

PRODUCCIÓN DE ASOCIACIONES DE GRAMÍNEAS Y LEGUMINOSAS FORRAJERAS TRATADAS CON INOCULANTES BACTERIANOS (*Azotobacter spp.* y *Pseudomonas fluorescens*)

PRODUCTION OF ASSOCIATIONS OF GRASSES AND FORAGE LEGUMES TREATED WITH BACTERIAL INOCULANTS (*Azotobacter spp.* and *Pseudomonas fluorescens*)

Roger Pincay-Ganchozo^{1a*}, Ricardo Luna-Murillo², Carlos Molina-Hidrovo^{1b} y Manuel Carrillo-Zenteno^{1c}

^{1a} Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Tropical Pichilingue, km 5 vía Quevedo-El Empalme (120313), Los Ríos, Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-3554-4927>

^{1b} Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Tropical Pichilingue, km 5 vía Quevedo-El Empalme (120313), Los Ríos, Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-4980-2667>

^{1c} Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Estación Experimental Tropical Pichilingue, km 5 vía Quevedo-El Empalme (120313). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Av. Quito km 1.5 vía a Santo Domingo (120501), Los Ríos, Ecuador
<https://orcid.org/0000-0001-7062-8248>

² Universidad Técnica de Cotopaxi. Extensión La Maná. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Dirección Av. Los Almendros y Pujilí (2688443), Cotopaxi, Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-9078-9302>

* Autor para correspondencia: roger.pincay@iniap.gob.ec

RESUMEN

La producción ganadera en Ecuador enfrenta el desafío de mejorar la productividad de los pastos de manera sostenible, procurando mantener la economía del sector frente a las fluctuaciones en los precios de la carne y de insumos como los fertilizantes. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la producción de biomasa, concentración bromatológica y población microbiológica de las asociaciones de los pastos festuca (*Festuca arundinacea*) y ray grass (*Lolium multiflorum*), asociados con trébol rojo (*Trifolium pratense*) y alfalfa (*Medicago sativa*) e inoculados con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Se evaluaron los siguientes inoculantes bacterianos: *Azotobacter chroococum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter beijerinck*, *Pseudomonas fluorescens*, y un testigo. Las asociaciones de gramíneas y leguminosas (relación 2:2) estuvieron distribuidas en un diseño de bloques con arreglo de parcelas subdivididas y tres repeticiones. Se destinaron edades de cosechas que fueron 30 y 60 días después de la siembra (DDS) y se evaluaron las siguientes variables: longitud de raíz, peso de raíz, concentración de proteínas, ceniza, extracto etéreo, fibra y materia seca. Se encontró que el pasto *L. multiflorum* asociado con *M. sativa* e inoculado con + *A. beijerinck* tuvo la mayor biomasa seca (2454,75 kg ha⁻¹) y la leguminosa *M. sativa* asociada con *F. arundinacea* e inoculada con *A. vinelandii*, presentó la mayor biomasa seca (1464,40 kg ha⁻¹) a los 60 DDS. Las mayores concentraciones de proteínas con el inoculante *A. beijerincki* en los forrajes de *F. arundinacea* + *T. pratense* y *L. multiflorum* + *T. pratense* fueron 28,12% y 26,87%, respectivamente. Se evidenció

que los inoculantes bacterianos serían una estrategia amigable con el medio ambiente para mejorar la morfo-productividad y calidad nutricional de las especies forrajeras.

Palabras clave: Forraje, bromatología, microorganismos, poáceas, fabáceas.

ABSTRACT

Livestock production in Ecuador faces the challenge of sustainably improving pasture productivity to maintain sectoral economic viability in the face of fluctuating prices of meat and inputs such as fertilizers. The objective of this study was to evaluate the biomass production, bromatological concentration, and microbiological population of associations of fescue grass (*Festuca arundinacea*) and ryegrass (*Lolium multiflorum*) associated with red clover (*Trifolium pratense*) and alfalfa (*Medicago sativa*), and inoculated with plant growth-promoting rhizobacteria. The following bacterial inoculants were evaluated: *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter beijerinck*, *Pseudomonas fluorescens*, and a control. The associations of grasses and legumes (2:2 ratio) were distributed in a block design with a subdivided plot arrangement and three replications. Harvest ages of 30 and 60 days after sowing (DDS) were allocated, and the following variables were evaluated: root length, root weight, protein concentration, ash, ether extract, fiber, and dry matter. It was found that the grass *L. multiflorum* associated with *M. sativa* and inoculated with + *A. beijerinck* had the highest dry biomass (2454.75 kg ha⁻¹) and the legume *M. sativa* associated with *F. arundinacea* and inoculated with *A. vinelandii* showed the highest dry biomass (1464.40 kg ha⁻¹) at 60 DDS. The highest concentrations of proteins with the inoculant *A. beijerinck* in the forages of *F. arundinacea* + *T. pratense* and *L. multiflorum* + *T. pratense* were 28.12% and 26.87%, respectively. It was evidenced that bacterial inoculants represent an environmentally friendly strategy to improve the morpho-productivity and nutritional quality of forage species.

