



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
CENTRO DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN AGRONOMÍA
MENCIÓN SISTEMAS AGROPECUARIOS

MAGÍSTER EN AGRONOMÍA

PROYECTO DE INNOVACIÓN

DEGRADABILIDAD RUMINAL Y MITIGACIÓN DE GASES
DE EFECTO INVERNADERO ENTÉRICO DE FORRAJES
ARBÓREOS EN CONDICIONES DE LA AMAZONIA
ECUATORIANA

AUTOR:

ING. ZOOT. CARLOS DANILO CONGO YÉPEZ

DIRECTOR:

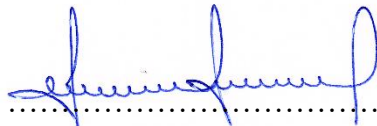
DR. HERNÁN ALBERTO UVIDIA CABADIANA, PhD
DR. MARCOS ANTONIO BARROS RODRÍGUEZ, PhD

PUYO – ECUADOR

2020

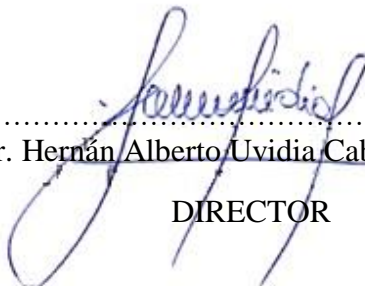
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el proyecto de innovación: “DEGRADABILIDAD RUMINAL Y MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO ENTÉRICO DE FORRAJES ARBÓREOS EN CONDICIONES DE LA AMAZONIA ECUATORIANA”, le corresponde exclusivamente al Ing. Carlos Danilo Congo Yépez, Autor bajo la Dirección del Dr. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD y Dr. Hernán Alberto Uvidia Cabadiana, PhD, Directores del trabajo de titulación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Estatal Amazónica.



.....
Ing. Carlos Danilo Congo Yépez

AUTOR



.....
Dr. Hernán Alberto Uvidia Cabadiana, PhD

DIRECTOR

.....
Dr. Marcos Antonio Barros Rodríguez, PhD
DIRECTOR

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN DE PROYECTOS DE INNOVACIÓN

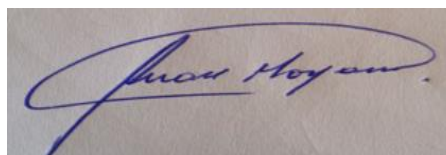
Este Proyecto de Innovación fue revisado y aprobado por el siguiente tribunal de sustentación de la Universidad Estatal Amazónica:



**Dra. M. V. María Isabel Viamonte Garcés, PhD.
PPRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



**Dra. Ing. Alina Ramírez Sánchez, PhD.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



**Ing. Zoot. Juan Carlos Moyano. MSc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Puyo, 12 de agosto del 2020
Oficio N° 021-HU-UEA-2020

Ingeniera
Sandra Soria Re, M.Sc.
COORDINADORA MAESTRÍA EN AGRONOMIA
UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
Presente

De mi consideración:

Con un atento y cordial saludo me dirijo a Usted, para desearle éxitos en sus funciones, por medio del presente **CERTIFICO** que, el trabajo de titulación "*Degradabilidad ruminal y mitigación de gases de efecto invernadero entérico de forrajes arbóreos en condiciones de la amazonia ecuatoriana*", del Ing. **CARLOS DANILO CONGO YÉPEZ**, con cédula **1203902331**, de la maestría en Agronomía Mención Sistemas Agropecuarios, cuyo director del proyecto es el Dr. Hernán Alberto Uvidia Cabadiana, PhD. Proyecto que ha sido revisado mediante el sistema antiplagio Urkund, reportando una similitud del 2%, informe generado el día 12 de agosto del 2020 por parte del director del proyecto.

Particular que comunico para los fines pertinentes






Dr. Hernán Alberto Uvidia Cabadiana, PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

Document Information

Analyzed document Tesis para Análisis .docx (D77724673)
Submitted 8/13/2020 1:07:00 AM
Submitted by Hernan Uvidia
Submitter email huvidia@uea.edu.ec
Similarity 2%
Analysis address echicaiza.uea@analysis.arkund.com

Sources included in the report

W	URL: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/22875/1/tesis-052%20Maestr%C3%A... Fetched: 2/1/2020 7:26:55 AM	 1
W	URL: https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/28426/1/Tesis%20139%20Medicina%... Fetched: 5/7/2020 1:29:39 AM	 1
W	URL: https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18378/1/tesis-045%20Maest... Fetched: 5/1/2020 6:51:03 AM	 3

AGRADECIMIENTO

Un amplio agradecimiento al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, a la Universidad Estatal Amazónica para todos los catedráticos y compañeros, que de una u otra manera contribuyeron positivamente a la culminación de esta Maestría y la Universidad Técnica de Ambato, por su aporte necesario para la finalización de esta investigación, de manera especial al Dr. Marcos Barros PhD, por compartir sus conocimientos, su guía y tiempo.

A la familia Congo Yépez y Véliz Domínguez que son la fuerza que complementa mi vida, gracias por su apoyo y cariño incondicional, sobre todo en las circunstancias difíciles, dónde sin su soporte no se hubiese cristalizado este sueño.

A dios por bendecirme con esta gran oportunidad de conocer buenas personas y vivir situaciones que contribuyeron en mi crecimiento personal y profesional.

DEDICATORIA

A ti, oh Dios de mis padres, te doy gracias y te alabo, porque me has dado salud, fortaleza, sabiduría a lo largo del estudio de postgrado y mostrarme el camino hacia la superación.

Con todo mi amor y cariño a mi esposa Ligia Véliz Domínguez, por su apoyo incondicional, amor, sacrificio y ánimo que me brinda día a día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales.

A mi hijos Carlos Eduardo y Angie Valentina Congo Véliz por ser la fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más.

A mis padres Carlos Eduardo Congo Arce y Amarilis Yépez Lorenty, quienes son mi guía desde mi infancia.

RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES

Se evaluó la calidad nutricional del forraje de *Leucaena leucocephala* (T₁) y *Tithonia diversifolia* (T₂) a los 60 días, y los impactos que ejercen estos arbustos forrajeros sobre la función ruminal. Para ello se desarrollaron experimentos *in vitro*, que consistieron en la incubación de los forrajes con líquido ruminal de 5 toros, y así determinar la producción de gas, población de protozoos, digestibilidad de materia seca (MS) y orgánica (MO). El experimento *in situ* se realizó para determinar los parámetros de cinética de la degradabilidad ruminal de MS en 5 bovinos machos provistos de una fistula con cánula en el rumen, estos experimentos se realizaron en el laboratorio de ruminología de la Universidad Técnica de Ambato. Los resultados mostraron diferencias ($P < 0.05$) en T₂ para digestibilidad de MS (642.5 g/kg), MO (587.4 g/kg) y contenido energético (9.4 MJ/kg MS). En cuanto a la degradación ruminal de MS, fracción soluble, potencial de degradación y degradación efectiva, mostraron diferencias ($P < 0.0001$) para T₂, sin embargo la fracción insoluble pero potencialmente degradable y tasa de degradación no mostraron diferencias estadísticas entre tratamientos ($P = 0.2782$ y $P = 0.3663$ respectivamente). El T₂ mostró diferencias ($P < 0.05$) en la emisión de gas total (181.6 ml/0.5 MS), metano (42.7 ml/0.5 MS) y dióxido de carbono (110.1 ml/0.5 MS). Los protozoos Holótricos y Entodiniomorfos no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). *Tithonia diversifolia* es una alternativa de alimentación para mitigar la emisión de gases efecto invernadero entérico, debido a su eficiencia en los parámetros de fermentación ruminal de la materia seca.

Palabras clave: Dióxido de carbono, Rumen, Forrajes, Metanogénesis, Protozoos.

ABSTRACT AND KEYWORDS

The nutritional quality of the forage of *Leucaena leucocephala* (T₁) and *Tithonia diversifolia* (T₂) was evaluated at 60 days, and the impacts of these forage shrubs on ruminal function. For this, in vitro experiments were developed, which consisted of incubating the forages with ruminal fluid from 5 bulls, and thus determining gas production, protozoan population, dry matter (DM) and organic (DO) digestibility. The in situ experiment was carried out to determine the kinetic parameters of the ruminal degradability of MS in 5 male bovines provided with a fistula with a cannula in the rumen, these experiments were performed in the ruminology laboratory of the Technical University of Ambato. The results showed differences (P<0.05) in T₂ for DM digestibility (642.5 g/kg), DO (587.4 g/kg) and energy content (9.4 MJ/kg DM). Regarding the ruminal degradation of DM, soluble fraction, degradation potential and effective degradation, they showed differences (P<0.0001) for T₂, however the insoluble but potentially degradable fraction and degradation rate did not show statistical differences between treatments (P= 0.2782 and P= 0.3663 respectively). T₂ showed differences (P<0.05) in the total gas emission (181.6 ml/0.5 DM), methane (42.7 ml/0.5 DM) and carbon dioxide (110.1 ml/0.5 DM). The Holotrichs and Entodinomorphs protozoa did not show significant differences between treatments (P>0.05). *Tithonia diversifolia* is a feeding alternative to mitigate enteric greenhouse gas emissions, due to its efficiency in the ruminal fermentation parameters of dry matter.

Keywords: Carbon dioxide, Rumen, Forages, Methanogenesis, Protozoa.

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA.....	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.4. OBJETIVOS.....	4
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN.....	5
2.1. BASES DEL EFECTO INVERNADERO.....	5
2.2. FUNCIÓN RUMINAL.....	5
2.2.1. EL RUMEN.....	5
2.2.2. ECOLOGÍA RUMINAL.....	6
2.2.3. DIGESTIÓN RUMINAL.....	6
2.2.4. DEGRADABILIDAD RUMINAL.....	7
2.2.5. METANOGÉNESIS RUMINAL.....	8
2.3. ROL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LOS SISTEMAS GANADEROS.....	8
2.3.1. SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN EL RECURSO SUELO.....	9
2.3.2. POTENCIAL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LA MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO.....	10
2.3.3. EFECTO DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE Y LECHE.....	11
CAPÍTULO III. METOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
3.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	13
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	15
3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	15
3.3.1. CORTE DE IGUALACIÓN DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS.....	15

3.3.2. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA FITOMASA DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS	16
3.3.3. EVALUACIÓN DE CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS	16
3.3.4. EXPERIMENTO <i>IN SITU</i>	17
3.3.4.1. PERIODO DE ADAPTACIÓN DE LOS BOVINOS	17
3.3.4.2. DEGRADACIÓN RUMINAL	17
3.3.5. EXPERIMENTOS <i>IN VITRO</i>	18
3.3.5.1. DIGESTIBILIDAD APARENTE Y PRODUCCIÓN DE GAS	18
3.3.5.2. POBLACIÓN DE PROTOZOOS HOLÓTRICOS Y ENTODINIOMORFOS	20
3.4. TRATAMIENTO DE DATOS	20
3.4.1. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	20
3.4.2. DISEÑO DEL EXPERIMENTO	22
3.4.2.1. TRATAMIENTOS	22
3.4.2.2. REPETICIÓN	22
3.4.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
3.5. RECURSOS UMANOS Y MATERIALES	23
3.5.1. HUMANOS	23
3.5.2. MATERIALES	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1. CALIDAD NUTRICIONAL	25
4.2. DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA, MATERIA ORGÁNICA Y CONTENIDO ENERGÉTICO	25
4.3. DEGRADABILIDAD <i>IN SITU</i> DE LA MATERIA SECA	26
4.4. PRODUCCIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO ENTÉRICO	27
4.5. POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS HOLÓTRICOS Y ENTODINIOMORFOS DEL RUMEN	29
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
5.1. CONCLUSIONES	31
5.2. RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Operacionalización de las variables dependientes.....	21
Tabla 2. Operacionalización de las variables independientes	21
Tabla 3. Esquema del ANDEVA.....	23
Tabla 4. Composición nutricional de arbustos forrajeros.....	25
Tabla 5. Digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV) de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y contenido de energía metabolizable (EM).....	26
Tabla 6. Parámetros de la degradación <i>in situ</i> de la MS (g/kg).....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ubicación del experimento fase de campo y de laboratorio.	13
Figura 2. Comportamiento de la temperatura media mensual (°C) y precipitación mensual (mm) en La Joya de los Sachas, Orellana, Ecuador.	14
Figura 3. Producción de gas (a), CO ₂ (b) y CH ₄ (c) ml/0.5 g MSF en los forrajes arbóreos <i>Leucaena leucocephala</i> (T ₁) y <i>Tithonia diversifolia</i> (T ₂). Líneas verticales representados en las medias ±EEM.*Significativo (P<0.05).	28

ÍNDICE DE ECUACIONES

	Pág.
$Y = a + b (1 - e^{-ct})$ [1].....	17
$DE = a + [(b*c)/(c + k)]$ [2].....	17
$GV = A / (1 + (B/t) C)$ [3].....	19
$EM \text{ (MJ/kg MS)} = 0.016 * DIVMO$ [4].....	20
$Y_i = \mu + t_i + e_{ij}$ [5].....	22

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

América Latina y el Caribe albergan ecosistemas únicos y una gran diversidad biológica, los mismos que se modifican aceleradamente, en parte, a la expansión de las fronteras agropecuarias y la deforestación (Magrin, 2015).

Los sistemas de producción ganadera causan impactos globales por las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), como el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O), producto de la respiración, fermentación entérica y mal manejo de las heces (Beltrán, Álvarez, Pinos y Contreras, 2016). El cambio climático en la actividad ganadera se reduce a la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) de origen antrópico, de las actividades agrícolas, ganaderas y de los desechos de la actividad (Intergubernamental Panel on Climate Change, 2014).

El CH₄ generado contribuye a la retención de energía en los animales, por lo tanto, es importante que en áreas ecuatoriales, donde la alimentación animal se basa en pasturas con alto contenido de fibra, la inclusión de arbustos forrajeros y aditivos en las dietas puedan aumentar la eficiencia digestiva y reducir las emisiones de CH₄ (Posada y Noguera, 2014).

El cambio climático tiene fundamentales repercusiones en lo ético, porque el desarrollo debe ser armonioso con los ecosistemas y responsable con las futuras generaciones; en lo político, a causa de la gestión sustentable de los ecosistemas que pasa por una democratización de las agendas de desarrollo; y en lo técnico, por plantear una oportunidad histórica para la construcción de una relación positiva entre el crecimiento económico y la sustentabilidad de los ecosistemas (Delgado, 2018).

