




Biomasa subterránea del raigrás perenne con diferentes fuentes nitrogenadas y asociado con trébol blanco y trébol rojo



Francisco Gutiérrez León ^a

Mónica Sacido ^b

Susana Feldman ^b

^a Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Agrícolas. Ciudad de Quito, Ecuador.

^b Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Agrarias, Ciudad de Rosario, Argentina.

*Autor de correspondencia: fgutierrez@uce.edu.ec

Resumen:

El objetivo de esta investigación fue evaluar la biomasa radicular del raigrás perenne (R) (*Lolium perenne*) con diferentes fuentes nitrogenadas y asociaciones con trébol blanco (Tb) (*Trifolium repens*) y trébol rojo (Tr) (*Trifolium pratense*), así como la capacidad de nodulación de los tréboles blanco o rojo. Se realizaron 2 experimentos: (Exp1) monocultivo de raigrás perenne, fertilizado con nitrógeno (urea, urea de lenta liberación, nitrato de amonio, nitrógeno foliar, nitrato de amonio + nitrógeno foliar y control o sin aplicación) y (Exp 2) mezclas de raigrás con trébol blanco o rojo, en baja y alta densidad y control. Se replicaron en 2 localidades Tumbaco (Tm) y Machachi (Mc), en Pichincha, Ecuador. El diseño estadístico fue un diseño de bloques al azar (n=3) y se realizó un análisis de suelos al inicio. Se evaluó la biomasa radicular (Br) en base seca en los 2 experimentos; mientras que en el Exp 2 se evaluó también el número (Nn) y el peso de nódulos (Pn). Los resultados indican que las especies modifican su crecimiento radicular como adaptación a las condiciones ambientales. En el Exp 1 en Tm, donde hubo una mayor temperatura existió una mayor Br. En el Exp 2 las mezclas de R y Tr acumularon mayor biomasa radicular. Para Nn

y Pn, el Tb fue el que tuvo un mayor Nn y Pn. En base a estos resultados se puede concluir que el ambiente juega un papel preponderante en la biomasa radicular y que las especies se adaptan modificándola, al igual que al número y peso seco de nódulos.

Palabras clave: Nodulación, Raíces, Adaptación, Ambiente.

Recibido: 18/03/2025

Aceptado: 14/07/2025

Los brotes y raíces tienen funciones complementarias, ya que el vástago aéreo cosecha energía radiante del sol, mientras que las raíces absorben nutrientes minerales y agua⁽¹⁾. Según Ramos-Hernández y Martínez-Sánchez⁽²⁾ la biomasa subterránea suele ser igual o superior a biomasa aérea. Poorter y Nagel⁽³⁾ afirman que, ante una baja disponibilidad de nutrientes, la raíz tiene prioridad en la asignación de carbohidratos sobre la parte aérea. Así mismo, las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos tienen un rol importante en el crecimiento radicular⁽⁴⁾. Los sistemas radiculares permiten a las plantas crecer y nutrirse, por lo que son determinantes en el rendimiento de los cultivos agrícolas⁽⁵⁾. Sin embargo, se sostiene⁽⁶⁾, que en forrajeras el crecimiento y producción de raíces está mucho menos estudiada y comprendida que el de hojas.

Las raíces tienen una intensa actividad biológica; entre la más importante es la asociación simbiótica entre miembros de la familia Leguminosae y bacterias diazotróficas del suelo (rizobios), la cual es bien conocida por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico⁽⁷⁾. Por consiguiente, las leguminosas desempeñan un papel clave en la intensificación sostenible de los sistemas agrícolas, mejorando la biodiversidad, los servicios ecosistémicos y reduciendo la dependencia de la producción de alimentos de los fertilizantes nitrogenados⁽⁸⁾. Es por esto que, las leguminosas forrajeras han sido seleccionadas por su capacidad de nodulación, siendo el trébol blanco el que mayor capacidad desarrolla⁽⁹⁾. Sin embargo, la fijación de N es muy variable por los rizobios; existen varios factores que determinan el éxito de la relación simbiótica leguminosa-rizobios⁽¹⁰⁾, uno de los más importantes es hacer coincidir simbiontes adecuados con las plantas hospedantes⁽¹¹⁾.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue valorar la biomasa radicular del raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) como monocultivo, con diferentes fuentes nitrogenadas y en mezclas con trébol blanco (*Trifolium repens*) y trébol rojo (*Trifolium pratense*), así como la capacidad de nodulación de los tréboles blanco o rojo, en dos localidades contrastantes.

Esta investigación se desarrolló en Ecuador en la provincia de Pichincha, en dos sitios experimentales, en las parroquias de Machachi, Cantón Mejía y Tumbaco, Cantón Quito.

Según el censo agropecuario INEC⁽¹²⁾, las pasturas ocupan el 58.3 % de la superficie que tiene labor agropecuaria, por la que la producción ganadera se realiza en un sistema pastoril. También se menciona que el 79.5 % de la producción de leche es de la región sierra, y en ella la provincia de Pichincha abarca un 18 % del total, siendo la provincia con mayor producción nacional.

El clima en la provincia de Pichincha es variable de acuerdo con la altura, el de la localidad Tumbaco se clasifica como mesotérmico seco, mientras que Machachi como mesotérmico húmedo⁽¹³⁾. Machachi se encuentra a 0°30'36.4" S; 78°34'1.6" O, 1,043 mm de precipitación, temperatura media de 12 °C; mientras que Quito se encuentra a 0°13'52.5" S; 78°11'0.3" O, 954 mm de precipitación y temperatura media de 16 °C.

El origen de los suelos en la región interandina es volcánico y el clima es el factor más importante en su desarrollo, por lo que las condiciones ambientales específicas de cada sitio han dado lugar a diferentes procesos que han influido en la formación del suelo⁽¹⁴⁾. Basado en ello, se tomaron muestras de suelos de cada localidad, en las cuales se determinaron: carbono orgánico (por combustión húmeda, Método Walkley-Black), pH (con potenciómetro, en solución acuosa), conductividad eléctrica (utilizando conductímetro con extracto de pasta saturada), N total (mediante cálculo a partir del porcentaje de materia orgánica), P disponible (con fotocolorímetro, Método Olsen modificado) y cationes intercambiables (K, Ca, Mg; espectrofotometría de absorción atómica) (Cuadro 1).