Keywords: Forage, bromatology, microorganisms, grasses, legumes.

INTRODUCCIÓN

Los pastos son una fuente de alimento económico para producir carne y leche, a nivel mundial se considera que el 67% de la superficie agrícola está ocupada para la producción de pasturas (FAOSTAT, 2023). Sin embargo, en las últimas décadas han sido severamente afectadas por el calentamiento global (Joseph et al., 2025), que ha inducido limitaciones hídricas en los campos, disminuyendo la producción de biomasa y demanda de alimento para el ganado (Wang et al., 2025).

Otro factor, no menos importante es que los agricultores poseen un conocimiento limitado del manejo de los forrajes como la edad de corte y gestión de fertilización, que influyen en la calidad nutricional (Rouquette y Aiken, 2020).

En Ecuador, existen 2.323.582 ha de pastos cultivados; en la región litoral se concentra la mayor superficie (50,89%), seguida de la Sierra (32,42%) y Amazonía (16,17%). Las principales provincias con mayor extensión de pasturas son Manabí, Esmeraldas, Morona Santiago, Pichincha y Bolívar, que, en conjunto, abarcan el 50,06% de la superficie plantada a nivel nacional (INEC, 2024).

El presente año (2025), la producción ganadera en Ecuador enfrenta el desafío de

mejorar la productividad de los pastos de manera sostenible, procurando mantener la economía del sector frente a las fluctuaciones en los precios de la carne y de insumos como los fertilizantes. La aplicación de tecnologías amigables con el medio ambiente, como bioestimulantes, aminoácidos u otros insumos orgánicos que son de fácil acceso y económicos, llegan a mejorar el potencial de los cultivos con mínimo impacto en el ambiente. En sistemas ganaderos también se ha demostrado que la adición de especies de leguminosas a las pasturas de gramíneas aumenta el valor nutritivo, el rendimiento del forraje y su distribución estacional (Castro et al., 2012; Zegler et al., 2020).

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) son un grupo heterogéneo de microorganismos que estimulan el crecimiento de las plantas de manera directa e indirecta (Singh et al., 2020). En el caso de la estimulación directa, esta concierne a la producción de metabolitos que influyen en la elongación celular o mejoran la biodisponibilidad de nutrientes (Kumar et al., 2018); en cambio, los mecanismos indirectos están involucrados en suprimir el crecimiento de agentes patógenos que ocasiona daños a la salud de las plantas (Pratibha y Krishna 2015).

En estudios previos se han encontrado efectos beneficiosos de la asociación de leguminosas con gramíneas forrajeras inoculadas con

microorganismos promotores del crecimiento vegetal. Por ejemplo, Pincay-Ganchozo et al. (2020) encontraron que el pasto *Andropogon gayanus* asociado con *Pueraria phaseloides* e inoculado con *Azotobacter beijerinckii* tuvo mejor producción de forraje y longitud de raíz. En condiciones subtropicales, Espinoza-Coronel et al. (2020) observaron que la inoculación de micorrizas en *Clitoria ternatea* mejora la producción del forraje. Mientras que, Bolaños-Aguilar et al., (2024) encontraron que el pasto mombaza (*Panicum maximum* cv. Mombasa), en monocultivo bajo época seca tiene menor producción (2.963 kg ha⁻¹) que cuando se asocia con *P. phaseloides* (3.771 kg ha⁻¹). Por otra parte, Espinales-Suárez et al. (2021), en condiciones tropicales, estudiaron las asociaciones de *Brachiaria decumbens* + *Clitoria ternatea* y *Brachiaria híbrido* cv. Mulato + *Clitoria ternatea*, inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal, y detectaron que los inoculantes *Pseudomonas fluorescens* y *Azotobacter vinelandii* mejoran el crecimiento de los pastos y su composición bromatológica.

