



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Uso del nitrógeno en pasturas asociadas con *Leucaena diversifolia* en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia**

**Daniel Mauricio Villegas Salazar**

Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agrarias

Palmira, Colombia

2022



# Uso del nitrógeno en pasturas asociadas con *Leucaena diversifolia* en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia

**Daniel Mauricio Villegas Salazar**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:  
**Magister en Ciencias Agrarias**

Director:

Ph.D., Jacobo Arango

Codirector (a):

Ph.D., Elena Velásquez Ibáñez

Línea de Investigación:

Suelos

Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agrarias

Palmira, Colombia

2022



## *Dedicatoria*

*A mis padres*

*Hernando y Rosmira, quienes a pesar de haber crecido en un país con aún menos oportunidades de las que tenemos hoy nunca dudaron del poder de transformación que tiene la educación en la sociedad. Su amor sin límites y sacrificio le han dado sentido a cada uno de mis esfuerzos.*



# Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

---

Daniel Mauricio Villegas Salazar

Fecha 21/06/2022

Fecha

## **Agradecimientos**

Al Dr. Jacobo Arango, líder del equipo de biología molecular y ambiental de forrajes del CIAT, quien ha tenido un rol fundamental en mi proceso de formación, a través de su guía, consejo, apoyo y confianza en mí, y por poner a mi disposición los recursos necesarios para realizar este trabajo.

Al equipo de biología molecular y ambiental de forrajes del CIAT, los trabajadores de campo Edwin Palma, Brayan Morales, Edwar Palma, y la técnico de laboratorio Aracely Vidal, quienes son el pilar de todos los datos obtenidos en esta investigación.

A los asociados de investigación del CIAT Ashly Arevalo, Mauricio Sotelo, Catalina Trujillo, Mike Bastidas y Alejandro Ruden, por su enseñanza y su apoyo logístico y operativo en este trabajo.

A la profesora Dra. Elena Velasquez de la Universidad Nacional de Colombia por su tiempo y dedicación en la elaboración de este documento.

A todas las demás personas que de una u otra manera contribuyeron en este proceso.

## Resumen

### Uso del nitrógeno en pasturas asociadas con *Leucaena diversifolia* en un Molisol del Valle del Cauca, Colombia

La producción de ganado bovino en el trópico se realiza principalmente en pastos en monocultivo, y está caracterizada por escasa adopción de tecnología y una alta ocupación de tierra. Con el objetivo de evaluar diferencias en el uso del nitrógeno en pasturas asociadas con la leguminosa *Leucaena diversifolia* en el Valle del Cauca, Colombia, se evaluaron cuatro tratamientos de pasturas incluyendo *Urochloa* híbrido cv. Cayman y *U. brizantha* cv. Toledo solas y asociadas con *L. diversifolia*. Se midieron las variables de producción de biomasa, absorción de N en el forraje, fijación de N de *L. diversifolia* y las emisiones de óxido nitroso del suelo tras la aplicación de parches de orina en las pasturas. Los tratamientos de pasturas asociadas con *L. diversifolia* produjeron hasta un 165% más biomasa y presentaron hasta 50% mayor concentración de N en el tejido foliar que los tratamientos de Cayman y Toledo solos. Además, la proporción de N derivado de la atmósfera en *L. diversifolia* se estimó alrededor del 90%. Las emisiones de óxido nitroso absolutas tras la aplicación de parches de orina fueron mayores en las pasturas asociadas con *L. diversifolia*. No obstante, debido al aumento en la producción de forraje por unidad de área la intensidad de emisiones resultó hasta un 18% más baja que en las pasturas de gramínea sola. La integración de pastos de *Urochloa* con leguminosas como *L. diversifolia* constituyen una importante alternativa para intensificar sosteniblemente la producción animal de la mano con provisión de diferentes servicios ecosistémicos.

**Palabras clave:** *Brachiaria*, cambio climático, silvopastoril.

## Abstract

### **Nitrogen use in pastures associated with *Leucaena diversifolia* in a Molisol of Valle del Cauca, Colombia**

Cattle production in the tropics is carried out mainly on monoculture pastures, and is characterized by low adoption of technology and high land occupation. In order to evaluate differences in nitrogen use in pastures associated with the legume *Leucaena diversifolia* in Valle del Cauca, Colombia we evaluated four pasture treatments including *Urochloa* hybrid cv. Cayman and *U. brizantha* cv. Toledo both alone and associated with *L. diversifolia*. To that purpose we measured plant biomass production, forage N uptake, N fixation of *L. diversifolia*, and nitrous oxide emissions from soil after the application of urine patches in the pastures. Pasture treatments associated with *L. diversifolia* produced up to 165% more plant biomass and showed up to 50% higher N concentration in leaf tissue than the Cayman and Toledo alone pastures. Furthermore, the proportion of N derived from the atmosphere in *L. diversifolia* was estimated around 90%. Absolute nitrous oxide emissions after the application of urine patches were higher in pastures associated with *L. diversifolia*, however, due to the increase in forage production per unit area, the intensity of emissions was up to 18% lower than in grass alone pastures. The integration of *Urochloa* grasses with legumes such as *L. diversifolia* constitutes an important alternative to sustainably intensify animal production hand in hand with the provision of different ecosystem services.

**Keywords:** *Brachiaria*, climate change, silvopastoral.

# Contenido

	Pág.
<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Marco teórico y estado del arte.....</b>	<b>5</b>
3.1 Suelos del orden Molisol en Colombia y el Valle del Cauca .....	5
3.2 Ciclo del nitrógeno (N).....	6
3.2.1 Fijación biológica de N (FBN) .....	7
▪ FBN simbiótica.....	8
▪ FBN asociativa.....	9
▪ FBN de vida libre .....	9
3.2.2 Mineralización e inmovilización.....	9
3.2.3 Nitrificación .....	10
3.2.4 Desnitrificación .....	11
3.3 Pasto Cayman.....	12
3.4 Pasto Toledo .....	12
3.5 <i>Leucaena diversifolia</i> .....	13
3.6 Asociaciones gramínea-leguminosa.....	13
3.6.1 Asociación <i>Urochloa</i> sp.– <i>Leucaena diversifolia</i> .....	14
3.7 Generalidades de la ganadería en Colombia y el Valle del Cauca .....	15
<b>4. Materiales y métodos .....</b>	<b>17</b>
4.1 Área de estudio .....	17
4.2 Diseño experimental.....	17
4.3 Análisis físico-químico de suelo.....	19
4.4 Producción de forraje y contenido de N.....	20
4.4.1 Interceptación de luz por arbustos de <i>L. diversifolia</i> .....	20
4.4.2 Fijación biológica de N.....	21
4.5 Emisiones de óxido nitroso.....	22
4.5.1 Método de cámara estática cerrada.....	22
4.5.2 Obtención de la orina.....	23
4.5.3 Protocolo de medición de N <sub>2</sub> O.....	24
4.5.4 Variables complementarias.....	25
4.6 Análisis estadístico.....	26
<b>5. Resultados y discusión .....</b>	<b>27</b>
5.1 Caracterización de suelo en el área de estudio .....	27
5.2 Producción de biomasa y calidad de forraje .....	29
5.2.1 Rendimiento de materia seca .....	29

---

5.2.2	Fijación biológica de N .....	32
5.2.3	Contenido de N en forraje .....	37
5.2.4	Interceptación de luz por arbustos de <i>L. diversifolia</i> .....	40
5.3	Emisiones de óxido nitroso .....	41
5.3.1	Flujos diarios y emisiones acumuladas .....	41
5.3.2	Factores físicos que afectan las emisiones .....	44
5.3.3	N mineral del suelo.....	46
5.3.4	Relación producción de biomasa–emisiones de óxido nitroso .....	49
<b>6.</b>	<b>Conclusiones y recomendaciones .....</b>	<b>51</b>
6.1	Conclusiones .....	51
6.2	Recomendaciones .....	51
<b>7.</b>	<b>Bibliografía .....</b>	<b>53</b>

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Diseño experimental del ensayo de campo. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i> , T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i> . Foto tomada el 11 de febrero de 2021. ....	18
<b>Figura 2:</b> Distribución de áreas de muestreo en los tratamientos a ser evaluados. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i> , T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i> . EL: área entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: área bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> . ....	19
<b>Figura 3:</b> Cámara estática de medición de gases de efecto invernadero. ....	23
<b>Figura 4:</b> Mapa del ensayo de campo con la ubicación de las cámaras para medición de N <sub>2</sub> O. Círculos naranjas indican cámaras con aplicación de orina. Círculos azules indican cámaras con aplicación de agua. ....	25
<b>Figura 5:</b> Producción de biomasa de diferentes fracciones botánicas en tratamientos de pasturas. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i> , T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i> . EL: área entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: área bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> ; MS: materia seca. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ). ....	30
<b>Figura 6:</b> Huella isotópica $\delta^{15}\text{N}$ de diferentes fracciones botánicas y suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ). ....	34
<b>Figura 7:</b> Huella isotópica $\delta^{13}\text{C}$ de diferentes fracciones botánicas y suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ). ....	35
<b>Figura 8:</b> Emisiones diarias de óxido nitroso en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman ( <b>A</b> ) y Toledo ( <b>B</b> ) durante 52 días. Emisiones acumuladas de óxido nitroso durante 52 días de muestreo en tratamientos basados en pasto Cayman ( <b>C</b> ) y Toledo ( <b>D</b> ). EL: cámaras entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: cámaras bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> . Letras diferentes sobre barras de figuras C y D representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ). ....	43
<b>Figura 9:</b> Espacio poroso lleno de agua ( <i>water-filled pore space</i> , WFPS) en el suelo en tratamientos de pasto Cayman ( <b>A</b> ) y Toledo ( <b>B</b> ), y precipitación registrada ( <b>C</b> ) durante el periodo de medición de 52 días. EL: cámaras entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: cámaras bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> . Datos faltantes del día 22 al 27 en figura 9C. ....	45

**Figura 10:** Concentración de amonio en el suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman (**A**) y Toledo (**B**) durante 52 días.  
Concentración de nitrato en el suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman (**C**) y Toledo (**D**). EL: cámaras entre surcos de *L. diversifolia*; BL: cámaras bajo arbustos de *L. diversifolia*. ..... 48

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1:</b> Textura de suelo de los diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. Resultados de una muestra compuesta para cada tratamiento. ....	27
<b>Tabla 2:</b> Densidad aparente, porosidad total y distribución de poros en suelo de diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. Los resultados representan la media y desviación estándar entre paréntesis de 6 muestras en T1 y T2, y 12 muestras en T3 y T4.....	28
<b>Tabla 3:</b> Disponibilidad de elementos mayores en suelo de diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. C Oxid: Carbono oxidable; MO: Materia orgánica; CIC: Capacidad de intercambio catiónico. Resultados de una muestra compuesta para cada tratamiento. ....	29
<b>Tabla 4.</b> Relación C/N de la hojarasca de diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).....	36
<b>Tabla 5:</b> Contenido de nitrógeno (N), proteína cruda (PC), y absorción de N en gramíneas y leguminosas en diferentes tratamientos de pasturas. EL: área entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: área bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> . Los valores indicados son promedio de dos cortes de evaluación de 55 días. Letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ). ....	38
<b>Tabla 6:</b> Intensidad de emisiones de diferentes fracciones botánicas en tratamientos de pasturas. EL: área entre surcos de <i>L. diversifolia</i> ; BL: área bajo arbustos de <i>L. diversifolia</i> ; MS: materia seca. Letras diferentes representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).....	49



# 1.Introducción

Colombia cuenta con un inventario bovino de 28,8 millones de animales, los cuales ocupan un área de más de 39 millones de hectáreas (ha) (Federacion Nacional de Ganaderos, 2021), resultando en una carga de 0,73 animales por ha. Este modelo extensivo de producción está basado frecuentemente en pasturas de monocultivo, con algún nivel de degradación, manejo deficiente y escasa adopción de tecnología. La baja productividad de estos sistemas está determinada por la sobreutilización de pasturas y la reducción del nitrógeno (N) y fósforo (P) disponibles del suelo. Esto conlleva a la necesidad de ampliar cada vez más el área necesaria para la producción de ganado incluso en áreas no aptas para tal actividad, a la vez que contribuye a promover la percepción negativa de la sociedad civil sobre la ganadería al relacionarla con deforestación, degradación de los recursos naturales, y pérdida de la biodiversidad.

Alternativamente, las asociaciones de gramíneas y leguminosas en las pasturas tropicales han demostrado proveer múltiples beneficios entre los que se encuentran: fijación simbiótica de N, alto valor nutritivo para el ganado (alta proteína), sistema radical de alcance profundo (recuperación de suelos degradados), amplia diversidad taxonómica y genética, y presencia de metabolitos secundarios benéficos (I. Rao et al., 2015). Tales condiciones favorecen un aumento de la biomasa vegetal (mayor oferta de forraje) y la ganancia de peso animal, permitiendo incrementar la productividad por unidad de área y reducir las emisiones de metano entérico por unidad de producto (kg de carne o leche).

De acuerdo al último inventario de gases de efecto invernadero (GEI) realizado por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), en Colombia el sector agropecuario contribuye con el 26% de las emisiones totales de GEI (IDEAM et al., 2016). Del total de las emisiones agropecuarias del país, el 34,6% corresponden a emisiones de óxido nitroso ( $N_2O$ ), un gas con potencial de calentamiento global 300 veces más alto que el del dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (Galloway et al., 2008). En pasturas tropicales, las altas emisiones de  $N_2O$  se producen a partir de las dinámicas de nitrificación-

desnitrificación en el suelo generadas por la baja eficiencia del uso del nitrógeno (EUN) (Robertson & Groffman, 2015). Entre el 50% y el 70% del N inorgánico del suelo se pierde en el ambiente principalmente por procesos de lixiviación de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) y emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$ . No obstante, algunas especies del género *Urochloa* y *Megathyrsus maximus* presentan capacidad de inhibición biológica de la nitrificación (IBN), es decir, de liberar exudados radicales al suelo con capacidad de inhibir la actividad de microorganismos nitrificantes y, por ende, reducir las pérdidas de N asociadas a nitrificación (Subbarao et al., 2009; D. Villegas et al., 2020).

Los pastos del género *Urochloa* juegan un papel fundamental en la ganadería del Valle del Cauca, pues junto con especies como *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrsus maximus* son las principales pasturas mejoradas del departamento, plantadas en el 20% del área de pasturas (Morales-Vallecilla & Ortiz-Grisales, 2018). Las características fisiológicas de los pastos de *Urochloa*, tales como su tolerancia a sombrero y persistencia en el tiempo permiten que se puedan formar asociaciones estables con otro tipo de plantas de porte arbustivo o arbóreo en sistemas silvopastoriles, los cuales comprenden actualmente solo el 2% del área de pasturas en el Valle del Cauca.

*Leucaena diversifolia* es una especie de leguminosa arbustiva multipropósito con un amplio rango de adaptabilidad usada para conservación y estabilización de suelos, barbechos, abono verde, suplementación alimenticia, entre otros. No obstante, a pesar de que esta especie ha sido evaluada bajo una variedad de aplicaciones agroforestales, pocos estudios han evaluado su calidad como planta forrajera y su incidencia sobre las dinámicas del ciclaje de N en pasturas.

Sistemas silvopastoriles basados en pastos de *Urochloa* y leguminosas como *L. diversifolia* podrían integrar importantes características como la capacidad de IBN y de acumular carbono (C) en el suelo de pastos *Urochloa* (Fisher et al., 1994) y de fijación de N de *L. diversifolia* para constituir una opción promisoriosa para mejorar la producción ganadera en la región y mitigar sus impactos ambientales.

Históricamente, la mayoría de estudios en pasturas tropicales se han enfocado en solo uno de los tres componentes principales que intervienen en la productividad del sistema ganadero: ganado, forraje o suelo, siendo las evaluaciones de ganancia de peso animal predominantes entre la literatura disponible. En efecto, estudios preliminares han evaluado

la respuesta animal a la inclusión de *L. diversifolia* en pasturas de la gramínea *Urochloa* sp. y la leguminosa herbácea *Canavalia brasiliensis*. Resultados de tales estudios indicaron la capacidad de las leguminosas de incrementar significativamente la ganancia de peso animal y paralelamente reducir las emisiones de metano entérico respecto a la pastura en monocultivo, posiblemente debido a mayor consumo de materia seca y mejor eficiencia de uso de nutrientes (Arango et al., 2019). No obstante, de acuerdo con Boddey et al. (2020) el ciclaje mejorado de N por la presencia de leguminosas en las pasturas podría conllevar también a mayores emisiones de óxido nitroso. Con la información disponible a la fecha no es posible elucidar la contribución específica de *L. diversifolia* al incremento en la productividad animal, en términos de producción de biomasa, calidad nutricional de forraje, fijación de N, su rol sobre la nutrición de la gramínea *Urochloa* sp., o sobre las pérdidas de N en forma gaseosa.

Debido a la importancia del sector ganadero en la economía colombiana y considerando su alta huella ambiental es necesario realizar estudios que contribuyan a mejorar el entendimiento del ciclaje de N en pasturas tropicales. Las asociaciones de gramíneas con leguminosas tales como *Urochloa* sp. y *L. diversifolia* pueden proveer múltiples beneficios para contribuir a mejorar la eficiencia en el uso de recursos, así como la productividad en beneficio del medio ambiente. Evaluar el papel que juega la interacción de *L. diversifolia* con *Urochloa* sp. podría contribuir a mejorar el entendimiento de las asociaciones entre gramíneas y leguminosas, y desarrollar estrategias de manejo con el objetivo de incentivar la adopción de tecnologías forrajeras que contribuyan a intensificar la producción ganadera de una manera sostenible ambiental y económicamente.

## 2. Objetivos

### General

Evaluar el uso del N en pasturas de *Urochloa* sp. solas y asociadas con *Leucaena diversifolia* en un suelo de orden Molisol del Valle del Cauca.

