábito de crecimiento, desarrollando temprano en su ciclo de crecimiento gran número de tallos decumbentes que producen macollas y raíces en los nudos, característica similar a la de *Brachiaria humidicola*. Estas raíces superficiales sirven como sostén de la planta, absorbiendo nutrientes y suministrando oxígeno a la planta en condiciones adversas de drenaje deficiente ante los excesos de humedad (CIAT 2018) (Martin *et al.* 2018).

Martin *et al.* (2018) evaluaron la respuesta del pasto Cayman al estrés hídrico, donde utilizaron dos tratamientos (100% regado y 50% de la evapotranspiración del cultivo) y tres periodos de cosecha (30, 60 y 80 días después de siembra) donde encontraron rendimientos de 5 ton/ha y 12.7 ton/ha de materia seca para los primeros 30 días y no encontraron diferencias significativas para los rendimientos de 60 y 80 días después de la siembra.

Hernandez y colaboradores (2014) evaluaron el desempeño de Cayman en el trópico muy húmedo de Costa Rica, donde utilizaron una densidad de siembra de 7 kg/ha en un área de 5 ha. Se evaluaron tres tratamientos que corresponden a tres cargas animales (1 UA/ha, 2 UA/ha y 3 UA/ha), donde encontraron producciones de materia seca de 8.8 ton/ha, 8.2 ton/ha y 5.8 ton/ha de materia respectivamente. En esos pastos los valores de proteína cruda fueron en promedio de 8.3%.

En un estudio realizado por Soto-Blanco & Abarca-Monge (2018) donde estudiaron machos en crecimiento de la raza Brahman con pesos de 358 kg de peso vivo, alimentados

completamente con pasto Cayman, encontraron ganancias diarias de peso de 670 gramos por día, con un consumo de materia seca de 12.8 kg peso vivo y 9.6% de proteína cruda. Así mismo, reportan 14.5 g de metano por kg de MS, según los autores estos valores son bajos ya que la relación entre la emisión y el consumo fue adecuada.

Hernandez-Chaves y colaboradores (2020) evaluaron el crecimiento del forraje y la respuesta de los animales bajo un sistema de Pastoreo Racional Voisin (PRV) tomando en cuenta las épocas de lluvia, encontrando producciones de biomasa de 6.5 ton/ha por ciclo de 42 días y mayor producción para la época lluviosa de 6.613 ton/ha por ciclo de 42 días. Así mismo, encontraron ganancias diarias de peso de 860 gramos para la época lluviosa y 720 para la época seca, en ambas épocas sin suplementación y sin diferencias significativas.

4.5. Producción de metano

El metano es un gas producido en el rumen y se emite continuamente durante todo el día; en su mayoría eructado a la atmósfera por la boca y en menor medida por las fosas nasales y el ano, dichas emisiones representan una pérdida del 3-12% de la ingesta bruta de energía para el animal (IPCC 2006 citado por Ku-Vera *et al.* 2020b).

Según Archimáde *et al.* (2011 y 2018 citado por Ku-Vera *et al.* (2020a) hay muchos factores que influyen en la producción de metano; como el tipo de forraje si es una planta C3 o C4, composición química, relación forraje:concentrado, tasa de paso del alimento a través del rumen, etapa fisiológica, raza y sexo, todos integrados dentro de una expresión única en la ingesta de la dieta que se expresa en materia seca. Según Ku-Vera y colaboradores (2020b) existe un potencial considerable para manipular el destino del hidrógeno metabólico en el rumen, lejos de la síntesis de metano hacia la formación de ácido propiónico que consume el hidrógeno disponible, alimentando a rumiantes con plantas que contienen metabolitos secundarios.

Las plantas forrajeras cumplen un rol importante en la mitigación del cambio climático, cuando se implementan estrategias de alimentación que incluye el consumo de forraje de alto valor nutritivo, incluidas las leguminosas que contengan taninos condensados. Llegan a disminuir hasta 15% de las emisiones de metano, comparado con forrajes de baja digestibilidad (ANDRADE *et al.*, 2012; GERBER *et al.*, 2013; MONTAGNINI *et al.*, 2015, citado por Buitrago-Guillen *et al.* 2018).

Albores-Moreno *et al.* (2020) evaluaron el efecto de la sustitución del pasto *Cenchrus purpureus* en la producción de metano, donde se sustituyó el 30% de este con seis forrajeras (*N. emarginata*, *T. amygdalifolia*, *C. gaumeri*, *P. piscipula*, *L. leucocephala* y *H. albicans*), encontrando que la suplementación con *L. leucocephala* disminuyó la producción de metano en el rumen en un 12.78%.

Soto-Blanco y Abarca-Monge (2018) midieron la emisión de metano entérico en ganado de la raza Brahman en el trópico de Costa Rica, utilizaron ocho machos con un peso de 358.6 kg de peso vivo y alimentados con pasto Cayman el 100% de la dieta y encontraron producciones de metano de 168.5 g/animal por día.

Prieto-Manrique y colaboradores realizaron un estudio donde midieron los efectos en animales que pastaron en gramíneas (pasto estrella *Cynodon nlemfuensis* y pasto guinea *Megathyrsus maximus*) en sistemas silvopastoriles con *L. Leucocephala*, en una proporción de

gramínea:leucaena de 80:20 y de forraje concentrado 70:30. Los resultados obtenidos de las diferentes relaciones fueron más altos para la dieta de estrella con suplemento, con niveles de 100ml/gramo y la más baja fue para la mezcla con *L. Leucocephala* de 70% y 30% concentrado con 68.01 ml/gramo. Cardona-Iglesias *et al.* (2017) reportan producciones de metano *in vitro* de 31.4% y 32.1% menos al incluir botón de oro en las dietas versus no incluirlas en una dieta con pasto Kikuyo *Cenchrus clandestinus* y suplementadas con concentrado, Según Cardona-Iglesias *et al.* (2017) la reducción se debe a un mejor balance de los nutrientes en la dieta y a la presencia de metabolitos secundarios como taninos y saponinas (Carmona et al 2005).

Según Yañez-Ruiz y colaboradores (2016) las técnicas de fermentación *in vitro* han sido utilizadas para evaluar el valor nutritivo de los alimentos para rumiantes y en la última década para evaluar el efecto de las diferentes estrategias nutricionales en la producción de metano.