Cuadro 1: Características físico-químicas de los suelos de los sitios experimentales

Localidad	pH	CE (dS/m)	COS (%)	MOS	N total	P (ppm)	K (cmol/kg)	Ca	Mg
Machachi	7.56	0.56	4.05	7.67	0.38	73.5	1.02	16.46	2.7
Tumbaco	6.7	0.59	1.56	2.95	0.15	31.4	1.5	9.79	4.72

CE= conductividad eléctrica; COS= carbono orgánico del suelo; MOS= materia orgánica en el suelo; dS=decisiemens; ppm=partes por millón; cmol= centimoles.

Experimento 1: Efecto de diferentes fuentes nitrogenadas sobre monocultivo de raigrás perenne (R). Se utilizó un diseño de bloques al azar (n=3, parcelas de 7 x 4 m) 30 kg ha⁻¹ como densidad de siembra y fertilización con fuentes nitrogenadas con las fuentes especificadas en el Cuadro 2.

Cuadro 2: Tipo y concentración de fertilizantes utilizados en monocultivo de raigrás perennes en los dos sitios experimentales

Tratamiento	Fertilizante	kg N ha ⁻¹ corte ⁻¹	kg fertilizante ha ⁻¹ corte ⁻¹	Composición química
T0	Sin fertilizante	0	0	Control
T1	Urea	20	43.5	46 % N, urea
T2	Urea protegida	20	50	40 % N, urea recubierta de PSCU ⁽¹⁾
T3	Nitrato de amonio	20	59.7	33.5 % N, 50 % en forma nítrica y 50 % en forma amoniacal
T4	Nitrato de amonio + N foliar	20	61-2	33.5 % N, 50 % en forma nítrica y 50 % en forma amoniacal + 18.7% p/v óxido de calcio; 25.5 % de p/V de N
T5	N Foliar	0.3	1.5	18.7% p/v óxido de calcio; 25.5 % de p/V de N

(1)= polímero rico en azufre que permite una liberación controlada de urea, limitando la lixiviación.

Experimento 2: Efecto de mezclas forrajeras, raigrás con trébol blanco y trébol rojo a diferentes densidades de siembra. Se utilizó un diseño de bloques al azar (n=3, parcelas de 7 x 4 m) y mezclas de gramíneas y leguminosas, como se detalla en el Cuadro 3. Se seleccionaron estas dos especies de tréboles por sus diferentes hábitos de crecimiento: el trébol rojo tiene un crecimiento más erecto, mientras que el trébol blanco es más rastrero. Los tréboles no fueron inoculados con bacterias del género *Rhizobium*, ya que esto no es una práctica común en Ecuador puesto que existen cepas nativas aunque poco estudiadas⁽¹⁵⁾. Las densidades de siembra de trébol se ajustaron según León *et al*⁽¹⁶⁾ quienes consideran que deben oscilar entre 2.5 y 5 kg por hectárea.

Cuadro 3: Especies forrajeras utilizadas en el experimento 2 y sus densidades de siembra

Tratamientos	Especies	Gramíneas	Leguminosas
		(kg ha ⁻¹)	(kg ha ⁻¹)
T0	Raigrás perenne (control)	30	0
T1	Raigrás perenne + trébol blanco	25	2.5
T2	Raigrás perenne + trébol blanco	25	5
T3	Raigrás perenne + trébol rojo	25	2.5
T4	Raigrás perenne + trébol rojo	25	5
T5	Raigrás perenne + trébol blanco + trébol rojo	25	5 (2.5 + 2.5)

En función de la información suministrada por un tensiómetro, las parcelas experimentales de ambos experimentos se mantuvieron a capacidad de campo, mediante el uso de un sistema de riego por aspersión. Al inicio de los experimentos, se realizó una fertilización con 80 kg P ha⁻¹ (superfosfato triple más microelementos) y 60 kg K ha⁻¹ (muriato de potasio). Ambos experimentos se condujeron en cada sitio experimental, se sembraron en agosto 2021 mediante el método de siembra al voleo. Durante el año 2022 se evaluó mensualmente el crecimiento aéreo de los experimentos en las dos localidades, y en febrero del 2023, la biomasa subterránea.

Biomasa radicular (g MS L suelo⁻¹): Se tomaron seis muestras al azar de cada tratamiento, se lavaron en bolsas plásticas con perforaciones tipo diamante de 3 mm, se separaron manualmente las raíces del suelo, se secaron con papel de filtro, se determinó el peso total de las raíces sin separación por cultivo (peso fresco), y finalmente se las deshidrató en una estufa con ventilación forzada, a 70 °C por 24 h; se pesaron y se calculó el porcentaje de materia seca⁽¹⁷⁾.

Número de nódulos (N° nódulos L suelo⁻¹): Se tomaron seis muestras de cada tratamiento, con trébol rojo o blanco y el número de nódulos se determinó separando manualmente las raíces y nódulos⁽¹⁸⁾.

Peso de nódulos (mg MS L suelo⁻¹): se tomaron seis muestras de cada tratamiento, con trébol rojo o blanco; los nódulos lavados se deshidrataron en una estufa con ventilación forzada, a 70 °C por 24 h, para determinar el peso seco⁽¹⁹⁾.

Todas las mediciones se realizaron en febrero 2023 sobre muestras de 20 x 20 x 20 cm⁽²⁰⁾; esta profundidad de muestreo se usó porque en raigrás perenne y tréboles, más del 80 % de las raíces crece a una profundidad menor a los 20 cm⁽²¹⁾.

Análisis estadísticos. Para cada variable analizada, se determinó la distribución normal con la prueba de Shapiro- Wilks y homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene. El análisis de los datos se realizó mediante análisis de varianza y las variables que presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) se compararon con una prueba de Tukey. Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT⁽²²⁾.