Las estrategias o acciones de mitigación pueden orientarse a disminuir la producción de los GEI, o aumentar los mecanismos de captura (Alayón-Gamboa, 2018). Los rumiantes tienen el potencial de reducir significativamente sus emisiones (Gerber et al., 2013), el CH₄ emitido por fermentación ruminal es una pérdida de energía potencialmente utilizable (Botero et al., 2013), para Beltrán-Santoyo et al. (2016) la ingesta de forrajes con mayor conversión, tiene

un efecto de mitigación en el CH₄. La incorporación de arbustos forrajeros de alto valor nutricional, se convierten en estrategias de corto plazo, para que la ganadería tropical se adapte y mitigue los efectos del cambio climático (Alonso, 2011; Milera, 2013; Murgueitio, Chará, Barahona, Cuartas y Naranjo, 2014; Villanueva, Casasola, y Detlefsen, 2018). En este contexto una alternativa para reducir las emisiones de GEI por fermentación entérica, es la manipulación de las raciones alimenticias de los rumiantes (Rendón, Pinos y Kebreab, 2018), la utilización de forrajes arbóreos leguminosos y no leguminosos en la alimentación de rumiantes puede mejorar el ambiente ruminal, incrementar la digestibilidad y degradabilidad de la materia seca (MS), además pueden modificar la población de protozoarios del rumen, así como, disminuir las emisiones de GEI (Galindo, Delgado, Pedraza y García, 2005; Manotoa y Barros, 2016), en la metanogénesis ruminal el efecto defaunante de los arbustos forrajeros está relacionado con la presencia de metabolitos secundarios y aceites esenciales, los cuales tienen efectos sobre la fermentación y los microorganismos ruminales (Cardona, Mahecha y Angulo, 2017; Ortiz, Posada y Noguera, 2014).

La identificación de metabolitos secundarios en plantas con propiedades antimetanogénicas es una área de investigación, que brinda múltiples beneficios en especial a sistemas de producción con rumiantes en pastoreo (Vélez, Campos y Sánchez, 2014). Los taninos son un grupo de compuestos fenólicos que cumplen un rol fundamental, aunque controversial, en la digestión y la performance animal (Jenko, Bonato, Fabre, Perlo, Tisocco y Teira, 2018). En condiciones *in vitro* como *in vivo*, los taninos condensados tienen la capacidad de reducir las emisiones de CH₄ entérico y mejorar el uso de la energía de alimentación, que a su vez puede aumentar el rendimiento de los rumiantes (Piñeiro-Vázquez et al., 2015). Las saponinas son otro grupo de metabolitos secundarios de las plantas, son glúcidos de alto peso molecular, se componen de una aglicona y un sacárido (Sparg, Light & Van Staden, 2004). Al igual que los taninos, las saponinas poseen gran actividad antibacteriana, relacionada con cambios en la permeabilidad de la célula (Patra & Saxena, 2009). El ecosistema microbiano del rumen tiene un impacto significativo en la comprensión de la fisiología digestiva y también proporciona un banco de pruebas para otros entornos microbianos en el desarrollo y la validación de las tecnologías (Puniya, Singh & Kamra, 2015).

La intervención de la ganadería bovina en los ecosistemas de bosque húmedo tropical, en especial la Región Amazónica Ecuatoriana (RAE) debe partir desde la implementación de sistemas de producción análogos al bosque como los sistemas agrosilvopastoriles, banco de proteínas, asociación de pastos con leguminosas (Alemán, Bravo y Chimborazo, 2018; Nieto y Caicedo, 2012). Los sistemas silvopastoriles son sistemas de producción alternativos prometedores en los trópicos, porque incorporan árboles y leguminosas arbóreas ricos en nutrientes (Villanueva et al., 2019).

En la RAE los estudios de los forrajes arbustivos, como fuentes para formar sistemas de producción, se han basado en la evaluación de la capacidad forrajera, análisis proximal, esquema de Van Soest y digestibilidad aparente, sin embargo, faltan estudios donde se demuestre su rol y eficiencia, en términos de cinética de degradación de la materia seca y orgánica, mitigación de gases de efecto invernadero entérico, contenido de metabolitos secundarios y el efecto defaunante en las poblaciones de protozoos del rumen.

Los arbustos forrajeros *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, son recursos forrajeros promisorios por la capacidad adaptativa a las diferentes zonas agroecológicas de la RAE, fácil propagación, y alto valor nutritivo. Los principales hallazgos de esta investigación contribuirán a la generación de estrategias de investigación aplicada, transferencia e innovaciones tecnológicas para la formación de sistemas de producción ganaderos sostenibles, y con ello, buscar la resiliencia de la actividad al cambio climático.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La alimentación de la ganadería bovina en la Región Amazónica Ecuatoriana, se basa en pasturas y forrajes de baja calidad nutricional, lo que conlleva a una deficiente nutrición y bajos parámetros productivos, contribuyendo al aumento de la fermentación ruminal, así como de una mayor emisión de gases de efecto invernadero entérico como metano y dióxido de carbono, por otro lado la poca investigación en temas de cinética de degradación ruminal con los arbustos forrajeros promisorios de la región, no permite utilizar estrategias de nutrición animal en su máxima expresión, para mejorar los parámetros productivos de la actividad ganadera. Con un manejo adecuado de las pasturas se reduce el avance de la

frontera agrícola, para lo cual, la utilización de forrajeras arbóreas con alto valor nutricional puede contribuir a la mitigación del cambio climático, pues incrementan la degradabilidad por los altos contenidos de proteína que poseen y disminuyen la producción de metano en rumen.

1.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

La utilización de forrajes arbóreos en la nutrición de rumiantes, podrían favorecer la digestión ruminal, mitigar la producción de gases de efecto invernadero y reducir la población de protozoarios en el rumen, y con ello, maximizar la utilización de la energía en el animal.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la degradación ruminal, digestibilidad, mitigación de la producción de gases de efecto invernadero, así como, la capacidad de defaunación ruminal de forrajes arbóreos promisorios para las condiciones edafoclimáticas de la Amazonia Ecuatoriana.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Determinar la cinética de degradación y digestibilidad ruminal de los forrajes arbóreos *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.
- b. Evaluar el efecto sobre la mitigación de la producción de metano y dióxido de carbono en los forrajes arbóreos *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.
- c. Determinar el efecto de los forrajes arbóreos *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray sobre la población de protozoarios Holótricos y Entodiniomorfos del rumen.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. BASES DEL EFECTO INVERNADERO

Garduño (2004) afirma que “algunos autores dicen que el nombre efecto invernadero no es el más adecuado, pues un invernadero se calienta más por impedir la convección que por atrapar radiación, y sugieren que se llame más bien *efecto atmósfera*”. Este efecto se refiere a un mecanismo por medio del cual la atmósfera de la tierra se calienta (Caballero, Lozano y Ortega, 2007). Barry & Chorley (2009), expresan que el sistema climático involucra cinco subsistemas principales: la atmósfera (la más inestable y que cambia rápidamente); el océano (muy lento en términos de su inercia térmica y, por lo tanto, importante para regular las variaciones atmosféricas); la capa de nieve y hielo (la criosfera); y la superficie de la tierra con su cubierta vegetal (la litosfera y la biosfera). Los procesos físicos, químicos y biológicos tienen lugar en y entre estos subsistemas complejos, influye en la radiación entrante y la radiación saliente afectando la composición atmosférica a través de los gases de efecto invernadero.

Según, Canet y Pérez (2017), el protocolo de Kyoto contempla seis gases de efecto invernadero (GEI): dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), óxido nitroso (N₂O), hidrofluorocarbonos (HFC), perfluorocarbonos (PFC) y hexafluoruro de azufre. No obstante, en agricultura y ganadería tan sólo son relevantes los tres primeros.

2.2. FUNCIÓN RUMINAL

Puniya et al. (2015) describen que “el ecosistema microbiano del rumen tiene un impacto significativo en la comprensión de la fisiología digestiva y también proporciona un banco de pruebas para otros entornos microbianos en el desarrollo y la validación de la tecnología”.

2.2.1. EL RUMEN

El rumen y el retículo forman un solo compartimento denominado retículo-rumen, tiene a cargo la digestión de los alimentos (Segura, 1989). El rumen del ganado bovino tiene un

ecosistema microbiano diverso que es esencial para que el huésped digiera el material vegetal (Myer, Smith, Wells, Kuehn & Freetly, 2015). Galindo, Elías, Muñoz, Marrero, González y Sosa. (2017) afirman que el rumen es el mayor de los compartimientos preestomacales de los rumiantes, con uno de los ecosistemas más complejos de la naturaleza. En este se integran bacterias, hongos, protozoos, bacteriófagos y, de manera ocasional, levaduras y productos finales de la fermentación (ácidos orgánicos, amoníaco y gases, entre otros). Los procesos fermentativos que se producen en este órgano se pueden manipular con la aplicación de diferentes estrategias, encaminadas a modificar los sitios sensibles para el desarrollo microbiano, producción de enzimas, productos finales de la acción microbiana, específicamente el patrón de fermentación y pasaje de nutrientes.

2.2.2. ECOLOGÍA RUMINAL

Para Elghandour et al. (2019), un mayor nivel de producción depende de capacidad del ecosistema microbiano para convertir la materia orgánica en precursores de leche y carne, esto ha llevado a un mayor interés por parte de los nutricionistas de animales, bioquímicos y microbiólogos en la evaluación de diferentes estrategias para manipular la biota ruminal para mejorar el rendimiento animal, la eficiencia de producción y salud animal.

Los rumiantes y los microorganismos ruminales tienen una relación simbiótica que facilita la digestión de la fibra, cuando los rumiantes se alimentan con raciones deficientes en fibra, los mecanismos fisiológicos de la homeostasis se alteran, el pH ruminal disminuye, la ecología microbiana se altera y el animal se vuelve más susceptible a los trastornos metabólicos y, en algunos casos, a las enfermedades infecciosas. Algunos trastornos pueden ser contrarrestados por los aditivos alimentarios (por ejemplo, antibióticos y tampones), pero estos aditivos pueden alterar aún más la composición del ecosistema ruminal (Russell & Rychlik, 2001).

2.2.3. DIGESTIÓN RUMINAL

Los valores de digestibilidad aparente de la MS de varios ecotipos de *Tithonia diversifolia* estudiados por La O et al. (2012) fueron de 72.25 a 79.77%, y los valores de digestibilidad aparente de la materia orgánica (MO) fluctuó entre 57.71 a 66.20%. Soto, Rodríguez y

Russo. (2009) indican que *Tithonia diversifolia* presenta un descenso en la digestibilidad a medida que maduraba el forraje hasta las 22 semanas de rebrote, sin embargo existe un repunte de la digestibilidad a las 26 semanas, producto de los brotes nuevos en ramas viejas. La incorporación de niveles crecientes de *Tithonia diversifolia* en la dieta de ovinos, mejora la digestibilidad de la misma (García et al., 2017).

Pedraza, La O, Estévez, Guevara y Martínez. (2003) reportan contenidos de 65.7% de digestibilidad para *Leucaena leucocephala*, además destacan su contribución nitrogenada al ecosistema ruminal. Barros, Sandoval, Solorio, Sarmiento, Rojas, & Klieve. (2014) afirman que “en animales no adaptados a la ingesta de *Leucaena leucocephala*, el consumo puede ser limitado con niveles bajos de inclusión (menor a 30% de inclusión en la dieta), principalmente por causa de la mimosina y sus derivados”.

De acuerdo con Giang, Wanapat, Phesatcha & Kang. (2016) “la alimentación con 60% de ensilado de *Leucaena leucocephala* mejora la ingesta de alimento, la digestibilidad y el producto final de fermentación ruminal al tiempo que reduce la producción de metano en novillos lecheros”.

2.2.4. DEGRADABILIDAD RUMINAL

La cinética de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca (MS), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácida (FDA) indican el alto valor nutricional de *Tithonia diversifolia* para la suplementación de rumiantes en el trópico (Valenciaga, López, Galindo, Ruiz y Monteagudo, 2018).

La incorporación de niveles de 20 - 40% de *Leucaena leucocephala* en la dieta de ovinos mejora el ambiente ruminal e incrementa la tasa de degradación de los forrajes (Barros, Solorio y Sandoval, 2018). Proporcionar suplementos de *Leucaena leucocephala* en la dieta de rumiantes menores según lo manifestado por Barros-Rodríguez et al. (2013) “aumenta la función del rumen, tasa de degradación de los forrajes, disponibilidad de nutrientes para los procesos metabólicos, y estimula la ingesta voluntaria”.

2.2.5. METANOGENÉISIS RUMINAL

Morgavi, Forano, Martin & Newbold (2010) y Morgavi, Martin, Jouany & Ranilla (2012) encontraron una fuerte interacción, entre los números de protozoos y las emisiones de CH₄, Newbold, De la Fuente, Belanche, Ramo, & McEwan. (2015) afirman que la consecuencia de la eliminación de los protozoos se ha centrado en gran medida en su papel en la metanogénesis, lo que refleja las preocupaciones actuales sobre el papel de los rumiantes en la producción de gases de efecto invernadero.

Ruíz et al. (2016) indican que “*Tithonia diversifolia* es una planta promisoría cuando se utiliza para manipular la ecología microbiana ruminal, reducir la población de metanógenos y protozoos, así como para incrementar la población de bacterias celulolíticas” y Galindo et al. (2011) afirman que “las bacterias metanogénicas se redujeron en 1.64 y 2.7 veces con el 10 y 20 % de inclusión de *Tithonia diversifolia* respectivamente”.

Prieto, Vargas, Angulo y Mahecha. (2016) afirman que la inclusión de 14% de *Leucaena leucocephala* aumentó el contenido de ácido linoleico y linolénico en el alimento, sin afectar la cinética de fermentación, digestibilidad de la materia seca (MS), pH, total y proporción de ácidos grasos volátiles, ni redujo la producción de metano, sin embargo Galindo et al. (2008) reporta que con una inclusión de “*Leucaena leucocephala* al 25% de la dieta es adecuada para reducir la población de bacterias metanogénicas ruminales sin comprometer la población total de bacterias celulolíticas”.

2.3. ROL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LOS SISTEMAS GANADEROS

El mejoramiento genético de las especies forrajeras y el incremento de la diversidad en cuanto a estructura y composición en sistemas agrodiversos, son las principales estrategias para la mitigación y adaptación al cambio climático (Velasco, Quila y Terán, 2016).

Mediante la adopción de sistemas silvopastoriles cada vez más complejos y la eliminación gradual de los insumos agroquímicos, a nivel de finca es posible reducir el costo de

producción de la leche, aumentar la calidad y el precio de la misma y mejorar la seguridad alimentaria y la eficiencia energética (Lopera et al., 2015).