Hatew *et al.* (2017) investigaron la relación entre la producción de metano *in vitro* e *in vivo* medida simultáneamente, con dos fuentes y dos niveles de almidón, suministradas a 16 vacas lecheras de la raza Holstein-Friesianas, todas equipadas con cánula en el rumen. En este experimento adaptaron las vacas durante 12 días con cada una de las dietas a evaluar, al finalizar el periodo de adaptación fueron sometidas por cinco días a cámaras de respiración de calorimetría indirecta de circuito abierto controlados por climas idénticos. Para la producción de metano *in vitro* se incubaron los 4 tratamientos (dos fuentes y dos niveles de almidón) y dos adicionales que fueron ensilaje y pulpa de remolacha, estas fueron inoculadas con 60 mL de licor ruminal amortiguado con una solución de fluido buffer, provenientes de vacas donantes previamente adaptadas a cada una de estas dietas. La medición de metano se realizó por medio de cromatografía de gases. Donde encontraron producciones *in vivo* de metano para las dos fuentes de 597 y 545 L/d y para los dos niveles 581 y 557 L/día en comparación con las producciones de metano *in vitro* 828 y 751 L/día ; 797 y 570 L/día respectivamente, Dichos resultados mostraron que hay una correlación entre la producción de metano *in vivo* e *in vitro* (0.54; $p=0.040$) cuando los resultados se expresaron por unidad de materia orgánica fermentable en rumen, sin mostrar correlación cuando los resultados se expresaron en materia orgánica ingerida (0.04; $p=0.878$); los autores atribuyen estos resultados a que la digestión *in vivo* de materia incluye los efectos combinados de la fermentación del rumen y la fermentación del tracto posterior, reflejando esto la fermentación del rumen solamente a diferencia de la fermentación *in vitro*.

Macome y colaboradores (2017) realizaron un estudio evaluando la producción de metano *in vitro*, utilizaron ensilajes de centeno con tres fechas de madurez (28, 41 y 62 días) y dos cantidades de fertilización (65 y 150 Kg de N/ha). Los seis tratamientos fueron utilizados en 54 vacas de la raza Holstein-Friesianas en una dieta de ensilaje:concentrado (80:20) de materia seca. Los resultados reportados por los autores indican que no hubo una correlación entre la producción *in vitro* e *in vivo* (R^2 0.01; $p=0.08$), concluyendo que la variación entre las vacas donantes era superior en comparación con las diferencias entre los diferentes tratamientos.

5. METODOLOGÍA

5.1. Descripción del sitio

5.1.1. Lugar y periodo de estudio:

El estudio será realizado en la finca comercial del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), ubicada a 640 msnm en Turrialba, provincia de Cartago, Costa Rica. La precipitación media anual es de 2600 mm, con una temperatura media anual de 23 °C. El experimento será realizado entre los meses de octubre 2020 a abril del 2021, realizando durante este periodo tres muestreos que corresponden a tres repeticiones.

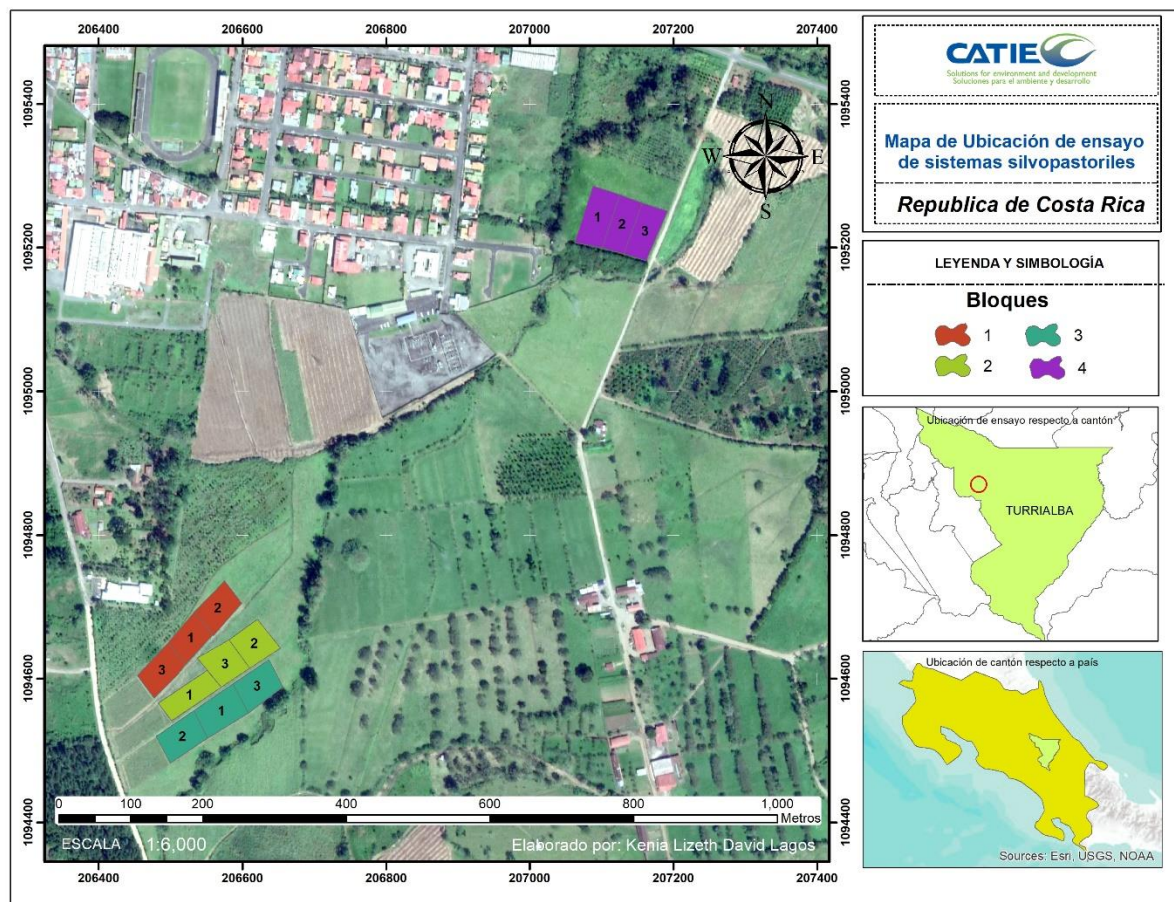


Figura 1. Localización del estudio

5.2. Establecimiento del ensayo

5.2.1. Diseño experimental

Se utilizará un diseño experimental de bloques completos al azar (BCA), utilizando 4 bloques. Cada bloque está constituido por tres tratamientos (Cuadro 2) y cuatro repeticiones por tratamiento, con tamaños de parcela de 2500 m². En todos los bloques se realizó primero la

siembra de pasto Cayman y posteriormente a la siembra del pasto se sembraron entre cuatro y nueve surcos con doble hilera de plantas de *Leucaena diversifolia* y *Tithonia diversifolia* con distanciamiento de 5 m entre surcos, 1 m entre plantas y 1 m entre cada hilera dentro de cada surco (Cuadro 3), obteniendo densidades de siembra que van desde 576 a 648 plantas por parcela (2500 m²) equivalente a 2304 y 2592 plantas/ha