El modelo matemático usado para el experimento 1 (monocultivo de ryegrass perenne) fue:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + B_j(L_i) + F_k + L_i \times F_k + E_{ijk}$$

Siendo:

μ = efecto medio total,

L_i = efecto de la Localidad i ,

$B_j(L_i)$ = efecto del bloque j anidado en la localidad i ,

F_k = efecto de la fuente de fertilización causado por el nivel k ,

E_{ijk} = Error experimental en nivel i del corte, nivel j del bloque y nivel k de la fuente.

El modelo matemático usado para el experimento 2 (mezcla de forrajes) fue:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + B_j(L_i) + M_k + L_i \times M_k + E_{ijk}$$

Siendo:

μ = Efecto medio total

L_i = efecto de la localidad i

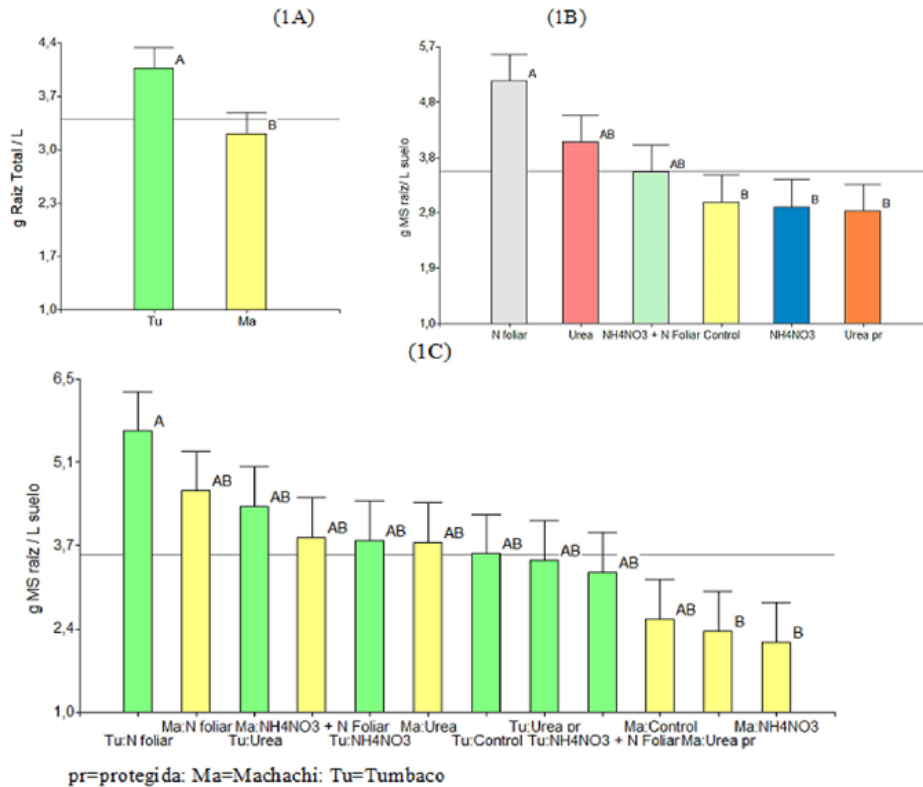
$B_j(L_i)$ = efecto del bloque j anidado en la localidad i

M_k = efecto de la mezcla de raigrás con trébol causado por el nivel k

E_{ijk} = Error experimental en nivel i del corte, nivel j del bloque y nivel k de mezcla de raigrás con trébol.

En la Figura 1 se presentan los datos de la biomasa radicular (Br) del experimento 1, expresados como gramos de MS de raíces por unidad de volumen (L) de suelo. En la sección (1A), se muestran las diferencias entre localidades sobre la cantidad de Br, siendo Tumbaco la que tuvo un mayor valor 4.04 g MS raíz L suelo⁻¹ mientras que Machachi registró 3.22 g. En 1B, figuran los datos por tratamientos, el tratamiento N foliar tuvo la mayor Br 5.13 g, seguido de la urea, nitrato de amonio más N foliar y control (T0) (4.09; 3.58; 3.07 g), en menor cantidad el nitrato de amonio y urea protegida (2.99 y 2.92 g). En 1C se exponen la interacción (localidad x fuente), el N foliar tuvo la mayor Br en las dos localidades 4.64 g MS raíz L suelo⁻¹ en Machachi y 5.62 g en Tumbaco, mientras que el control y el nitrato de amonio obtuvieron los menores valores de Br en Machachi (2.34 y 2.15 g).

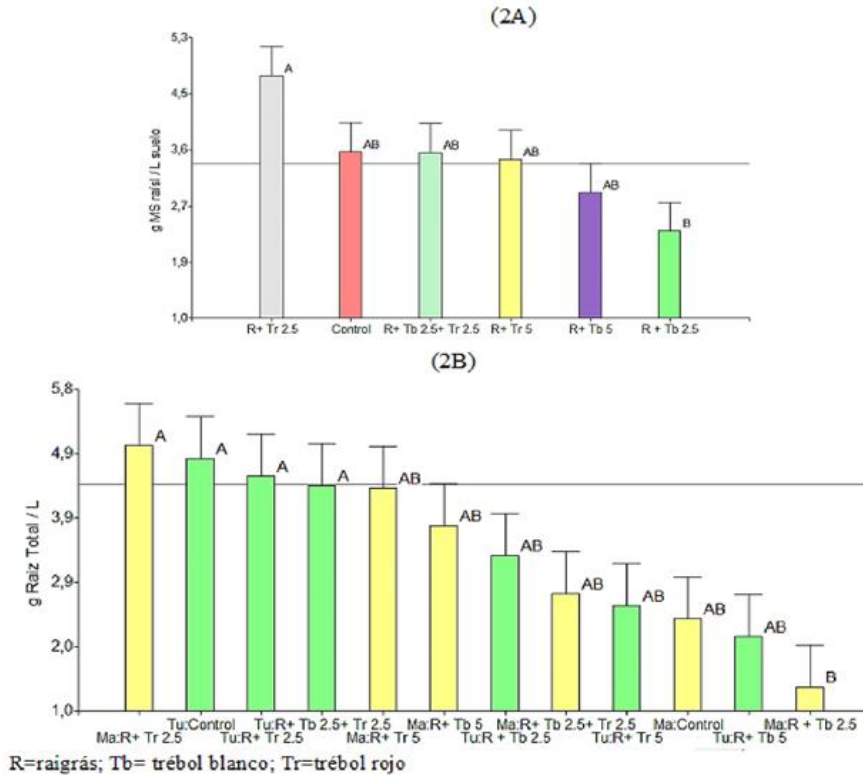
Figura 1: Efecto de fuentes de fertilizantes nitrogenados sobre la Biomasa radicular (g MS raíces L⁻¹): (1A) efecto de localidades Machachi y Tumbaco; (1B) efecto de los tratamientos de las fuentes evaluadas; (1C) interacción localidad x tratamientos



Los valores son medias + 1 error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). En cada figura, las medias generales están representadas por líneas continuas.