La implementación de sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi) permiten obtener numerosos beneficios ambientales tales como captura de CO₂, fijación de N atmosférico, reducción de la emisión de CH₄ y NH₄, incremento de la materia orgánica en el suelo y mejora en las condiciones micro climáticas (Bacab, Madera, Solorio, Vera y Marrufo, 2013). El uso de arbustos forrajeros en la ganadería bovina para Barragán, Mahecha y Cajas. (2016) resulta en una mayor producción de leche por unidad de superficie, lo cual está influenciado por la calidad de la dieta ofertada y una mayor capacidad de carga.

2.3.1. SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN EL RECURSO SUELO

Ferrari y Wall (2015) afirman que “los árboles fijadores de nitrógeno son adecuados para utilizar en terrenos muy degradados donde las prácticas agrícolas y ganaderas serían muy costosas o directamente impracticables”. La biomasa de la hoja verde de *Tithonia diversifolia* es alta en nutrientes, con un promedio de 3.5% de nitrógeno (N), 0.37% de fósforo (P) y 4.1% de potasio (K) sobre una base de materia seca (Jama et al., 2000). En experimentos a nivel de laboratorio y de invernadero *Tithonia diversifolia* demostró ser un potencial mejorador del suelo, se puede utilizar como abono verde o como componente principal del abono de compost (Olabode, Sola, Akanbi, Adesina & Babajide, 2007).

López y García (2015) en su investigación encontraron que “*Leucaena leucocephala* aporta un equivalente de 250 kg/ha por año de N, lo cual indica las ventajas de esta forrajera cuando se incluye en sistemas silvopastoriles”. De acuerdo con Cairo-Cairo et al. (2017) *Leucaena leucocephala* provocó efectos significativos en profundidades de 0-10, 10-20 y 20-40 cm, en los indicadores de la estructura y consistencia del suelo, a favor del mejoramiento de su calidad y productividad, además alcanzaron resultados significativos a largo plazo en la materia orgánica, ya sea en su función como árbol o integrada al sistema silvopastoril.

2.3.2. POTENCIAL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LA MITIGACIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO

En la actualidad, constituye un reto el estudio de factores que influyen en la producción de metano y lo más acertado para reducir la metanogénesis ruminal, son la implementación de prácticas de manejo adecuadas y estrategias nutricionales, como el empleo de plantas defaunantes. Con estas alternativas se atenuarían, en alguna magnitud, las pérdidas energéticas por concepto de metano y, consecuentemente, se obtendrían producciones en sistemas ganaderos amigables con el ambiente (Sosa, Galindo y Bocourt, 2007).

Los SSPi tienen la capacidad de contribuir a mitigar el cambio climático, debido a que remueven entre 17.013 y 34.778 kg CO₂ eq/ha/año (Naranjo, Cuartas, Murgueitio, Chará y Barahona, 2012). La inclusión de *Leucaena leucocephala* permite disminuir las emisiones entéricas de CH₄ en cantidades cercanas a un 20% por kilogramo de carne o leche producida y por kilogramo de materia seca consumida (Rivera, Molina, Chará, Murgueitio y Barahona, 2017). Para Barros-Rodríguez et al. (2015), “la inclusión de arbustos forrajeros como la *Leucaena leucocephala* incrementa la digestibilidad del nitrógeno amoniacal, fibra detergente neutro del rumen in situ y la digestibilidad de la proteína cruda, y por consiguiente la ingesta voluntaria”, en este mismo sentido Galindo, Rodríguez, González, López y Herrera (2018), mencionan que los sistemas de producción con *Leucaena leucocephala*, asociada a gramíneas, propician incrementos en las poblaciones de bacterias viables totales y microorganismos degradadores de la fibra; ello, unido al efecto depresor de los protozoarios, garantiza un ambiente ecológico favorable a la celulolisis ruminal, lo cual contribuiría de manera sostenida al incremento productivo del sistema ganadero. “La suplementación de *Leucaena leucocephala* con el 10% y 20% como sustitución de concentrado en condiciones *in vitro*, puede aumentar la degradabilidad y la síntesis de la proteína microbiana” (Zain, Ningrat, Putri & Makmur, 2019), sin embargo Yusiati, Hanim, Anas & Muktiari (2019) indican que “la sustitución de las hojas de *Leucaena leucocephala* por forrajes con una dieta basal de hasta el 25% no fue suficiente para reducir la emisión de metano aunque algunos parámetros de fermentación ruminal sí se ven afectados”.

La utilización de *Tithonia diversifolia*, ejercen efectos depresivos en las poblaciones de metanógenos y protozoos ruminales (Galindo, La O, León, Ruiz, González y Narváez,

2019), con efectos beneficiosos en la ecología microbiana ruminal, porque modifican las poblaciones de bacterias y hongos celulolíticos (Galindo et al., 2012). Para Lemos et al. (2015) la inclusión de una no leguminosa como *Tithonia diversifolia* en los SSPi mejora la calidad de la dieta tradicional basada principalmente en gramíneas, por su alto contenido de proteína, alta degradabilidad en el rumen y bajo contenido de fibra, lo que contribuye a disminuir las emisiones de metano. Estudios realizados con esta forrajera en condiciones *in vitro* lograron disminuir el CH₄ basados en la eficiencia de la digestibilidad y degradación ruminal de la MS (Cardona et al., 2017).

2.3.3. EFECTO DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE Y LECHE

La inclusión de *Leucaena leucocephala* mejora la calidad nutricional de praderas, aumenta el contenido de proteína cruda y disminuye los contenidos de lignina, además se obtienen ganancias de 486 g animal⁻¹ día⁻¹ y en vacas en silvopastoreo con *Leucaena leucocephala* se obtienen producciones superiores 5.83 l⁻¹vaca⁻¹ día, comparadas con las de pastoreo en praderas 4.76 l vaca⁻¹ día⁻¹ (Sánchez y Viveros 2002). En este contexto Martínez-Hernández et al. (2019) afirman que la incorporación planificada de *Leucaena leucocephala* en áreas de pastoreo ha demostrado mantener niveles de 9.1 a 9.8 kg de leche vaca⁻¹día⁻¹ ó 11957 a 14403 kg de leche ha⁻¹año⁻¹; y, de 693 a 851 g de ganancia de peso animal⁻¹ día⁻¹ ó 788 a 1337 kg de ganancia de peso ha⁻¹ año⁻¹.

Gallego, Mahecha y Angulo. (2017) menciona “que con una inclusión del 25% de *Tithonia diversifolia* en el suplemento alimenticio para vacas lecheras en pastoreo, mejora la calidad de leche referente a concentración de lactosa, eficiencia en la utilización del suplemento y relación beneficio/costo”, para Mahecha, Escobar y Suárez. (2007) *Tithonia diversifolia* puede sustituir de forma parcial el alimento concentrado en vacas de cruce Holstein x Cebú, además la composición de la leche no se ve afectada cuando el nivel de sustitución alcanza el 35%, en este contexto Rivera et al. (2015) afirman que la producción de leche bovina en sistemas de doble propósito sin suplementación en el piedemonte amazónico de Colombia (trópico húmedo) puede incrementarse en volumen y cantidad de sólidos en la leche tanto a nivel individual como por unidad de área con SSPi que combinan pastos seleccionados,

arbustos forrajeros para ramoneo como *Tithonia diversifolia*, árboles de sombrío y pastoreo rotacional con cercas eléctricas porque se genera mayor biomasa y de mejor calidad que en los sistemas convencionales de la región. Los beneficios al productor se expresan en ingresos de más del 30% y los beneficios a la industria láctea se traducen en mayor cantidad de sólidos y mayor volumen.

CAPÍTULO III. METOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

La recolección de fitomasa se realizó en el banco de germoplasma de pastos y forrajes de la Estación Experimental Central de Amazonía (EECA), del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), situado a una altitud de 285 m s.n.m., longitud 76°52'35.87" Oeste y latitud 0°21'20.63" Sur, parroquia rural San Carlos a 3 km de la entrada del sector la Parker, Cantón La Joya de los Sachas, Orellana. La fase experimental se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Técnica de Ambato (UTA), ubicada en Querochaca, sector Tambo, Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua, a una altitud 2 850 m s.n.m., longitud 78°36'22" Oeste y latitud 01°25'0" Sur (Figura 1).

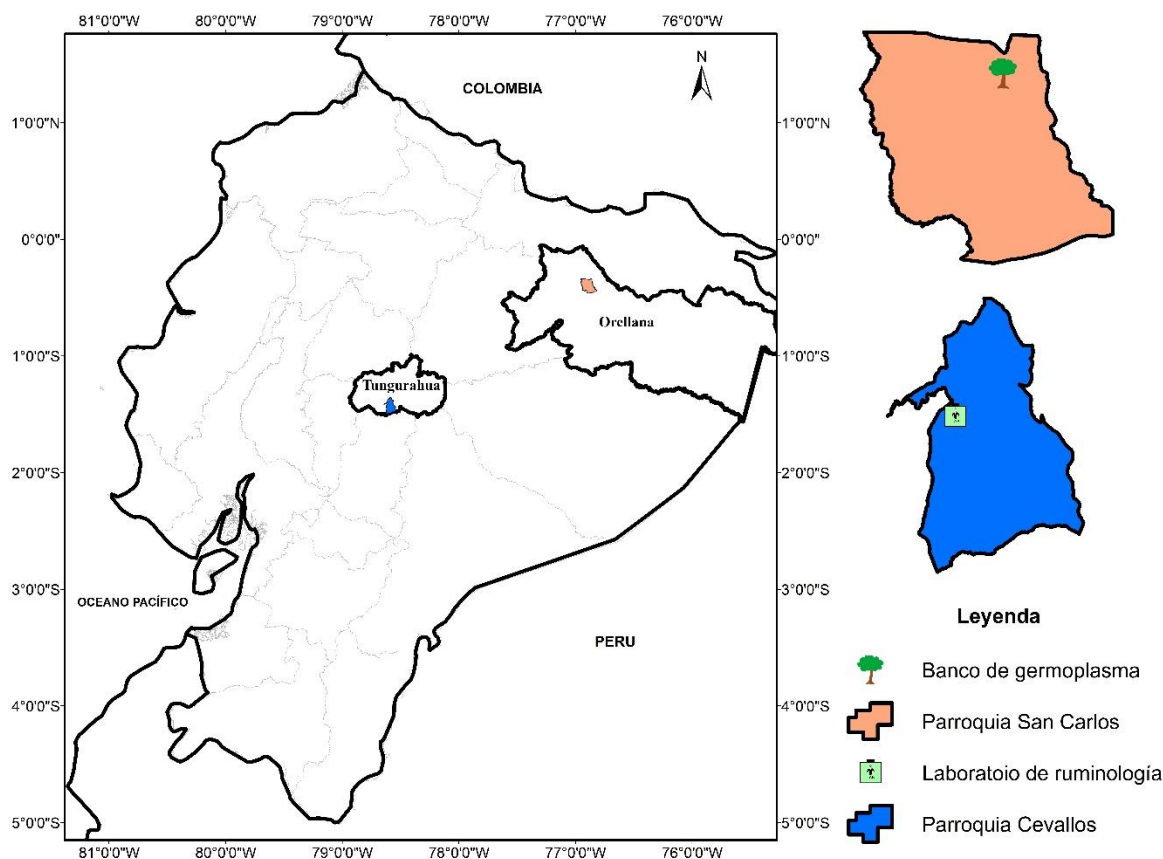


Figura 1. Ubicación del experimento fase de campo y de laboratorio.

3.1.1. CARACTERÍSTICAS EDAFOCLIMÁTICAS

El tipo de suelo es de orden Inceptisol, medianamente profundo, franco-arenosos, de color negro en superficie a pardo oscuro en profundidad, alta retención de humedad y densidad aparente baja (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal La Joya de los Sachas, 2015). Las condiciones de pH que posee el sitio experimental es ligeramente ácido (6.2), con niveles de nitrógeno de 37.25 ppm, fósforo 10.85 ppm, potasio 0.57 meq/100 ml, calcio 14.93 meq/100 ml, magnesio 2.13 meq/100 ml y materia orgánica de 7.13%.

La zona corresponde a un bosque húmedo tropical-bhT (Holdridge, 1987), con precipitación anual de 3491 mm y temperatura media mensual de 26.5°C (Figura 2).

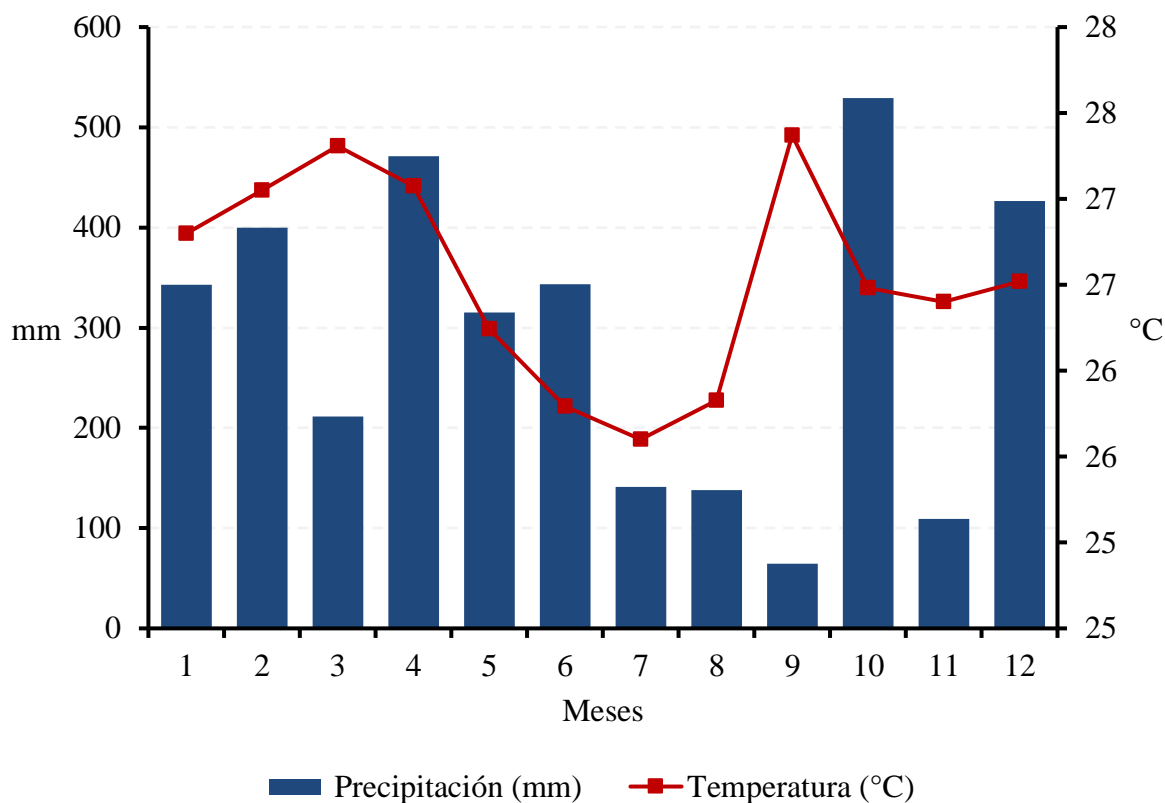


Figura 2. Comportamiento de la temperatura media mensual (°C) y precipitación mensual (mm) en La Joya de los Sachas, Orellana, Ecuador.