Las asociaciones de gramíneas y leguminosas forrajeras representan una estrategia agronómica eficiente, ya que permiten complementar el aporte energético y proteico para la alimentación ganadera. Sin embargo, su producción es limitada por diferentes condiciones edafoclimáticas (Trump et al., 2025). Las BPCV son una alternativa biológica de bajo costo para incrementar la eficiencia productiva en los sistemas forrajeros, al reducir la dependencia de fertilizantes sintéticos y mejorar el aprovechamiento de recursos naturales (Zhang et al., 2024). Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia de las BPCV en la producción y calidad nutricional de asociaciones de gramíneas y leguminosas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El estudio se desarrolló en la parroquia Marcos Espinel del cantón Pillaro, provincia de Tungurahua, Ecuador. El predio se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas este 77°51'3" y norte 98°70'29" y a una altura de 2.879 metros sobre el nivel del mar. Las características climáticas de la localidad son las siguientes: temperatura media anual de 13,80 °C; humedad relativa, 80%; heliofonía de 1.551 hora luz año⁻¹ y 699,20 mm año⁻¹ de precipitación (INAMHI, 2023).

Características físicas y químicas del suelo

El suelo tuvo un pH de 7,60, conductividad eléctrica, 0,46 dS m⁻¹, materia orgánica, 2,31%, y concentraciones de nutrientes de: NH₄⁺ 37,40 mg

kg⁻¹, P 31,42 mg kg⁻¹, S 6,37 mg kg⁻¹, K 0,95 meq 100 g⁻¹, Ca 17,00 meq 100 g⁻¹, Mg 2,90 meq 100 g⁻¹, B 0,25 mg kg⁻¹, Fe 226,00 mg kg⁻¹, Zn 2,70 mg kg⁻¹ y Mn 31,80 mg kg⁻¹.

Diseño experimental

El experimento estuvo bajo un diseño de parcelas subdivididas con tres réplicas; factor A: pastos (*Festuca arundinacea* y *Lolium multiflorum*) B: leguminosas (*Medicago sativa* y *Trifolium pratense*) y C: inoculantes bacterianos (*Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter beijerinckii*, *Pseudomonas fluorescens* y testigo sin inoculantes); la unión de los tres factores reflejó un total de 20 tratamientos y 60 unidades experimentales (UE). En cada UE se sembraron dos plantas de pastos y dos de leguminosas (relación 2:2) sobre macetas de 45,45 kg con suelo del sitio de estudio. Se obtuvo 60 plantas de *Festuca arundinacea*, *Lolium multiflorum*, *Medicago sativa* y *Trifolium pratense*, respectivamente, dando un total de 240 plantas.

Los pastos y leguminosas se obtuvieron por semillas, el suelo se mantuvo capacidad de campo con riegos diarios de 1 L por cada maceta de 45,45 kg, el control de malezas fue manual con frecuencia quincenal. Previo al estudio, los inoculantes (*A. chroococcum*, *A. vinelandii*, *A. beijerinckii*) se detectaron y aislaron de muestras de suelo del sitio de estudio que fueron enviadas a laboratorios de la Pontífice Universidad Católica del Ecuador, donde, después, se crearon bioformulados, excepto el inoculante *P. fluorescens*, que fue obtenido comercialmente; todos los inoculantes se aplicaron a los 10 DDS de las especies forrajeras, a razón de 250 mL L⁻¹ de agua, este mismo volumen recibió cada maceta.

Variables evaluadas

Indicadores de crecimiento y producción

A los 30 y 60 DDS se hizo un muestreo destructivo y se evaluó la longitud de raíces (cm) y peso de raíces (g planta⁻¹), en las cuatro especies forrajeras. El largo de raíz se midió con una cinta métrica, desde la base del tallo hasta la cofia de la raíz. La variable peso fresco de raíces se calculó considerando el peso de las unidades experimentales que fueron pesadas en una balanza de precisión de una casa decimal, luego de haber sido lavadas con agua potable. Para la materia seca se pesó individualmente de las leguminosas y gramíneas forrajeras, después de haber sido introducidas en estufa a 105 °C por 72 h.

Análisis bromatológico y microbiológico

En cada asociación se combinó el forraje de gramíneas y leguminosas por cada tratamiento y

se obtuvo una muestra compuesta; se enviaron al laboratorio AGROLAB, donde se hicieron análisis bromatológicos (humedad, proteína, grasa, ceniza y fibra) a los 30 y 60 DDS, empleando el método propuesto por la AOAC (1990).

Al final del estudio se determinó la composición microbiológica de la rizósfera de cada asociación de gramíneas y leguminosas; la recolección de la muestra se hizo después de cosechar toda la planta, las muestras se obtuvieron cubriendo con una cubierta plástica, en conjunto, las raíces de ambas especies forrajera, eliminando el suelo adherido. Se obtuvo una muestra generalizada en cada tratamiento, sin repeticiones y su composición microbiológica se analizó en el Centro de Investigaciones de Palma Aceitera-CIPAL, donde se utilizaron los métodos descritos por Sánchez-Yáñez et al. (2007), medios selectivos: para bacterias (agar nutritivo), hongos (agar Rosa de bengala), Actinomicetes (agar caseína), solubilizadores de fósforo (Agar Ramos callao), celulolíticos (agar extracto de suelo) y fijadores de nitrógeno de vida libre (agar Watanabe).