En la Figura 2 se muestra la biomasa radicular (Br) de las diferentes mezclas forrajeras de raigrás perenne (R) con/sin trébol blanco (Tb) y con/sin trébol rojo (Tr). No hubo diferencias significativas entre localidades. Mientras que en 2A se observan diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos, R + 2.5 Tr tuvo la mayor biomasa radicular (4.76 g MS raíz L⁻¹), el menor valor se registró en R + 2.5 Tb (2.35 g). En 2B se presentan la interacción localidad x mezcla, mostró que el R + Tr 2.5 kg tuvo la mayor Br en ambas localidades, en Machachi 4.98 g y Tumbaco 4.53 g. El control fue uno de los más altos Br en Tumbaco (4.79 g) y el valor más bajo de Br se observó en Machachi, en las parcelas R+ Tb 2.5 kg (1.37 g). Así mismo, la biomasa radicular en mezclas de raigrás con tréboles varió en función de la especie, observándose que las mezclas con trébol rojo tuvieron una mayor biomasa radicular 4.76 g, comparada con la del raigrás con trébol blanco, 2.35 g MS raíces L⁻¹.

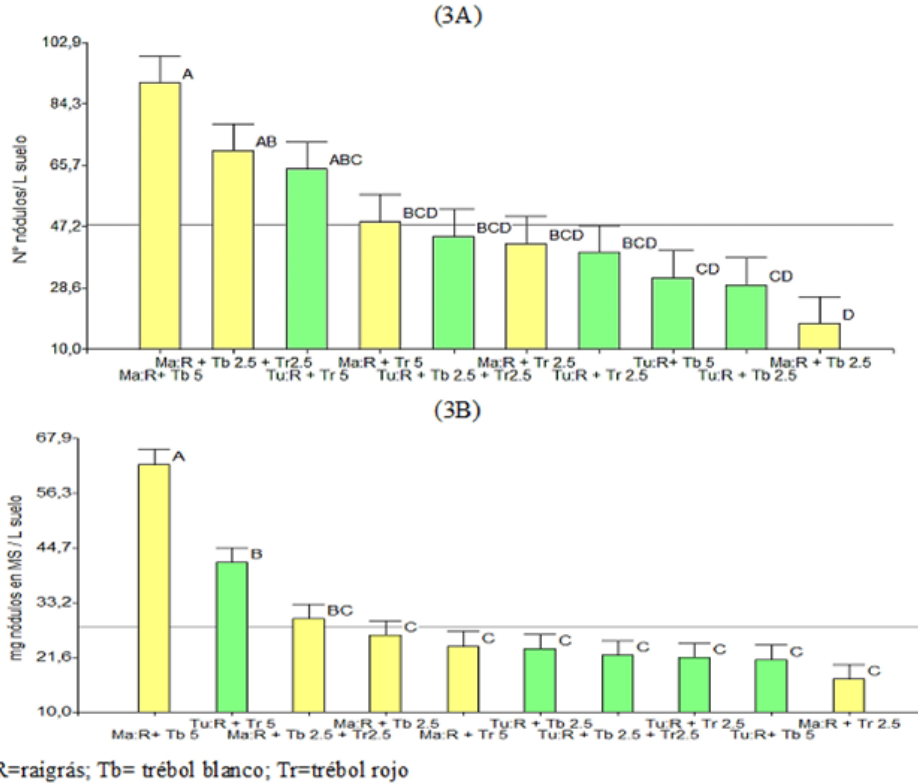
Figura 2: Efecto de las mezclas raigrás con trébol blanco o rojo sobre la biomasa radicular (g MS raíces L⁻¹) (2A) diferencias entre mezclas; (2B) interacción localidad x mezcla



Los valores son medias + 1 error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). La media general está representada por línea continua en eje Y.

En la figura 3A se muestran las diferencias estadísticas ($P < 0.05$) para el número de nódulos (Nd) en la interacción localidad x mezcla. En Machachi la mezcla de R + Tb 5 kg tuvieron 90 Nd L suelo⁻¹, así como la mezcla de R+ Tb 2.5 kg + Tr 2.5 kg 70 Nd, el mayor Nd, mientras que en Tumbaco R + Tr 5 kg tuvo 64 Nd. El peso de nódulos (Pn) presentó diferencia en la interacción localidad x mezcla ($P < 0.05$). En 3B se observa que en Machachi la mezcla de R + Tb 5 kg tuvo 62 mg nódulos MS L suelo⁻¹, siendo el mayor Pn, mientras que en Tumbaco la mezcla R + Tr 5 kg tuvo 41 mg nódulos.

Figura 3: (3A) Efecto de la mezcla de raigrás con trébol blanco o rojo sobre el número de nódulos (N° nódulos/ L suelo) en la interacción localidad x mezcla. (3B) Efecto de la mezcla de raigrás con trébol blanco o rojo sobre el peso de nódulos (mg nódulos en MS/ L suelo) y de la interacción localidad x mezcla



Los valores son medias + 1 error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). La media general está representada por línea continua en eje Y.