Cuadro 2. Identificación de tratamientos

Tratamientos	ID
Monocultivo Cayman	T1
Cayman + <i>Leucaena diversifolia</i>	T2
Cayman + <i>Tithonia diversifolia</i>	T3

Cuadro 3. Distribución de plantas en los tratamientos.

Bloque	Tratamiento	No. Surcos	No. Hileras	No. Plantas por hilera	Puntos de siembra
1	3	9	18	36	648
	1				
	2	9	18	36	648
2	1				
	3	7	14	45	630
	2	7	14	45	630
3	1				
	2	4	8	72	576
	3	4	8	72	576
4	1				
	2	4	8	72	576
	3	4	8	72	576

El establecimiento del pasto Cayman se realizó en noviembre del 2018, donde se realizaron prácticas de labranza, consistiendo éstas en una pasada de arado y dos pasadas de rastra, seguidamente se realizó la siembra al voleo utilizando 8 kg de semilla por hectárea, distribuida de forma manual y posteriormente tapada con una rama jalada por el tractor.

Las leñosas fueron establecidas de agosto a septiembre de 2019. Previo a la siembra se realizó la aplicación de herbicida sobre el pasto Cayman ya establecido, aplicándolo en franjas de 1.5 metros de ancho y correspondiendo cada franja a los respectivos surcos establecidos para cada leñosa forrajera. En el caso de *T. diversifolia* la siembra se realizó en callejones utilizando material vegetativo (estacas), donde se utilizaron dos estacas en equis (X) por punto de siembra; para *L. diversifolia* la siembra se realizó en callejones utilizando plantas en bolsa plástica que habían sido sembradas y manejadas previamente en viveros mediante semilla sexual.

El establecimiento de *L. diversifolia* se realizó en callejones, sembrada a doble hilera con una distancia entre planta 1 m y 1 m entre filas con 5 m de callejón, para ambos socios la densidad de siembra del pasto Cayman fue igual al del monocultivo mencionado anteriormente. Cada

tratamiento está representado en cuatro parcelas de 2500 m² cada una, para un total de una hectárea por tratamiento. Se consideró un periodo de establecimiento de 12 meses, durante el cual se realizó un corte de uniformización entre 0.15-0.30 m de altura sobre la base del suelo para la especie *T. diversifolia* y a 0.8 m para la especie *L. diversifolia*; para el pasto Cayman se realizó dos cortes a una altura de 10 cm con el objetivo de uniformizar las parcelas y tener un punto de partida para las evaluaciones.

5.3. Disponibilidad de biomasa y calidad forrajera:

5.3.1. Diseño experimental

Para la variable producción de biomasa y calidad nutricional se utilizará un diseño de bloques completos al azar (DBA), con una estructural trifactorial de tratamientos dadas por el factor forraje con tres niveles (Cayman, *T. diversifolia* y *L. diversifolia*), factor posición (dentro de las hileras, a 0.5 m de las leñosas y a 2.5 m al centro de las leñosas) y el factor tiempo (3 ciclos de cosecha), en parcelas divididas donde el tratamiento forraje se encuentra en la parcela principal dentro de cada bloque y las tres posiciones (dentro de las hileras, a 0.5 m y a 2.5 al centro) son las subparcelas que representan la posición y el tiempo de cosecha.

con el modelo $Y_{ijkl} = \mu + F_i + P_j + T_k + FP_{ij} + FT_{ik} + PT_{jk} + FPT_{ijk} + \beta_l + Pp_{il} + Sp_{j(il)} + \epsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$

donde:

Y_{ijk}	Producción de biomasa total
μ	Media general
F_i	Efecto del i-ésima Forrajera (i=Cayman, <i>T. diversifolia</i> y <i>L. diversifolia</i>)
P_j	Efecto de la j-ésima posición
T_k	Efecto de la k-ésima factor tiempo (k= tres ciclos de cosecha)
FP_{ij}	Efecto de la interacción de la i-ésima forrajera en la j-ésima posición
FT_{ik}	Efecto de la interacción de la i-ésima forrajera en el k-ésimo tiempo
PT_{jk}	Efecto de la interacción de la j-ésima posición en el k-ésimo tiempo
FPT_{ijk}	Efecto de la interacción de la i-ésima forrajera en la j-ésima posición en el k-ésimo tiempo
β_l	Efecto aleatorio del l-ésimo bloque
Pp_{il}	Efecto aleatorio de la i-ésima forrajera en el l-ésimo bloque (error “A” de la forrajera)
$Sp_{j(il)}$	Efecto subparcela de la j-ésima posición (error “B” para posición)
además,	
β_l	Efecto de bloque $\sim N(0, \sigma^2_\beta)$
Pp_{il}	Efecto de parcela principal $\sim N(0, \sigma^2_{pp})$
$Sp_{j(il)}$	Efecto de subpacela $\sim N(0, \sigma^2_{sp})$
ϵ_{ijkl}	Error asociado a la ijkl-ésima observación de forma normal e independiente con esperanza cero y varianza σ^2 .

Los cuatro efectos aleatorios son mutuamente independientes.

5.4. Variables a medir

5.4.1. Disponibilidad de biomasa:

Muestreo de pasto Cayman

Para el tratamiento en monocultivo se realizará el muestreo de forma sistemática en cada parcela, seleccionando 24 puntos de muestreo en forma de zig-zag, con los que se formará una muestra compuesta. Cada muestra será colectada utilizando un marco de 0.5 m x 0.5 m (0.25 m²) (Lopez-Guerrero 2011), cortada a una altura de 10 cm sobre la base del suelo y pesada con una balanza digital.