### Específicos

- Analizar el efecto de la interacción con *L. diversifolia* sobre la producción de biomasa y calidad nutricional de *Urochloa* híbrido cv. Cayman.
- Analizar el efecto de la interacción con *L. diversifolia* sobre la producción de biomasa y calidad nutricional de *Urochloa brizantha* cv. Toledo.
- Determinar la capacidad de fijación biológica de N de *L. diversifolia* asociada con *Urochloa* híbrido (cv. Cayman) y *Urochloa brizantha* (cv. Toledo).
- Determinar el efecto de la interacción *L. diversifolia*–*Urochloa* sp. sobre la nitrificación del suelo y las emisiones de óxido nitroso.

## **3. Marco teórico y estado del arte**

### **3.1 Suelos del orden Molisol en Colombia y el Valle del Cauca**

Los Molisoles comprenden un orden de suelos minerales generalmente de color oscuro y ricos en bases. Casi todos los Molisoles tienen un epipedón mólico, es decir un horizonte superficial (u horizontes) relativamente grueso, de color oscuro y rico en humus en el que los cationes bivalentes son dominantes en el complejo de intercambio y el grado de estructura es de débil a fuerte. Otros Molisoles pueden tener un horizonte argílico, nátrico o cálcico. Muy pocos tienen un horizonte álbico, petrocálcico o duripan. En diferentes partes del mundo son conocidos como “suelos de praderas”. Esto debido a que muchos se formaron bajo una vegetación de sabana, recibiendo un gran aporte de materia orgánica proveniente de la biomasa tanto aérea como radical de gramíneas, lo cual puede influir en el espesor del horizonte (Soil Survey Staff, 1999).

En Colombia, los suelos del orden Molisol componen una fracción relativamente menor en la geografía nacional. Se encuentran principalmente en la cuenca alta del río Cauca, la cuenta alta-media del río Magdalena, y en la región Caribe a excepción de la sierra nevada de Santa Marta y la alta Guajira. Estos suelos están muy correlacionados geográficamente con los Alfisoles, ambos caracterizados por una saturación de bases alta en comparación con otros suelos del país. Esta característica está relacionada con climas estacionales con periodos secos moderados que evitan el lavado de bases y en su lugar tienden a la saturación. Tales condiciones favorecen la permanencia de esmectitas, minerales arcillosos como vermiculita, integrados, micas y caolinita, y en la fracción arena presencia de cuarzo, feldespatos, epidota, anfíboles entre otros (Malagón Castro et al., 1995).

Los materiales parentales dominantes de los Molisoles del Valle del Cauca corresponden a sedimentos fluviales del Holoceno y acumulación de materiales erodados (de origen ígneo) de las cordilleras Central y Occidental. La meteorización de tales materiales condujo

a la formación de arcillas de tipo 2:1, con alta saturación de bases, alto pH, y alta concentración de sales solubles (Howeler, 1986).

En el Valle del Cauca los Molisoles están tipificados principalmente por los Haplustolls. Estos suelos se consideran altamente productivos, con un alto contenido de materia orgánica, y suelen tener texturas franco-arcillosa, arcillo-limosa, o franco-arcillo-limosa (Howeler, 1986). La mayoría de los Haplustolls tienen un horizonte cámbico bajo el epipedón mólico, en el cual se han acumulado carbonatos o sales solubles. Adicionalmente, tienen una capa de transición entre el epipedón mólico y el horizonte subsuperficial cuyo volumen está compuesto en menos de un 25% por agujeros de gusanos o madrigueras de otros animales (Soil Survey Staff, 1999).

### **3.2 Ciclo del nitrógeno (N)**

El N es el nutriente más limitante para la productividad de las plantas. Es por esto que, durante su evolución, diferentes mecanismos han surgido para evitar la competencia por el recurso y aprovechar diferentes formas tanto orgánicas como inorgánicas de N. Su ciclo en el suelo comprende distintas fases, entre ellas la fijación, mineralización, inmovilización, nitrificación y desnitrificación. En ecosistemas naturales (bosques alto-andinos y templados) el flujo de N se regula a través de la explotación de diferentes formas tanto orgánicas como inorgánicas de N (Smolander et al., 2012). Sin embargo, ecosistemas artificiales como los agrícolas son poco eficientes en el manejo del N, alcanzando pérdidas de más del 70% del N aplicado a través de fertilizantes debido a procesos de nitrificación rápida, lo cual implica serios problemas de polución ambiental, por lixiviación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a aguas subterráneas y emisiones directas de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ , considerado el mayor destructor del ozono en la atmósfera) por procesos de desnitrificación (Subbarao et al., 2012).

La atmósfera está compuesta en un 78% de N, no obstante, a pesar de su abundancia este no es fácilmente asimilable para la mayoría de las plantas terrestres, debido al enlace covalente triple que une los dos átomos del di-nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ , estado oxidativo de 0). Es por esto que el ciclo del N nace con la fijación del  $\text{N}_2$  atmosférico, el cual es reducido a amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) bien sea por medios sintéticos o naturales.

Entre todos los sistemas de producción, la ganadería basada en el pastoreo de forrajes tiene posiblemente una de las redes más complejas de ciclaje de nutrientes, y

específicamente, de N. Esto debido al gran número de actores y fuentes nitrogenadas que intervienen entre sí, en un sistema que integra no sólo la vegetación y el suelo, sino también al animal, cuya actividad genera: i) un recambio permanente de la biomasa vegetal, con un corte no uniforme del pasto tanto en el plano horizontal como el vertical; ii) deposición de altas concentraciones de N en puntos específicos 'hotspots' mediante deposición de excretas; y iii) cambios en las propiedades físicas y biológicas del suelo debido al pisoteo constante.

### 3.2.1 Fijación biológica de N (FBN)

La fijación biológica de N (FBN) es el proceso por el cual algunos microorganismos, bien sea de vida libre o en simbiosis con algunas plantas, reducen el N atmosférico ( $N_2$ ), el cual es inaccesible para la mayoría de las plantas terrestres, en  $NH_3$  por medio de la enzima nitrogenasa. El  $NH_3$  posteriormente es transformado en amonio ( $NH_4^+$ ) y  $NO_3^-$ . Plantas con la capacidad de asociarse con bacterias fijadoras de N (bacterias del género *Rhizobium*) pueden obtener N simbióticamente como una alternativa al N mineral del suelo, garantizando un nutriente esencial que usualmente es obtenido por la vía de la fertilización nitrogenada en los cultivos (Boddey et al., 2020).

Para la reacción de la nitrogenasa es necesaria energía en forma de ATP, y equivalentes reductores (electrones). Adicionalmente, esta enzima es altamente sensible al oxígeno  $O_2$ , el cual genera una inactivación irreversible. Es por esto que los microorganismos diazótrofos han desarrollado mecanismos para aislar la nitrogenasa de especies tóxicas de  $O_2$ , por ejemplo a través de barreras mecánicas que controlan la difusión de  $O_2$ , o por medio de la enzima leghemoglobina, la cual deja suficiente  $O_2$  para la respiración celular (Cooper & Scherer, 2012).

Algunos factores fundamentales para mantener la eficiencia de la actividad FBN incluye la disponibilidad de ciertos elementos químicos para las plantas como son: el fósforo (P), debido a la alta demanda de ATP para la actividad de la nitrogenasa y la síntesis de ácidos nucleicos y fosfolípidos; el calcio (Ca), para los eventos tempranos de la infección y garantizar un número alto de nódulos (algunos efectos negativos de la acidez en la nodulación se deben a deficiencia de Ca); el azufre (S), por la producción de aminoácidos como cisteína y metionina; el molibdeno (Mo) y hierro (Fe), que son componentes de la

nitrogenasa. Adicionalmente también de boro (B), cobalto (Co) y níquel (Ni) (Cooper & Scherer, 2012).

Otros factores del suelo importantes para la FBN son: i) la salinidad, ya que la mayoría de las leguminosas son sensibles a ésta; ii) La humedad del suelo, ya que influye en la arquitectura y desarrollo de la raíz, de hecho en zonas áridas los rizobios pueden morir durante la época seca; iii) La temperatura, ya que en condiciones de alta temperatura se puede desequilibrar la supervivencia y persistencia de algunas cepas de rizobios y alterar la infección de las raíces; y iv) La acidez, ya que en suelos ácidos la densidad de rizobios libres puede ser muy baja.

En sistemas agrícolas la FBN puede ocurrir de tres tipos: i) simbiótica, ii) asociativa, o iii) de vida libre, las cuales difieren tanto en su capacidad de fijación como en la fuente de energía empleada (Cooper & Scherer, 2012).

- FBN simbiótica

En la fijación simbiótica existe un intercambio mutuo, por parte de la planta hospedera se transfiere el carbono (C) fijado fotosintéticamente a la bacteria fijadora, comúnmente de los géneros *Rhizobium*, *Frankia*, y *Nostoc/Anabaena*, los cuales a su vez proporcionan el N fijado a la planta hospedera. En el grupo de plantas de las leguminosas (Fabaceae) este proceso ocurre generalmente en estructuras especializadas de las raíces llamadas nódulos. La FBN simbiótica es la que realiza más aportes de N al suelo en comparación con otros tipos de fijación. A través de este mecanismo puede haber aportes a los cultivos hasta de 680 kg de N/ha (Unkovich et al., 2008). El amplio potencial de las leguminosas noduladas para la FBN está basado en tres factores: la provisión directa de fotosintatos a los bacteroides fijadores de N en los nódulos, la regulación del O<sub>2</sub> a bajas concentraciones en el interior de los nódulos, y la rápida exportación del N fijado (Cooper & Scherer, 2012).

En la FBN simbiótica, la capacidad fijadora dependerá de la cepa bacteriana, el genotipo de la planta hospedera, y factores ambientales. En plantas noduladas de tipo leguminosa los microorganismos fijadores son los generalmente conocidos como rizobios, los cuales incluyen los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium* y *Allorhizobium*. Por otra parte, en las noduladas no leguminosas, son los actinomicetos del género *Frankia* (Ledgard & Giller, 1995).

- FBN asociativa

Al igual que en la FBN simbiótica, en este fenómeno también existe un intercambio mutuo de C y N entre la planta y los microorganismos diazotófos, los cuales se pueden encontrar colonizando la superficie de las raíces, o invadiendo la corteza de las plantas como endófitos en hojas, tallos, o haces vasculares, sin residir en órganos especializados. A través de este mecanismo puede haber fijación de hasta 240 kg de N/ha. En la FBN asociativa las bacterias obtienen el beneficio de las plantas principalmente por los exudados radicales, de los cuales obtienen energía, C, nutrientes, y otros compuestos. La información con la que se cuenta hasta el momento no es concluyente sobre los mecanismos por los cuales la planta obtiene el N de las bacterias, de hecho, en muchos casos estas asociaciones involucran fijadores de vida libre, los cuales tienen bajas tasas de fijación. La importancia relativa de este proceso depende en gran medida por la disponibilidad de N en el suelo, pues a mayor nivel de N en el suelo, menor abundancia de diazotófos (Cooper & Scherer, 2012).

- FBN de vida libre

Esta es una forma de fijación asimbiótica realizada por microorganismos de vida libre, si bien pueden ser tanto autótrofos como heterótrofos, estos últimos son los más abundantes, y su actividad de fijación se ve a menudo limitada por la disponibilidad de sustratos orgánicos para la obtención de energía. El aporte de N fijado por microorganismos de vida libre se ha estimado en hasta 80 kg de N/ha para los autótrofos, y hasta 5 kg de N/ha para los heterótrofos.

### **3.2.2 Mineralización e inmovilización**

La mineralización es el proceso bioquímico por el cual los microorganismos del suelo obtienen energía y C para crecer y realizar sus procesos metabólicos, mediante el rompimiento de enlaces de macromoléculas de detritos orgánicos (residuos de plantas, hojarasca, necromasa microbiana, exudados orgánicos de raíces), los cuales una vez son oxidados e hidrolizados generan formas solubles fácilmente asimilables por las plantas y otros microorganismos (Monsalve et al., 2017). Estos detritos son consumidos por los microorganismos principalmente para obtener energía y C para crecer, sin embargo, también requieren N para el ensamble de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares. Si los detritos consumidos satisfacen las necesidades de N de los

microorganismos, entonces ocurre la liberación del N excedente (mineralización). Por el contrario, si los detritos tienen muy poco contenido de N y los microorganismos deben buscar en la solución del suelo otras fuentes de N como el inorgánico ya disponible, éste queda inmovilizado en su biomasa. Como regla empírica se dice que si un sustrato tiene una relación C/N menor a 25, se dan las condiciones para la mineralización, y si es mayor a 25, se dan las condiciones para la inmovilización (Robertson & Groffman, 2015).

Las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo tienen injerencia sobre el potencial de mineralización. En cuanto a variables físicas, la textura, densidad aparente, contenido de humedad, y temperatura son las más determinantes. La mineralización será máxima en suelos que favorezcan un adecuado contenido de  $O_2$ , humedad cercana a capacidad de campo y temperaturas cercanas a  $25^\circ C$ . Es por esto que también se suele encontrar alta mineralización en suelos no compactados de texturas medias o gruesos como los francos y arenosos. Suelos con una alta densidad aparente o con un alto contenido de arcilla limitarían la aireación y el flujo de  $O_2$  o podrían retener mucha humedad (Monsalve et al., 2017). En tales condiciones o en temperaturas bajas la materia orgánica y el N orgánico tenderán a acumularse.

Las propiedades químicas del suelo más relevantes para la mineralización son la calidad de la materia orgánica (relación C/N), el contenido de N en solución y de C lábil en el suelo. Las arcillas del suelo con alta capacidad de intercambio catiónico pueden actuar como fijadores de  $NH_4^+$ , ralentizando la mineralización. Diversos estudios han evaluado el efecto del pH y salinidad en el potencial de mineralización, no obstante, han reportado efectos contradictorios (Monsalve et al., 2017). La fauna del suelo juega un papel fundamental en las dinámicas de mineralización e inmovilización. La actividad de lombrices de tierra, isópodos, termitas, entre otros grupos biológicos son importantes para la fragmentación de sustratos orgánicos, generar microhábitats en el suelo, y regular las poblaciones de algunos microorganismos (Robertson & Groffman, 2015).

### **3.2.3 Nitrificación**

La nitrificación es la oxidación biológica del amonio ( $NH_4^+$ ) a nitrito ( $NO_2^-$ ) y posteriormente a nitrato ( $NO_3^-$ ) por acción de microorganismos del suelo, principalmente bacterias autótrofas, y en menor medida por arqueas y microorganismos heterótrofos (Subbarao et al., 2012).

La nitrificación juega un rol importante en el funcionamiento de los ecosistemas, dado que a pesar de que el  $\text{NO}_3^-$  puede llegar al suelo a través de la lluvia o por fertilización sintética, la mayor parte del  $\text{NO}_3^-$  se genera *in situ* por nitrificación. No obstante, la alta nitrificación puede tener efectos adversos, por ejemplo la acidificación de los suelos por la liberación de iones  $\text{H}^+$ , lo cual a su vez puede reducir la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de los mismos. La absorción de N en forma de  $\text{NH}_4^+$  en lugar de  $\text{NO}_3^-$  es ventajosa para las plantas y el ambiente por dos razones principales: su asimilación es energéticamente menos costosa (5 moles de ATP por mol de  $\text{NH}_4^+$  vs. 20 moles de ATP por mol de  $\text{NO}_3^-$  (Salsac et al., 1987)) y, dado que el  $\text{NH}_4^+$  es menos móvil (ya que puede ser electrostáticamente sostenido por las cargas negativas de las arcillas y la materia orgánica del suelo), es menos propenso a perderse en el ambiente por lixiviación y emisión del potente gas óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ).

Dado que los microorganismos nitrificantes son aerobios obligados, la nitrificación depende fuertemente en condiciones de buena aireación y circulación de  $\text{O}_2$ , lo cual ocurre cuando el espacio poroso lleno de agua (WFPS) se acerca al 60%. Condiciones limitantes para la nitrificación ocurrirían en suelos de alto contenido de arcilla o muy compactados. Otro factor abiótico fundamental para la nitrificación es la disponibilidad de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo, ya que los nitrificantes son relativamente poco competitivos por el  $\text{NH}_4^+$ . De hecho, cualquier perturbación en el suelo que aumente la disponibilidad de  $\text{NH}_4^+$  como la labranza, la fertilización, la deposición atmosférica, etc. podría acelerar la nitrificación (Robertson & Groffman, 2015).

### 3.2.4 Desnitrificación

La desnitrificación es la reducción del  $\text{NO}_3^-$  del suelo en gases nitrogenados como el  $\text{N}_2\text{O}$  o el  $\text{N}_2$ . Este proceso es realizado principalmente por bacterias heterótrofas que usan el  $\text{NO}_3^-$  en lugar del  $\text{O}_2$  como receptor de protones para la respiración. Algunos microorganismos amonio-oxidantes también pueden reducir el  $\text{NO}_2^-$  generando  $\text{NO}$  y  $\text{N}_2\text{O}$  (Robertson & Groffman, 2015). Este es un paso muy importante del ciclo del N, ya que permite mantener el equilibrio ecosistémico y regresar una parte del N a la atmósfera. Por ejemplo, el exceso de  $\text{NO}_3^-$  genera contaminación ambiental, como la eutrofización de cuerpos de agua haciéndolos inviables para muchas formas de vida.

La desnitrificación ocurre en condiciones anaeróbicas, y es máxima cuando el WFPS del suelo se acerca al 90%. En suelos no-saturados, éste proceso ocurre dentro de los agregados del suelo, en la hojarasca en descomposición, y en la rizósfera. Otros controladores de la desnitrificación son el C y el  $\text{NO}_3^-$  del suelo. Dado que la mayoría de los desnitrificantes son heterótrofos, éstos requieren C reducido como donante de electrones. Por otra parte, el  $\text{NO}_3^-$  sirve como aceptor de electrones y debe proveerse por vía de nitrificación, lluvia o fertilización.