Las diferencias de temperaturas, 16 °C en Tumbaco y 12 °C en Machachi, podrían ser las responsables de la mayor biomasa radicular en la primera respecto de la segunda localidad (4.04 vs 3.02 g MS raíces Lsuelo⁻¹, respectivamente). Estos resultados guardan relación con Walne y Reddy⁽²³⁾, quienes determinaron que la temperatura es un factor ambiental crítico que regula el crecimiento y el rendimiento de los cultivos. Por ejemplo, en el cultivo de maíz (*Zea mays*) al aumentar las temperaturas, detectaron raíces más largas, gruesas y más densas. De manera similar, en el cultivo de forrajeras perennes, el crecimiento de la planta se activaba con la temperatura⁽²⁴⁾. En forrajeras megatérmicas, establecieron que las especies se adaptaban al ambiente al modificar su desarrollo radicular en profundidad y longitud⁽²⁵⁾. Esto es corroborado por Cougnon *et al*⁽²⁶⁾ quienes al estudiar pasturas de clima templado como el raigrás perenne y festuca (*Festuca arundinacea* Schreb), determinaron que tienen una mayor biomasa radicular cuando las temperaturas del suelo aumentan, como en la primavera.

La biomasa radicular en mezclas de raigrás con tréboles varió en función de la especie, observándose que las mezclas con trébol rojo tuvieron una mayor biomasa radicular 4.76 g

MS raíces L⁻¹, comparada con la del raigrás con trébol blanco, 2.35 g. Un factor importante en el desarrollo y crecimiento de las raíces del trébol blanco, según Nichols *et al*⁽²⁷⁾, es la muerte de la raíz principal que se da entre los 12 y 18 meses después de la formación de la planta, luego de lo cual la planta depende únicamente de las raíces nodales. Las raíces nodales son más pequeñas y poco profundas, lo que limita la búsqueda de agua y nutrientes, lo que hace al trébol blanco más vulnerable⁽²⁸⁾.

La nodulación de las leguminosas es un factor importante en la capacidad de fijar N, como lo aseguraron Echeverría y Sainz Rosas⁽²⁹⁾, al mencionar que las bacterias de los nódulos podrían fijar entre el 25 y 80 % del N requerido por la planta, y que esta variabilidad obedecía a factores ambientales, edáficos y cepas de rizobios. También se debe tener presente que la transferencia de nitrógeno entre leguminosas y gramíneas en praderas mixtas jugaba un papel importante en el ciclo del nitrógeno de los sistemas agrícolas sostenibles⁽³⁰⁾. Reilly *et al*⁽³¹⁾ afirmaron que la fijación biológica del N por las leguminosas aumentaba con el tiempo; también que la combinación de gramíneas y leguminas aumentaban el rendimiento total de biomasa, en comparación con monocultivos.

El número promedio de nódulos fue mayor en Machachi, 53.82 nódulos L⁻¹ suelo, mientras que en Tumbaco fue de 41,86. Si bien el número de nódulos podría indicar la capacidad de fijar N por la leguminosa, la fijación de N₂ por rizobios tiene un alto costo energético para la planta. Según Dicenzo *et al*⁽³²⁾, para fijar una molécula de N₂ atmosférico se requiere la inversión de 16 moléculas de ATP, aunque otros investigadores⁽³³⁾ afirmaron que si se consideran todos los procesos asociados a la fijación biológica, el costo energético asciende a 30 ATP. En todo caso, el alto costo energético obligaría a la leguminosa a controlar el número de nódulos, evitando un excesivo gasto energético que comprometiera su desarrollo y supervivencia⁽³⁴⁾. Por otro lado, si en el suelo existen zonas ricas en nitrógeno asimilable, las leguminosas obtienen este nutrimento por una vía no simbiótica, evitando un gasto energético extra⁽³⁵⁾.

Así mismo, la planta provee al nódulo cantidades constantes de fosfato para el desarrollo del nódulo, por lo que las deficiencias de fosfato activan a un proceso de autoregulación de nódulos en leguminosas^(35,36). La disponibilidad de P en sus suelos tiene un efecto regulador en la nodulación⁽³⁷⁾, por lo que la mayor disponibilidad de P en el suelo de Machachi podría explicar el mayor número de nódulos en esta localidad, puesto que deficiencias de P reducen el proceso de infección rizobial.

El peso promedio de los nódulos fue mayor en Machachi que en Tumbaco, 30.24 vs 25.97 mg de nódulos en base seca L⁻¹ suelo. Según Dubach y Russelle⁽³⁸⁾, al comparar el peso de nódulos en alfalfa (*Medicago sativa*) y trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus*), el peso de los nódulos estaba relacionado con la mayor concentración de N. En otro reporte⁽³⁹⁾ al evaluar guisantes (*Pisum sativum* ssp. *sativum*), afirmaron que el peso de los nódulos estaba

relacionado positivamente con el rendimiento de materia verde del cultivo. Por otro lado, en el cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) la presencia de micorrizas tuvo influencia en el peso de los nódulos⁽⁴⁰⁾.

Se ha sugerido que los nódulos de las raíces de las leguminosas establecen un nicho ecológico para la supervivencia y el crecimiento de otras bacterias^(41,42). Wigley *et al*⁽⁴³⁾ concluyeron que los nódulos contienen diversas especies bacterianas en alfalfa (*Medicago sativa*) y que la densidad de población de estas bacterias están en el rango de 10^4 bacterias viables por gramo de tejido de nódulo de leguminosa fresco⁽⁴⁴⁾.

Se ha denominado consorcio de microorganismos (CM) a la mezcla de dos o más especies o cepas microbianas, que viven juntas simbióticamente; generalmente un CM funciona mejor que la inoculación de una sola especie⁽⁴⁵⁾. Ye *et al*⁽⁴⁶⁾ también encontraron una mayor abundancia de moléculas derivadas de microbios en la plantación de leguminosas. Al evaluar el impacto de la co-inoculación de *Rhizobium* sp. y *Azospirillum* sp. en el crecimiento trébol rojo y obtuvieron una mayor desarrollo de los nodulos que al inocular *Rhizobium* solo⁽⁴⁷⁾. La interacción de estas cepas forma un CM que potencializan el crecimiento radicular y rendimientos de los cultivos⁽⁴⁸⁾. Por otro lado, se afirma⁽⁴⁹⁾ que el contenido de carbono orgánico del suelo mejora las actividades microorganismos, y que actúa como un depósito de nutrientes del suelo y biológicamente aumenta el suministro de energía a los microbios⁽⁵⁰⁾.