El muestreo de pasto Cayman en asocio se realizará de forma sistemática, seleccionando puntos de muestreo en forma de zig-zag, en el recorrido se obtendrán muestras dentro de las hileras de cada surco (8 muestras), a 0.5 m de las hileras (8 muestras) y en el punto medio entre surcos, que es 2.5 m al centro (8 muestras). De cada uno de los tres puntos de muestreo (dentro hileras, a 0.5 m de las hileras y 2.5 m al centro) saldrá una muestra compuesta por tratamiento, en cada bloque. Todas las muestras serán pesadas en campo con una balanza digital y de cada muestra compuesta se tomarán dos muestras de 1 kg, una muestra será enviado al laboratorio para el análisis bromatológico y la otra se utilizará para la variable relación hoja tallo.

Muestreo de *T. diversifolia* y *L. diversifolia*

Para la estimación de biomasa en las especies leñosas, el muestreo se realizará de forma sistemática seleccionando una planta cada 8 m en cada fila, sin tomar en cuenta los límites de cada parcela para reducir los efectos de borde. El recorrido en la selección de los puntos de muestro iniciará en el lado izquierdo y finalizará en el lado derecho de cada surco. Las plantas de *T. diversifolia* y *L. diversifolia* serán cosechadas cada 50 días a una altura de 0.25 m y 0.8 m respectivamente. Todas las muestras serán pesadas de manera individual utilizando una balanza digital, para las estimaciones de la biomasa total. Del total de plantas muestreadas se seleccionarán de forma aleatoria 5 plantas por tratamiento en cada bloque, separando la biomasa de cada planta en cuatro fracciones: Fracción fina (Hojas (HF) y Tallos (TF) con diámetro menor a 5 mm) y Fracción gruesa (Hojas (HG) y Tallos (TG) mayores a 5 mm) (Garcia *et al.* 2008, Bacab *et al.* 2012, Rodríguez *et al.* 2001). La biomasa comestible será estimada mediante la suma de las fracciones HF, TF y HG (Pérez 2012, Rodríguez *et al.* 2001, Lombo 2012). Después de separar las fracciones estas serán pesadas por separado: fina (hojas y tallos) y gruesa (hojas y tallos), tomando una muestra compuesta de 200 gramos de cada una de las fracciones para cuantificar el contenido de materia seca, en un horno gravitacional a 60 °C durante 72 horas, con esto realizar las estimaciones de la variable relación hoja tallo (Lombo 2012).

Las fracciones utilizadas (HF, TF y HG) para las estimaciones de la variable comestible serán mezcladas entre ellas para formar una muestra compuesta, de la cual se separará 1 kg que será enviado al laboratorio para realizar los respectivos analices bromatológicos. Con los datos de materia seca (%) se realizarán las extrapolaciones de los datos para estimar la variable de biomasa seca comestible (kg ha⁻¹)

5.4.3. Calidad nutricional:

En el análisis de calidad se realizará a cada muestra por separado de *T. diversifolia*, *L. diversifolia* y pasto Cayman. Mediante el análisis bromatológico se realizará la estimación de las variables incluidas como indicadores de calidad nutricional, dicho análisis será realizado mediante análisis proximal por química humedad con las metodologías de la AOAC (1996) en el laboratorio de bromatología de la Cooperativa Dos Pinos.

- Materia seca (%)

- Proteína cruda (%)
- Fibra detergente neutro (%)
- Fibra detergente ácido (%)
- Digestibilidad in vitro de la materia seca (%)

5.5. Producción diaria y calidad de leche

5.5.1. Diseño experimental

Para la variable producción diaria y calidad de leche se utilizará un diseño completo al azar (DCA) con medidas repetidas en el tiempo, donde cada vaca representará una unidad experimental, con el modelo $Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + FT_{ij} + V_k + \epsilon_{ijk}$, $\sim N(0, \sigma^2)$ donde:

Y_{ijk} Producción de leche

μ Media general

F_i Efecto de la i-ésima forrajera (i=Cayman, *T.diversifolia* y *L. diversifolia*)

T_j Efecto del j-ésimo tiempo

FT_{ij} Efecto de la interacción de la i-ésima forrajera en el j-ésimo tiempo

V_k Efecto aleatorio de la k-esima vaca que es el sujeto en las medidas repetidas

ϵ_{ijk} Error asociado a la ijk-ésima observación de forma normal e independiente con esperanza cero y varianza σ^2 .

Para la variable producción diaria y calidad de leche se utilizarán vacas con cruce F1 (Jersey x Gyr y Jersey x Sahiwal) previamente pesadas y que se encuentren entre 2 y 5 lactancias, con 60 y 100 días en leche (DEL), manejadas en tres grupos y siendo cada grupo representativo a cada uno de los tratamientos evaluados. La cantidad de animales que ingresarán al pastoreo de cada uno de los tratamientos será estimada basándose en la disponibilidad del forraje determinada mediante un muestreo pre-pastoreo.

Durante el periodo de evaluación las vacas de los diferentes tratamientos ingresarán de forma simultánea a cada una de las parcelas de 2500 m², pasando por un periodo de acostumbramiento a las condiciones experimentales durante siete días, basado en la investigación de Mojica-Rodríguez y colaboradores (2019) quienes realizaron un ensayo midiendo el perfil lipofílico en vacas en pastoreo basado en el estudio de Jeffery (1970), quien sugirió un periodo de acostumbramiento de cuatro días mínimo, y del estudio de Stoobs y Sandland (1972) quienes sugirieron un periodo de acostumbramiento entre cuatro a nueve días para evaluar el efecto de forrajes sobre la producción de leche de vacas en pastoreo. Así mismo, Rivera y colaboradores (2015) evaluaron el efecto de la oferta y el consumo de *T. diversifolia* en la calidad y productividad, donde utilizaron seis días de acostumbramiento y cuatro días de medición. Seguido al periodo de acostumbramiento se tendrá un periodo de siete días correspondiente a la toma de datos de las variables enumeradas.

Cada parcela de 2500 m² tendrá un periodo de ocupación de 3.5 días, dividiendo cada parcela en tres partes iguales mediante cuerda electrificada para un mejor aprovechamiento y gestión de la pastura. Esto será aplicado para cada una de las parcelas, para lo cual dos parcelas serán para el periodo de acostumbramiento y dos parcelas para el periodo de toma de muestras. Para

calidad de leche y para producción se tomará los datos cada tres días durante un periodo de 14 días. Dando como resultado un ciclo de pastoreo de 14 días, posterior a esto para completar el periodo de descanso de 60 días requerido para las arbustivas de acuerdo con Ochoa (2011) citado por (Mejía-Díaz *et al.* 2017) se dejarán en descanso las áreas hasta el siguiente ciclo de evaluación.