Fuente: Elaboración propia, a partir de datos proporcionados por la estación de meteorología M1269 del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), 2019.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El enfoque de esta investigación es de tipo científica experimental cuantitativa, que incluyó una fase de recolección y análisis de datos para probar la hipótesis, confiando en la medición numérica con su respectiva aplicación estadística, para lo cual se llevaron experimentos en condiciones controladas, todos los datos obtenidos se midieron, procesaron y ordenaron en dos fases experimentales:

- 1) Fase experimental de campo: Se realizó mediante el corte y procesamiento de la fitomasa de los arbustos forrajeros *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* a los 60 días, las unidades de observación fueron 5 toros canulados, dónde las muestras de los forrajes se colocaron en diferentes horas de incubación, para ver su efecto sobre los parámetros de fermentación ruminal *in situ*.
- 2) Fase experimental de laboratorio: Se analizó las cualidades nutricionales de los forrajes y su efecto sobre la digestibilidad, población de protozoos y producción de gas en condiciones *in vitro*.

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

3.3.1. CORTE DE IGUALACIÓN DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS

En el banco de germoplasma forrajero de la Estación Experimental Central de la Amazonía del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), se realizó el corte de igualación de la leguminosa arbustiva *Leucaena leucocephala* con la ayuda de un serrucho curvo de corte por tracción marca Felco 630 y en el arbusto forrajero *Tithonia diversifolia* se realizó con un machete de tres canales marca Gallo 890, el corte en ambos arbustos se realizó a una altura de 100 cm del suelo, con el objetivo de estimular rebrotes uniformes (Geraldine y Simón, 2001; Pinot et al., 2019).

3.3.2. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA FITOMASA DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS

Se colectó la fitomasa verde de los arbustos forrajeros *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* a los 60 días posterior a la poda (Grijalva, Ramos y Vera, 2011; Peters, Franco, Schmidt y Hincapie, 2011; Ramos, Canul y Ku, 2016). En el centro de cada parcela (15 x 15 m), se delimitó el área de muestreo (2 m de ancho x 6 m de largo) y en la hilera media de esta área se estableció el transecto de recolección de las muestras de forrajes, el cual estuvo constituido por 6 plantas que se encontraron en competencia intraespecífica perfecta, la fitomasa cosechada (hojas, tallos tiernos y leñosos) de *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia*, se deshidrataron en un invernadero tipo capilla, se colocaron cartulinas en los mesones (1.5 m de ancho, 3 m de largo y 1 m de alto), para evitar el contacto directo del forraje con el cemento, este proceso tuvo una duración de 72 horas, durante este periodo las muestras fueron volteadas 4 veces al día (7:00 a.m., 10:00 a.m., 13:00 y 15:00 p.m.), y se terminó con el proceso de secado en una estufa Thermo Scientific de aire forzado a 65°C por 48 horas (Toledo, 1982), a esta temperatura se evita pérdidas sensibles de los carbohidratos solubles y formación de complejos indigestibles (Roza, Martínez y Argamentería, 2011), la fitomasa seca se procesó en un molino Thomas Model 4 Wiley® Mill con malla de 2 mm, y se tamizaron a un tamaño de partícula de 0.425 mm y se conservaron en fundas plásticas Ziploc.

3.3.3. EVALUACIÓN DE CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS ARBUSTOS FORRAJEROS

La materia seca (MS) se terminó con las muestras de los forrajes de *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* a una temperatura de 105°C en una estufa Thermo Scientific de aire forzado hasta obtener un peso constante (#7.007, AOAC, 2012) y ceniza por calcinación a una temperatura de 600 °C en una mufla Thermo Scientific (#7.009, AOAC, 2012). Fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutro (FDN) se determinaron mediante el método 12 <https://url2.cl/cKkZD> y 13 <https://url2.cl/1WW3d> respectivamente, en el ANKOM²⁰⁰⁰ analizador de fibra (ANKOM Technology, Macedon, NY, EEUU). Proteína cruda (PC) se determinó por análisis elemental (N), para lo cual se utilizó un LECO CHN 628 (LECO Corporation).

3.3.4. EXPERIMENTO *IN SITU*

3.3.4.1. PERIODO DE ADAPTACIÓN DE LOS BOVINOS

Se utilizaron cinco toros mestizo de 450 ± 21.2 kg manejados en corrales individuales, con piso de concreto, cubierta de zinc con acceso a comederos y agua *ad libitum*, los toros se sometieron a un mismo régimen alimenticio con una dieta basada en *Medicago sativa* L. y *Lolium perenne* L., con una proporción 1:1 durante 15 días antes de iniciar el periodo de incubación ruminal y durante todo el periodo de prueba, el alimento se suministró en la mañana a las 7:00 am, y en la tarde a las 17:00 p.m.

3.3.4.2. DEGRADACIÓN RUMINAL

Se evaluó mediante la técnica de la bolsa de nylon en el rumen descrita por Ørskov et al. (1980). En cada toro fistulado se colocaron bolsas de ANKOM Technology R510 (5 cm x 10 cm, porosidad de $50 \pm 10 \mu$), se incubó 5 g de materia seca (MS) de los arbustos forrajeros *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* en el rumen de los cinco toros por 0, 4, 12, 24, 48, 72 y 96 horas (h). El experimento empezó con el periodo de incubación de 96 h a las 19:15 p.m. (Día 1), 72 h a las 19:15 p.m. (Día 2), 48 h a las 19:15 p.m. (Día 3), 24 h a las 19:15 p.m. (Días 4), 12 h a las 07:15 a.m. (Día 5), 4 h a las 15:15 p.m. (Días 5), al término del periodo de incubación 0 h a las 19:15 p.m. (Día 5), fueron removidas todas las bolsas R510 del rumen de cada toro y fueron lavadas con agua corriente en una lavadora manual, posterior fueron secada a 60 °C, las bolsas empleadas para medir la pérdida por lavado (0 h) no se incubaron en el rumen. La desaparición de los nutrientes se calculó como una proporción del material incubado y residual. Los datos se ajustaron a la ecuación propuesta por Ørskov & McDonald (1979).

$$Y = a + b(1 - e^{-ct}) \quad [1]$$

La degradación efectiva se ajustó mediante la ecuación de Ørskov & McDonald (1979), considerando una tasa de pasaje de 2, 5 y 8%.

$$DE = a + [(b*c)/(c + k)] \quad [2]$$

Donde:

Y = Porcentaje de degradación acumulada en el tiempo t %.

DE = Degradación efectiva, (%/horas).

a = Intercepto de la curva de degradación cuando t = 0, (de degradabilidad inicial %).

b = Fracción potencialmente degradada en el rumen, (%).

c = Tasa de degradación, (%/horas).

t = Tiempo de incubación en el rumen, (horas).

e = Base de los logaritmos naturales.

k = Tasa de pasaje, (%).

3.3.5. EXPERIMENTOS *IN VITRO*

3.3.5.1. DIGESTIBILIDAD APARENTE Y PRODUCCIÓN DE GAS

Se obtuvo el contenido del rumen (líquido y fracciones sólidas) por separado de 5 toros canulados (unidad experimental), el contenido ruminal (1000 ml/toro) se colectó en fundas plásticas antes de la alimentación en la mañana y se almacenó en recipientes plásticos con agua caliente a temperatura controlada (39° C), y fueron transportados al laboratorio de ruminología de la UTA para ser procesados dentro de la primera hora de la recolección. La preparación de medios ricos en nitrógeno (8400 ml de saliva artificial) se realizó según lo descrito por Menke & Stengass (1988) para la utilización del medio se mezcló los siguientes componentes:

- 1) Solución de micro minerales: Cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobalto ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).
- 2) Solución Buffer (1400 ml): 39 g de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), 5.6 g de bicarbonato de amonio (NH_4) HCO_3 .
- 3) Solución de macrominerales: 13.23 g de fosfato sodio dibásico (Na_2HPO_4), 8.68 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), 0.84 g de sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
- 4) Solución reductora (7000 ml): 1.75 g de cisteína en 280 ml de agua destilada.

5) Indicador anaerobio: Resarzurina, para aforar el volumen necesario se utilizó agua desionizada. Esta solución una vez mezclada se mantiene caliente a baño maría y bajo CO₂ extra puro.

La producción de gas se determinó según la metodología descrita por Theodorou, Williams, Dhanoa, McAllan & France (1994). Se colocaron 0.5 g de MS de cada tratamiento en botellas de vidrio ambar de 100 ml de capacidad nominal, se incorporó 60 ml de inóculo ruminal con una concentración de 70% de saliva artificial (42 ml) y 30% líquido ruminal (18 ml) bajo un flujo de CO₂ constante. Las botellas se sellaron y se incubaron a 39-40 °C, la presión de gas se registró a las 3, 6, 9, 12, 18, 24, 48, 72 y 96 h después de la incubación, con un transductor DELTA OHM modelo DO 9704 (Delta OHM, Padova, Italia) y con la ayuda de jeringas plásticas se midió el volumen de gas, seguido se determinó la concentración de CO₂ y CH₄ con un detector de gases portátil modelo GX-6000 (RKI Analytical Instruments, Hamburgo, Alemania). Para cada tratamiento se utilizaron cinco botellas (repeticiones) por cada tiempo de incubación y se estimó la producción total de gas por 0.5 g MS fermentable (MSF). La digestibilidad *in vitro* se estimó a las 48 horas de incubación mediante el filtrado de los residuos y se corrigió con la MS residual de los frascos utilizados como blancos, seguido se procedió a secar en estufa a 60 °C para luego interpretar los resultados.

La producción de gas, CH₄ y CO₂ de los arbustos forrajeros se ajustaron de acuerdo a la ecuación monobásica descrita por Groot, Cone, Williams, Debersaques & Lantinga (1996).

$$GV = A / (1 + (B/t)^C) \quad [3]$$

Dónde:

GV = Producción de gas *in vitro* (ml/0.5 g MSF) al tiempo de incubación t

A = Asíntota o producción de gas *in vitro* (ml/0.5 g MSF) cuando t → infinito ∞

B = Tiempo (h) de incubación al cual se alcanza la mitad de la producción de gas asíntótica

C = Constante que determina la forma de la curva y, por lo tanto, la posición del punto inflexión, dado por: $t_i = B ((C-1)/(C+1))^{1/C}$

t = Tiempo de incubación en el rumen, (h).

Con la digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO) se realizó el cálculo de la energía metabolizable (EM) de los arbustos forrajeros, a partir de la ecuación propuesta por McDonald et al. (2002).

$$EM \text{ (MJ/kg MS)} = 0.016 * DIVMO \quad [4]$$

Dónde DIVMO = Materia orgánica digestible (g/kg MS)

3.3.5.2. POBLACIÓN DE PROTOZOOS HOLÓTRICOS Y ENTODINIOMORFOS

Se utilizaron cinco botellas ambar de 100 ml, la mezcla se preparó con 0.5 g de MS de los tratamientos, 42 ml de saliva (mezcla química artificial) y 18 ml de líquido ruminal de bovino por tiempo de incubación (6, 12 y 24 h). Al término de cada periodo de incubación se retira con una micropipeta Thermo Scientific 1 ml de solución y se deposita en tubos Eppendorf, luego se coloca una gota de formol y 0.5 ml de solución verde de metilo formamida para fijar los protozoarios y se almacenaron a 4 °C (Ogimoto y Imai, 1981), con un microscopio óptico (x40) marca Motic BA210 adaptado con una cámara digital (Moticam) y con la ayuda de una cámara Fusch-Rosenthal Chamber, se cuantificó la presencia de los protozoarios de la clase Holotrica y Entodiniomorfa.

3.4. TRATAMIENTO DE DATOS

3.4.1. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Los experimentos *in situ* e *in vitro* proporcionan información sobre el mecanismo de acción sobre la función ruminal, sus efectos comparativos y los posibles efectos *in vivo*, para lo cual se realizó la operacionalización de las variables dependientes (Tabla 1) e independientes (Tabla 2).

Tabla 1. Operacionalización de las variables dependientes

Categorías	Indicador	Índice	Clasificación	Escala
Cinética de la degradación ruminal de la materia seca de los arbustos forrajeros	Degradación acumulada en el tiempo	%	Cuantitativa	Continua
	Degradación efectiva	%/horas	Cuantitativa	Continua
Producción de CH ₄ , CO ₂ y gas <i>in vitro</i>	Mililitros de gas producido	ml/0.5 g MSF	Cuantitativa	Continua
Población de protozoos <i>in vitro</i>	Número de protozoos Holótricos e Entodiniomorfo	log ₁₀	Cuantitativa	Continua

MSF: Materia seca fermentable

Tabla 2. Operacionalización de las variables independientes

Categorías	Indicador	Índice	Clasificación	Escala
Calidad nutricional de los arbustos forrajeros	MS	g/kg	Cuantitativa	Continua
	MO y MI	g/kg MS		
	PC	g/kg MS		
	FDN y FDA	g/kg MS		
Degradación ruminal de la MS <i>in situ</i>	Cantidad de forraje degradado	g/kg MS	Cuantitativa	Continua
Digestibilidad aparente de la MS <i>in vitro</i>	Cantidad de forraje digerido	g/kg MS	Cuantitativa	Continua
Incubación de la MS para la producción de gas y población de protozoos	Tiempo de incubación	horas	Cuantitativa	Discreta

MS: Materia seca; MO: Materia orgánica; Materia inorgánica (Ceniza); PC: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida.

3.4.2. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

3.4.2.1. TRATAMIENTOS

T₁: *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.

T₂: *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.

3.4.2.2. REPETICIÓN

Se utilizaron cinco toros mestizos de 450±21.2 kg provistos de una fistula en el rumen (Diamond Bar, Parma, Idaho, USA) para los experimentos *in situ* y su contenido ruminal para la elaboración de la saliva artificial en los experimentos *in vitro*.