Por lo expuesto, el mayor peso de los nódulos en la localidad Machachi pudo deberse a la mejor disponibilidad de fósforo y carbono orgánico en suelo, permitiendo el desarrollo de microorganismos en general, y potencializaron la asociación leguminosa-*Rhizobium*.

La inoculación de leguminosa forrajeras debe ser una estrategia para mejorar la fijación de N, ya que los suelos pueden ser deficientes en número y calidad de rizobios autóctonos para mejorar la productividad de las plantas⁽⁵¹⁾. Trabajos realizados en Ecuador inoculando cepas nativas de *Bradyrhizobium japonicum* en el cultivo de soya (*Glycine max* L.), evidenciaron un mayor crecimiento del cultivo⁽⁵²⁾. Granda-Mora *et al*⁽¹⁵⁾ seleccionaron cepas nativas de *Rhizobium* sp. para frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Ecuador, asegurando que el inoculante bacteriano obtenido estimulaba el crecimiento y rendimiento del frijol. Esto abre un puerta al uso potencial de cepas nativas para forrajeras, como en Argentina, donde obtuvieron mejoras de un 73 % en *Desmanthus virgatus* una forrajera nativa inoculada con rizobios nativos⁽⁵³⁾ o Brasil, donde identificaron cepas nativas para *Leucaena leucocephala* y obtuvieron una mayor producción de biomasa y acumulación de N⁽⁵⁴⁾.

El potenciar la capacidad de fijación de N en las leguminosas es una herramienta que permite reducir el uso de fertilizante N en la producción de pasturas⁽⁵⁵⁾. Las asociaciones forrajeras de gramíneas y leguminosas aumentan la producción y calidad de forraje para el ganado⁽⁵⁶⁾. Además presentan ventajas frente a la fertilización nitrogenada, que tiene efectos colaterales

adversos: contaminación de agua por $\text{NO}_3^{-(57)}$ y producción de N_2O , un gas de efecto invernadero⁽⁵⁸⁾.

La temperatura tiene un rol importante en el monocultivo de raigrás. Se detectaron diferencias entre especies respecto a la acumulación de biomasa radicular: mayor en el trébol rojo. En suelos de mayor fertilidad como Machachi, se observó un mayor número y peso de nódulos. La capacidad de nodulación fue diferente entre las leguminosas; en términos generales el trébol blanco tuvo un mayor número y peso de nódulos que el trébol rojo. Las especies pudieron adaptarse a los diferentes ambientes, el trébol rojo tuvo una mejor nodulación en las condiciones de Tumbaco, mientras que el trébol blanco fue mejor en Machachi. La cantidad de semilla de trébol a utilizar en la mezcla con raigrás perenne más aconsejable es 5 kg por hectárea, que permite lograr un mayor número y peso de nódulos, también realizar mezclas con tréboles blanco y rojo en 2.5 kg de cada uno.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación de la Universidad Central del Ecuador por financiar la investigación.

Conflicto de interés

Los autores manifiestan que no existen conflictos de interés en este estudio.

Literatura citada:

1. Paredes M, Becerra V, Donoso ÑG, Olmos S, Rodríguez R. Morfología y estados de crecimiento y desarrollo de la planta de arroz. 100 años del cultivo del arroz en Chile en un contexto internacional. 1920-2020 / Paredes M, *et al.* editores. INIA Chile, 2021; Tomo II, 408-445. INIA Chile. <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/15751>.
2. Ramos-Hernández E, Martínez-Sánchez JL. Almacenes de biomasa y carbono aéreo y radicular en pastizales de *Urochloa decumbens* y *Paspalum notatum* (Poaceae) en el sureste de México. *Rev Biol Trop* 2020;68(2):440-451.
3. Poorter H, Nagel O. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO_2 , nutrients and water: a quantitative review. *Functional Plant Biol* 2000;27(12):1191-1191. https://www.publish.csiro.au/fp/pp99173_co.
4. Rasche AJW, Gomez EJ, Fatecha Fois DA, Leguizamón RCA, Rasche AJW, Gomez EJ, *et al.* Compactación del suelo y su efecto en el crecimiento vegetativo de soja, maíz y guandú. *Invest Agraria* 2020;22(1):13-21.

5. Viana W, Scharwies JD, Dinneny JR. Deconstructing the root system of grasses through an exploration of development, anatomy and function. *Plant, Cell Environ* 2022;45(3):602-19. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.14270>.
6. Lattanzi F. Crecimiento de plantas forrajeras. En: *Producción animal en pastoreo*. 2.^a ed. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2011.
7. Rodríguez-Navarro D, Lorite MJ, Temprano Vera FJ, Camacho M. Selection and characterization of Spanish *Trifolium*-nodulating rhizobia for pasture inoculation. *Syst Applied Microbiol* 2022;45(2):126290. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202021001132>.
8. Palmero F, Fernandez JA, Garcia FO, Haro RJ, Prasad PVV, Salvagiotti F, *et al.* A quantitative review into the contributions of biological nitrogen fixation to agricultural systems by grain legumes. *European J Agr* 2022;136:126514. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1161030122000624>.
9. Matse DT, Huang CH, Huang YM, Yen MY. Nitrogen uptake and growth of white clover inoculated with indigenous and exotic *Rhizobium* strains. *J Plant Nut* 2020; 43(13):2013-27. <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1758134>.
10. Goyal RK, Mattoo AK, Schmidt MA. Rhizobial–host interactions and symbiotic nitrogen fixation in legume crops toward agriculture sustainability. *Front Microbiol* 2021;2. <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.669404/full>.
11. Ramana JV, Griffiths AG, Hofmann RW, Ridgway HJ. Nodule occupancy of effective rhizobia vary between historical and modern cultivars of white clover. *NZ J Agr Res* 2024;0(0):1-15. <https://doi.org/10.1080/00288233.2024.2331687>.
12. INEC. Instituto nacional de estadísticas y censos. 2022. Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>.
13. INAMHI. Atlas climático de Pichincha. Gobierno autónomo descentralizado de Pichincha, editor. Instituto Nacional de Meteorología E Hidrología; 2018 <https://www.pichincha.gob.ec/pichincha/datos-de-la-provincia/95-informacion-general>.
14. García L, Schlatter J. Caracterización de suelos a lo largo de un gradiente altitudinal en Ecuador. *Rev Brasil Ciênc Agr* 2012;7(3):456-64. <http://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/article/view/v7i3a1736>.