Durante el periodo de muestreo (siete días) y en cada ordeño se medirá la producción diaria por vaca durante los dos ordeños (AM/PM), mediante el pesaje en la sala de ordeño.

5.5.2. Producción y calidad de leche

Para las variables de calidad y composición láctea se tomará una muestra de leche de 50 ml en cada ordeño (AM/PM) colectadas en recipiente estéril, la muestra correspondiente a los dos ordeños será mezcladas para formar una muestra compuesta por día por vaca, la cual será enviada a laboratorio para los análisis de grasa, proteína y sólidos totales. Estas muestras enviadas a laboratorio corresponderán a los días 2, 4 y 6 dentro del periodo de muestreo.

5.4. Metano *in vitro*

Para la variable producción de metano *in vitro* se utilizará un diseño de muestreo en bloques con dos repeticiones (tiempo 1 y 2) para aumentar el espacio de inferencia, en estructura factorial incompleta (tipo: forrajeras y dosis: relación forraje:concentrado) en 27 tratamientos siguiendo el modelo $Y_{ijk} = \mu + M_i + \beta_j + \epsilon_{ijk}$, $\sim N(0, \sigma^2)$

donde:

Y_{ij}	Producción de metano <i>in vitro</i>
μ	Medía general
M_i	Efecto del i-ésimo tratamiento
β_j	Efecto aleatorio del l-ésimo bloque $\sim N(0, \sigma^2_{\beta})$
ϵ_{ij}	Error asociado a la ij-ésima observación de forma normal e independiente con esperanza cero y varianza σ^2 .

Para la producción de metano *in vitro* se tomarán muestras compuestas de Cayman, *T. diversifolia* y *L. diversifolia* con sus combinaciones, más la adición de alimento balanceado Vap Feed™ 16%, utilizado en la lechería comercial de CATIE.

La distribución de los tratamientos se realizará basado en las relaciones forraje:concentrado 60:40, 70:30 y 80:20 (Cuadro 3). Estas relaciones se establecen basándose en el estudio de Van Wyngaard *et al.* (2018), quienes evaluaron el efecto de tres relaciones de forraje concentrado (100%, 78% y 60%) en las emisiones de metano en vacas en pastoreo. Las relaciones de gramínea:arbustiva que se utilizarán (70:30 y 80:20) se establecen tomando como referencia el estudio de Mahecha (2007); quien utilizó hasta un 35% de inclusión de *T. diversifolia* obteniendo mejores resultados con 25% de inclusión al igual que Arias (2017).

Se enviarán al laboratorio 25 muestras en materia fresca de 200 gramos de pasto Cayman, 13 muestras en materia fresca de 200 gramos de *T. diversifolia* y 13 muestras en materia fresca de

200 gramos de *L. diversifolia*, así mismo, se enviará 25 muestras de 50 gramos de concentrado Vap Feed™.

Las estimaciones serán realizadas con la técnica de producción de gas donde se implementará la metodología de Theodorou *et al.* (1994) por cromatografía de gases en el laboratorio del INTA.

Cuadro 4. Distribución de los tratamientos para metano *in vitro*

	Relación F:C	Forraje:Leñosa	Pasto Cayman	Tithonia diversifolia	Leucaena diversifolia	Suplemento
Tratamiento 1	100/0		100%			
Tratamiento 2	100/0			100%		
Tratamiento 3	100/0				100%	
Tratamiento 4	60/40	80/20	48	12		40
Tratamiento 5	60/40	70/30	42	18		40
Tratamiento 6	60/40	80/20	48		12	40
Tratamiento 7	60/40	70/30	42		18	40
Tratamiento 8	70/30	80/20	56	14		30
Tratamiento 9	70/30	70/30	49	21		30
Tratamiento 10	70/30	80/20	56		14	
Tratamiento 11	70/30	70/30	49		21	30
Tratamiento 12	80/20	80/20	64	16		20
Tratamiento 13	80/20	70/30	56	24		20
Tratamiento 14	80/20	80/20	64		16	20
Tratamiento 15	80/20	70/30	56		24	20

5.7. Análisis de los datos

Los datos serán analizados mediante el software de análisis estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2019), utilizando la técnica de Modelos Lineales Generales y Mixtos (MLGM), a través de un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia $p < 0.05$.

En el diseño de parcelas divididas y medidas repetidas en el tiempo para las forrajeras, donde se evaluará la producción de biomasa y calidad nutricional, se van a probar distintas estructuras para la matriz de varianzas y covarianzas para la estructura del error y el mejor modelo se va a seleccionar utilizando los criterios de información AIC (Criterio de información Akaike) y BIC (Criterio de información bayesiano). El mismo procedimiento se usará para el diseño completo al azar para las variables producción y calidad de leche.

Para la producción de metano *in vitro*, debido a la prueba de numerosos tratamientos se va a realizar una prueba de carácter transitivo (DGC, $p < 0.05$), además una prueba de contrastes ortogonales para estudiar la estructura factorial incompleta de los tratamientos.

5.8 Resultados esperados

Se espera encontrar una mayor disponibilidad y calidad nutricional en los sistemas de pasto Cayman en asocio con *Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*.

Con la integración de las leñosas forrajeras (*Tithonia diversifolia* y *Leucaena diversifolia*) con pasto Cayman en la dieta de vacas cruzadas se espera que aumenten la producción y la cantidad de sólidos en la leche.

Al adicionar alimento balanceado en diferentes proporciones respecto al forraje (Cayman y leñosas), se pretende encontrar la combinación que genera las menores emisiones de metano *in vitro*.