### 3.3 Pasto Cayman

El cultivar (cv.) Cayman, también conocido *Urochloa* (syn. *Brachiaria*) híbrido CIAT BR02/1752 es un cultivar desarrollado por el programa de mejoramiento de *Urochloa* interespecífico del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) entre las especies *U. ruziziensis*, *U. brizantha*, y *U. decumbens* y es distribuido comercialmente por el grupo Papalotla. Fue liberado inicialmente en México, Guatemala, Honduras y los Estados Unidos en 2011. El hábito de crecimiento de este pasto es principalmente macollador aunque también produce estolones. Este pasto puede tener altura de 80 a 110 cm sin inflorescencias y contenidos de proteína de hasta el 17%. Algunas de las principales características de este pasto incluyen la resistencia a suelos encharcados, tolerancia a sequía, alta palatabilidad y capacidad de carga animal. Requiere de mediana a alta fertilidad de suelo y puede sembrarse en áreas con precipitación anual menor a 800 mm (Cook et al., 2020).

### 3.4 Pasto Toledo

El cv. Toledo, *Urochloa brizantha* CIAT 26110, también conocido como 'Victoria' o 'Xaraes', es originario de Burundi, en África, resultado de un proceso de selección de germoplasma forrajero. Fue liberado comercialmente en Costa Rica en el 2000, en Colombia en 2002, y en Brasil en el 2003. Es una planta perenne de hábito macollador que produce tallos vigorosos capaces de enraizar a partir de los nudos. Puede alcanzar hasta 1,6 m de altura, contenido de proteína de hasta el 12% y rendimiento entre 25 y 30 toneladas de MS (materia seca) por hectárea anualmente (Peters et al., 2011). Fue seleccionado para suelos con un nivel intermedio de fertilidad con poca limitación por nutrientes, pH de 4 a 8, con precipitación entre 800 y 1.600 mm, tiene floración tardía, y tolerancia a la sequía, sin

embargo, es susceptible al mión de pastos, o salivazo (Hemiptera: Cercopidae). Es usado para el control de la erosión en pendientes frágiles (Cook et al., 2020).

### **3.5 *Leucaena diversifolia***

*Leucaena diversifolia* (Schltdl.) Benth. pertenece a la subfamilia Caesalpinioideae y la tribu Mimoseae. Tiene un hábito de crecimiento de arbustivo a arbóreo, con una altura de entre 5 y 15 m. Tiene un sistema radicular profundo y extendido, lo cual le permite penetrar capas profundas del suelo para aprovechamiento de agua y minerales. Crece naturalmente en suelos medianamente ácidos a alcalinos (pH 5 a 7,5), con precipitaciones anuales entre 1.000 y 3.500 mm, a altitudes desde 30 hasta 1.500 msnm y es tolerante a suelos poco fértiles. El potencial productivo de esta especie es alrededor de las 10 a 16 toneladas de MS por hectárea anualmente, con un contenido de proteína del 25% al 32% y digestibilidad de MS entre 56% a 61%. Es usada como abono verde, cerca viva, barrera rompe vientos, árbol disperso, y también para proveer sombra en plantaciones de café (Cook et al., 2020).

### **3.6 Asociaciones gramínea-leguminosa**

Muchas gramíneas y leguminosas son empleadas para la alimentación animal en el trópico. Algunos géneros de gramíneas empleados incluyen *Urochloa*, *Megathyrus*, *Cynodon*, *Pennisetum*, entre otros que son asociadas con géneros de leguminosas como *Stylosanthes*, *Arachis*, *Pueraria*, *Canavalia*, *Desmodium*, entre otros. Las asociaciones de gramíneas y leguminosas en las pasturas tropicales han demostrado proveer múltiples beneficios entre los que se encuentran: fijación simbiótica de N, alto valor nutritivo, sistema radical de alcance profundo (recuperación de suelos degradados), amplia diversidad taxonómica y genética, y presencia de metabolitos secundarios benéficos (I. Rao et al., 2015). Estos beneficios se logran principalmente porque las gramíneas y leguminosas se estimulan mutuamente para asimilar más N que cuando alguno de los dos componentes se cultiva por separado (Nyfeler et al., 2011).

En la literatura existen múltiples ejemplos que ilustran los beneficios de la utilización de asociaciones gramínea-leguminosa para aumentar la producción de biomasa y absorción de N por las plantas y los animales. Como ejemplos, en el estudio de Villegas et al. (2020), en pasturas de la Amazonía colombiana los autores encontraron 74% mayor producción de forraje y dos veces más N absorbido por m<sup>2</sup> en pasturas de *Urochloa* sp. asociadas con

*Arachis pintoi* y *Pueraria phaseoloides* con respecto a pasturas de *Urochloa* sp. en monocultivo. En otro estudio Pereira et al. (2020) en el nororiente de Brasil encontraron un 17% mayor producción de forraje y 29% mayor ganancia de peso vivo en pasturas asociadas de *Urochloa brizantha* con *Arachis pintoi* en comparación con pasturas de *U. brizantha* en monocultivo fertilizadas con 120 kg N/ha.

Algunos de los mecanismos que favorecen la mayor asimilación de N en pasturas mixtas son: la utilización de N proveniente de excretas animales, descomposición de hojarasca, exudación de compuestos nitrogenados por las raíces, redes comunes de micorrizas, y recambio de raíces (Munroe & Isaac, 2014). No obstante, a pesar de que estos beneficios se han reportado a través de múltiples estudios, la adopción de leguminosas en las pasturas del trópico ha sido escasa, principalmente por baja disponibilidad de semilla a nivel comercial y complejidad de manejo agronómico en campo, lo cual incluye dificultad de establecimiento y baja persistencia en condiciones de pastoreo (Cadisch et al., 1994; I. Rao et al., 2015).

### **3.6.1 Asociación *Urochloa* sp.–*Leucaena diversifolia***

Las especies del género *Urochloa* son compatibles con una amplia gama de leguminosas, bien sean de hábito herbáceo o arbustivo, dado que son poco exigentes en el requerimiento de nutrientes y toleran condiciones de importancia para los sistemas silvopastoriles como la sombra. De forma similar, *L. diversifolia* tiene un amplio rango de adaptación, con tolerancia a suelos moderadamente ácidos y de mediana a baja fertilidad. Estas condiciones hacen de la asociación *Urochloa* sp. – *L. diversifolia* una opción atractiva que pueda escalarse a diversos ambientes y modelos de producción.

A diferencia de *L. leucocephala*, la cual es una especie ampliamente adoptada en sistemas silvopastoriles del trópico, *L. diversifolia* es una especie muy poco estudiada para alimentación animal, y la mayoría de literatura científica disponible está enfocada en el estudio de su composición química para la fabricación de papel y materiales similares.

Entre los pocos estudios realizados con *L. diversifolia* en ganadería destacan los realizados por el CIAT asociando dicha leguminosa con pasto Cayman. Tales estudios han indicado que la inclusión de *L. diversifolia* en comparación con una pastura de Cayman solo permite aumentar la capacidad de carga del potrero de 3,3 a 4 animales por ha, lo cual se traduce

en aumentos de producción de peso vivo de 723 a 1.079 kg por ha por año y reducir el tiempo de engorde de 18 a 12 meses (Enciso et al., 2019).

En términos ambientales la interacción *Urochloa* – *L. diversifolia* también ha demostrado resultados promisorios. Se ha demostrado que dietas basadas en esta asociación permiten reducir la intensidad de emisiones de metano entérico (emisiones por kg de peso vivo) en ganado bovino respecto de dietas de gramínea sola (Gaviria-Uribe et al., 2020). Por otro lado, en un sistema silvopastoril compuesto por la gramínea *Urochloa* y las leguminosas *Canavalia brasiliensis* y *L. diversifolia* se encontró un importante aumento en la abundancia y riqueza de macrofauna del suelo con respecto a las pasturas de *Urochloa* sola, y *Urochloa* con *C. brasiliensis* particularmente en los grupos de miriápodos, lombrices de tierra, coleópteros, y dermápteros (Vazquez et al., 2020).

No obstante, pese a los beneficios observados en términos de productividad animal, mitigación de emisiones de metano y aumento de la macrofauna del suelo, la contribución específica de *L. diversifolia* en el ciclaje de N de la pastura ha sido poco estudiada. Se desconoce la capacidad de fijación de N de esta especie, su aporte de N al suelo, su influencia en otros procesos del ciclo del N, cómo puede ser afectada la fijación biológica de nitrógeno (FBN) por la presencia de diferentes gramíneas acompañantes, y si estas gramíneas se benefician del N fijado por la leguminosa mejorando su producción de biomasa o su contenido de proteína.

### **3.7 Generalidades de la ganadería en Colombia y el Valle del Cauca**

Para el año 2020 se estimó que hay en el país unos 615.367 predios con actividad ganadera, de los cuales el 41,4% tienen menos de 10 animales, el 48,5% entre 11 y 100 animales, y sólo el 0,3% tiene más de 1.000 animales. El hato ganadero se orienta principalmente a la cría, con un 39%, seguido del doble propósito, con 35%, Ceba, 20% y Leche, 6%. El mercado de sacrificio de animales representa unos 7,8 billones de pesos anuales, mientras que el de leche sin elaborar, representa 9 billones de pesos. El consumo anual per cápita de carne bovina en el país en el 2020 fue de 17,1 kg, mientras que el de leche fue de 158 L (Federación Nacional de Ganaderos, 2021). Del total del inventario bovino, el 35,8% se encuentra en cuatro departamentos: Antioquia (10,6%), Córdoba (9,1%), Casanare ( 8,5%) y Meta (7,5%) (DANE, 2016).

En el Valle del Cauca, para 2019, el 52% de la tierra (cerca de 600.984 ha) tenía un uso pecuario (DANE, 2020) contando con unos 12.765 predios de actividad ganadera (Federación Nacional de Ganaderos, 2021). Según el censo nacional agropecuario del 2016, 318.214 ha estaban en pastos, y 138.883 ha en rastrojos (DANE, 2016).

Las especies de pastos más comunes en la región son el pasto Estrella (*Cynodon plectostachyus*), Guinea (*Megathyrus maximus*), variedades de *Urochloa* (*U. brizantha* y *U. decumbens*) y gramas nativas (*Paspalum* spp.) (Morales-Vallecilla & Ortiz-Grisales, 2018). Las praderas de la región están compuestas en un 73% de pastos tradicionales, 20% de pastos mejorados, y sólo un 2% de sistemas silvopastoriles, en los cuales se utiliza la leguminosa *Leucaena leucocephala* en asocio con las gramíneas anteriormente mencionadas (Gobernación del Valle del Cauca, 2017) .

El inventario bovino del Valle del Cauca asciende a unos 527.357 animales, representando el 2% del total nacional, de los cuales el 60% son hembras y el 40% machos (DANE, 2020). La capacidad de carga de los poteros del departamento es alrededor de 0,8 animales por ha, un valor considerado intermedio respecto a las estadísticas nacionales. La orientación productiva se distribuye en actividades de doble propósito, cría y ceba con un 39%, 29% y 28% respectivamente, mientras que la orientación de leche abarca el 5% del hato. En las subregiones centro y sur del departamento predominan los sistemas de cría, mientras que en la subregión norte predominan los sistemas de doble propósito (Federación Nacional de Ganaderos, 2021). Para el 2019 se estima que en el departamento se produjeron 558.867 L de leche por día (DANE, 2020).

## 4. Materiales y métodos

### 4.1 Área de estudio

El campus de la Alianza Bioversity-CIAT para las Américas se encuentra ubicado en el valle geográfico del Río Cauca en el municipio de Palmira, Valle del Cauca, a una altitud de 990 msnm. Cuenta con clima característico de bosque seco tropical, con temperatura diaria promedio de 24°C y precipitación anual promedio de 870 mm. El suelo en el área de estudio es de orden Molisol, clasificado como Pachic Haplustoll en llanura aluvial de piedemonte (Corporación autónoma regional del Valle del Cauca & Instituto Geográfico Agustín Codazzi, 2021), con textura limo arcillosa, pH de 7,4 y contenido de materia orgánica de 4,5%, 1,1 g de N/kg de suelo y 20 mg de P/kg de suelo.

En el año 2013 se estableció un ensayo de campo con diferentes pasturas basadas en gramíneas del género *Urochloa* solas y asociadas con leguminosas. La ubicación del ensayo de campo corresponde a las coordenadas 03°30'07" N 76°21'22" W. El lote donde se estableció el ensayo contaba con una historia de cultivo de caña por los últimos diez años con manejo tradicional (alta aplicación de productos agroquímicos como fertilizantes, herbicidas, etc.).

### 4.2 Diseño experimental

Entre junio de 2021 y abril de 2022 se evaluaron en el ensayo de campo cuatro tratamientos, los cuales consistieron en dos tipos de gramíneas solas (T1 y T2) y dos asociaciones gramínea-leguminosa (T3 y T4):

T1: *Urochloa* híbrido cv. Cayman (CIAT BR02/1752)

T2: *Urochloa brizantha* cv. Toledo (CIAT 26110)

T3: *Urochloa* híbrido cv. Cayman + *Leucaena diversifolia* (ILRI 15551)

T4: *Urochloa brizantha* cv. Toledo + *Leucaena diversifolia* (ILRI 15551)

Cada uno de los tratamientos contó con tres repeticiones (parcelas) distribuidas en un diseño factorial con bloques (Figura 1). Cada parcela contó con un área de 36 m x 91 m, es decir 0,33 ha por parcela, y un área total del ensayo de aproximadamente 4 ha. Los arbustos de *L. diversifolia* fueron sembrados en surcos dobles cada 10 m, con largo de 36 m, distancia de 2 m entre surcos simples, y 1 m entre plantas dentro de un mismo surco. La densidad de *L. diversifolia* en cada parcela fue aproximadamente de 2.000 plantas por ha (~650 plantas por parcela). Del total de plantas de *L. diversifolia* en cada parcela, el 25% se dejaron crecer como árboles de sombra, y el 75% restante como arbustos para el ramoneo animal.

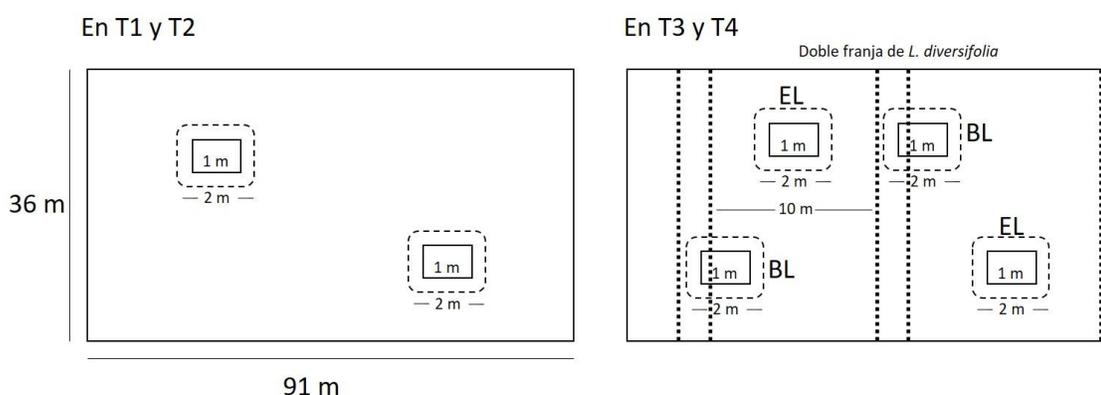
**Figura 1:** Diseño experimental del ensayo de campo. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + *L. diversifolia*, T4: Toledo + *L. diversifolia*. Foto tomada el 11 de febrero de 2021.



Dado que en el ensayo de campo paralelamente se realizaban experimentos con ganado bovino como parte de otros proyectos, en cada parcela se delimitaron áreas específicas de muestreo con el objetivo de reducir el riesgo tanto de consumo de forraje por el ganado como de deposición de orina o estiércol animal generando afectación a los resultados obtenidos, particularmente de isótopos de N y C en suelo y la biomasa vegetal. Cada cerco abarcó un área de 2 m x 2m, con el objetivo de dejar 1 m<sup>2</sup> interior para la realización de muestreos, y una zona de amortiguamiento de 0,5 m en cada dirección. En cada parcela

de los T1 y T2 se cercaron dos áreas de muestreo ubicadas aleatoriamente dentro de la parcela. En los T3 y T4 se cercaron cuatro áreas de muestreo por parcela, dos áreas entre los surcos dobles de arbustos de *L. diversifolia* abarcando solamente la gramínea (áreas EL) y dos ubicadas bajo los surcos cada una abarcando la gramínea y un arbusto de *L. diversifolia* (áreas BL) (Figura 2).

**Figura 2:** Distribución de áreas de muestreo en los tratamientos a ser evaluados. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + *L. diversifolia*, T4: Toledo + *L. diversifolia*. EL: área entre surcos de *L. diversifolia*; BL: área bajo arbustos de *L. diversifolia*.



### 4.3 Análisis físico-químico de suelo

En las parcelas de cada repetición para cada tratamiento se tomaron 5 muestras de suelo en la profundidad 0–20 cm para ser después mezcladas y homogenizadas para obtener una muestra compuesta por cada tratamiento. Posteriormente estas muestras fueron secadas al aire por 48 h, tamizadas en malla de 2 mm y llevada al laboratorio de servicios analíticos de la Alianza Bioersity–CIAT para determinar las características de textura, densidad real, pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), carbono (C) oxidable, materia orgánica, fósforo (P) disponible y potasio (K).

Adicionalmente se tomó una muestra de suelo no disturbada por cada área de muestreo descrita en la Figura 2 en cilindros metálicos de 4,7 cm de diámetro y 5 cm de alto, para determinar la densidad aparente y distribución de poros en el suelo en el mismo laboratorio.