3.4.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con dos tratamientos y cinco repeticiones, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij} \quad [5]$$

Dónde:

Y_{ij}= Valor de la variable de respuesta o dependiente.

μ= Media general

t_i= Efecto del tratamiento (T₁: *Leucaena leucocephala* y T₂: *Tithonia diversifolia*);

e_{ij}= Efecto aleatorio (Error experimental del tratamiento *i* y repetición *j*).

Los resultados de todas las variables se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el PROC GLM del Statistical Analysis System (SAS, 2002), la comparación de medias se determinó mediante la prueba de Tukey 0.05%. En el programa Graphpad Prism 8, Software, Inc. San Diego, CA, USA se analizó la degradación ruminal de MS de los

tratamientos con base a la ecuación propuesta por Ørskov & McDonald (1979) y la producción de gas, CH₄ y CO₂ de acuerdo a la ecuación monobásica descrita por Groot et al. (1996).

Tabla 3. Esquema del ANDEVA

Fuente de variación	Grados de libertad	
Tratamientos	t-1	1
Error experimental	t (r-1)	8
Total	t.r-1	9

3.5. RECURSOS UMANOS Y MATERIALES

3.5.1. HUMANOS

La fase de campo se ejecutó con el apoyo del agrónomo Junior Jiménez asistente de campo del programa de ganadería del INIAP, para realizar las labores culturales y recolección de la fitomasa de los arbustos forrajeros sujetos a estudio. La alimentación y manejo de los toros canulados apoyaron en el personal de campo del laboratorio de ruminología de la Universidad Técnica de Ambato (UTA). Los experimentos *in situ* e *in vitro* se apoyaron en la experiencia de investigadores de la Universidad Estatal Amazónica (UEA) y Universidad Técnica de Ambato en su rol de director y/o tutor del proyecto de titulación.

3.5.2. MATERIALES

- 1 desbrozadora STIHL FS 480
- 1 pulverizador de mochila Jacto PJH
- 2 tijeras de podar Felco 2
- Serrucho de podar
- 500 ml de herbicida de contacto
- 10 cartulinas A0

- 50 papel periódico
- 1 tamiz de 0.710 mm
- 1 tamiz de 0.425 mm
- 10 fundas Ziploc
- 210 bolsas de nylon
- 1 funda de ligas
- 12 bolsas de filtro para fibra ANKOM F57
- 365 botellas de vidrio de 100 ml
- 1 cooler
- 2.5 gl de agua destilada
- 100 papel filtros
- 100 cubre objetos
- 1.5 ml solución de verde de metilo formamida
- 1 cámara Fucsh-Rosenthal
- 45 crisoles de 50 ml
- 10 jeringuillas de 5 y 10 jeringuillas de 20 ml
- 100 tubos Eppendorf de 1.5 ml
- 1 caja de guantes ginecológicos
- 1 caja de guantes de manejo de nitrilo
- 1 par de botas
- 1 mandil
- 1 overol
- 1 tanque de CO₂ extra puro

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CALIDAD NUTRICIONAL

Los resultados del contenido de proteína cruda encontrados en el T₁ y T₂ indican el potencial que tienen estos forrajes, para ser incorporados como suplementos proteicos, en este sentido para Rodríguez et al. (2014) *Leucaena leucocephala* evidencia mayor potencial como suplemento de proteína degradable en rumen y de acuerdo con Gallego, Mahecha y Angulo. (2014) *Tithonia diversifolia* puede utilizarse como suplementos alimenticios por su contenido de proteína, carbohidratos solubles y taninos en la alimentación de vacas lecheras de alta producción, en esta investigación los altos niveles de PC se atribuye a los bajos contenidos de FDN (<50%), FDA (<40%) y al contenido de materia orgánica (>80%) que ambos forrajes presentaron a los 60 días de rebrote (Tabla 4).

Tabla 4. Composición nutricional de arbustos forrajeros

Tratamientos	(g/kg)				
	MS	MO	PC	FDN	FDA
T ₁	937.8	936.0	310.1	430.0	315.9
T ₂	887.5	845.0	293.4	366.6	283.9

MS: Materia seca; MO: Materia orgánica; PC: Proteína cruda; FDN: Fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida.

4.2. DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA, MATERIA ORGÁNICA Y CONTENIDO ENERGÉTICO

Se registró mayor digestibilidad de MS (642.5 g/kg) y MO (587.4 g/kg), en el T₂ (Tabla 5), los valores encontrados de digestibilidad de MS en esta investigación difieren a los encontrados por Gelpud, Pachajoa, Buitrago, Iglesias y Castro (2020) donde reportaron un valor del 75.45% a los 60 días en el trópico alto andino colombiano. La eficiencia de digestión encontrada en *Tithonia diversifolia* se debe a los bajos niveles de FDN < 40%

(celulosa, hemicelulosa, lignina, sílice) y FDA < 30% (celulosa, lignina) encontrados a los 60 días, estos resultados coinciden con los reportados por Sosa et al. (2020), donde encontraron que la digestibilidad de la MS *in vitro* como *in situ*, tuvieron una correlación negativa cuando aumentó la FDN, celulosa y hemicelulosa. Para Widiawati et al. (2018) una mejor ingesta de materia orgánica digestible, se traduce en lo posterior en mayor utilización de los aminoácidos presentes en el forraje, además el T₂ presentó un mayor contenido de energía metabolizable (9.40 MJ/kg MS), lo cual nos indicaría que con este tratamiento se reduce la pérdida de energía por orina y gases en la fermentación.

Tabla 5. Digestibilidad *in vitro* (DIV) de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y contenido de energía metabolizable (EM).

Tratamientos	DIVMS (g/kg)	DIVMO (g/kg)	EM (MJ/kg MS)
T ₁	550.6(±28.8) ^b	523.1(±31.7) ^b	8.37(±0.51) ^b
T ₂	642.5(±37.0) ^a	587.4(±41.0) ^a	9.40(±0.66) ^a
EEM	14.82	16.39	0.26
R ²	0.71	0.49	0.49
P Valor	0.0023	0.0241	0.0241

^{abc} Medias con letras distintas entre columnas difieren significativamente (P<0.05); EEM: Error experimental de la media; R²: Coeficiente de determinación; (±): Desviación estándar de la media.

4.3. DEGRADABILIDAD *IN SITU* DE LA MATERIA SECA

La degradación ruminal de MS presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tabla 6), el T₂ obtuvo una diferencia en relación al T₁ del 23.91% en la fracción soluble (a), el 24.98% en el potencial de degradación (a+b) y en la degradación efectiva (DE) con las diferentes constantes de velocidad de recambio ruminal (k), sin embargo en la fracción insoluble pero potencialmente degradable (b) y en la tasa de degradación (c) no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tabla 6). Los resultados de esta investigación concuerdan con la investigación realizada por Valenciaga et al. (2018), donde reporta una degradación potencial (a+b) de la MS del 94.2% en materiales vegetales de *Tithonia diversifolia* cosechados a los 60 días.

Tabla 6. Parámetros de la degradación *in situ* de la MS (g/kg)

Degradación	Tratamientos		EEM	R ²	P Valor
	T ₁	T ₂			
t ₀	1243	1288			
A	653.2(±17.9) ^b	892.3(±5.9) ^a	5.98	0.99	<0.0001
B	44.5(±13.3) ^a	55.1(±15.4) ^a	6.44	0.14	0.2782
C	0.074(±0.09) ^a	0.033(±0.03) ^a	0.03	0.10	0.3663
a+b	697.6(±10.9) ^b	947.4(±9.5) ^a	4.59	0.99	<0.0001
DE 0.02% k	684.3(±13.8) ^b	922.1(±4.9) ^a	4.66	0.99	<0.0001
DE 0.05% k	676.2(±16.0) ^b	910.7(±7.9) ^a	5.67	0.99	<0.0001
DE 0.08% k	672.0(±16.6) ^b	905.7(±8.4) ^a	5.91	0.99	<0.0001

^{abc}Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente (P<0.05); t₀: tiempo cero (muestras lavadas en laboratorio) a: fracción soluble; b: fracción insoluble pero potencialmente degradable; c: tasa de degradación (% por hora); a+b: potencial de degradación; k: tasa de pasaje (%); DE: degradación efectiva; EEM: error experimental de la media; R²: Coeficiente de determinación; (±): Desviación estándar de la media.

4.4. PRODUCCIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO ENTÉRICO

La producción de gases de efecto invernadero entérico, resultó menor en el *Tithonia diversifolia* para todos los periodos de incubación evaluados, a las 96 h de incubación de la MS se registró una disminución en la producción de gas del 22.03% (51.3 ml/0.5 MSF), en CO₂ el 27.52% (41.8 ml/0.5 MSF) y en CH₄ el 21.36 (11.6 ml/0.5 MSF) con relación a *Leucaena leucocephala* (Figura 3), los resultados de esta investigación demuestran que cuando un forraje tiene mayor capacidad de degradación en el rumen, como es el caso de *Tithonia diversifolia* se produce un mejoramiento en la ecología ruminal, en este contexto Cardona-Iglesias et al. (2017) indican que al incorporar *Tithonia diversifolia* en la dieta de los rumiantes, la producción de GEI disminuye, debido a la eficiencia de la degradación ruminal de la MS y para Rivera et al. (2018) la mitigación de GEI encontrada en *Tithonia diversifolia* se debe a la presencia de compuestos fitoquímicos como taninos, flavonoides,

aceites esenciales y saponinas capaces de modular la dinámica de degradación y fermentación en el rumen.

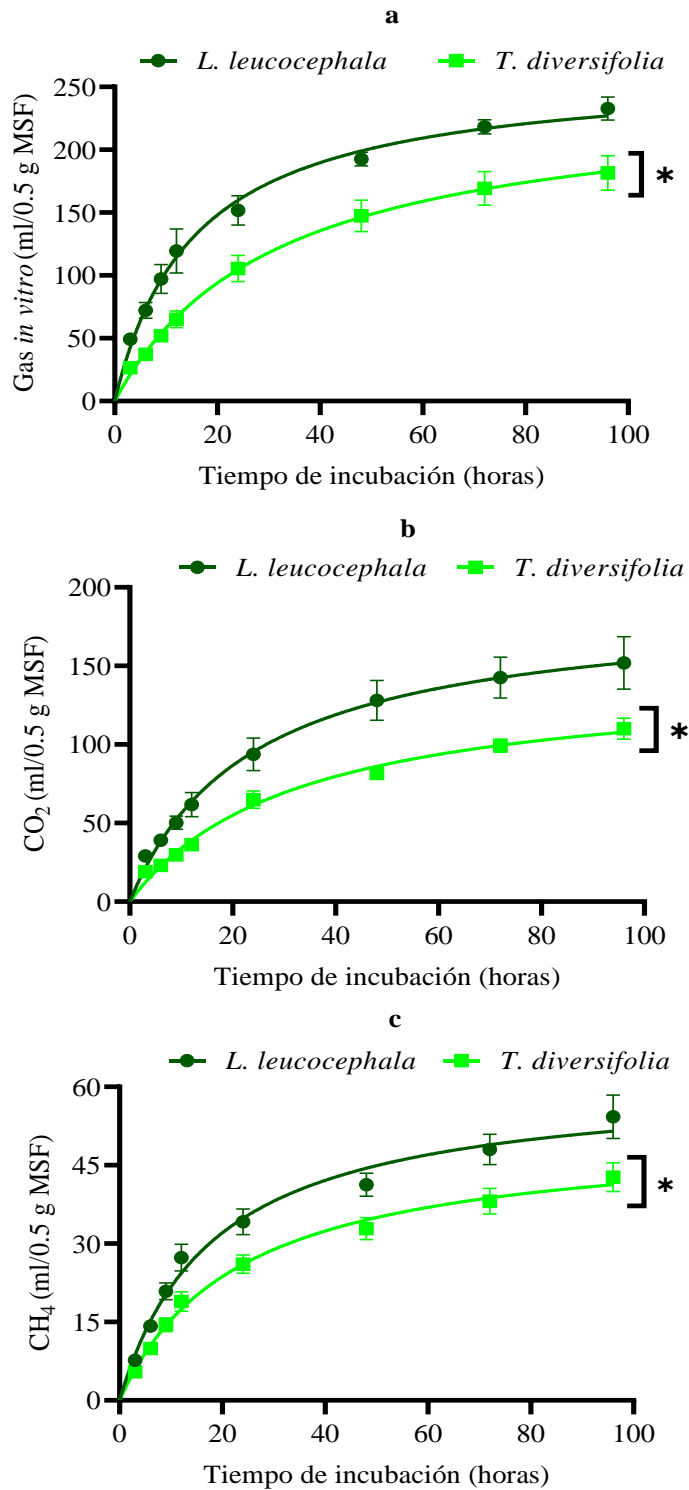


Figura 3. Producción de gas (a), CO₂ (b) y CH₄ (c) ml/0.5 g MSF en los forrajes arbóreos *Leucaena leucocephala* (T₁) y *Tithonia diversifolia* (T₂). Líneas verticales representados en las medias ±EEM.*Significativo (P<0.05).

4.5. POBLACIÓN DE PROTOZOARIOS HOLÓTRICOS Y ENTODINIOMORFOS DEL RUMEN

El número de protozoos Holótricos y Entodiniomorfos *in vitro* no presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, en los periodos de incubación 6, 12 y 24 horas (Tabla 5).

Tabla 5. Poblaciones *in vitro* de protozoarios del rumen (\log_{10})

Horas	Holótricos		Entodiniomorfos	
	T ₁	T ₂	T ₁	T ₂
6	1.86(\pm 1.07) ^a	2.00(\pm 1.15) ^a	3.50(\pm 0.20) ^a	3.51(\pm 0.23) ^a
12	1.53(\pm 1.40) ^a	1.74(\pm 0.98) ^a	3.67(\pm 0.12) ^a	3.69(\pm 0.16) ^a
24	0.96(\pm 1.31) ^a	1.26(\pm 1.15) ^a	3.52(\pm 0.13) ^a	3.53(\pm 0.13) ^a

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($P < 0.05$); (\pm): Desviación estándar de la media.