6. CRONOGRAMA

	Cronograma de actividades para el desarrollo del proyecto de investigacion (Tesis)																																																						
		Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio					
Etapas	Actividades	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4						
I Etapa: Anteproyecto	Elaboracion de propuesta de Anteproyecto																																																						
	Entrega de Anteproyecto																																																						
	Presentación de examen de candidatura																																																						
	Seminario de Anteproyecto Tesis																																																						
II Etapa: Recoleccion de datos	Inicio de las pruebas de campo y laboratorio.																																																						
III Etapa: Análisis de datos	Organización de los resultados																																																						
	Análisis de resultados																																																						
	Presentacion de primer borrador																																																						
	Presentacion de documento final																																																						
IV Etapa: Presentacion de resultados	Examen de grado																																																						
	Presentación final de tesis																																																						
	Impresión de documento final																																																						
	Graduación																																																						

7. PRESUPUESTO

Descripción	Unidad	Cantidad	Valor Unitario	Valor Total	Fuentes de Financiamiento	
			(US \$)	(US \$)	Beca Catie/2020	Recursos propios
Gastos de laboratorio						
Análisis bromatológicos	Unidad	84	\$50.00	\$4,200.00		
Análisis de composición de leche	Unidad	9	\$40.00	\$360.00		
Medición de Metano <i>In vitro</i>	Unidad	30	\$20.00	\$600.00		
			Sub total	\$5,160.00		
Manutención						
Estipendio estudiante Tesista	Mes	9	\$500.00	\$4,500.00		
			Sub total	\$4,500.00		
Equipo e insumos de muestreo						
Fotocopias e impresiones	Global	1	\$100.00	\$100.00		
Material de muestreo	Global	1	\$300.00	\$300.00		
			Sub total	\$400.00		
Gastos de documento de tesis						
Impresión	unidad	1	\$100.00	\$100.00		
Empastado y argollado	unidad	1	\$10.00	\$10.00		
Revisión Filogenética	unidad	1	\$150.00	\$150.00		
			Sub total	\$260.00		
			Total	\$10,320.00	\$2,200.00	\$8,120.00

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albores-Moreno, S; Alayón-Gamboa, J. A; Miranda-Romero, L. A; Alarcón-Zúñiga, B; Jiménez-Ferrer, G; Ku-Vera, J. C; Piñeiro-Vázquez, A. T. 2020. Effect of supplementation with tree foliage on in vitro digestibility and fermentation, synthesis of microbial biomass and methane production of cattle diets. *Agroforestry Systems*, 94(4):1469-1480.
- Arango, J; Gutiérrez Solis, JF; Mazabel, J; Pardo, P; Enciso, K; Burkart, S; Serrano, G. 2016. Estrategias tecnológicas para mejorar la productividad y competitividad de la actividad ganadera: Herramientas para enfrentar el cambio climático. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical. p58.
- Arias, L. 2017. Evaluación del uso de botón de oro (*Tithonia diversifolia*) como suplemento de vacas jersey en etapa productiva. Tesis Ing. Agro. UNA, San Jose, Costa Rica. 74p.
- Bacab, H. M; Solorio, F. J; Solorio, S. B. 2012. Efecto de la altura de poda en *Leucaena leucocephala* y su influencia en el rebrote y rendimiento de *Panicum máximum*. *Avances en investigación agropecuaria* 16(1):65-77.
- Benaouda, M; González, M; Molina, L. T; Castelán, O. A. 2017. Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(4):965-974.
- Berrang-Ford, L; Ford, JD; Paterson, J. ¿Are we adapting to climate change?. 2011. *Global Environ Change* 21(1):25-33.
- Calle, Z; E.Murgueitio. 2010. *Carta Fedegán* 108:54-63.
- Cardona-Iglesias, J; Mahecha-Ledesma, L; Angulo-Arizala, J. 2017. Efecto sobre la fermentación in vitro de mezclas de *Tithonia diversifolia*, *Cenchrus clandestinum* y grasas poliinsaturadas. *Agron.Mesoam* 28(2):405-426.
- Carmona, J; Bolivar, D; Giraldo, L. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev Col Cienc Pec* 18(1):49-63.
- Carmona, J; Bolívar, D; Giraldo, L. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 18(1):49-63.
- Crespo, G; Ruiz, TE; Álvarez, J. 2011. Efecto del abono verde de *Tithonia* (*T. diversifolia*) en el establecimiento y producción de forraje de *P. purpureum* vc. Cuba CT-169 y en algunas propiedades del suelo. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 45(1):79-82.
- Cuartas, C; Naranjo, J; Tarazona, A; Murgueitio, R; Chara, J; Ku vera, J; Solorio, F; Flores, M; Baldomero, MD; Rosales, R. 2014. Contribución de los sistemas silvopastorales intensivos al rendimiento animal y a la adaptación y mitigación del cambio climático. *RevColomb Cienc Pecu* 27(1):76-97.
- De La Convención, P. D. K. 1998. Marco de Las Naciones Unidas sobre el cambio climático. *Naciones Unidas*, 25, 27.
- DeRamus, H. A; Clement, T. C; Giampola, D. D; Dickison, P. C. 2003. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. *Journal of environmental quality* 32(1): 269-277.

- Di Rienzo, J. Casanoves, F. Balzarini, M. Gonzalez, L. Tablada, M. Robledo, C. InfoStat versión 2019 (en línea). Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Consultado 2 ago. 2020. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>
- Dulal, HB; Brodnig, G; Shah, KU. 2011. Capital assets and institutional constraints to implementation of greenhouse gas mitigation options in agriculture. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 16(1):1-23.
- Enciso, K; Sotelo, M; Peters, M; Burkart, S. 2019. La inclusion de *Leucaena diversifolia* en un sistema Colombiano de producción de ganado vacuno: Una perspectiva económica. *Tropical Grasslands* 7(4):359-369.
- FAO, FIDA y PMA. 2014. El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2014. Fortalecimiento de un entorno favorable para la seguridad alimentaria y la nutrición. Roma, FAO.
- Garcia, D.E; Wencomo, H.B; Gonzales, M.E; Medina, M.G; Cova, L.J; Spengler, I. 2008. Evaluación de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* basada en la calidad nutritiva del forraje. *Zootecnia tropical* 26(1):9-18.
- Gerber, P.J; Steinfeld, H; Henderson, B; Mottet, A; Opio, C; Dijkman, J; Falcucci, A; Tempio, G. 2013. Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Hatew,B; Cone, JW; Pellikaan, WF; Podesta, SC; Bannink, A; Hendriks, WH; Dijkstra, J. 2017. Relationship between in vitro and in vivo methane production measured simultaneously with different dietary starch sources and starch levels in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology* 202 (1):20–31.
- Hernández-Chaves, M; Abarca-Monge, S; Soto Blanco, R. 2014. Efecto del clima en animales pastoreando Cayman en el trópico muy húmedo de Costa Rica. *Alcances Tecnológicos*.
- Hernández-Chaves, M; Abarca- Monge, S; Soto Blanco, R. 2020. Efecto del clima en animales pastoreando Cayman en el trópico muy húmedo de Costa Rica. *Alcances Tecnológicos*.
- Herrero, M; Henderson, B; Havlik, P; Thornton, P; Conant, R; Smith, P; Wirseniuss, S; Hristov, A; Gerber, P; Gill, M; Butterbach-Bahl, K; Valin, H; Garnett, T; Stehfest, E. 2016. Greenhouse gas mitigation potentials in the livestock sector. *Nature* 6(1):452-461.
- Ibrahim, M; Franco, M; Pezo, DA, Camero, A; Araya, JL. 2001. Promoting intake of *Cratylia argentea* as a dry season supplement for cattle grazing *Hyparrhenia rufa* in the subhumid tropics. *Agroforestry Systems* 51(1):167-175.
- Instituto Nacional de Estadísticas INEC. 2019. Encuesta nacional agropecuario (en línea). Consultado 26 de octubre de 2020, disponible en <http://www.corfoga.org/estadisticas/poblacion-animal/>
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave & L.A. Meyer, eds. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