## 4.4 Producción de forraje y contenido de N

Para la determinación de la producción de forraje de las pasturas se realizaron cuatro evaluaciones a lo largo del experimento. Cada evaluación constó de un primer paso de estandarización de todas las áreas de muestreo, cortando el pasto disponible a una altura de 15–20 cm sobre el nivel del suelo y podando manualmente los arbustos de *L. diversifolia* hasta una altura de 2 m retirando todo el material verde y leñoso de hasta 0,5 cm de grosor. Pasados 55 días, en cada área de muestreo se dispuso un marco de 1 m<sup>2</sup> y se recolectó la biomasa vegetal disponible, tomando por separado cuatro fracciones botánicas: gramínea (Cayman o Toledo), leguminosa, arvenses y hojarasca (plantas y partes de plantas muertas o senescentes caídas en el suelo o aún adheridas a la planta principal). El corte de la gramínea y leguminosa se realizó bajo las mismas condiciones que para la estandarización, mientras que las arvenses fueron muestreadas a nivel del suelo. El material fresco fue pesado y posteriormente secado en horno de ventilación controlada por 72 h a 60°C o hasta obtener peso constante de la muestra. Las cuatro evaluaciones realizadas correspondieron a los periodos 09 julio–01 septiembre 2021, 02 septiembre–20 octubre 2021, 27 diciembre 2021–16 febrero 2022 y 17 febrero–5 abril 2022.

La producción anual de forraje para los tratamientos con *L. diversifolia* (T3 y T4) se calculó considerando que las áreas entre arbustos de *L. diversifolia* (EL) serían representativas del 60% del total del área de cada tratamiento, y las áreas bajo los arbustos de *L. diversifolia* (BL) representativas del 40% del área de cada tratamiento.

De la muestra recolectada para medir producción de biomasa en las dos primeras evaluaciones se tomaron aproximadamente 100 g de las muestras secas de gramínea y leguminosa para ser molidas y tamizadas con malla de 1 mm. La concentración de N en el tejido foliar se determinó a partir de un equipo Kjeldahl AN 3001 FOSS en el laboratorio de nutrición animal y calidad de forrajes del CIAT. La absorción de N en cada pastura fue determinada multiplicando la producción de biomasa por unidad de área por la concentración de N en los forrajes correspondientes. El parámetro de proteína cruda (PC) fue determinado multiplicando la concentración de N obtenida por el factor de 6,25.

### 4.4.1 Interceptación de luz por arbustos de *L. diversifolia*

Con el objetivo de determinar las diferencias en luz disponible dada por la interceptación de los arbustos *L. diversifolia* se midió la radiación fotosintéticamente activa (RFA) a la

altura de las gramíneas en diferentes puntos de cada parcela entre las 12:00 y 12:30 horas del día usando un equipo portátil SpectraPen Mini. El SpectraPen Mini es un espectrorradiómetro y medidor de luz cuántica calibrado para medir la luz visible en un rango de 340 a 850 nm. En cada parcela de gramínea sola (T1 y T2) se tomaron tres mediciones en puntos aleatorios dentro de la parcela y fueron considerados como referencia del 100% de luz disponible. En cada parcela de asociación gramínea–leguminosa (T3 y T4) se tomaron seis mediciones, tres en las áreas abiertas entre surcos de *L. diversifolia* y tres a la altura de las gramíneas debajo de arbustos de *L. diversifolia*.

#### 4.4.2 Fijación biológica de N

**NOTA:** Debido a la pandemia de COVID-19 el laboratorio al que se enviaron las muestras para análisis isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en la Universidad de California (UC Davis) debió suspender actividades ocasionando un represamiento de muestras por analizar provenientes de todo el mundo, manifestando un retraso de más de 6 meses para analizar las muestras. A la fecha de entrega de la presente tesis aún no se han entregado los resultados por parte de UC Davis. No obstante, en aras de cumplir con los objetivos de la presente tesis, se usaron datos de muestras recolectadas por el mismo autor en el año 2019 en el mismo ensayo de campo y siguiendo un diseño experimental similar. La única diferencia radica en que en aquella ocasión no se analizaron áreas entre surcos de *L. diversifolia* en los tratamientos T3 y T4, sólo en al área bajo los arbustos.

Las muestras de las fracciones botánicas de gramínea, leguminosa y hojarasca recolectadas para la determinación de biomasa en cada corte, así como muestras de suelo (0–10 cm) recolectadas en las dos primeras evaluaciones se molieron en un equipo mezclador de balines hasta obtener un polvo fino (< 1 mm). Cada una muestras se dispuso en cápsulas de estaño para determinar los radios isotópicos de  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  y  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  por combustión seca usando un analizador elemental NCS acoplado a un espectrómetro de masas en el instituto ETH Zürich (Suiza) (Cadisch et al., 1989). La cantidad de muestra pesada para análisis isotópico en cada fracción fue de 3 mg para gramíneas, arvenses y hojarasca, 1,5 mg para leguminosas, y 30 mg para suelo.

La proporción de N derivado de la atmósfera (%N<sub>dla</sub>) fue determinado por el método de abundancia natural de  $^{15}\text{N}$  (Shearer & Kohl, 1986) aplicando la siguiente fórmula:

$$N_{dla} (\%) = \frac{\delta^{15}N_{ref} - \delta^{15}N_{leg}}{\delta^{15}N_{ref} - B} \times 100 \quad (1)$$

Donde

*N<sub>dla</sub>*: *N* derivado de la atmósfera

$\delta^{15}N_{ref}$ : Valor  $\delta^{15}N$  de una planta de referencia no fijadora de N,

$\delta^{15}N_{leg}$ : Valor  $\delta^{15}N$  de la leguminosa,

*B*: Valor  $\delta^{15}N$  de *L. diversifolia* usando el N<sub>2</sub> atmosférico como única fuente de N, considerando el fraccionamiento isotópico interno de la planta.

Como planta no fijadora de referencia se emplearon las arvenses encontradas en las áreas de muestreo. Como valor *B* de *L. diversifolia* se usó  $-1,54$ , el cual fue el valor  $\delta^{15}N$  más bajo observado en campo para la leguminosa, como es sugerido por Sarabia-Salgado et al. (2020).

La cantidad de N fijado en las pasturas asociadas de *Urochloa-L. diversifolia* fue estimada multiplicando la absorción de N en la materia seca de las leguminosas por su respectivo %*N<sub>dla</sub>*.

## 4.5 Emisiones de óxido nitroso

Para determinar diferencias en las emisiones de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) provenientes del suelo entre los tipos de pasturas son necesarios dos factores: una alta humedad en el suelo (ya que la desnitrificación es un proceso anaeróbico), y alta disponibilidad de N (sustrato para microorganismos desnitrificantes). Por tal motivo las mediciones de N<sub>2</sub>O se realizaron en época lluviosa (octubre a diciembre de 2021) y simulando la deposición de parches de orina. Debido a que las pasturas no reciben fertilización química, la orina animal sería la fuente más significativa de N que podría ingresar al suelo y serviría para evaluar las emisiones entre tratamientos manteniendo condiciones representativas del manejo de pasturas en la región.

### 4.5.1 Método de cámara estática cerrada

Las emisiones de N<sub>2</sub>O se midieron por el método de cámara estática cerrada. Cada cámara consiste en un anillo de PVC de 10 cm de alto y 27 cm de diámetro enterrado en el suelo hasta 5 cm, el cual sirve como base, y una tapa de 25 cm de alto y mismo diámetro, ubicada sobre la base y sellando la unión con una banda de goma para evitar fugas del gas. En la

parte superior de las cámaras se ubican dos septos, en los cuales se introducen la jeringa para toma de muestra de gas y el termómetro. En la parte intermedia a inferior de la tapa de las cámaras se dispone un orificio de venteo acoplado a una manguera de unos 10 cm de largo orientada hacia abajo con el objetivo de equilibrar la presión en el ambiente interno de la cámara y el externo (Davidson et al., 2002) (Figura 3).

**Figura 3:** Cámara estática de medición de gases de efecto invernadero



#### 4.5.2 Obtención de la orina

Para la realización del experimento se requirieron en total aproximadamente 40 L de orina, la cual fue recolectada en una finca cercana al ensayo de campo en el corregimiento de Rozo, municipio de Palmira, Valle del Cauca. Los días 23–25 de octubre de 2021 en horas de la mañana se realizó estimulación manual a un grupo de cuatro bovinos para obtener alrededor de 13 L por día. Los animales de quienes se obtuvo la orina estaban consumiendo una dieta mixta basada en pasturas con pasto estrella (*Cynodon* sp.), guinea (*Megathyrsus maximus*), matarratón (*Gliricidia sepium*), frutas (cáscaras de plátano, naranja) y una poca proporción de *Leucaena* sp.

La orina recolectada cada día fue almacenada en recipientes herméticos en cuarto frío hasta obtener la cantidad total necesaria. Cada día de recolección se tomó una submuestra de 100 mL de orina y se conservó adicionando 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1% v/v) y posteriormente almacenada a -20°C en laboratorio para determinar la concentración de N en la submuestra, la cual fue de 6,1 g N L<sup>-1</sup>. Al obtener la cantidad total de orina necesaria para

el experimento, el volumen recolectado en los tres días fue mezclado y homogenizado antes de aplicarse en campo. Una nueva submuestra de la orina mezclada fue conservada para análisis de N siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

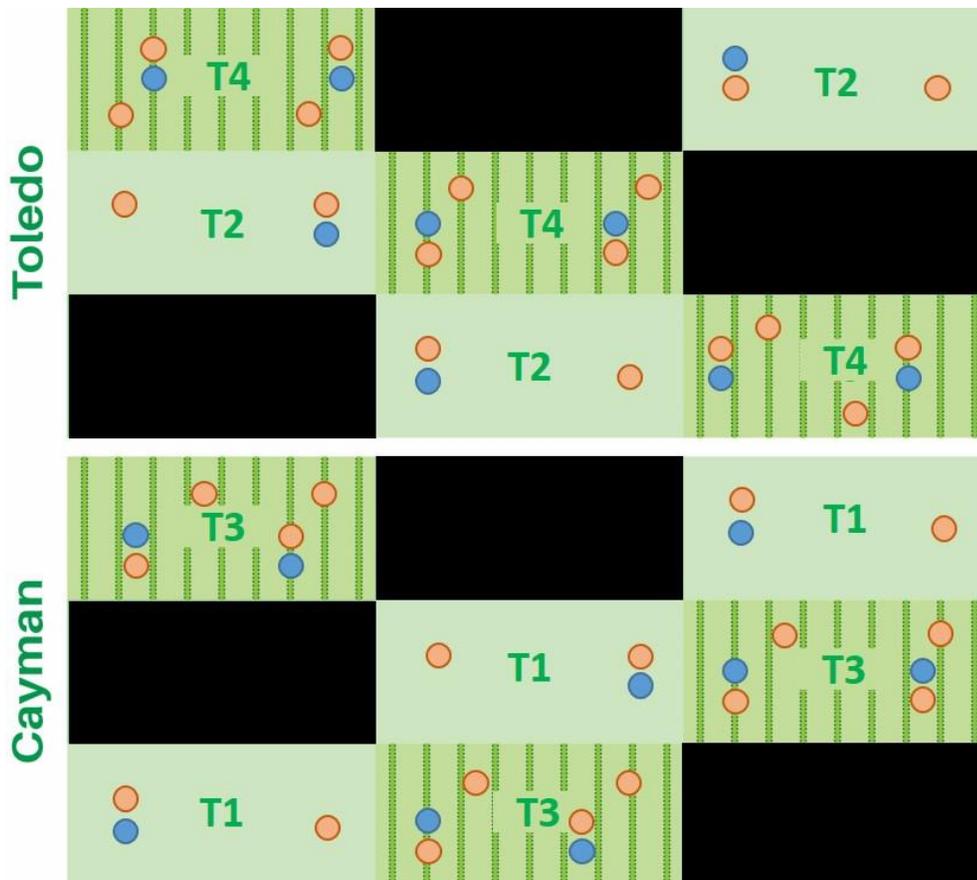
### 4.5.3 Protocolo de medición de N<sub>2</sub>O

En los tratamientos T1 y T2 se ubicaron tres cámaras estáticas por parcela, en dos de ellas se aplicó 1 L de orina y en la restante 1 L de agua como control experimental. Este volumen coincide con el de un evento de orina típico de un bovino en condiciones tropicales. En los tratamientos T3 y T4 se ubicaron seis cámaras por parcela: tres en áreas EL y tres en áreas BL. En cada área (EL o BL) se aplicó 1 L de orina en dos cámaras y en la restante 1 L de agua. El volumen de orina/agua se aplicó homogéneamente en un área de 50 × 50 cm (0,25 m<sup>2</sup>) abarcando cada cámara y un área adicional de aproximadamente 12 cm en cada dirección. La tasa de N por área aplicada en los tratamientos con orina fue de 24,5 g N m<sup>-2</sup>, equivalente a 245 kg N ha<sup>-1</sup>. La disposición de las cámaras se realizó siguiendo la distribución de las áreas cercadas para evitar la deposición de orina adicional o estiércol de los animales en pastoreo, minimizando el riesgo de nuevas entradas de N al suelo. El número total de cámaras a muestrear fue de 54 (36 con orina y 18 con agua) (Figura 4).

El 25 de octubre de 2021 entre las 8:30 am y las 10:00 am se realizó la primera medición de N<sub>2</sub>O como línea base antes de la aplicación de orina y agua. Previamente se había cortado el pasto a la altura usual de 15–20 cm. En las 54 cámaras del ensayo se tomaron muestras de gas en viales herméticos de vidrio en tiempo 0 y el gas acumulado a los 20, 40 y 60 minutos.

El 26 de octubre de 2021 se aplicaron los tratamientos de agua y orina en las 54 cámaras del ensayo. A partir de allí, se monitorearon las emisiones de N<sub>2</sub>O por un periodo de 52 días de forma discontinua hasta el 16 de diciembre de 2021. En ese periodo de tiempo se realizaron 17 muestreos distribuidos de la siguiente manera: 4 días consecutivos desde la aplicación de orina o agua, luego dos veces a la semana por tres semanas, y una vez a la semana por tres semanas más. La cantidad de muestras (viales) obtenidos al final del experimento fue de aproximadamente 3.672, los cuales fueron llevados analizados en el laboratorio de gases de efecto invernadero de la Alianza Bioversity–CIAT por la metodología de cromatografía de gases.

**Figura 4:** Mapa del ensayo de campo con la ubicación de las cámaras para medición de  $N_2O$ . Círculos naranjas indican cámaras con aplicación de orina. Círculos azules indican cámaras con aplicación de agua.



#### 4.5.4 Variables complementarias

Los días de medición de  $N_2O$  se registraron los datos de temperatura y humedad ambiental usando un termohigrómetro. De forma similar se registraron los datos de temperatura de suelo y humedad volumétrica de suelo usando un equipo TDR portátil para la profundidad de 0–20 cm.

Adicionalmente cada día de medición se tomaron muestras de suelo (0–10 cm) para analizar la concentración de amonio ( $NH_4^+$ ) y nitrato ( $NO_3^-$ ) del suelo a través del tiempo. Las muestras fueron secadas al aire por 48 h, maceradas y tamizadas en malla de 2 mm para su análisis. Se realizó una extracción mineral de N del suelo agitando 5 g de suelo con 50 mL de KCl 2M, seguido de agitación por 30 min a 200 rpm y filtrado en papel

Whatman No. 2. Posteriormente la determinación de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  se realizó por métodos estandarizados de colorimetría descritos en Borrero Tamayo et al. (2017) en el laboratorio de nutrición y fisiología de plantas de la Alianza Bioversity–CIAT.

El espacio poroso lleno de agua (WFPS, water-filled pore space) es un parámetro indicador de diferentes procesos biológicos como la nitrificación y desnitrificación, ya que estos son altamente dependientes de condiciones aeróbicas y anaeróbicas respectivamente. El WFPS de cada cámara se calculó para cada día de medición empleando la siguiente fórmula:

$$WFPS (\%) = \frac{\theta_v}{P_t} \times 100 \quad (2)$$

Donde:

*WFPS: Espacio poroso lleno de agua*

*$\theta_v$ : Humedad volumétrica de suelo*

*$P_t$ : Porosidad total (Den. Aparente/Den. Real)*

Paralelamente con las mediciones de plantas y suelos, se realizó el monitoreo de temperatura y precipitación diaria con los datos proporcionados por la estación meteorológica del campus de la Alianza Bioversity–CIAT.

## 4.6 Análisis estadístico

Para cada variable del set de datos final se verificaron los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia y se evaluaron las diferencias entre los tratamientos a través de análisis de varianza en el lenguaje estadístico R. Para la elaboración del modelo estadístico se consideraron como factores fijos la especie de gramínea acompañante (Cayman o Toledo), el tipo de pastura (monocultivo o silvopastoril), y como factor aleatorio el bloque. El nivel de significancia para considerar diferencias estadísticas en los análisis se consideró como 0,05. Las emisiones acumuladas de  $\text{N}_2\text{O}$  se calcularon a partir de interpolación lineal durante el tiempo de muestreo.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1 Caracterización de suelo en el área de estudio

La textura determinada en los suelos de todos los tratamientos fue clasificada como arcillo limosa (AL), con contenidos de arcilla y limo entre 40–44% y de 12–19% de arena (Tabla 1).

**Tabla 1:** Textura de suelo de los diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. Resultados de una muestra compuesta para cada tratamiento.

Tratamiento	Arena	Limo	Arcilla	Clasificación
	(%)			
T1: Cayman	16,3	43,2	40,4	Arcillo limoso
T2: Toledo	12,6	43,2	44,2	
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	19,0	40,6	40,4	
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	13,3	44,4	42,3	

La densidad aparente de los tratamientos del pasto Toledo fue de 1,34 g cm<sup>-3</sup> en monocultivo y 1,4 g cm<sup>-3</sup> en el silvopastoril. En los tratamientos del pasto Cayman ésta fue de 1,5 g cm<sup>-3</sup> en monocultivo y 1,44 g cm<sup>-3</sup> en el silvopastoril. La porosidad del suelo en los tratamientos de pasto Cayman fue de 41%, y de 44–46% en los del pasto Toledo. En los tratamientos con pasto Toledo la densidad aparente del suelo tendió a ser levemente más baja con respecto a los tratamientos de pasto Cayman, lo cual estuvo también acompañado por una mayor porosidad total y mayor relación de macroporos (Tabla 2).