Los resultados encontrados por Manotoa y Barros (2016) en su investigación con 10 leguminosas arbustivas demostraron que *Leucaena leucocephala*, presentó la menor población de protozoos Holótricos (2.99 \log_{10}) y Entodiniomorfos (4.37 \log_{10}) a las 24 horas, sin embargo estos resultados difieren a los encontrados en esta investigación. De acuerdo con Galindo et al. (2008), la inclusión del 25 y 30% de *Leucaena leucocephala* en fermentadores *in vitro*, tuvo una reducción en la población de protozoarios y de los organismos metanogénicos, de este modo se mejoró la cantidad de los microorganismos digestores de la celulosa, sin que se afecte la población total de bacterias, otro estudio de Galindo-Blanco et al. (2018) ratifica el efecto en la celulosis ruminal y depresor en los protozoos, cuando *Leucaena leucocephala* es asociada con gramíneas, debido a la presencia de metabolitos secundarios. Similar efecto es reportado para *Tithonia diversifolia*, de acuerdo con Galindo et al. (2011) la inclusión del 10 y 20% este arbusto no leguminoso produce reducciones en la población de metanógenos ruminales, lo que reviste una gran importancia, ya que estos microorganismos son responsables de la producción de CH₄ en el rumen. En este contexto la utilización de *Tithonia diversifolia*, ejercen efectos depresivos en

las poblaciones de metanógenos y protozoos ruminales (Galindo et al., 2019), con efectos beneficiosos en la ecología microbiana ruminal, al modificar las poblaciones, bacterias y hongos celulolíticos (Galindo et al., 2012; Ruíz et al., 2016).

De acuerdo a lo reportado por Galindo et al. (2014) *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* pueden ser utilizadas para reducir los protozoos ruminales, porque contienen compuestos fitoquímicos como taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos, esteroides, antocianidinas, reductores y alcaloides. El papel que los protozoos desempeñan en la ecología ruminal, son trascendentales en el metabolismo lipídico de rumiantes (Salas et al., 2012) y la defaunación de protozoos del rumen es una alternativa que se utiliza para reducir los metanógenos del rumen, lo que contribuye a la eficiencia de energía del animal (Barros-Rodríguez et al., 2017).

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Los resultados de proteína cruda encontrados a los 60 días en los arbustos forrajeros *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia*, permiten ser considerados como suplementos proteicos en la dieta de los rumiantes.

La eficiencia de *Tithonia diversifolia* en la digestión y degradabilidad de la materia seca, estuvieron influenciados por los bajos niveles de fibra detergente neutra (<40%) y fibra detergente ácida (<30%).

Tithonia diversifolia redujo la emisión de metano y dióxido de carbono entérico en un 20% con relación a *Leucaena leucocephala*, con ello se lograría reducir el gasto energético, lo que se traduciría en un mejor rendimiento productivo de los rumiantes.

Leucaena leucocephala y *Tithonia diversifolia* mostraron similar capacidad defaunante sobre los protozoos Holotricos y Entodiniomorfos, la presencia de compuestos fitoquímicos como taninos y saponinas reportados en varios estudios, demuestran los efectos depresivos que ejercen estos forrajes en el rumen.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda incorporar *Leucaena leucocephala* y *Tithonia diversifolia* en los sistemas ganaderos de la región amazónica ecuatoriana, como un recurso forrajero para asociar y fomentar las pasturas en callejones, así como los bancos de proteína de acuerdo al rango de adaptación altitudinal de las especies, a partir de la eficiencia encontrada en la función ruminal (digestión y degradabilidad), se recomienda el uso de *Tithonia diversifolia* como alternativa forrajera para mitigar la emisión de gases de efecto invernadero entérico en los agroecosistemas ganaderos de la región.

BIBLIOGRAFÍA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2012. Official methods of analysis. 19th ed. (Vol. I, II). Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Alayón-Gamboa, J. A. (2018). Estrategias de mitigación de gases de efecto invernadero en la ganadería. *AgroProductividad*, 11(2). Recuperado de <http://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/112>
- Alemán Pérez, R. D., Bravo Medina, C. A., y Chimborazo, C. (2018). Propuesta de manejo agroecológico de los sistemas ganaderos en la región amazónica ecuatoriana. *Cuadernos de Agroecología*, 13(1). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/327630313_Propuesta_de_Manejo_Agroecologico_de_los_sistemas_ganaderos_en_la_region_amazonica_ecuatoriana
- Alonso, J. (2011). Los sistemas silvopastoriles y su contribución al medio ambiente. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 45(2), 107-115. Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=193022245001>
- Álvarez, A. (2014). El cambio climático y la producción animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(1), 7-10. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193030122004>
- Bacab, H. M., Madera, N. B., Solorio, F. J., Vera, F., y Marrufo, D. F. (2013). Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala*: una opción para la ganadería tropical. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3), 67-81. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/837/83728497006.pdf>
- Barragán Hernández, W., Mahecha-Ledesma, L., y Cajas-Girón, Y. (2016). Efecto de sistemas silvopastoriles en la producción y composición de la leche bajo condiciones del valle medio del río sinú, Colombia. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 8(2), 187-196. <https://doi.org/10.24188/recia.v8.n2.2016.186>
- Barros-Rodríguez, M., Solorio-Sánchez, J., Sandoval-Castro, C., Klieve, A. V., Briceño-Poot, E., Rojas-Herrera, R., & Ramírez-Avilés, L. (2013). Effects of two intake levels of *Leucaena leucocephala* on rumen function of sheep. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 1(1), 55-57. Recuperado de <http://www.tropicalgrasslands.info/index.php/tgft/article/viewFile/42/15>
- Barros-Rodríguez, M., Sandoval-Castro, C. A., Solorio-Sánchez, J., Sarmiento-Franco, L. A., Rojas-Herrera, R., & Klieve, A. V. (2014). *Leucaena leucocephala* in ruminant

- nutrition. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 17(2), 173-183. Recuperado de <http://www.revista.ccba.uady.mx/urn:ISSN:1870-0462-tsaes.v17i2.2026>
- Barros-Rodríguez, M. A., Solorio-Sánchez, F. J., Sandoval-Castro, C. A., Klieve, A., Rojas-Herrera, R. A., Briceño-Poot, E. G., & Ku-Vera, J. C. (2015). Rumen function in vivo and in vitro in sheep fed *Leucaena leucocephala*. *Tropical Animal Health and Production*, 47(4), 757-764. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0790-y>
- Barros-Rodríguez, M., Oña-Rodríguez, J., Mera-Andrade, R., Artieda-Rojas, J., Curay-Quispe, S., Avilés-Esquivel, D., Solorio-Sánchez, J., y Guishca-Cunuhay, C. (2017). Degradación ruminal de dietas a base de biomasa pos-cosecha de *amaranthus cruentus*: Efecto sobre los protozoos del rumen y producción de gas *in vitro*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4), 812-821. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13931>
- Barros-Rodríguez, M., Solorio-Sánchez, J., y Sandoval-Castro, C. (2018). Efecto del consumo voluntario de *Leucaena leucocephala* sobre la degradación ruminal de la materia orgánica en ovinos. *Revista Ecuatoriana de Investigaciones Agropecuaria*, 1(1), 25-28. Recuperado de <http://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/reiagro/article/view/72>
- Barry, R. G., & Chorley, R. J. (2009). *Atmosphere, weather and climate*. Routledge. Recuperado de <https://url2.cl/fS5r6>
- Beltrán-Santoyo, M. Á., Álvarez-Fuentes, G., Pinos-Rodríguez, J. M., y Contreras-Servín, C. (2016). Emisión de metano en los sistemas de producción de leche bovina en el Valle de San Luis Potosí, México. *Agrociencia*, 50(3), 297-305. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-31952016000300297&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Botero, M., Cristina, I., Cantet, J. M., Montoya, S., Londoño, C., Antonio, G., & Barahona Rosales, R. (2013). In vitro methane production from two tropical grasses alone or in combination with *Leucaena leucocephala* or *Gliricidia sepium*. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 15-31. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1900-96072013000200002&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Caballero, M., Lozano, S., y Ortega, B. (2007). Efecto invernadero, calentamiento global y cambio climático: Una perspectiva desde las ciencias de la tierra. *Revista digital*

- universitaria*, 8(10), 2-12. Recuperado de http://www.revista.unam.mx/vol.8/num10/art78/oct_art78.pdf
- Cairo-Cairo, P., Noval-Artiles, E., Díaz-Martín, B., Rodríguez-Urrutia, A., Rodríguez-Lopez, O., Torres-Artiles, P., ... & Dávila-Cruz, A. (2017). Efecto de *Leucaena leucocephala* en la estructura y contenido de materia orgánica del suelo de dos unidades ganaderas de Villa Clara, Cuba. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51(3), 371-380. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2079-34802017000300011&lng=es&tlng=es.
- Canet, R., y Pérez-Piqueres, A. (2017). Mitigación y adaptación al cambio climático en la agricultura y la ganadería. Recuperado de <https://url2.cl/wW7kH>
- Cardona, C., A, C., Ramírez, N., F, J., Morales, T., M, A., ... & Barahona Rosales, R. (2014). Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 27(2), 76-94. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-06902014000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Cardona-Iglesias, Juan Leonardo, Mahecha-Ledesma, Liliana y Angulo-Arizala, Joaquín. (2017). Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 273-288. <https://dx.doi.org/10.15517/am.v28i1.21466>
- Carreño Devia, F. P., y Leguizamon Mejia, L. J. (2013). Defaunación ruminal un mecanismo favorable en la eficiencia nutricional de bovinos. *reponame:Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. Recuperado de <http://repository.unad.edu.co/handle/10596/1479>
- Chacón, M., & Harvey, C. A. (2013). The contribution of dispersed trees in pastures for biomass reserve and climate change mitigation. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1), 17-26. Recuperado de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1659-13212013000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- De Coss, A. L., Tinajero, J. J. M., Agreda, F. J. M., Castillo, C. G. G., Valdez, O. D. M., y Medina, E. G. (2011). La capacidad desfaunante del extracto de plantas en el rumen.

- Revista Científica*, 21(5), 414–420. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/959/95919362007.pdf>
- Delgado, R. G. M. (2018). El desarrollo y cambio climático. Una mirada desde América Latina. *Revista del CESLA. International Latin American Studies Review*, (21), 193-212. Recuperado de <https://www.revistadelcesla.com/index.php/revistadelcesla/article/view/483>
- Elghandour, M. M. Y., Khusro, A., Adegbeye, M. J., Tan, Z., Hafsa, S. H. A., Greiner, R., ... & Salem, A. Z. M. (2019). Dynamic role of single-celled fungi in ruminal microbial ecology and activities. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/jam.14427>
- Ferrari, A. E., y Wall, L. G. (2015). Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 105(2), 63-87. Recuperado de <http://revista.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/189>
- Galindo, J., Delgado, D., Pedraza, R., y García, D. E. (2005). Impacto de los árboles, los arbustos y otras leguminosas en la ecología ruminal de animales que consumen dietas fibrosas. *Pastos y Forrajes*, 28(1). 59-68. Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=269121628005>
- Galindo, J., González, N., Delgado, D., Sosa, A., Marrero, Y., González, R., ... y Moreira, O. (2008). Efecto modulador de *Leucaena leucocephala* sobre la microbiota ruminal. *Zootecnia tropical*, 26(3), 249-252. Recuperado de http://www.avpa.ula.ve/congresos/v_congreso_agroforesteria/pdf/revistazootenia/Galindo.pdf
- Galindo, J., González, N., Sosa, A., Ruiz, T., Torres, V., Aldana, A. I., ... y Noda, A. C. (2011). Efecto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Botón de oro) en la población de protozoos y metanógenos ruminales en condiciones in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 45(1), 33. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1930/193017615009>
- Galindo, J., González, N., Scull, I., Marrero, Y., Sosa, A., Aldana, A. I., ... y Febles, G. (2012). Efecto de *Samanea saman* (Jacq.) Merr., *Albizia lebbek* (L.) Benth y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (material vegetal 23) en la población de metanógenos y en la ecología microbiana ruminal. *Revista Cubana de Ciencia*

- Agrícola*, 46(3), 273–278. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193025294008.pdf>
- Galindo, J., González, N., Marrero, Y., Sosa, A., Ruiz, T., Febles, G., ... y Sarduy, L. (2014). Efecto del follaje de plantas tropicales en el control de la producción de metano y la población de protozoos ruminales in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(4), 359-364. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1930/193033033009>
- Galindo, J., Elías, A., Muñoz, E., Marrero, Y., González, N., y Sosa, A. (2017). Ruminant activators, general features and their advantages for feeding ruminants. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 51(1), 11–23. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193057227002.pdf>
- Galindo-Blanco, J. L., Rodríguez-García, I., González-Ybarra, N., López, R. G., y Herrera-Villafranca, M. (2018). Ecosistema con *Leucaena leucocephala*: Su efecto en la población microbiana ruminal en toros en ceba. *Pastos y Forrajes*, 41(2), 138-144. Recuperado de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/2691/269158214008/index.html>
- Galindo Blanco, J. L., La O León, O., Ruiz Vázquez, T., González Vásquez, A., y Narvárez Campana, W. (2019). Efecto de diferentes materiales vegetales de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) gray en la población de metanógenos y protozoos del rumen. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria. ISSN 2602-8166*, 2(3), 01-10. Recuperado de <http://revistas.unesum.edu.ec/index.php/unesumciencias/article/view/98>
- Gallego-Castro, L. A., Mahecha-Ledesma, L., y Angulo-Arizala, J. (2014). Potencial forrajero de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray en la producción de vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 393–403. Recuperado de https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212014000200017
- Gallego-Castro, Luis Alberto, Mahecha-Ledesma, Liliana, y Angulo-Arizala, Joaquín. (2017). Producción, calidad de leche y beneficio: costo de suplementar vacas holstein con *Tithonia diversifolia*. *Agronomía Mesoamericana*, 28(2), 357-370. <https://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.25945>
- Garduño, R. (2004). ¿Qué es el efecto invernadero? Cambio climático: Una visión desde México. (Vol. 29). p 29-39. Recuperado de <https://www.iies.unam.mx/wp->

- content/uploads/2016/03/Victor-Jaramillo-Cambio-Climatico-Una-Vision-desde-Mexico-.pdf#page=27
- García, I. R. (2017). Potencialidades de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray en la alimentación animal. *Livestock Research for Rural Development*, 29(4), Artículo #63. Recuperado de <http://www.lrrd.org/lrrd29/4/idal29063.html>
- Geraldine, y Simón, L. (2001). Estudios del nivel de poda en una plantación de *Leucaena leucocephala* CNIA-250. *Pastos y Forrajes*, 24(2). Recuperado de [https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path\[\]=911](https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path[]=911)
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., ... & Tempio, G. (2013). Tackling climate change through livestock. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2016016977>
- Gelpud, C. G., Pachajoa, L. D. E., Buitrago, D. H. M., Iglesias, J. L. C., & Castro, E. (2020). Producción y calidad de *Tithonia diversifolia* y *Sambucus nigra* en trópico altoandino colombiano. *Agronomía Mesoamericana*, 31(1), 193-208. Recuperado de <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/36677>
- Giang, N. T. T., Wanapat, M., Phesatcha, K., & Kang, S. (2016). Level of *Leucaena leucocephala* silage feeding on intake, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy steers. *Tropical animal health and production*, 48(5), 1057-1064. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1060-3>
- Grijalva, J., Ramos, R., y Vera, A. (2011). Pasturas para sistemas silvopastoriles: Alternativas para el desarrollo sostenible de la ganadería en la Amazonia baja del Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/459>
- Groot, J.C., Cone, J.W., Williams, B.A., Debersaques, FM., & Lantinga, E.A. 1996. Multiphasic analysis of gas production kinetics for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 64(1), 77-89. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01012-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01012-7)
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal La Joya de los Sachas, (2015). Actualización del plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón La Joya de los Sachas, provincia de Orellana, Diagnóstico estratégico. Recuperado de <https://munjoyasachas.gob.ec/index.php/canton/2013-05-10-16-33-47>
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2014). Climate Change 2013 - The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment

- Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324>
- Jama, B., Palm, C. A., Buresh, R. J., Niang, A., Gachengo, C., Nziguheba, G., & Amadalo, B. (2000). *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya: a review. *Agroforestry systems*, 49(2), 201-221.
<https://doi.org/10.1023/A:1006339025728>
- Jenko, C., Bonato, P., Fabre, R., Perlo, F., Tisocco, O., y Teira, G. (2018). Adición de taninos a dietas de rumiantes y su efecto sobre la calidad y rendimiento de la carne. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 29(56), 224-241. Recuperado de <http://pcient.uner.edu.ar/cdyt/article/view/355>
- La O., González, H., Orozco, A., Castillo, Y., Ruíz, O., Estrada, A., ... y Castro, B. I. (2012). Composición química, degradabilidad ruminal in situ y digestibilidad in vitro de ecotipos de *Tithonia diversifolia* de interés para la alimentación de rumiantes. *Revista cubana de ciencia agrícola*, 46(1), 47-53. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1930/193024313008>
- Lemos, G. D., Botero, I. M., Herrera, J. R., Sánchez, G. V., Chará, J., & Rosales, R. B. (2015) Producción in vitro de metano de dietas ofrecidas en sistemas silvopastoriles intensivos con *Tithonia diversifolia* y sistemas tradicionales. Recuperado de <https://url2.cl/FAVjZ>
- Lopera, J. J., Márquez, S. M., Ochoa, D. E., Calle, Z., Sossa, C. P., y Murgueitio, E. (2015). Producción agroecológica de leche en el trópico de altura: sinergia entre restauración ecológica y sistemas silvopastoriles. *Agroecología*, 10(1), 79-85. Recuperado de <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/300761>
- López, L. B., y García, J. C. C. (2015). Nitrógeno edáfico y nodulación de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit en sistemas silvopastoriles. *Acta Agronómica*, 64(4), 349-354. Recuperado de https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/45362
- Magrin, G. (2015). Adaptación al cambio climático en América Latina y el Caribe. Recuperado de <http://repositorio.cepal.org/handle/11362/39842>
- Mahecha, L., Escobar, J. P., Suárez, J. F., y 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. Volumen 19, Article #16*. Recuperado de <http://www.lrrd.org/lrrd19/2/mahe19016.htm>

- Manotoa, S. P., y Barros, M. A. (2016). Capacidad de defaunación ruminal y mitigación de gases de efecto invernadero: Efecto de leguminosas forrajeras arbóreas y arbustivas (Master's thesis, Universidad Técnica de Ambato). Recuperado de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/18556>
- Martínez-Hernández, P.A., Cortés-Díaz, E., Purroy-Vásquez, R., Palma-García, J. M., Del Pozo-Rodríguez, P. P., & Vite-Cristóbal, C. (2019). *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit a key species for a sustainable bovine production in tropic. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22(2). Recuperado de <http://www.revista.cba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/2707>
- Méndez, M. E., Obispo, N. E., y Valdéz, M. (2012). Desfaunación del rumen con aceites de maíz (*Zea mays* L.) y coco (*Cocos nucifera*) y su efecto sobre la ganancia de peso en ovinos. *Rev. Fac. Agron.(UCV)*, 38(1), 32–40. Recuperado de http://www.academia.edu/download/41416081/Desfaunacin_del_rumen_con_aceites_de_maz20160122-6350-qa8miu.pdf
- Menke, K. H., & Stengass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Develop*, 28, 7-55. Recuperado de <https://www.scienceopen.com/document?vid=e1859372-e696-424a-85fb-d305b0b594bc>
- Milera, M. (2013). Contribución de los sistemas silvopastoriles en la producción y el medio ambiente. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3). Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=83728497002>
- Morgavi, D. P., Forano, E., Martin, C., & Newbold, C. J. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1024-1036. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000546>
- Morgavi, Diego P., Martin, C., Jouany, J.-P., & Ranilla, M. J. (2012). Rumen protozoa and methanogenesis: Not a simple cause–effect relationship. *British Journal of Nutrition*, 107(3), 388-397. <https://doi.org/10.1017/S0007114511002935>
- Murgueitio, E., Chará, J. D., Solarte, A. J., Uribe, F., Zapata, C., y Rivera, J. E. (2013). Agroforestería Pecuaria y Sistemas Silvopastoriles Intensivos (SSPi) para la adaptación ganadera al cambio climático con sostenibilidad. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26(1). Recuperado de <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/324845>

- Murgueitio R., E., Chará O., J., Barahona R., R., Cuartas C., C., y Naranjo R., J. (2014). Los sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi), herramienta de mitigación y adaptación al cambio climático. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3). Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=93935728001>
- Myer, P. R., Smith, T. P. L., Wells, J. E., Kuehn, L. A., & Freetly, H. C. (2015). Rumen Microbiome from Steers Differing in Feed Efficiency. *PLOS ONE*, 10(6), e0129174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129174>
- Naranjo, J. F., Cuartas, C. A., Murgueitio, E., Chará, J., y Barahona, R. (2012). Balance de gases de efecto invernadero en sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*, 24(8), 8-24. Recuperado de <https://url2.cl/sbKKZ>
- Newbold, C. J., De la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., & McEwan, N. R. (2015). The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01313>
- Nieto C., y Caicedo C. (2012). Análisis reflexivo sobre el desarrollo agropecuario sostenible en la amazonía ecuatoriana. Recuperado de <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/3791>
- Ochoa, S. P., y Noguera, R. (2014). Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 9(2), 307–323. Recuperado de <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3151>
- Olabode, O. S., Sola, O., Akanbi, W. B., Adesina, G. O., & Babajide, P. A. (2007). Evaluation of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray for soil improvement. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4), 503-507. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.415.1021&rep=rep1&type=pdf>
- Ørskov, E. R., Hovell, F. D., & Mould, F. (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*, 5(3), 195–213. Recuperado de <https://www.cabdirect.org/?target=%2fcabdirect%2fabstract%2f19810718722>
- Ørskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499-503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>

- Ortiz, D. M., Posada, S. L., y Noguera, R. R. (2014). Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 26(11). Recuperado de <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd26/11/orti26211.html>
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek*, 96(4), 363-375. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9364-1>
- Pedraza, R. M., La O., Estévez, J., Guevara, G., y Martínez, S. (2003). Degradabilidad ruminal efectiva y digestibilidad intestinal in vitro del nitrógeno del follaje de leguminosas arbóreas tropicales. *Pastos y Forrajes*, 26(3). Recuperado de [https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path\[\]=826](https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path[]=826)
- Peters, M., Franco, T., Schmidt, A., y Hincapie, B. (2011). Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores del Trópico Americano. Recuperado de <https://hdl.handle.net/10568/54681>
- Pinot, D. A. F., Sorto, T. J., Bardales, J. G., Aguilar, D. A., Valverde, J. C., y Molina, J. M. (2019). Capacidad de rebrote de *Leucaena macrophylla* Benth con fines dendroenergéticos en Cortes, Honduras. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 16(38), 47-54. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6787132>
- Piñeiro-Vázquez, A. T., Canul-Solís, J. R., Alayón-Gamboa, J. A., Chay-Canul, A. J., Ayala-Burgos, A. J., Aguilar-Pérez, C. F., ... y Ku-Vera, J. C. (2015). Potencial de los taninos condensados para reducir las emisiones de metano entérico y sus efectos en producción de rumiantes. *Archivos de medicina veterinaria*, 47(3), 263-272. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2015000300002>
- Puniya, A. K., Singh, R., & Kamra, D. N. (2015). *Rumen Microbiology: From Evolution to Revolution*. Recuperado de <http://link.springer.com/10.1007/978-81-322-2401-3>
- Prieto-Manrique, E., Vargas-Sánchez, J. E., Angulo-Arizala, J., y 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. <https://dx.doi.org/10.15517/am.v27i2.24386>

- Posada Ochoa, S., y Noguera, R. (2014). Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 9(2), 307-323. Recuperado de <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3151>
- Ramos-Trejo, O., Canul-Solis, J. R., y Ku-Vera, J. C. (2016). Efecto de la altura y frecuencia de corte sobre la producción forrajera de *Gliricidia sepium* en Yucatán, México. *Revista Bio Ciencias*, 4(2), 116-123. <https://doi.org/10.15741/revbio.04.02.04>
- Rendón-Huerta, J. A., Pinos-Rodríguez, J. M., y Kebreab, E. (2018). Estrategias de nutrición animal para reducir emisiones de gases de efecto invernadero en ganado lechero. *Acta universitaria*, 28(5), 34-41. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1766>
- Rivera, J. E., Cuartas, C. A., Naranjo, J. F., Tafur, O., Hurtado, E. A., Arenas, F. A., Chará, J., y 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*. Volume 27, Article #189. Recuperado de <http://www.lrrd.org/lrrd27/10/rive27189.html>
- Rivera-Herrera, Julián Esteban, Molina-Botero, Isabel, Chará-Orozco, Julián, Murgueitio-Restrepo, Enrique, y Barahona-Rosales, Rolando. (2017). Sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit: alternativa productiva en el trópico ante el cambio climático. *Pastos y Forrajes*, 40(3), 171-183. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942017000300001&lng=es&tlng=pt.
- Rodríguez, R., González, N., Alonso, J., Domínguez, M., y Sarduy, L. (2014). Valor nutritivo de harinas de follaje de cuatro especies arbóreas tropicales para rumiantes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 48(4), 371-378. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193033033011.pdf>
- Rodríguez, R., Galindo, J., Ruíz, T., Solis, C., Scull, I., y 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). Recuperado de <http://lrrd.cipav.org.co/lrrd31/8/ruiz31119.html>
- Roza-Delgado, B. D. L., Fernández, A. M., & Gutiérrez, A. A. (2011). Determinación de materia seca en pastos y forrajes a partir de la temperatura de secado para análisis. *Pastos*, 32(1), 91-104.

- Russell, J. B., & Rychlik, J. L. (2001). Factors That Alter Rumen Microbial Ecology. *Science*, 292(5519), 1119-1122. <https://doi.org/10.1126/science.1058830>
- Ruíz, T. E., Alonso, J., Febles, G. J., Galindo, J. L., Savón, L. L., Chongo, B. B., ... y Crespo, G. J. (2016). *Tithonia diversifolia*: I. Estudio integral de diferentes materiales para conocer su potencial de producción de biomasa y calidad nutritiva. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 20(3), 63-83. Recuperado de <http://ww.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2016/sept/5.pdf>
- Salas, R. Z., Builes, L. A. G., y Echeverry, D. P. (2012). Papel de los protozoos ciliados ruminales en la síntesis de ácido linoleico conjugado. Revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(1), 135-149. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295023572015.pdf>
- Sánchez, M. H., y Viveros, C. (2002). Evaluación de *Leucaena leucocephala* bajo pastoreo en un sistema de bovinos doble propósito en el Magdalena Medio Colombiano. Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.12324/1600>
- Sánchez, A., Yimi, K., Pimentel Tapia, M. E., y Suárez Salazar, J. C. (2014). Conocimiento local sobre estrategias de adaptación al cambio climático en productores ganaderos en San Vicente del Caguán-Colombia. *Zootecnia Tropical*, 32(4), 329–340. Recuperado de http://mutante.inia.gob.ve/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt3204/pdf/zt3204_sanchez.pdf
- Segura Canizales, F. (1989). Principios básicos de la fisiología digestiva en rumiantes. Recuperado de <http://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/29982>
- Sosa, A., Galindo, J., y Bocourt, R. (2007). Metanogénesis ruminal: Aspectos generales y manipulación para su control. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(2). Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=193017658001>
- Sosa-Montes, E., Alejos-de la Fuente, J., Pro-Martínez, A., González-Cerón, F., Enríquez-Quiroz, J., y Torres-Cardona, M. (2020). Composición química y digestibilidad de cuatro leguminosas tropicales mexicanas. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, (24), 211-220. <https://doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2371>
- Soto, S., Rodríguez, J. C., y Russo, R. (2009). Digestibilidad in vitro en forrajes tropicales a diferentes edades de rebrote. *Tierra Tropical*, 5(1), 9-15. Recuperado de <https://url2.cl/qG9K8>

- Sparg, S. G., Light, M. E., & Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94(2), 219-243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016>
- Suárez, A. A. (1997). Defaunación en bovinos: Breve discusión. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 10(2), 104–107. Recuperado de <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/download/27010/20780325>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & 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*, 48(3), 185-197. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Toledo, J. M. (1982). Manual para la evaluación agronómica: Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales. CIAT. <https://doi.org/10.7910/DVN/DYR7KS>
- Valenciaga, D., López, J. R., Galindo, J., Ruiz, T., y Monteagudo, F. (2018). Cinética de degradación ruminal de materiales vegetales de *Tithonia diversifolia* recolectados en la región oriental de Cuba. *Livestock Research for Rural Development*, 30(11), Artículo #186. Recuperado de <http://www.lrrd.org/lrrd30/11/daiky30186.html>
- Velasco, S. M., Quila, N. J. V., y Terán, V. F. (2016). Ganadería eco-eficiente y la adaptación al cambio climático. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(1), 135-144. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)135-145](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)135-145)
- Vélez-Terranova, M., Campos Gaona, R., y Sánchez-Guerrero, H. (2014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17(3). Recuperado de <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=93935728004>
- Villanueva-Partida, C. R., Díaz-Echeverría, V. F., Chay-Canul, A. J., Ramírez-Avilés, L., Casanova-Lugo, F., & Oros-Ortega, I. (2019). Productive and ingestive behavior in growing hair sheep in silvopastoral and stabled weight-gain systems. *Rev Mex Cienc Pecu*, 10(4), 870–884. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i4.4724>
- Villanueva Naranjo, C., Casasola Coto, F., y Detlefsen Rivera, G. (2018). *Potencial de los sistemas silvopastoriles en la mitigación al cambio climático y en la generación de múltiples beneficios en fincas ganaderas de Costa Rica*. Recuperado de <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr:80/handle/11554/8729>