- Jose, S; Dollinger, J. 2019. Silvopasture: a sustainable livestock production system. *Agroforestry Systems*, 93(1), 1-9.
- Ku Vera, JC; Briceño, E; Ruiz, A; Mayo, R; Ayala, AJ; Aguilar, CF; Solorio, FJ; Ramirez, L. 2014. Manipulación del metabolismo energético de los rumiantes en los trópicos: opciones para mejorar la producción y la calidad de la carne y leche, la Habana Cuba (en línea). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 48(1):43-53.
- Ku-Vera, J. C; Castelán-Ortega, O. A; Galindo-Maldonado, F. A; Arango, J; Chirinda, N; Jiménez-Ocampo, R; Pineiro-Vázquez, A. T. 2020a. Strategies for enteric methane mitigation in cattle fed tropical forages. *Animal* 14(3):453-463.
- Ku-Vera, J. C; Jiménez-Ocampo, R; Valencia-Salazar, S. S; Montoya-Flores, M. D; Molina-Botero, I. C; Arango, J; Solorio-Sánchez, F. J. 2020b. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. *Frontiers in Veterinary Science* 7(1): 584.
- Ku-Vera, J. C; Jiménez-Ocampo, R; Valencia-Salazar, S. S; Montoya-Flores, M. D; Molina-Botero, I. C; Arango, J; Solorio-Sánchez, F. J. 2020. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(1), 584.
- Lezcano, Y; Soca, M; Ojeda, F; Roque, E; Fontes, D; Montejo, I; Cubillas, N. 2012. Caracterización bromatológica de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray en dos etapas de dos etapas de su ciclo fisiológico. *Pastos y Forrajes*, 35(3):275–282.
- Lombo, DF. 2012. Evaluación de la disponibilidad de biomasa y capacidad de rebrote de leñosas forrajeras en potreros del trópico seco de Nicaragua. Tesis Magister, Turrialba, Costa Rica, CATIE. 87 p.
- Lopez-Guerrero, I; Fontenot, J.P; Garcia-Peniche, T.B. 2011. Comparaciones entre cuatro métodos de estimación de biomasa en praderas de festuca alta. *Rev Mex Cienc Pecu* 2(2):209-220.
- López-Vigoa, O; Sánchez-Santana, T; Iglesias-Gómez, J. M; Lamela-López, L; Soca-Pérez, M; Arece-García, J; Milera-Rodríguez, M. 2017. Los sistemas silvopastoriles como alternativa para la producción animal sostenible en el contexto actual de la ganadería tropical. *Pastos y forrajes*, 40(2):83-95.
- Macome, FM; Pellikaan, WF; Schonewille, JT; Bannink, A; Van Laar, H; Hendriks, WH; Cone, JW; 2017. In vitro rumen gas and methane production of grass silages differing in plant maturity and nitrogen fertilisation, compared to in vivo enteric methane production. *Animal Feed Science and Technology* 230(1): 96-102.
- Maecha, L; Escobar, J.P; Suarez, J.F; Restrepo, L.F. 2007. *Tithonia diversifolia* (hemsl.) Gray (botón de oro) como suplemento forrajero de vacas F1 (Holstein por Cebú). *Livestock Research for Rural Development*, 19(2):1-6.
<http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd19/2/mahe19016.htm>
- Martin, R; Dell'Amico, J; Cañizares. 2018. Respuesta del pasto Cayman (*Brachiaria* híbrido cv. CIAT BRO2/1752) al déficit hídrico. *Cultivos tropicales* 39(1):113-118.

- Martínez, CA. 2014. Evaluación agronómica de 23 accesiones de *leucaena diversifolia*, en el peniplano de Popayán. Tesis Magister, Palmira, Colombia, Universidad nacional de Colombia. 81 p.
- Mazzetto, AM; Bishop, G; Styles, D; Arndt, C; Brook, R; Chadwick, D. 2020. Comparing the environmental efficiency of milk and beef production through life cycle assessment of interconnected cattle systems. *Journal of Cleaner Production*, 277(1):124108.
- Mejía-Díaz, E; Mahecha-Ledesma, L; Angulo-Arizala, J. 2017. *Tithonia diversifolia*: especie para ramoneo en sistemas silvopastoriles y métodos para estimar su consumo. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1):289-302.
- Mejía-Díaz, E; Mahecha-Ledesma, L; Angulo-Arizala, J. 2017. *Tithonia diversifolia*: especie para ramoneo en sistemas silvopastoriles y métodos para estimar su consumo. *Agronomía Mesoamericana* 28(1):289-302.
- Milera, M. 2013. Contribución de los sistemas silvopastoriles en la producción y el medio ambiente. *Avances de investigación agropecuaria* 17(3):7-24.
- Mojica-Rodríguez, J.E; Castro-Rincon, E; Carulla-Fornaguera, J.E; Lascano-Aguilar, C.E. 2019. Perfil lipídico en leche de vacas en pastoreo de gramíneas en el trópico seco colombiano. *Agronomía mesoamericana* 30(2):497-515.
- Murgueitio, E; Chara, J; Barahona, R; Cuartas, C; Naranjo, J. 2014. Los sistemas silvopastoriles intensivos (sspi), herramienta de mitigación y adaptación al cambio climático. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(1): 501-507.
- Nardone, A; Ronchi, B; Lacetera, N; Ranieri, MS; Bernabucci, U. 2010. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livestock Science* 130 (1):57-69.
- Navas, A. 2003. Influencia de la cobertura arbórea de sistemas silvopastoriles en la distribución de garrapatas en fincas ganaderas en el bosque seco tropical. Tesis Mag Sc. Turrialba, CR, CATIE. 2003.
- 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.
- Palma, J. M; González-Rebeles, C. 2018. Recursos arbóreos y arbustivos tropicales para una ganadería bovina sustentable. *Universidad de Colima. Universidad de Colima-REDGATRO-CONACYT*.
- Peralta, JR; Núñez, JJ; Branda, L. 2012. Utilización de *leucaena leucocephala* como fuente de proteína, sobre la ganancia de peso, en novillos sobre pastura cultivada en el departamento de Presidente Hayes – Paraguay. *Compend. cienc. vet* 02(02):22-25.
- Peréz, A; García-Enriquez, J; Quero-Peréz, J; Hernádez, A. 2004 . A growth analysis, specific leaf area and leaf nitrogen concentration in “mulato” grass (*Braquiaria* híbrido, 82 cv.). *Téc Pecu Méx*; 42(3):447-458. En línea: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Fisiologia/ArtAnalss_Cre_cimiento.pdf
- Pezo, DA; Ibrahim, M. 1996. Sistemas silvopastoriles: una opción para el uso sostenible de la tierra en sistemas ganaderos. *In Foro Internacional sobre Pastoreo Intensivo en Zonas*