Para suelos arcillo-limosos como los del presente estudio se considera que una densidad aparente a partir de 1,49 g cm<sup>-3</sup> podría afectar el crecimiento de raíces (Arshad et al., 2015; USDA, 1999). Los suelos de los tratamientos con pasto Cayman presentaron densidades de hasta 1,5 g cm<sup>-3</sup>. Este resultado es congruente con los hallazgos de Vazquez et al. (2020), quienes reportaron valores de densidad aparente de 1,55 g cm<sup>-3</sup> en pasturas de

Cayman en monocultivo y 1,46–1,51 g cm<sup>-3</sup> en pasturas de Cayman con *L. diversifolia* en experimentos previos en el mismo ensayo de campo.

En términos generales, la porosidad del suelo en todos los tratamientos fue baja (41–46%). Aún así, la mayor limitación física para los suelos evaluados se encuentra en la distribución de la porosidad, donde hay una baja proporción de macroporos (2–13%) y mesoporos (11–15%), y una muy alta proporción de microporos (71–85%). Con estas características, estos suelos pueden llegar a presentar mayores problemas de drenaje y aireación y alta retención de agua en los microporos, también aumentando la posibilidad de compactación. Adicionalmente, puede haber pudrición de las raíces existentes o restricción en la proliferación de raíces nuevas, lo cual repercute en un menor volumen de suelo explorado y también menor posibilidad de encontrar agua y nutrientes, reduciendo la productividad. Una posible explicación a estas características del suelo podría deberse al constante pisoteo de bovinos, considerando que en los últimos 10 años el área ha sido empleada para investigación con ganado.

**Tabla 2:** Densidad aparente, porosidad total y distribución de poros en suelo de diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. Los resultados representan la media y desviación estándar entre paréntesis de 6 muestras en T1 y T2, y 12 muestras en T3 y T4.

Tratamiento	Densidad aparente	Porosidad total	Macroporos <sup>1</sup>	Mesoporos <sup>1</sup>	Microporos <sup>1</sup>
	(g cm <sup>-3</sup> )	(%)			
T1: Cayman	1,50 (0,06)	41 (1)	2 (1)	11 (3)	85 (5)
T2: Toledo	1,34 (0,14)	46 (7)	9 (9)	13 (3)	76 (11)
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	1,44 (0,08)	41 (3)	9 (7)	15 (2)	74 (8)
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	1,40 (0,12)	44 (5)	13 (12)	14 (3)	71 (13)

<sup>1</sup>Considerando la porosidad total como el 100%

Los suelos del área de estudio presentaron pH cercano a neutralidad (6.5–7.3), contenido de materia orgánica medio a alto (>4%), baja a media capacidad de intercambio catiónico (CIC, 16.9–19.1 cmol kg<sup>-1</sup>), alto contenido de fósforo (P) disponible (13.8–47.4 mg kg<sup>-1</sup>) y potasio (K, 0.69–0.99 cmol kg<sup>-1</sup>) (Tabla 3). Los valores de materia orgánica de este estudio fueron congruentes con los de Vazquez et al. (2020) para la misma área de estudio con pasturas de Cayman en monocultivo y Cayman con *L. diversifolia* de 4,5–4,9%. Estas

condiciones confirman que el suelo en estudio es de alta fertilidad y no tiene limitaciones productivas desde el punto de vista de los nutrientes.

**Tabla 3:** Disponibilidad de elementos mayores en suelo de diferentes tratamientos del ensayo silvopastoril. C Oxid: Carbono oxidable; MO: Materia orgánica; CIC: Capacidad de intercambio catiónico. Resultados de una muestra compuesta para cada tratamiento.

Tratamiento	pH	MO	C Oxid	P-Brayll	K	CIC
		(g kg <sup>-1</sup> )	(g kg <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	(cmol kg <sup>-1</sup> )	(cmol kg <sup>-1</sup> )
T1: Cayman	6,7	44,4	19,1	32,4	0,69	16,9
T2: Toledo	7,1	48,9	21,0	47,4	0,70	19,1
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	6,5	41,5	17,9	13,8	0,99	17,6
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	7,3	46,0	19,8	35,3	0,99	17,5

## 5.2 Producción de biomasa y calidad de forraje

### 5.2.1 Rendimiento de materia seca

En las cuatro evaluaciones de forraje realizadas durante el experimento se registraron precipitaciones acumuladas de 102, 96, 81 y 191 mm respectivamente (fechas de cada periodo indicadas en la sección 5.3). La producción de materia seca (MS) por m<sup>2</sup> promedio por cada corte fue significativamente mayor en los tratamientos de asociación gramínea–leguminosa (T3 y T4) en las áreas con arbustos de *L. diversifolia* (BL), seguido de las áreas entre arbustos de *L. diversifolia* (EL) en los mismos tratamientos, y por último los tratamientos de gramínea sola Cayman y Toledo (T1 y T2) (Figura 5).

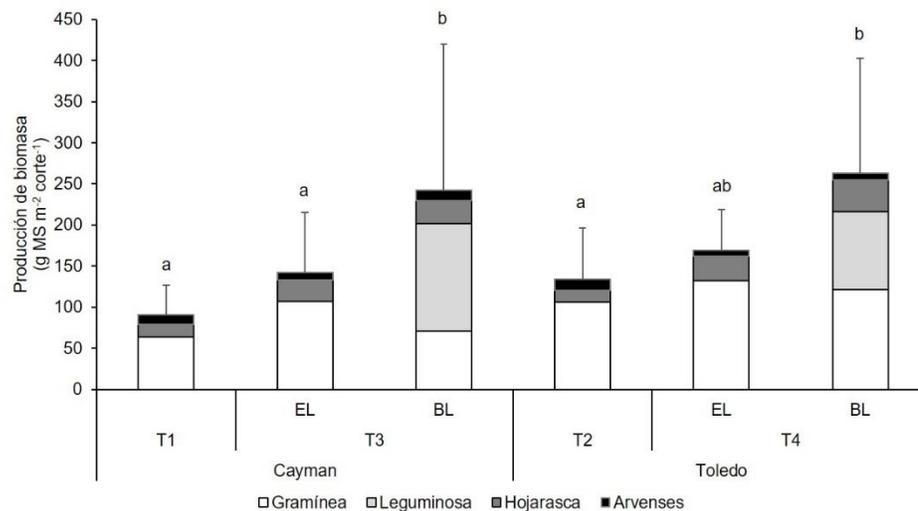
En las pasturas basadas en pasto Cayman, la gramínea sola (T1) produjo 91 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup>, evidenciando un aumento del 56% en el T3 EL con 142 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup> y de 165% en el T3 BL con 242 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup>. Por otra parte, en las pasturas basadas en pasto Toledo, la gramínea sola (T2) produjo 133 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup>, evidenciando un aumento del 27% en el T4 EL con 169 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup> y de 96% en el T4 BL con 263 g MS m<sup>-2</sup> corte<sup>-1</sup>. Sólo la producción de las áreas BL de T3 y T4 fue significativamente diferente de la de los demás tratamientos.

En los tratamientos de parcelas con *L. diversifolia* se evidenció mayor producción de MS con respecto a las gramíneas solas. En las áreas EL ese incremento se produjo estuvo definido por el aumento en la producción de la gramínea, el cual fue de 67% en Cayman

(T3 EL) y de 24% en Toledo (T4 EL). Por otro lado, a pesar de que la producción de MS en las áreas BL fue similar en T3 y T4, se identificaron diferencias en la proporción de gramínea/leguminosa en cada tratamiento. En T3 BL se observó una importante reducción en la producción de gramínea con respecto a la del área EL, sin embargo, esto estuvo acompañado de una alta producción de biomasa de la leguminosa. Por el contrario, en T4 BL la producción de biomasa de la gramínea fue muy similar a la del área EL, pero la producción de biomasa de la leguminosa fue menor que en Cayman T3.

En las pasturas de Toledo, en el T4 tanto en áreas EL como BL la biomasa de arvenses (especies indeseables) se redujo en un 44% con respecto al T2. Por otra parte, en pasturas T3 de Cayman se observó una reducción del 22% con respecto al T1 sólo en las áreas EL. En el área BL del T3 la menor producción de biomasa de la gramínea dejando mayor área descubierta disponible para el crecimiento de arvenses podría explicar el no haber observado el mismo efecto que en la pastura T4 de Toledo. La producción de hojarasca encontrada en los tratamientos con *L. diversifolia* fue entre 70–158% mayor a la encontrada en las pasturas de gramínea sola. Las arvenses más comunes en el área de estudio fueron individuos de *Macroptilium* sp., *Dichanthium aristatum* (pasto angleton), *Pennisetum alopecuroides* (cola de zorro), y *Rottboellia* sp. (caminadora).

**Figura 5:** Producción de biomasa de diferentes fracciones botánicas en tratamientos de pasturas. T1: Cayman, T2: Toledo, T3: Cayman + *L. diversifolia*, T4: Toledo + *L. diversifolia*. EL: área entre surcos de *L. diversifolia*; BL: área bajo arbustos de *L. diversifolia*; MS: materia seca. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).



---

Al considerar solamente las fracciones de especies forrajeras (gramíneas y leguminosa) de cada tratamiento la producción de forraje anual por ha se estimó en 4,1 t MS para el T1, 7,1 t MS para el T2, 7,2 t MS para el T3, y 8,3 t MS para el T4.

Diferentes estudios en pasturas tropicales han reportado el aumento de la producción de biomasa con la incorporación de leguminosas en las pasturas. D. M. Villegas et al. (2020) encontraron un aumento del 74% en la producción de forraje con la asociación de gramíneas *Urochloa* sp. y las leguminosas herbáceas *Pueraria phaseoloides* y *Arachis pintoi* en la región amazónica de Colombia.

En el Valle del Cauca, Colombia tras la implementación de un sistema silvopastoril con *L. leucocephala* se reportó un aumento del 17% en la producción de MS en comparación con pasturas de gramíneas solas fertilizadas, sugiriendo que a pesar de que la leguminosa representó sólo el 20% de la MS total este aumento se fundamentó en su contribución al balance de N del sistema (Rivera et al., 2019). Las pasturas de gramíneas asociadas con *Leucaena* sp. se han considerado como la opción de alimentación bovina más productiva, rentable y sostenible del norte de Australia (Shelton & Dalzell, 2007).

El aumento en la producción de forraje con la inclusión de leguminosas arbóreas en las pasturas puede atribuirse a dos factores principales. Primero, mayor captura de luz solar por la presencia de un estrato aéreo del componente arbustivo acompañado de sistemas radicales profundos que permiten absorber nutrientes y agua de forma más eficiente (Rivera et al., 2019). En segundo lugar, por la capacidad de las leguminosas de fijar N atmosférico y transferirlo a las gramíneas aumentando la cosecha de N por unidad de área.

De la mano con el aumento de la producción de forraje disponible se han reportado aumentos significativos en la producción animal en pasturas asociadas con leguminosas en comparación con gramíneas en monocultivo. La revisión de 11 estudios en ganadería de carne y 5 de leche demostró que la producción de ambos productos se incrementó en promedio un 21% (I. M. Rao et al., 2015; Schultze-Kraft et al., 2018). De forma similar, en el estudio de Sarabia-Salgado et al. (2020) encontraron un aumento de 4,7 a 7,4 kg de leche por vaca por día comparando un monocultivo *M. maximus* con un sistema silvopastoril de *M. maximus* + *L. leucocephala* contando con un 30% de representación de la leguminosa en la dieta.

Enciso et al. (2019) evaluaron la rentabilidad de la inclusión de *L. diversifolia* en asocio con *Urochloa* híbrido cv. Cayman en un sistema de producción de ganado de carne para el Valle del Cauca, Colombia. Los resultados de la evaluación indicaron que los índices de rentabilidad mejoraron del 15% al 110% y la probabilidad de obtener pérdidas pasó del 72% al 0%, debido al incremento en la productividad animal lograda con estas pasturas.

Los valores de producción de forraje reportados en el presente estudio son comparativamente menores a los encontrados en otros estudios. En sistemas silvopastoriles intensivos basados en *Leucaena* sp. la oferta de forraje puede ser superior a 16 t MS ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (Rivera-Herrera et al., 2017). No obstante, las diferencias en aspectos de manejo (densidad de arbustos plantados, tiempo de recuperación) y especies presentes dificultan realizar comparaciones directas. Los sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena* sp. reportados en la literatura generalmente se refieren a pasturas con gramíneas de mayor calidad que *Urochloa* sp., por ejemplo, *Megathyrsus maximus*, *Cynodon nlemfuensis*, entre otras, las cuales son asociadas con arbustos sembrados a una densidad de 4.000 a 10.000 plantas por ha o más y pastoreados en ciclos más cortos de 45 días. Por el contrario, el sistema evaluado en este estudio contaba con una densidad de 2.000 arbustos/ha y cortados cada 55 días, como una medida para maximizar el rendimiento y cosecha de N por parte de la leguminosa aún a expensas de la gramínea.

Un factor importante que podría explicar la baja producción de biomasa en todo el ensayo es la baja precipitación observada cuando se esperaba época lluviosa en el segundo semestre de 2021. En el presente estudio se realizaron cuatro evaluaciones entre los meses de julio de 2021 y abril de 2022, diseñadas con el fin de capturar dos épocas lluviosas y dos secas. No obstante, las precipitaciones observadas por cada periodo de 55 días fueron de 81–102 mm en tres evaluaciones, y 191 mm en la última evaluación. Debido a que en el mes de octubre de 2021 la precipitación registrada fue menor a la mitad del promedio de los últimos diez años (59 mm observados vs 130 mm históricos), los datos de producción observados responderían al comportamiento de un año predominantemente seco.

### 5.2.2 Fijación biológica de N

**NOTA:** Debido a la pandemia de COVID-19 el laboratorio al que se enviaron las muestras para análisis isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en la Universidad de California (UC Davis) debió

suspender actividades ocasionando un represamiento de muestras por analizar provenientes de todo el mundo, manifestando un retraso de más de 6 meses para analizar las muestras. A la fecha de entrega de la presente tesis aún no se han entregado los resultados por parte de UC Davis. No obstante, en aras de cumplir con los objetivos de la presente tesis, se usaron datos de muestras recolectadas por el mismo autor en el año 2019 en el mismo ensayo de campo y siguiendo un diseño experimental similar. La única diferencia radica en que en aquella ocasión no se analizaron áreas entre surcos de *L. diversifolia* en los tratamientos T3 y T4, sólo en al área bajo los arbustos.

La huella isotópica  $\delta^{15}\text{N}$  de la leguminosa *L. diversifolia* fue similar en los tratamientos independiente de la gramínea acompañante, siendo  $-0,71\text{‰}$  en el tratamiento con Cayman (T3) y  $-1,04\text{‰}$  en el tratamiento con Toledo (T4) (Figura 6). El porcentaje de N derivado de la atmósfera (%N<sub>dla</sub>) en *L. diversifolia* fue cercano al 90% en ambas asociaciones. Este valor fue similar a otros encontrados en estudios previos para *Leucaena* sp. en rangos de 73–95% (Conrad et al., 2018; Jayasundara et al., 1997; Sarabia-Salgado et al., 2020).

Algunos de los factores que más pueden influir en la FBN son la salinidad del suelo, la humedad, la temperatura y acidez, así como la disponibilidad de ciertos elementos químicos como el P, Ca, Mo, Fe, entre otros. Los suelos estudiados presentan características ideales para favorecer una alta FBN. A pesar de que en el área cercana sí existen suelos con problemas de salinidad, y considerando que previo al ensayo de campo éste se encontraba con cultivo de caña bajo manejo convencional con alta aplicación de fertilizantes, actualmente el suelo no presenta problemas de salinidad o sodicidad. Adicionalmente, el suelo evaluado presenta un pH cercano a la neutralidad, temperatura media de 24°C y una alta concentración de P. A pesar que debido a la baja macroporosidad se estima que este suelo pueda presentar problemas de aireación y drenaje, parece que esto no ha sido un limitante para la eficiencia en la fijación de N.

La huella isotópica  $\delta^{15}\text{N}$  de las gramíneas fue similar en todos los tratamientos a excepción de Cayman en monocultivo, el cual tuvo una huella isotópica baja de  $-2,1\text{‰}$ , significativamente menor que la de Cayman en asociación con *L. diversifolia* ( $4,9\text{‰}$ ), Toledo en monocultivo ( $3,4\text{‰}$ ) y Toledo con *L. diversifolia* ( $3,9\text{‰}$ ). La ausencia de diferencias estadísticas en las huellas isotópicas de las gramíneas Toledo en monocultivo y silvopastoril indica que no hay evidencia de transferencia directa del N fijado por la leguminosa a la gramínea.

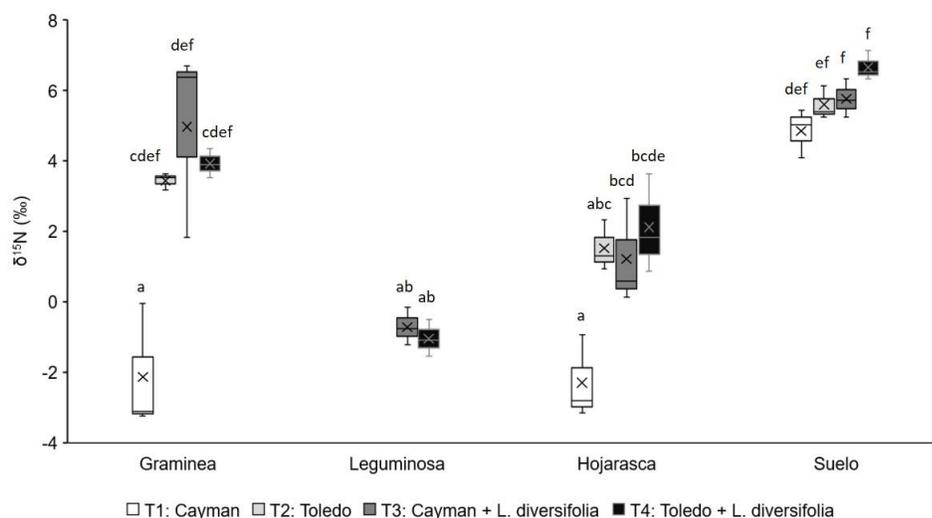
Las huellas  $\delta^{15}\text{N}$  de la hojarasca y el suelo tuvieron un comportamiento similar, sin diferencias entre los tratamientos a excepción del Cayman en monocultivo (T1) que tuvo valores más bajos que el resto de los tratamientos, lo cual evidencia que el principal aporte a la hojarasca y al N del suelo proviene de los residuos de la gramínea.