15. Granda-Mora K, Correa-Ullauri C, Collahuazo-Reinoso Y, Robles-Carrión Á. Inoculantes microbianos comerciales con PGPR sobre variables productivas y económicas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Agr Mesoamericana 2024;55654-55654. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/55654>.
16. León R, Bonifaz N, Gutiérrez F. Pastos forrajes del Ecuador: siembra y producción de pasturas. 2018. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19019>.
17. Rodríguez I, Hernández L, Crespo G, Sandrino B. Comportamiento de la fitomasa subterránea en diferentes pastizales de la provincia Mayabeque, Cuba. 2013; <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193028751016>.
18. Bécquer C. Potencial de formación de nódulos en leguminosas forrajeras y de granos de rizobios, nativos de Sancti Spiritus, Cuba. Rev Cubana Cienc Agr 2014;48(3):301-307. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193032133017.pdf>.
19. Eastman I, Alonso V, Armand Ugón V, Rondoni M, Ferreira V, Rodriguez C, *et al.* Capacidad de promoción del crecimiento vegetal de beta-rizobios simbiotes de leguminosas nativas. Segundo Simposio de Microorganismos para la Agricultura INIA Las Brujas, 2022. <https://redi.anii.org.uy/jspui/handle/20.500.12381/3620>.
20. Ansín OE, Oyhamburu EM, Hoffmann EA, Vecchio MC, Ferragine MC. Distribución de raíces en pastizales naturales y pasturas cultivadas de La Pampa Deprimida Bonaerense y su relación con la biomasa forrajera. Rev Facultad Agr La Plata. 2015;103(2):141-148. <http://revista-vieja.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/221>
21. Wedderburn M, Crush J, Pengelly W, Walcroft J. Root growth patterns of perennial ryegrasses under well-watered and drought conditions. NZ J Agr Res 2010;53(4):377-388. <https://doi.org/10.1080/00288233.2010.514927>.
22. Di Rienzo J, Balzarini M, Gonzalez L, Casanoves F, Tablada M, Walter Robledo C. Infostat: software para análisis estadístico. Universidad Nacional de Cordova. 2010. <https://www.infostat.com.ar/>.
23. Walne C, Reddy K. Temperature effects on the shoot and root growth, development, and biomass accumulation of corn (*Zea mays* L.). Agriculture 2022;12(4):443. <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/4/443>.
24. Houde S, Thivierge MN, Fort F, Bélanger G, Chantigny MH, Angers DA, *et al.* Root growth and turnover in perennial forages as affected by management systems and soil depth. Plant Soil 2020;451(1):371-387. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04532-1>.

25. Huot C, Zhou Y, Philp JNM, Denton MD. Root depth development in tropical perennial forage grasses is related to root angle, root diameter and leaf area. *Plant Soil* 2020;456(1):145-58. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04701-2>.
26. Cougnon M, Deru J, Eekeren N van, Baert J, Reheul D. Root depth and biomass of tall fescue vs. perennial ryegrass. In: Helgadóttir A, Hpkins A eds. The role of grasslands in a green future: threats and perspectives in less favoured areas. Proceed 17th Symp European Grassland Federation. Akureyri, Iceland; 2013. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133335529>.
27. Nichols S, Hofmann R, Williams W. Effect of hybridization with *Trifolium uniflorum* on tap root survival in white clover. *NZ J Agr Res* 2015;58(4):371-383. <https://doi.org/10.1080/00288233.2015.1071711>.
28. Janssen PWL, Hoekstra NJ, van der Schoot JR, van Eekeren N. White clover (*Trifolium repens*) population dynamics are partly dependent on timing of seminal taproot death. *Grass Forage Sci* 2023;78(1):173-183. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gfs.12598>.
29. Echeverría H, Sainz Rosas H. Nitrógeno. En: Echeverría H, García F, editores. Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos. 2.^a ed. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2014.
30. Xie K, Wang Y, Wan J, Zhang S, Sui X. Mechanisms and factors affecting nitrogen transfer in mixed legume/grass swards: A review. 2020;29(3):157-70. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20219975556>.
31. Reilly EC, Gutknecht JL, Tautges NE, Sheaffer CC, Jungers JM. Nitrogen transfer and yield effects of legumes intercropped with the perennial grain crop intermediate wheatgrass. *Field Crops Res* 2022;286:108627. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378429022001988>.
32. Dicenzo G, Tesi M, Pfau T, Mengoni A, Fondi M. Genome-scale metabolic reconstruction of the symbiosis between a leguminous plant and a nitrogen-fixing bacterium. *Nat Commun* 2020;11(1):2574. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16484-2>.
33. Ferguson B, Mens C, Hastwell A, Zhang M, Su H, Jones C, *et al.* Legume nodulation: The host controls the party. *Plant Cell Environ* 2019;42(1):41-51. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.13348>.