- tropicales (1, 1996, Veracruz, México). Morelia, México. FIRA-Banco de México 39 p.
- Pezo, DA. 2018. Los pastizales mejorados: su rol, usos y contribuciones a los sistemas ganaderos frente al cambio climático (en línea). Boletín técnico CATIE; No.91. Consultado 25 oct. 2020. Disponible en <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/8753>
- Prieto-Manrique, E; Vargas-Sánchez, J. E; Angulo-Arizala, J; Mahecha-Ledesma, L. 2016. Ácidos grasos, fermentación ruminal y producción de metano, de forrajes de silvopasturas intensivas con *Leucaena*. *Agronomía Mesoamericana*, 27(2):337-352.
- Quintero-Anzueta, S; Molina, IC; Ramirez-Navas, JS; Barahona, R; Arango, J. 2017. Calidad nutricional de forrajes usados en la intensificación ganadera sostenible en el trópico bajo de Colombia. In Congreso Internacional de Sistemas Silvopastoriles (11, 2017, Manizales, Colombia). Palmira valle del Cauca, Colombia, CIAT.
- Rivera, J. E; Cuartas, C. A; Naranjo, J. F; Tafur, O; Hurtado, E. A; Arenas, F. A; Murgueitio, E. 2015. Efecto de la oferta y el consumo de *Tithonia diversifolia* en un sistema silvopastoril intensivo (SSPi), en la calidad y productividad de leche bovina en el piedemonte Amazónico colombiano. *Livestock Research for Rural Development*, 27(10):1-13.
- Rivera, J. E; Cuartas, C. A; Naranjo, J. F; Tafur, O; Hurtado, E. A; Arenas, F. A; Murgueitio, E. 2015. Efecto de la oferta y el consumo de *Tithonia diversifolia* en un sistema silvopastoril intensivo (SSPi), en la calidad y productividad de leche bovina en el piedemonte Amazónico colombiano. *Livestock Research for Rural Development*, 27(10):1-13.
- Rodríguez, PA; Clavero, T; Razz, R. 2001. Efecto de la altura y la frecuencia de poda en la producción de materia seca de *Acacia mangium* Willd. *Revista Forestal Centroamericana*, 35(3):38-40. En línea: <http://web.catie.ac.cr/informacion/RFCA/rev35/pagina38-40.pdf>
- Rosales, RB; Pinzón, SS. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *Ciencia y tecnología agropecuaria*, 6(1):69-82.
- Ruiz, TE; Torres, V; Febles, G; Díaz, H; González, J. (2012). Empleo de la modelación para estudiar el crecimiento del material vegetal 23 de *Tithonia diversifolia*. *Revista Cubana De Ciencia Agrícola*, 46(1), 23-29.
- Soto-Blanco, R; Abarca-Monge, S. 2018. Emisión de metano entérico en ganado Brahman en el trópico de Costa Rica. *Alcances Tecnológicos* 12(2):17-26.
- Styles, D; Gonzalez-Mejia, A; Moorby, J; Foskolos, A; Gibbons, J; 2018. Climate mitigation by dairy intensification depends on intensive use of spared grassland. *Global Change Biol.* 24(1):681- 693. <https://doi.org/10.1111/gcb.13868>.
- Theodorou, MK; Williams, B; Dhanoa, MS; McAllan, AB; France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 47(1):185-197.

- Van Wyngaard, J. D. V; Meeske, R; Erasmus, L. J; 2018. Effect of concentrate feeding level on methane emissions, production performance and rumen fermentation of Jersey cows grazing ryegrass pasture during spring. *Animal Feed Science and Technology*, 241(1):121-132.
- Vermeulen, SJ; Campbell, BM; Ingram, JS. 2012. Climate change and food systems. *Annual review of environment and resources*, 37(1):195-222.
- Villanueva, C; Ibrahim, M; Casasola, F; Ríos, N; Sepúlveda, C. 2009. Sistemas silvopastoriles: una herramienta para la adaptación al cambio climático de las fincas ganaderas en América Central. *Políticas y sistemas de incentivos para el fomento y adopción de buenas prácticas agrícolas*, 103.
- Wanapat, M. 2009. Potential uses of local feed resources for ruminants. *Tropical Animal Health and Production* 41(1):1035.
- Yadav, A; Gendley, M.K; Sahu, J; Patel, P; Chandraker, K; Dubey, A. 2019. Silvopastoral system: A prototype of livestock agroforestry. *The Pharma Innovation Journal* 8(2):76-82.
- Yáñez-Ruiz, DR; Bannink, A; Dijkstra, J; Kebreab, E; Morgavi, DP; O’Kiely, P; Hristov, AN. 2016. Design, implementation and interpretation of in vitro batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants—a review. *Animal Feed Science and Technology* 216(1):1-18.