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  encontrados en el presente estudio se ubican dentro de los rangos reportados en la literatura (Unkovich et al., 2008), donde valores de  $\delta^{15}\text{N}$  cercanos a 0‰ en las leguminosas indican que son fuertemente dependientes del  $\text{N}_2$  atmosférico. Valores en suelo superiores a 4‰ indican la toma de N mineral, el cual ha sido enriquecido naturalmente con  $^{15}\text{N}$  por procesos de mineralización y nitrificación en el suelo. Los valores  $\delta^{15}\text{N}$  en las gramíneas generalmente se ubican entre 3–5‰, lo cual se cumple para las gramíneas evaluadas en el estudio a excepción del pasto Cayman en monocultivo.

Según Karwat et al. (2018), los bajos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en pastos de *Urochloa* podrían deberse a menores pérdidas de reducidas pérdidas de N gracias al proceso de inhibición biológica de la nitrificación (IBN), tras observar una correlación directa entre el  $\delta^{15}\text{N}$  encontrado en tejido foliar y la lixiviación de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo. Alternativamente, D. M. Villegas et al. (2020) propusieron que valores bajos de  $\delta^{15}\text{N}$  podrían también deberse a procesos de fijación biológica de N de forma asociativa con bacterias de vida libre en el suelo, lo cual se ha observado ya en otras gramíneas tropicales de los géneros *Urochloa* y *Megathyrsus*.

**Figura 6:** Huella isotópica  $\delta^{15}\text{N}$  de diferentes fracciones botánicas y suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo.

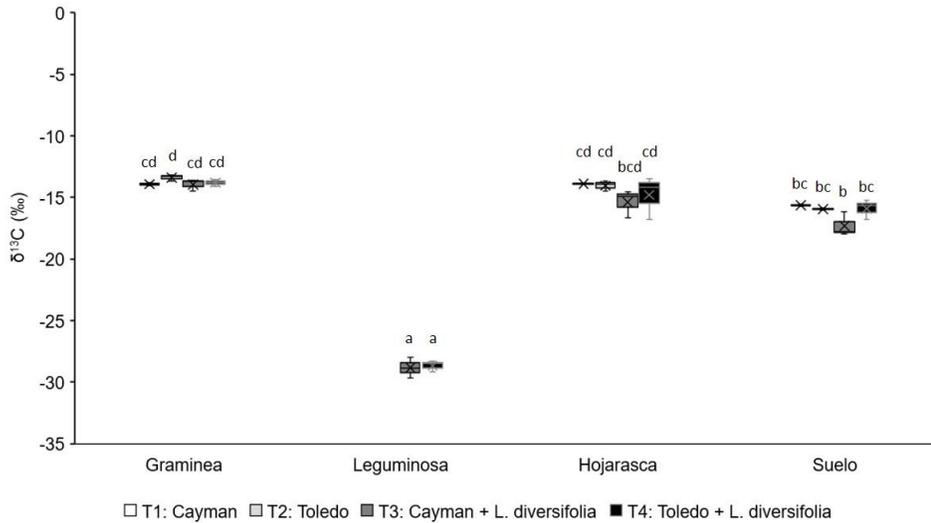
Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).



La huella isotópica  $\delta^{13}\text{C}$  de las muestras analizadas permiten diferenciar entre los aportes de plantas C3 (leguminosas) y C4 (gramíneas), debido a que durante el proceso de fotosíntesis ocurre un fraccionamiento del C utilizado. Por esta razón las plantas C3 suelen tener una composición de  $\delta^{13}\text{C}$  entre  $-20$  y  $-35\%$  y las C4 entre  $-15$  y  $-19\%$ . La huella isotópica  $\delta^{13}\text{C}$  no fue estadísticamente diferente entre muestras de tratamientos diferentes (Figura 7). Particularmente, en el caso de las gramíneas, todas tuvieron valores  $\delta^{13}\text{C}$  alrededor de  $-13\%$ , lo cual permite concluir que efectivamente corresponden a plantas C4 y se descarta que las muestras analizadas de pasto Cayman en monocultivo correspondan a una contaminación con muestra de leguminosas debido a su bajo  $\delta^{15}\text{N}$ . El  $\delta^{13}\text{C}$  tanto las muestras de hojarasca y suelo fue ligeramente menor en los tratamientos con *L. diversifolia*, como consecuencia del aporte de la leguminosa a los residuos vegetales y al C orgánico del suelo.

**Figura 7:** Huella isotópica  $\delta^{13}\text{C}$  de diferentes fracciones botánicas y suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo.

Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).



La relación C/N de la hojarasca de los tratamientos evaluados fue significativamente diferente sólo en el caso del pasto Cayman, la cual pasó de 14,2 en el tratamiento en monocultivo (T1) a 6,3 en el silvopastoril (T3) (Tabla 4). De acuerdo con Robertson and Groffman (2015), a menor relación C/N mayor será la tendencia a favorecer procesos de mineralización sobre la inmovilización microbiana. La hojarasca de los tratamientos basados en pasto Toledo fue de 6,3–7,7 sin diferencias entre monocultivo y silvopastoril. Dadas las condiciones climáticas del área de estudio donde la temperatura media es de 24°C, no hay limitaciones de humedad, y el pH es cercano a la neutralidad éstas se considerarían condiciones ideales para la mineralización del N (Monsalve et al., 2017).

**Tabla 4.** Relación C/N de la hojarasca de diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman y Toledo. Letras diferentes sobre barras representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).

Tratamiento	C/N
T1: Cayman	14,2 (0,9) b
T2: Toledo	6,3 (0,7) a
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	4,8 (1,4) a
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	7,7 (2,1) a

### 5.2.3 Contenido de N en forraje

El contenido de N cuantificado en el tejido foliar de las gramíneas estuvo en el rango de 14–22 g N kg MS<sup>-1</sup>, y de 42 g N kg MS<sup>-1</sup> para las leguminosas (*L. diversifolia*) (Tabla 5). Entre los tratamientos de gramíneas en monocultivo (T1 y T2) no se detectaron diferencias estadísticas. No obstante, las gramíneas en los tratamientos T3 y T4 presentaron una concentración de N significativamente más alta, evidenciando un aumento del orden del 50%, lo cual se vio reflejado igualmente en el parámetro de PC.

**Tabla 5:** Contenido de nitrógeno (N), proteína cruda (PC), y absorción de N en gramíneas y leguminosas en diferentes tratamientos de pasturas. EL: área entre surcos de *L. diversifolia*; BL: área bajo arbustos de *L. diversifolia*. Los valores indicados son promedio de dos cortes de evaluación de 55 días. Letras diferentes en una misma columna representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).

Tratamiento	Área	Contenido de N (g kg MS <sup>-1</sup> )		PC (%)		N absorbido (kg N ha <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup> )		
		Gramínea	Leguminosa	Gramínea	Leguminosa	Gramínea	Leguminosa	Total
T1: Cayman	-	14,1 (2,7) a	-	8,8 (1,7) a	-	88,8 a	-	88,8 a
T2: Toledo	-	15,4 (3,2) ab	-	9,6 (2,0) ab	-	165,8 b	-	165,8 b
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	EL	20,9 (3,0) c	-	13,0 (1,9) c	-	220,4 c	-	272,4 c
	BL	22,6 (3,9) c	42,6 (9,4) A	14,1 (2,4) c	26,6 (5,8) A	155,4 b	78,0	
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	EL	15,5 (2,5) ab	-	9,7 (1,6) ab	-	164,9 b	-	247,1 c
	BL	19,2 (3,0) bc	42,3 (7,1) A	12,0 (1,9) bc	26,4 (4,4) A	237,7 c	59,1	

El aumento en la concentración de N de gramíneas por efecto de la inclusión de leguminosas en las pasturas se ha documentado en estudios como el de Cantarutti et al. (2002), donde observaron que la incorporación de *Desmodium ovalifolium* en pasturas de *U. humidicola* incrementó de 8,8 a 11,2 g N kg MS<sup>-1</sup> el contenido de N de la gramínea. De forma similar Chará et al. (2019) recopilaron estudios que evidencian un aumento sustancial en el contenido de PC de la dieta para ganado en pastoreo en un sistema silvopastoril intensivo con *Cynodon plectostachyus* y *L. leucocephala*, donde la PC de la dieta se incrementa de 10,8% a 13,9–15,7% en comparación con un control de solo *C. plectostachyus*.

La integración de componentes fijadores y no-fijadores de N como el caso de las asociaciones gramínea–leguminosa pueden obtener más N explotando diferentes fuentes tanto simbióticas, como no simbióticas de N incluso que en cultivos de leguminosas solas (Nyfeler et al., 2011). Las gramíneas se pueden beneficiar directamente por la transferencia de N fijado de la leguminosa, o indirectamente por menor competencia por el N mineral del suelo (Jalonen et al., 2009; Kemen et al., 2018; Munroe & Isaac, 2014; Rao & Giller, 1993).

Los mecanismos de transferencia de N de leguminosa a gramínea más descritos incluyen la indirecta, por medio de descomposición de órganos de la leguminosa, y la transferencia directa de raíz a raíz, a través de exudados radicales o redes comunes de micorrizas (Munroe & Isaac, 2014). Dado que las huellas  $\delta^{15}\text{N}$  de las gramíneas en silvopastoril no fueron menores a las observadas en los tratamientos en monocultivo, se infiere que el mecanismo de transferencia que podría actuar para incrementar el contenido de N en las plantas en el tratamiento silvopastoril serían los indirectos, es decir, por descomposición de la biomasa de la leguminosa incluyendo hojas, raíces secundarias y nódulos, que al mineralizarse podrían ser aprovechados por las gramíneas circundantes.

Estos mecanismos contribuyen a explicar el incremento en el N absorbido por unidad de área de los tratamientos con *L. diversifolia*, en comparación con los tratamientos de gramínea sola. El aumento en el N absorbido por los tratamientos T3 y T4 representó una adición de 183 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> y 82 kg N ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> a las pasturas. Considerando el contenido de N de un fertilizante como la Urea comercial alrededor del 46% y que la eficiencia agronómica de uso de N de estos fertilizantes es de alrededor del 50%, el N proporcionado por los arbustos de *L. diversifolia* a las pasturas sería equivalente a aplicar

815 kg de Urea comercial por ha al año para en el pasto Cayman y 361 kg en el pasto Toledo.

#### **5.2.4 Interceptación de luz por arbustos de *L. diversifolia***

En los tratamientos con leguminosas (T3 y T4) el follaje de *L. diversifolia* interceptó alrededor de  $1.116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en las áreas EL entre arbustos y  $1.754 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en las áreas BL bajo los arbustos de *L. diversifolia*, lo cual representó una reducción de entre el 53–83% de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) con respecto a las gramíneas en monocultivo.

La reducción en la RFA podría contribuir a explicar la disminución en la producción de biomasa de gramínea en las áreas BL con respecto a las EL en tratamientos T3 y T4. De acuerdo con Boddey et al. (2020) la reducción en la intensidad de luz para el componente herbáceo de sistemas silvopastoriles puede afectar aspectos morfológicos y fisiológicos importantes para la productividad y calidad de forrajes. Esto se evidencia en el estudio de Galindo et al. (2011) donde en sistemas silvopastoriles de *C. plectostachyus* con *L. leucocephala* se registró una reducción del 47% de la RFA con arbustos podados a altura de 1–2 m.

En el presente ensayo de campo el 25% de los arbustos de *L. diversifolia* en los tratamientos silvopastoriles se dejaron crecer a alturas de hasta 20 m para proveer sombra. De acuerdo a las mediciones realizadas éstos arbustos redujeron aproximadamente el 53% de la RFA en las parcelas, lo cual además de afectar a las gramíneas, también podría haber afectado a las leguminosas que se dejaron a baja altura para ramoneo. Es bien sabido que si las leguminosas son mantenidas por largos periodos de tiempo a condiciones de poca luz, las tasas de fijación de N pueden decrecer debido a la disminución de fotosintatos disponibles para traslocar a las raíces y alimentar los bacteroides fijadores (Cooper & Scherer, 2012). No obstante, es de resaltar que aunque la RFA haya disminuido en un 53% con la presencia de las leguminosas de sombra, las leguminosas de ramoneo hayan presentado una alta capacidad de fijación, cercana al 90%.

## 5.3 Emisiones de óxido nitroso

### 5.3.1 Flujos diarios y emisiones acumuladas

En las cámaras donde se aplicó agua en lugar de orina, independiente del tipo de pastura donde se encontraban presentaron emisiones de N<sub>2</sub>O bajas (Figura 8), del orden de -0,12 a 6,9 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> en los tratamientos basados en pasto Cayman y -0,2 a 4 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup> día<sup>-1</sup> en Toledo, lo cual confirma que su uso como control experimental fue adecuado.

En las cámaras donde se aplicó orina las emisiones de N<sub>2</sub>O fluctuaron durante los 52 días de medición, observando un periodo de altas emisiones durante los primeros 16 días, punto a partir del cual las emisiones disminuyeron a niveles similares a los basales con excepción de un pequeño pico cerca del día 32. Los puntos de mayores emisiones tanto en las pasturas de Cayman como de Toledo fueron observados entre el segundo y cuarto día de mediciones (Figura 8 A y B).

Las emisiones acumuladas durante los 52 días de medición fueron más altas en las áreas EL de los tratamientos de gramínea–leguminosa (T3 y T4) con respecto a las áreas BL y las gramíneas solas (T1 y T2). Adicionalmente, de forma general las emisiones de N<sub>2</sub>O fueron más altas en las pasturas en Toledo en comparación con las pasturas de Cayman entre un 12–34% (Figura 8 C y D).

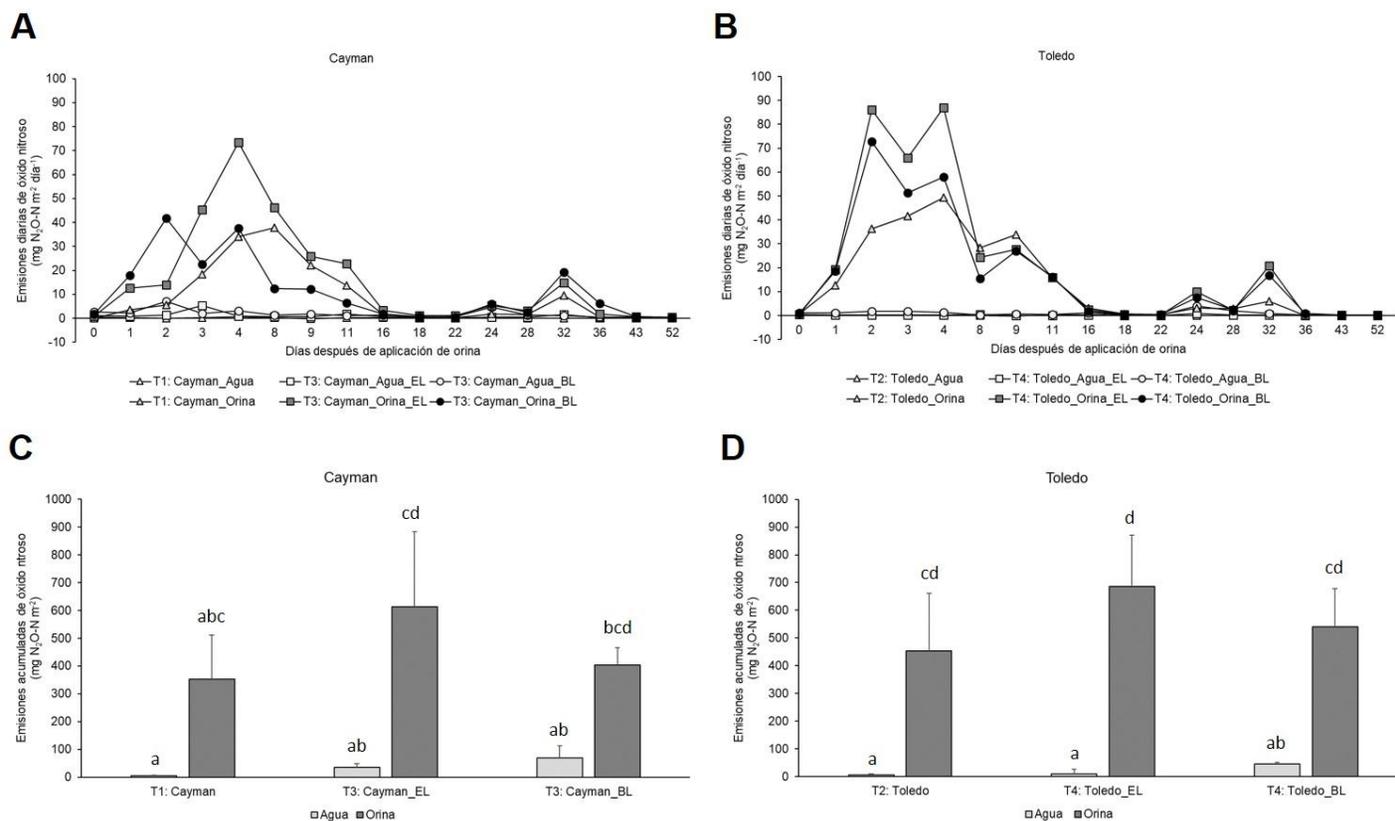
En pasto Cayman las emisiones de N<sub>2</sub>O más altas se observaron en las áreas ubicadas entre los surcos de *L. diversifolia*, con 613 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>, seguido de las áreas bajo arbustos de *L. diversifolia*, con 404 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>, siendo éstas entre 15 y 74% más altas que las emisiones de la gramínea sola, con 352 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>.

En pasto Toledo las emisiones de N<sub>2</sub>O en las áreas ubicadas entre los surcos de *L. diversifolia* fueron de 685 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>, seguido de las áreas bajo arbustos de *L. diversifolia*, con 540 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>, siendo éstas entre 19 y 51% más altas que las emisiones de la gramínea sola, con 453 mg N<sub>2</sub>O-N m<sup>-2</sup>.