- Widiawati, Y., Winugroho, M., & Teleni, E. (2018). Amino Acids Metabolism in the Muscle of Sheep fed with Mitchell Grass Hay Supplemented with *Gliricidia sepium*. *Atom Indonesia*, 44(2), 75-80. <https://doi.org/10.17146/aij.2018.528>
- Yusiati, L. M., Hanim, C., Anas, M. A., & Muktiari, B. N. (2019). Effect of *Leucaena leucocephala* substitution on in vitro rumen fermentation and methane emission in thin tailed-sheep. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 387(1), 1-3. <https://doi:10.1088/1755-1315/387/1/012124>
- Zain, M., Ningrat, R. W., Putri, E. M., & Makmur, M. (2019). The effects of leguminous supplementation on ammoniated rice straw based completed feed on nutrient digestibility on in vitro microbial protein synthesis. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 287(1), 1-5. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/287/1/012018>

ANEXOS

Anexo 1. Producción de gas *in vitro* (ml/0.5 g MSF) a los 60 días

Horas	T ₁	T ₂	EEM	R ²	CV	P Valor
3	49.26(±7.07) ^a	26.57(±2.93) ^b	2.42	0.85	14.27	0.0002
6	72.12(±14.36) ^a	37.11(±4.37) ^b	4.75	0.77	19.43	0.0008
9	97.17(±25.43) ^a	51.93(±8.34) ^b	8.46	0.64	25.38	0.0054
12	119.57(±39.35) ^a	65.11(±15.05) ^b	13.32	0.51	32.26	0.0202
24	151.84(±26.28) ^a	105.58(±23.20) ^b	11.09	0.52	19.26	0.0184
48	192.53(±12.42) ^a	147.30(±28.33) ^b	9.78	0.57	12.87	0.0114
72	218.31(±12.61) ^a	169.30(±30.04) ^b	10.30	0.59	11.89	0.0099
96	232.88(±20.61) ^a	181.58(±30.90) ^b	11.74	0.54	12.67	0.0149

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente (P<0.05); EEM: Error experimental de la media. R²: Coeficiente de determinación; Coeficiente de variación%; (±): Desviación estándar de la media.

Anexo 2. Producción de CO₂ *in vitro* (ml/0.5 g MSF) a los 60 días

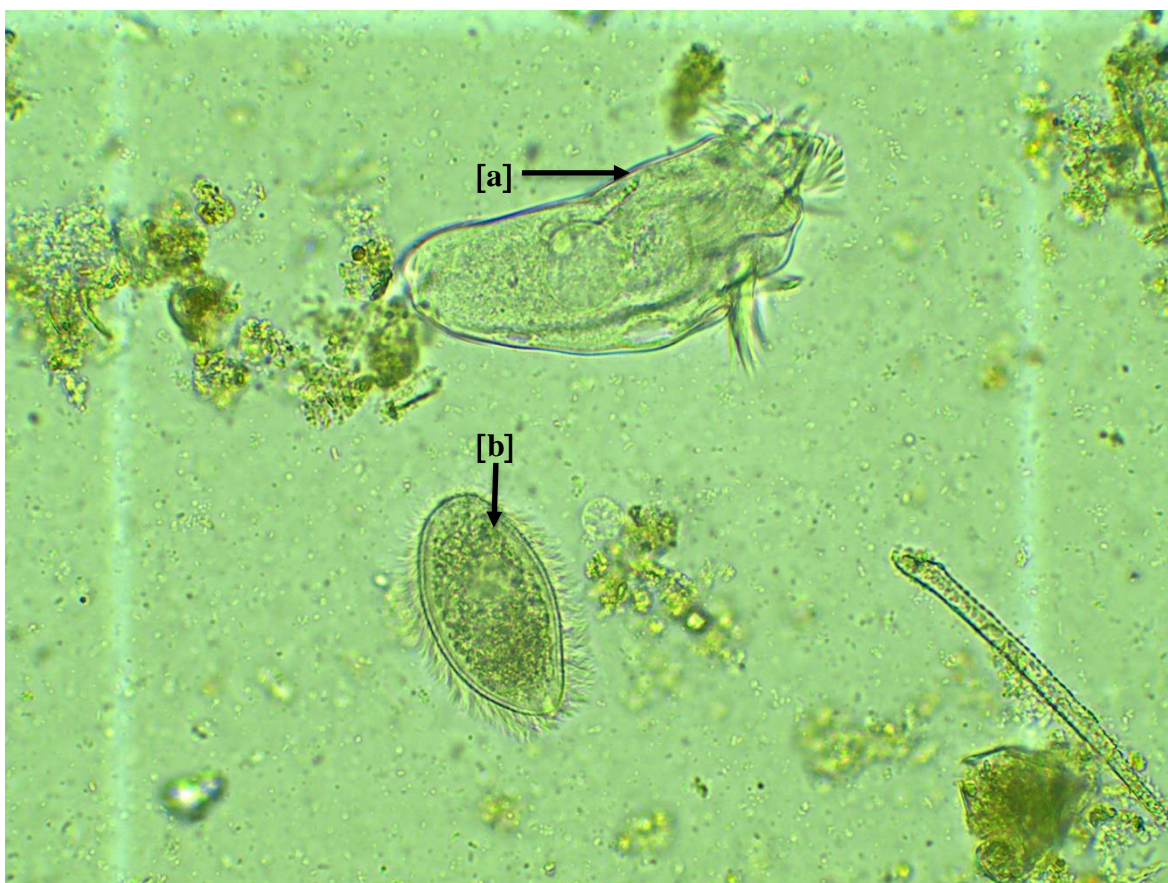
Horas	T ₁	T ₂	EEM	R ²	CV	P Valor
3	29.04(±6.80) ^a	19.10(±4.90) ^b	2.65	0.47	24.62	0.0292
6	39.00(±7.14) ^a	23.02(±2.06) ^b	2.35	0.74	16.95	0.0013
9	50.20(±9.51) ^a	29.80(±2.35) ^b	3.10	0.73	17.32	0.0016
12	61.68(±17.21) ^a	36.26(±5.17) ^b	5.68	0.56	25.95	0.0133
24	93.78(±23.04) ^a	64.94(±12.33) ^b	8.26	0.43	23.28	0.0388
48	128.10(±28.35) ^a	81.66(±8.82) ^b	9.39	0.60	20.02	0.0081
72	142.54(±29.26) ^a	99.24(±9.40) ^b	9.72	0.55	17.98	0.0136
96	151.94(±37.21) ^a	110.08(±14.96) ^b	12.68	0.41	21.64	0.0479

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente (P<0.05); EEM: Error experimental de la media. R²: Coeficiente de determinación%; (±): Desviación estándar de la media.

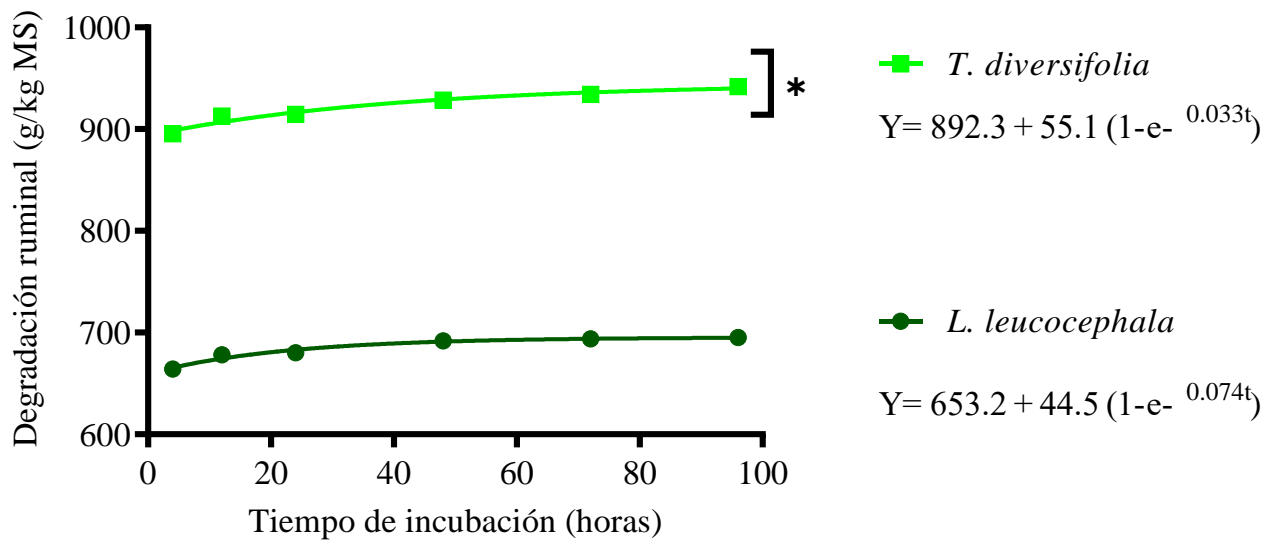
Anexo 3. Producción de CH₄ *in vitro* (ml/0.5 g MSF) a los 60 días

Horas	T ₁	T ₂	EEM	R ²	CV	P Valor
3	7.66(±0.99) ^a	5.48(±1.01) ^b	0.45	0.60	15.22	0.0087
6	14.22(±1.89) ^a	9.90(±1.74) ^b	0.81	0.64	15.06	0.0055
9	20.88(±3.64) ^a	14.48(±2.86) ^b	1.46	0.54	18.51	0.0148
12	27.34(±5.77) ^a	18.92(±4.15) ^b	2.25	0.47	21.73	0.0293
24	34.16(±5.52) ^a	26.08(±3.94) ^b	2.14	0.47	15.91	0.0285
48	41.28(±4.95) ^a	32.86(±4.76) ^b	2.17	0.48	13.10	0.0254
72	48.02(±6.44) ^a	38.14(±5.56) ^b	2.69	0.46	13.96	0.0318
96	54.30(±9.38) ^a	42.70(±6.16) ^b	3.55	0.40	16.36	0.0495

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente (P<0.05); EEM: Error experimental de la media. R²: Coeficiente de determinación%; (±): Desviación estándar de la media.



Anexo 4. Protozoarios Entodiniomorfos [a] y Holótricos [b] presentes en los arbustos forrajeros evaluados.



Anexo 5. Cinética de la degradación in situ de materia seca en los forrajes arbóreos *Leucaena leucocephala* (T₁) y *Tithonia diversifolia* (T₂) a los 60 días. *Significativo (P<0.05).



Anexo 6. Recolección del líquido ruminal de 5 toros canulados



Anexo 7. Líquido ruminal de los 5 toros canulados conservado a 39 °C para la preparación de la saliva artificial y montaje de experimentos *in vitro*



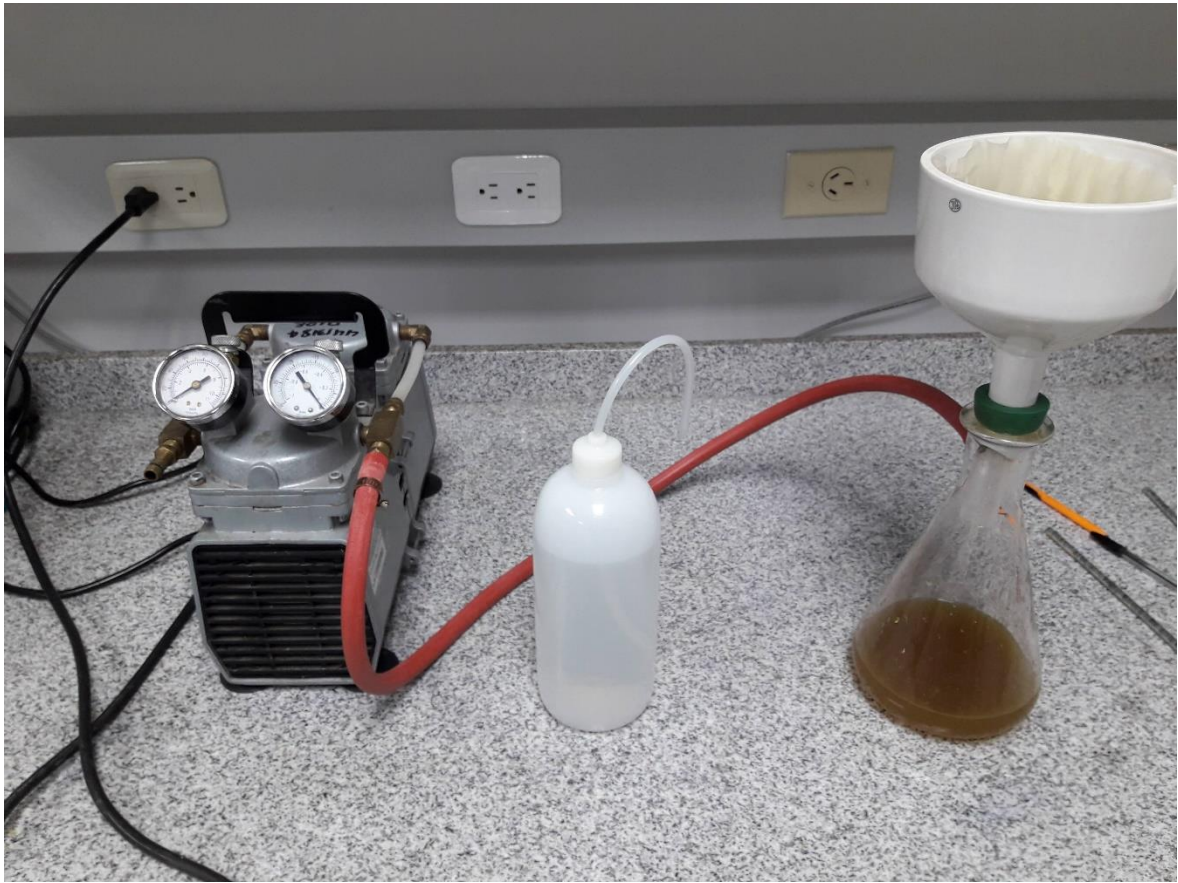
Anexo 8. Botellas ambar de 100 ml utilizadas para los experimentos *in vitro*



Anexo 9. Titulación de muestras en tubos eppendorf para el conteo de protozoos



Anexo 10. Conteo de protozoos Holotricos y Entodiniomorfos en cámara Fucsh-Rosenthal



Anexo 12. Filtrado de muestras para determinar digestibilidad *in vitro* de la materia seca