34. Isidra-Arellano MC, Reyero-Saavedra MDR, Sánchez-Correa MDS, Pingault L, Sen S, Joshi T, *et al.* Phosphate deficiency negatively affects early steps of the symbiosis between common bean and rhizobia. *Genes* 2018;9(10):498. <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/10/498>.
35. Reid D, Ferguson B, Gresshoff PM. Inoculation- and Nitrate-induced CLE peptides of soybean control NARK-dependent nodule formation. *Mol Plant-Microbe Int* 2011;24(5):606-618. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/MPMI-09-10-0207>.
36. Dixon R, Kahn D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(8):621-631. <https://www.nature.com/articles/nrmicro954>.
37. Hernández G, Valdés-López O, Ramírez M, Goffard N, Weiller G, Aparicio-Fabre R, *et al.* Global changes in the transcript and metabolic profiles during symbiotic nitrogen fixation in phosphorus-stressed common bean plants. *Plant Physiol* 2009;151(3):1221-1238. <https://doi.org/10.1104/pp.109.143842>.
38. Dubach M, Russelle MP. Forage legume roots and nodules and their role in nitrogen transfer. *Agronomy J* 1994;86(2):259-66. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/agronj1994.00021962008600020010x>.
39. Vasileva V, Kosev V. Evaluation of nodule related components and forage productivity in Pea (*Pisum sativum* L.) genotypes. *Int J Pharmacy Life Sci* 2015;6(2):4230-4237. <http://www.ijplsjournal.com/issues%20PDF%20files/2015/February-2015/3.pdf>.
40. Adinurani PG, Rahayu S, Purbajanti ED, Siskawardani DD, Stankevica K, Setyobudi RH. Enhanced of root nodules, uptake NPK, and yield of peanut plant (*Arachis hypogaea* L.) using rhizobium and mycorrhizae applications. *SJA* 2021;37(s1). <http://researcherslinks.com/current-issues/Enhanced-Root-Nodules-Uptake-NPK/14/29/3832/html>.
41. Muresu R, Polone E, Sulas L, Baldan B, Tondello A, Delogu G, *et al.* Coexistence of predominantly nonculturable rhizobia with diverse, endophytic bacterial taxa within nodules of wild legumes. *FEMS Microbiol Ecol* 2008;63(3):383-400. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00424.x>.
42. Deng Z, Zhao L, Kong Z, Yang W, Lindström K, Wang E, *et al.* Diversity of endophytic bacteria within nodules of the *Sphaerophysa salsula* in different regions of Loess Plateau in China. *FEMS Microbiol Ecol* 2011;76(3):463-475. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01063.x>.

43. Wigley K, Moot D, Wakelin SA, Laugraud A, Blond C, Seth K, *et al.* Diverse bacterial taxa inhabit root nodules of lucerne (*Medicago sativa* L.) in New Zealand pastoral soils. *Plant Soil* 2017;420(1):253-262. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3395-6>.
44. Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, Nowak J. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biol Fertil Soils* 1997;25(1):13-19. <https://doi.org/10.1007/s003740050273>.
45. Behera B, Das T, Raj R, Ghosh S, Raza M, Sen S. Microbial consortia for sustaining productivity of non-legume crops: prospects and challenges. *Agric Res* 2021;10(1):1-14. <https://doi.org/10.1007/s40003-020-00482-3>.
46. Ye Q, Wang Y, Huang W, Li L, Li J, Zheng Y, *et al.* Dissolved organic matter characteristics in soils of tropical legume and non-legume tree plantations. *Soil Biol Biochem* 2020;148:107880. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071720301772>.
47. Furtak K, Gawryjole K, Galazka A, Gradziel J. The response of red clover (*Trifolium pratense* L.) To separate and mixed inoculations with *Rhizobium leguminosarum* and *Azospirillum brasilense* in presence of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int J Environm Res Pub Health* 2020;17(16):5751. <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/16/5751>
48. Mir M, Mukkamula N, Kiran B, Raghu K, Parray J, Khan I, *et al.* Impact of microbial consortium of *Rhizobium tropici* and *Rhizobium mayense* on the growth of *Phaseolus vulgaris* L. *South African J Botany* 2024;168:562-572. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629924002217>.
49. Al Virk A, Lin B, Kan Z, Qi J, Dang Y, Lal R, *et al.* Simultaneous effects of legume cultivation on carbon and nitrogen accumulation in soil. In: *Advances in Agronomy*. Academic Press; 2022:75-110. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S006521132100081X>.
50. Bailey V, Smith J, Bolton H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biol Biochem* 2002;34(7):997-1007. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071702000330>.
51. Abdulahi A, Howieson J, O'Hara G, Terpolilli J, Tiwari R, Yusuf A. History of rhizobia inoculants use for improving performance of grain legumes based on experience from Nigeria. En: Sutton M, Mason K, editors. *Just enough nitrogen perspectives on how to get there for regions with too much and too little nitrogen. Just Enough Nitrogen*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing; 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-58065-0>.

52. Soto-Valenzuela J, Catuto-Suárez A, Álvarez-Vera M. Evaluación del crecimiento y nodulación de plantas de soya (*Glycine max*) inoculadas con *Rhizobium* y *Bradyrhizobium japonicum* en Manglaralto, Santa Elena (Ecuador). *Rev Cient Tecnol UPSE* 2021;8(2):27-32. <https://incyt.upse.edu.ec/ciencia/revistas/index.php/rctu/article/view/577>.
53. Fornasero LV, Zuber NE, Toniutti MA, del Papa MF, Pensiero JF, Lagares A. Caracterización feno-genotípica y simbiótica de rizobios aislados de *Desmanthus Virgatus* (L.) Willd. en suelos de la provincia de Jujuy (Argentina). *Fave Sección Ciencias Agrarias*. 2021;20(1):247-64. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1666-77192021000100247&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
54. Hinojosa JGC, Araujo FDS, Sá ELSD. Rizobios nativos eficientes en la fijación de nitrógeno en *Leucaena leucocephala* en Rio Grande do Sul, Brasil. *Biotechnol Sector Agropecu y Agroind* 2021;19(1):128-138. <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotechnologia/article/view/1482>.
55. Hasanuzzaman M, Araújo S, Sarvajeet S. The plant family fabaceae biology and physiological responses to environmental stresses. Singapore: Springer Nature Singapore; 2020. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4752-2>.
56. Bondaruk V, Lezama F, del Pino A, Piñeiro G. Overseeding legumes in natural grasslands: Impacts on root biomass and soil organic matter of commercial farms. *Sci Total Environ* 2020;15:140771. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720342959>.
57. Lv H, Lin S, Wang Y, Lian X, Zhao Y, Li Y, *et al*. Drip fertigation significantly reduces nitrogen leaching in solar greenhouse vegetable production system. *Environm Pollution* 2019;245:694-701. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749118340405>.
58. Gutiérrez-León F, Lastra-Bravo X, Cali V. Estimación de la huella de carbono de las ganaderías de leche de la zona andina del Ecuador: huella de carbono de ganaderías de leche del Ecuador. *Chilean J Agr Anim Sci* 2023;39(3):305-318. <https://revistas.udec.cl/index.php/chjaas/article/view/10600>.