En las pasturas tropicales, las emisiones de N<sub>2</sub>O pueden originarse tanto de fuentes orgánicas como inorgánicas de N, como pueden ser los fertilizantes, las excretas animales, o los residuos de plantas (Boddey et al., 2020). En las pasturas mixtas, la presencia de leguminosas puede aumentar el reciclaje de N a través de los residuos vegetales,

aumentando las emisiones de  $N_2O$  por mineralización (Boddey et al., 2020). De hecho, evaluaciones realizadas por Cantarutti et al. (2002) en pasturas de *Urochloa humidicola* sola y asociada con *Desmodium ovalifolium* en Brasil estimaron que la presencia de la leguminosa podría depositar hasta 80 kg adicionales de N anualmente en los residuos vegetales, lo cual conllevó también a mayores niveles de mineralización y nitrificación.

**Figura 8:** Emisiones diarias de óxido nítrico en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman (A) y Toledo (B) durante 52 días. Emisiones acumuladas de óxido nítrico durante 52 días de muestreo en tratamientos basados en pasto Cayman (C) y Toledo (D). EL: cámaras entre surcos de *L. diversifolia*; BL: cámaras bajo arbustos de *L. diversifolia*. Letras diferentes sobre barras de figuras C y D representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).



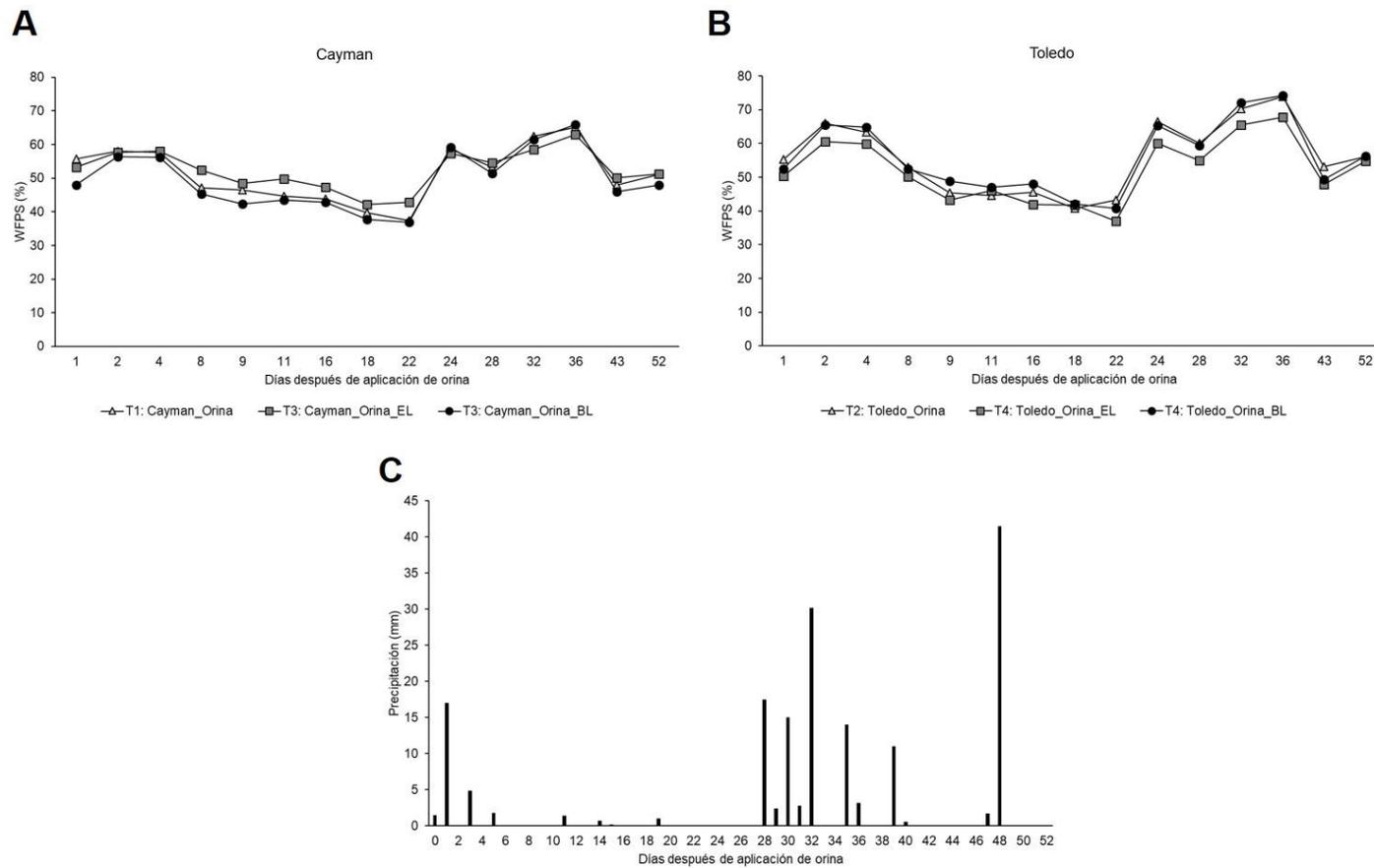
### **5.3.2 Factores físicos que afectan las emisiones**

El espacio poroso lleno de agua (WFPS) en los suelos de las pasturas fluctuó durante los 52 días en un patrón similar al de la precipitación en el área de estudio (Figura 9). La lámina de agua total registrada por precipitación durante el periodo de muestreo fue aproximadamente 168 mm. La humedad a capacidad de campo del suelo fue en promedio 38% v/v. La humedad del suelo durante el periodo de 52 días de medición de emisiones de N<sub>2</sub>O fluctuó entre el 59–100% de la capacidad de campo, con media de 79%.

A pesar de que no se detectó un patrón diferente en el comportamiento del WFPS entre pasturas de gramínea sola y gramíneas asociadas, éste parámetro fue ligeramente mayor en los suelos de pasturas de Toledo con respecto a los de Cayman. Una posible explicación a este comportamiento podría verse en las diferencias en algunos parámetros físicos del suelo entre las pasturas. La densidad aparente de los tratamientos en pasturas de Toledo fue menor que en la de Cayman, lo cual se vio reflejado también en mayor porosidad total y mayor relación de macroporos en los suelos de Toledo (Tabla 2), permitiendo mayor flujo de agua y oxígeno.

El WFPS es un indicador de las condiciones ideales para diferentes procesos microbiológicos del suelo como la nitrificación y la desnitrificación (Robertson & Groffman, 2015). La nitrificación tiene su mayor actividad con valores de WFPS cercanos al 60% en condiciones aeróbicas, mientras que la desnitrificación tiene su mayor actividad cerca del 90%. El WFPS del suelo más alto en las pasturas de Toledo podrían contribuir a explicar las mayores emisiones de N<sub>2</sub>O en esta pastura con respecto a las registradas en pasto Cayman.

**Figura 9:** Espacio poroso lleno de agua (*water-filled pore space*, WFPS) en el suelo en tratamientos de pasto Cayman (A) y Toledo (B), y precipitación registrada (C) durante el periodo de medición de 52 días. EL: cámaras entre surcos de *L. diversifolia*; BL: cámaras bajo arbustos de *L. diversifolia*. Datos faltantes del día 22 al 27 en figura 9C.



### 5.3.3 N mineral del suelo

En las pasturas tanto de Cayman como de Toledo se observó una tendencia de mayores niveles de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo y menores niveles de  $\text{NO}_3^-$  en los tratamientos de gramínea sola (T1 y T2) en comparación con las asociaciones (T3 y T4) (Figura 10).

A partir de la aplicación de la orina la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo fue alta, entre 161 y 224 mg  $\text{NH}_4^+\text{-N g suelo}^{-1}$  en pasturas de Cayman y de 97 a 218 mg  $\text{NH}_4^+\text{-N g suelo}^{-1}$  en Toledo. A partir de allí la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo fue disminuyendo paulatinamente hasta estabilizarse a niveles bajos cerca de 39–54 mg  $\text{NH}_4^+\text{-N g suelo}^{-1}$  a los 11 días en las pasturas de Cayman y de 16–31 mg  $\text{NH}_4^+\text{-N g suelo}^{-1}$  en las pasturas de Toledo a los 16 días después de aplicar la orina. Estos bajos niveles de  $\text{NH}_4^+$  se mantuvieron hasta el día 36 de medición, posteriormente en el día 43 se observó un pico alto de concentración de  $\text{NH}_4^+$  en el suelo tanto en pasturas de Cayman como de Toledo. Este pico podría deberse a la precipitación durante los días previos. Entre los días 28 y 42 de medición posteriores a la aplicación de orina el ensayo recibió alrededor de 97 mm de lámina de agua proveniente de la lluvia. Adeniyi (2006) recopiló registros de depósito de entre 6,4–12,4 kg N  $\text{ha}^{-1}$   $\text{año}^{-1}$  en sabanas africanas, donde al menos dos terceras partes correspondían a  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ .

La concentración de  $\text{NO}_3^-$  en los suelos de todas las pasturas tuvo un comportamiento similar, con un periodo de producción acelerada de  $\text{NO}_3^-$  hasta el pico más alto observado entre los días 9 y 11. Posteriormente se observaron fluctuaciones en la concentración de  $\text{NO}_3^-$  con tendencia a disminuir hasta el día 32, donde se mantuvieron constantes hasta el final de las mediciones en el día 52 (Figura 10 C y D). La concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo a través del tiempo fue menor en los tratamientos de gramínea sola (T1 y T2), seguido de las áreas entre surcos de *L. diversifolia* y con más altas concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  las áreas bajo los arbustos de *L. diversifolia* en T3 y T4.

En Cayman, la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo fue en promedio 2,1 a 2,3 veces más alta en el tratamiento de monocultivo con respecto a las áreas entre surcos y bajo arbustos de *L. diversifolia* respectivamente. De forma similar, en Toledo la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en el suelo fue en promedio 1,5 a 1,6 veces más alta en el tratamiento de monocultivo con respecto a las áreas entre surcos y bajo arbustos de *L. diversifolia* respectivamente.

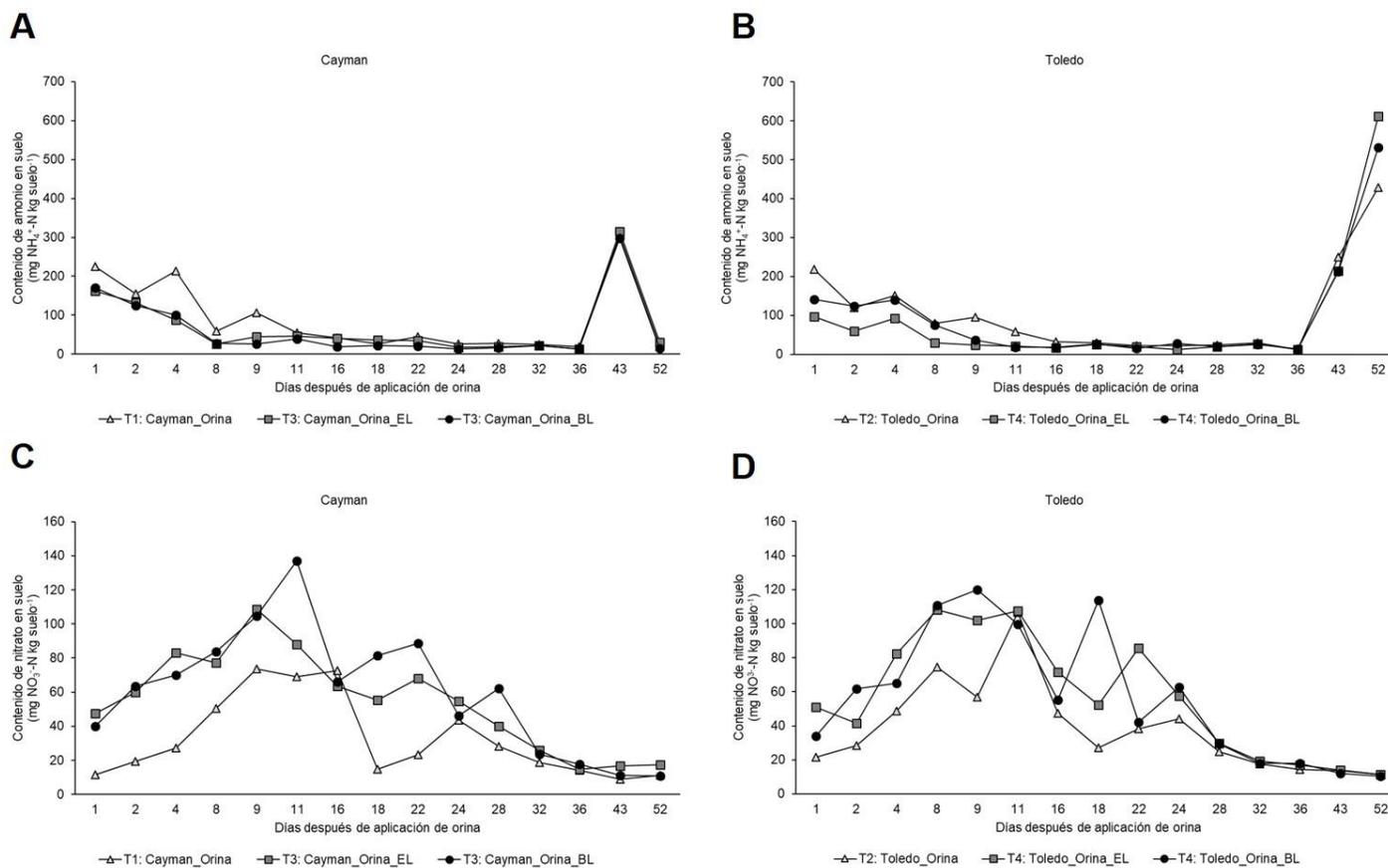
En los tratamientos de gramínea sola y las áreas entre surcos de *L. diversifolia* se observó una tendencia a mayores contenidos de  $\text{NH}_4^+$  y menores contenidos de  $\text{NO}_3^-$  en las pasturas basadas con Cayman respecto de las de monocultivo.

Recientemente se ha demostrado que diferentes especies de plantas, principalmente pastos tropicales tienen la capacidad de modular la composición de comunidades microbianas del suelo para favorecer la retención de ciertos nutrientes como el N (Coskun et al., 2017). Tal es el caso de pastos del género *Urochloa* (sinónimo de *Brachiaria*), donde se ha demostrado que ciertas especies tienen capacidad contrastante de inhibición biológica de la nitrificación (IBN) del suelo, retrasando la oxidación de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NO}_3^-$ , lo cual tiene un efecto en la reducción de emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  (Subbarao et al., 2009).

El pasto Toledo es un genotipo de la especie *U. brizantha*, la cual es considerada de baja capacidad IBN. Por el contrario, el pasto Cayman al ser un híbrido interespecífico cuenta en su acervo genético con información genética de *U. decumbens*, una especie considerada de alta capacidad IBN (Subbarao et al., 2007). Estas diferencias en la capacidad IBN de ambas especies de gramínea podrían verse reflejadas en la mayor retención de  $\text{NH}_4^+$  y menor producción de  $\text{NO}_3^-$  en los suelos de tratamientos con pasto Cayman con respecto a los de Toledo.

De acuerdo con Subbarao et al. (2007) las leguminosas no tienen capacidad IBN debido a que no proporciona para ellas una ventaja adaptativa, pues su principal fuente de N no es el N mineral del suelo sino el obtenido por vías de fijación biológica. Este fenómeno podría contribuir a explicar las mayores concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  y mayores emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  en suelos de los tratamientos de gramínea–leguminosa (T3 y T4) independiente de la especie de gramínea acompañante.

**Figura 10:** Concentración de amonio en el suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman (**A**) y Toledo (**B**) durante 52 días. Concentración de nitrato en el suelo en diferentes tratamientos de pasturas en ensayo silvopastoril basadas en pasto Cayman (**C**) y Toledo (**D**). EL: cámaras entre surcos de *L. diversifolia*; BL: cámaras bajo arbustos de *L. diversifolia*.



### 5.3.4 Relación producción de biomasa–emisiones de óxido nítrico

La intensidad de emisiones es la cantidad de emisiones de GEI generadas por unidad de un producto. Este indicador se ha propuesto en los sistemas agroalimentarios debido a que si bien es necesario buscar estrategias para reducir emisiones de GEI y combatir el cambio climático, también lo es incrementar la producción de alimentos. Por lo tanto, la intensidad de emisiones se considera como un indicador del desempeño ambiental de un sistema de producción (Mrówczyńska-Kamińska et al., 2021).

Al relacionar las emisiones de N<sub>2</sub>O en función de la producción de materia seca de cada uno de los tratamientos se encontró que a pesar de que las emisiones absolutas de los tratamientos con *L. diversifolia* fueron mayores que las de las pasturas de Cayman y Toledo en monocultivo, el grado de incremento en la biomasa producida en los T3 y T4 generó que la intensidad de emisiones en estos tratamientos fuera similar o incluso menor que las de T1 y T2 (Tabla 6).

En los tratamientos T3 y T4 las áreas EL presentaron mayores emisiones de N<sub>2</sub>O que las áreas BL. En pasturas mixtas de gramíneas y leguminosas la literatura varía entre estudios que reportan incremento de emisiones de N<sub>2</sub>O con la leguminosa y otros que no reportan un efecto significativo (Boddey et al., 2020). La complejidad de los arreglos silvopastoriles (diferentes estratos) implica un desafío adicional al estimar las emisiones totales de forma que sean representativas de la heterogeneidad espacial del sistema. Al ponderar las emisiones de N<sub>2</sub>O de la misma forma que la producción de materia seca (considerando las áreas EL como representativas del 60% del área de las parcelas y las áreas BL del 40%) la intensidad de emisiones de los T3 y T4 resultó levemente menor que la de T1 y T2. El caso de mayor reducción de intensidad de emisiones fue en el tratamiento silvopastoril de pasto Cayman, con una reducción del 18% en comparación con el respectivo monocultivo.

**Tabla 6:** Intensidad de emisiones de diferentes fracciones botánicas en tratamientos de pasturas. EL: área entre surcos de *L. diversifolia*; BL: área bajo arbustos de *L. diversifolia*; MS: materia seca. Letras diferentes representan diferencias estadísticas de acuerdo a prueba Tukey HSD ( $\alpha=0,05$ ).

Tratamiento	Area	Producción de biomasa	Emisiones de N <sub>2</sub> O	Intensidad de emisiones
-------------	------	-----------------------	-------------------------------	-------------------------

		g MS m <sup>-2</sup>	mg N <sub>2</sub> O-N m <sup>-2</sup>	mg N <sub>2</sub> O-N g MS <sup>-1</sup>
T1: Cayman	-	91.3	352.5	<b>3.9</b>
T2: Toledo	-	133.9	453.4	<b>3.4</b>
T3: Cayman + <i>L. diversifolia</i>	EL	142.4	613.2	4.3
	BL	242.1	404.5	1.7
	Total	182.3	529.7	<b>3.3</b>
T4: Toledo + <i>L. diversifolia</i>	EL	169.4	685.7	4.0
	BL	263.0	540.8	2.1
	Total	206.9	627.7	<b>3.3</b>

Estos resultados proveen evidencia de que la integración de leguminosas en este caso *L. diversifolia* en las pasturas tropicales constituyen una alternativa ambientalmente sostenible, con menores emisiones de N<sub>2</sub>O en comparación con las pasturas tradicionales donde predominan las gramíneas en monocultivo.

## 6. Conclusiones y recomendaciones

### 6.1 Conclusiones

Los tratamientos de pasturas asociadas tanto de Cayman como de Toledo con la leguminosa *L. diversifolia* presentaron mejores características productivas con respecto a los tratamientos de las gramíneas en monocultivo, como fueron mayor producción de biomasa, contenido de proteína cruda, y absorción de nitrógeno posiblemente gracias a la capacidad de fijación biológica de N de la leguminosa, la cual se estimó superior al 90% y posiblemente también debido a los mecanismos de transferencia de N de leguminosa a gramínea característicos de pasturas mixtas. Los tratamientos de pasturas asociadas presentaron mayores emisiones de óxido nitroso tras la deposición de orina animal en los potreros con respecto a los tratamientos de las gramíneas en monocultivo. No obstante, debido al grado de incremento en la producción de biomasa en las pasturas asociadas la intensidad de emisiones (emisiones de N<sub>2</sub>O generadas por unidad de materia seca producida) fueron menores en comparación con las pasturas en monocultivo. De esta forma se confirma que la asociación *L. diversifolia-Urochloa* mejora el ciclaje de N en las pasturas. El potencial de esta asociación radicó en el N ingresado al suelo por vía de la FBN en *L. diversifolia* permitiendo mayor cosecha de N por hectárea, sin aumentar las pérdidas asociadas con procesos de nitrificación y desnitrificación, para lo cual puede jugar un rol importante la inhibición biológica de la nitrificación de las *Urochloa*.

### 6.2 Recomendaciones

Futuros trabajos de investigación sobre ciclaje de N en pasturas tropicales podrían considerar ampliar el espectro de variables a medir, por ejemplo análisis de nutrientes en hojarasca, realizar un perfil completo de calidad nutricional en los diferentes forrajes, entre otras. Adicionalmente sería recomendable ampliar el enfoque hasta realizar mediciones en animales pastoreando los tratamientos evaluados para detectar diferencias en ganancia

de peso (productividad animal), excreción de N en las diferentes dietas, y realizar recolección de orina de tales animales para determinar el efecto en las emisiones de N<sub>2</sub>O. Finalmente, se recomienda realizar un monitoreo en el tiempo de variables físicas, químicas y biológicas del suelo, de forma que permita evaluar diferencias entre los tratamientos evaluados.

## 7. Bibliografía

- Adeniyi, I. (2006). Nitrogen inputs by precipitation in the Nigerian Savanna. *West African Journal of Applied Ecology*, 9(1).
- Arango, J., Sotelo, M., Gutierrez, J. F., Hincapie, B., Vazquez, E., Teutscherova, N., . . . Peters, M. (2019, September 18-20 2019). *Integral assessment of productive and environmental parameters of a forage-based silvopastoral system* Tropentag 2019,
- Arshad, M. A. C., Lowery, B., & Grossman, B. (2015). *Physical Tests for Monitoring Soil Quality* [book part]. Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub49.c7>
- Boddey, R. M., Casagrande, D. R., Homem, B. G. C., & Alves, B. J. R. (2020). Forage legumes in grass pastures in tropical Brazil and likely impacts on greenhouse gas emissions: A review. *Grass and Forage Science*. <https://doi.org/10.1111/gfs.12498>
- Borrero Tamayo, G., Jiménez, J., Ricaurte Oyola, J. J., Rivera, M., Polanía Perdomo, J. A., Núñez, J., . . . Rao, I. M. (2017). Manual de protocolos. Nutrición y fisiología de plantas-Forrajes y fríjol. In: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Cadisch, G., Schunke, R. M., & Giller, K. E. (1994). Nitrogen cycling in a pure grass pasture and a grass-legume mixture on a red latosol in Brazil. *Tropical Grasslands*, 28, 43-43.
- Cadisch, G., Sylvester-Bradley, R., & Nösberger, J. (1989). <sup>15</sup>N-based estimation of nitrogen fixation by eight tropical forage-legumes at two levels of P:K supply. *Field Crops Research*, 22, 181-194.
- Cantarutti, R. B., Tarre, R., Macedo, R., Cadisch, G., Rezende, C. D., Pereira, J. M., . . . Boddey, R. M. (2002). The effect of grazing intensity and the presence of a forage

- legume on nitrogen dynamics in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the south of Bahia, Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 64(3), 257-271. <https://doi.org/10.1023/a:1021415915804>
- Chará, J., Rivera, J., Barahona, R., Murgueitio, E., Calle, Z., & Giraldo, C. (2019). Intensive silvopastoral systems with *Leucaena leucocephala* in Latin America [article]. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 7(4), 259-266. [https://doi.org/10.17138/tgft\(7\)259-266](https://doi.org/10.17138/tgft(7)259-266)
- Conrad, K. A., Dalal, R. C., Dalzell, S. A., Allen, D. E., Fujinuma, R., & Menzies, N. W. (2018). Soil nitrogen status and turnover in subtropical leucaena-grass pastures as quantified by  $\delta^{15}\text{N}$  natural abundance. *Geoderma*, 313, 126-134. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.029>
- Cook, B. G., Pengelly, B. C., Schultze-Kraft, R., Taylor, M., Burkart, S., Cardoso, J., . . . Peters, M. (2020). *Tropical Forages: an interactive selection tool. 2nd and revised Edn.* <http://www.tropicalforages.info/>
- Cooper, J. E., & Scherer, H. W. (2012). Nitrogen Fixation. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (pp. 389-408). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00016-9>
- Corporación autónoma regional del Valle del Cauca, & Instituto Geográfico Agustín Codazzi. (2021). *Geoportal CVC*. Retrieved 23/08/2022 from <https://geo.cvc.gov.co/visores/suelos/16/>
- Coskun, D., Britto, D. T., Shi, W., & Kronzucker, H. J. (2017). Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. *Nature Plants*, 3(6). <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.74>
- DANE. (2016). *3er Censo nacional agropecuario*. DANE.
- DANE. (2020). *Encuesta nacional agropecuaria - ENA 2012 - 2019*. DANE.
- Davidson, E. A., Savage, K., Verchot, L. V., & Navarro, R. (2002). Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. *Agricultural and Forest*

- Meteorology*, 113(1), 21-37. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(02\)00100-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1923(02)00100-4)
- Enciso, K., Sotelo, M., Peters, M., & Burkart, S. (2019). The inclusion of *Leucaena diversifolia* in a Colombian beef cattle production system: An economic perspective. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 7(4), 359-369.
- Federacion Nacional de Ganaderos. (2021). *Cifras de referencia del sector ganadero Colombiano*. FEDEGAN.
- Fisher, M. J., Rao, I. M., Ayarza, M. A., Lascano, C. E., Sanz, J. I., Thomas, R. J., & Vera, R. R. (1994). Carbon storage by introduced deep-rooted grasses in the South American savannas. *Nature*, 371(6494), 236-238. <https://doi.org/10.1038/371236a0>
- Galindo, V., Murgueitio, M., Zapata, A., Naranjo, J., Cuartas, C., & Murgueitio, E. (2011). Interceptación de la luz por leguminosas arbóreas en sistemas silvopastoriles intensivos de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit y su efecto en la producción de biomasa en pastos mejorados de *Cynodon plectostachyus* (K.Schum.) Pilg. y C, en el bosque seco tropical de la Terraza de Ibagué. Pastos y sistemas de silvopastoreo
- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erismán, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., . . . Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878), 889-892.
- Gaviria-Urbe, X., Bolívar, D. M., Rosenstock, T. S., Molina-Botero, I. C., Chirinda, N., Barahona, R., & Arango, J. (2020). Nutritional Quality, Voluntary Intake and Enteric Methane Emissions of Diets Based on Novel Cayman Grass and Its Associations With Two *Leucaena* Shrub Legumes [Original Research]. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(764). <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.579189>
- Gobernación del Valle del Cauca. (2017). *Praderas para producción de ganado en el Valle del Vauca*. <https://www.datos.gov.co/Agricultura-y-Desarrollo-Rural/Praderas-para-producci-n-de-ganado-en-el-valle-del/bafv-mifq>

- Howeler, R. H. (1986). Los suelos del Centro Internacional de Agricultura Tropical en Palmira, Colombia. *Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)*.
- IDEAM, PNUD, MADS, DNP, & Cancillería. (2016). *Inventario nacional y departamental de Gases Efecto Invernadero – Colombia. Tercera Comunicación Nacional de Cambio Climático*. P. IDEAM, MADS, DNP, CANCELLERÍA, FMAM.
- Jalonen, R., Nygren, P., & Sierra, J. (2009). Transfer of nitrogen from a tropical legume tree to an associated fodder grass via root exudation and common mycelial networks. *Plant, cell & environment*, 32(10), 1366-1376.
- Jayasundara, H., Dennett, M., & Sangakkara, U. (1997). Biological nitrogen fixation in *Gliricidia sepium* and *Leucaena leucocephala* and transfer of fixed nitrogen to an associated grass. *Tropical Grasslands*, 31, 529-537.
- Karwat, H., Egenolf, K., Nuñez, J., Rao, I., Rasche, F., Arango, J., . . . Cadisch, G. (2018). Low <sup>15</sup>N natural abundance in shoot tissue of *Brachiaria humidicola* is an indicator of reduced N losses due to biological nitrification inhibition (BNI). *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02383>
- Kemen, E., Van Deynze, A., Zamora, P., Delaux, P.-M., Heitmann, C., Jayaraman, D., . . . Bennett, A. B. (2018). Nitrogen fixation in a landrace of maize is supported by a mucilage-associated diazotrophic microbiota. *PLOS Biology*, 16(8), e2006352. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006352>
- Ledgard, S., & Giller, K. (1995). Atmospheric N<sub>2</sub> fixation as an alternative N source. In P. E. Bacon (Ed.), *Nitrogen fertilization in the environment*. (pp. 443-486). Marcel Dekker Inc.
- Malagón Castro, D., Pulido Roa, C., Llinas Rivera, R. D., Chamorro Bello, C., & Fernández Lamus, J. (1995). *Suelos de Colombia: origen, evolución, clasificación, distribución y uso*. Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC).
- Monsalve, O. I., Gutiérrez, J. S., & Cardona, W. A. (2017). Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(1), 200-209. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>

- Morales-Vallecilla, F., & Ortiz-Grisales, S. (2018). Productividad y eficiencia de ganaderías lecheras especializadas en el Valle del Cauca (Colombia). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 65(3), 252-268.
- Mrówczyńska-Kamińska, A., Bajan, B., Pawłowski, K. P., Genstwa, N., & Zmyślona, J. (2021). Greenhouse gas emissions intensity of food production systems and its determinants. *Plos One*, 16(4), e0250995. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250995>
- Munroe, J. W., & Isaac, M. E. (2014). N<sub>2</sub>-fixing trees and the transfer of fixed-N for sustainable agroforestry: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 417-427.
- Nyfelner, D., Huguenin-Elie, O., Suter, M., Frossard, E., & Lüscher, A. (2011). Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources [Article]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 140(1-2), 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.11.022>
- Pereira, J. M., Rezende, C. d. P., Ferreira Borges, A. M., Homem, B. G. C., Casagrande, D. R., Macedo, T. M., . . . Boddey, R. M. (2020). Production of beef cattle grazing on *Brachiaria brizantha* (Marandu grass)—*Arachis pintoi* (forage peanut cv. Belomonte) mixtures exceeded that on grass monocultures fertilized with 120 kg N/ha. *Grass and Forage Science*, 75(1), 28-36.
- Peters, M., Franco, T., Schmidt, A., & Hincapié Carvajal, B. (2011). Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores del Trópico Americano. In: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Bundesministerium für ....
- Rao, A. V., & Giller, K. E. (1993). Nitrogen fixation and its transfer from *Leucaena* to grass using <sup>15</sup>N. *Forest Ecology and Management*, 61(3), 221-227. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-1127\(93\)90203-Y](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-1127(93)90203-Y)
- Rao, I., Peters, M., Castro, A., Schultze-Kraft, R., White, D., Fisher, M., . . . Rudel, T. (2015). LivestockPlus - The sustainable intensification of forage-based agricultural systems

- to improve livelihoods and ecosystem services in the tropics [Article]. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 3(2), 59-82. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(3\)59-82](https://doi.org/10.17138/TGFT(3)59-82)
- Rao, I. M., Peters, M., Castro, A., Schultze-Kraft, R., White, D., Fisher, M., . . . Rudel, T. (2015). LivestockPlus: The sustainable intensification of forage-based agricultural systems to improve livelihoods and ecosystem services in the tropics. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 3(2), 59-82. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(3\)59-82](https://doi.org/10.17138/TGFT(3)59-82)
- Rivera-Herrera, J. E., Molina-Botero, I., Chará-Orozco, J., Murgueitio-Restrepo, E., & Barahona-Rosales, R. (2017). Intensive silvopastoral systems with *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit: productive alternative in the tropic in view of the climate change. *Pastos y Forrajes*, 40(3), 171-183.
- Rivera, J. E., Chará, J., Murgueitio, E., Molina, J. J., & Barahona, R. (2019). Feeding leucaena to dairy cows in intensive silvopastoral systems in Colombia and Mexico. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 7(4), 370-374.
- Robertson, G. P., & Groffman, P. M. (2015). Nitrogen Transformations. In E. A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* (pp. 421-446). Academic press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-415955-6.00014-1>
- Salsac, L., Chaillou, S., Morot-Gaudry, J.-F., Lesaint, C., & Jolivet, E. (1987). Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 25(6), 805-812.
- Sarabia-Salgado, L., Solorio-Sánchez, F., Ramírez-Avilés, L., Rodrigues Alves, B. J., Ku-Vera, J., Aguilar-Pérez, C., . . . Boddey, R. M. (2020). Increase in Milk Yield from Cows through Improvement of Forage Production Using the N<sub>2</sub>-Fixing Legume *Leucaena leucocephala* in a Silvopastoral System. *Animals*, 10(4), 734. <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/4/734>
- Schultze-Kraft, R., Rao, I. M., Peters, M., Clements, R. J., Bai, C., & Liu, G. (2018). Tropical forage legumes for environmental benefits: An overview. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 6(1), 1-14.

- Shearer, G., & Kohl, D. H. (1986). N<sub>2</sub> fixation in field settings: estimations based on natural abundance. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 699-744.
- Shelton, M., & Dalzell, S. (2007). Production, economic and environmental benefits of leucaena pastures. *Tropical Grasslands*, 41(3), 174.
- Smolander, A., Kanerva, S., Adamczyk, B., & Kitunen, V. (2012). Nitrogen transformations in boreal forest soils—does composition of plant secondary compounds give any explanations? *Plant and Soil*, 350(1), 1-26. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0895-7>
- Soil Survey Staff. (1999). *Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys* (2nd edition ed.). US Department of Agriculture.
- Subbarao, G. V., Nakahara, K., Hurtado, M. P., Ono, H., Moreta, D. E., Salcedo, A. F., . . . Ito, O. (2009). Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(41), 17302-17307. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903694106>
- Subbarao, G. V., Rondon, M., Ito, O., Ishikawa, T., Rao, I. M., Nakahara, K., . . . Berry, W. L. (2007). Biological nitrification inhibition (BNI)—is it a widespread phenomenon? *Plant and Soil*, 294(1), 5-18. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9159-3>
- Subbarao, G. V., Sahrawat, K. L., Nakahara, K., Rao, I. M., Ishitani, M., Hash, C. T., . . . Lata, J. C. (2012). A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI). *Annals of Botany*, 112(2), 297-316. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs230>
- Unkovich, M., Herridge, D., Peoples, M., Cadisch, G., Boddey, R., Giller, K., . . . Chalk, P. M. (2008). *Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems* (Vol. No. 136). ACIAR.
- USDA. (1999). *Soil Quality Test Kit Guide*.

- Vazquez, E., Teutscherova, N., Lojka, B., Arango, J., & Pulleman, M. (2020). Pasture diversification affects soil macrofauna and soil biophysical properties in tropical (silvo) pastoral systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 302, 107083.
- Villegas, D., Arevalo, A., Nuñez, J., Mazabel, J., Subbarao, G., Rao, I., . . . Arango, J. (2020). Biological Nitrification Inhibition (BNI): Phenotyping of a core germplasm collection of the tropical forage grass *Megathyrsus maximus* under greenhouse conditions [Original Research]. *Frontiers in plant science*, 11(820). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00820>
- Villegas, D. M., Velasquez, J., Arango, J., Obregon, K., Rao, I. M., Rosas, G., & Oberson, A. (2020). Urochloa grasses swap nitrogen source when grown in association with legumes in tropical pastures. *Diversity*, 12(11), 419. <https://www.mdpi.com/1424-2818/12/11/419>