Análisis de datos

Los datos se sometieron a pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianza (Bartlett) y fueron analizados a través del ANOVA de tres vías para un diseño de parcela subdividida. En aquellas variables que arrojaron diferencias significativas en dicho análisis, se compararon sus tratamientos a través de la prueba post hoc de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0,05$, para detectar la posible interacción entre especies forrajeras e inoculantes bacterianos. Además, se realizó la correlación de Pearson entre todas las variables dependientes. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando la versión 19.1.0 del Software Minitab (Minitab LLC, State College, PA, USA). Todos los gráficos fueron creados con SigmaPlot versión 12 (Systat Software, San José, CA, EE. UU.). Los resultados bromatológicos y microbiológicos no fueron analizados estadísticamente, debido a que en cada tratamiento se obtuvo una muestra representativa y no por réplica.

RESULTADOS

Efecto de los tratamientos en la morfometría de raíces de gramíneas forrajeras y su producción

En la variable longitud de raíz solo los inoculantes bacterianos mostraron diferencias estadísticas ($p < 0,0348$) a los 60 DDS. En comparación con el testigo, se observó que *A. chroococcum* incrementó 40,78 y 17,61% más la longitud de raíz a los 30 y 60 DDS, respectivamente.

En la variable de peso fresco de raíz no se

encontraron diferencias estadísticas entre pastos, leguminosas e inoculantes en ningún tiempo de evaluación (30 y 60 DDS).

En cambio, en el peso de forraje se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,0001$), independientemente entre gramíneas forrajeras, observándose que el pasto *Lolium multiflorum* produjo a los 30 y 60 DDS, 147,32 y 82,03%, respectivamente, más biomasa forrajera que el pasto *Festuca arundinacea*. También la producción de forraje de los pastos mostró diferencias significativas en la interacción (pastos x leguminosas x inoculantes) a los 30 ($p < 0,0248$) y 60 DDS ($p < 0,0001$) (Fig. 1).

A los 30 DDS se evidenció que la asociación del pasto *L. multiflorum* con la leguminosa *M. sativa* e inoculada con *A. vinelandii* tuvo el mejor rendimiento de materia seca (1.544,06 kg ha⁻¹), seguido con la inoculación de *P. fluorescens* (1.537,17 kg ha⁻¹), en comparación con el tratamiento *F. arundinacea* + *T. pratense* + *A. chroococcum* que alcanzó el menor valor con 250,69 kg ha⁻¹ (Fig. 1A).

En este mismo tiempo (30 DDS), al comparar el efecto de los inoculantes bacterianos dentro de la asociación del pasto *F. arundinacea* con las dos leguminosas, se encontró que asociado con *M. sativa* e inoculado con *A. vinelandii* tuvo la mayor producción de biomasa seca (654,71 kg ha⁻¹), seguido cuando se asocia con *T. pratense* + *P. fluorescens* (579,11 kg ha⁻¹).

A los 60 DDS, en el tratamiento *L. multiflorum* + *M. sativa* + *A. beijerinck* se obtuvo el mayor rendimiento materia seca (2.454,75 kg ha⁻¹), en relación al tratamiento *F. arundinacea* + *M. sativa* que tuvo el menor rendimiento de biomasa seca 358,50 kg ha⁻¹ (Fig. 1B). Sin embargo, *F. arundinacea* alcanzó su mayor rendimiento cuando fue asociado con *T. pratense* e inoculado con *A. vinelandii* (1165,21 kg ha⁻¹).

Efecto de los tratamientos en el crecimiento y materia seca de las leguminosas

En la variable longitud de raíz solo se encontraron diferencias estadísticas a los 30 DDS ($p < 0,0376$), independiente en el factor pastos, evidenciándose que con *F. arundinacea* las leguminosas tuvieron la mayor longitud radicular, alcanzando un promedio de 21,57 cm. Independientemente en las leguminosas se detectó que alfalfa tuvo la mayor longitud de raíz a los 30 y 60 DDS, con promedios de 21,90 y 28,70 cm, respectivamente.

En el peso de raíz leguminosas, el pasto *F. arundinacea* influyó en obtener una mayor biomasa de raíces de leguminosas a los 30 y 60 DDS con 2,17 y 3,25 g planta⁻¹, respectivamente.

La variable materia seca de las leguminosas

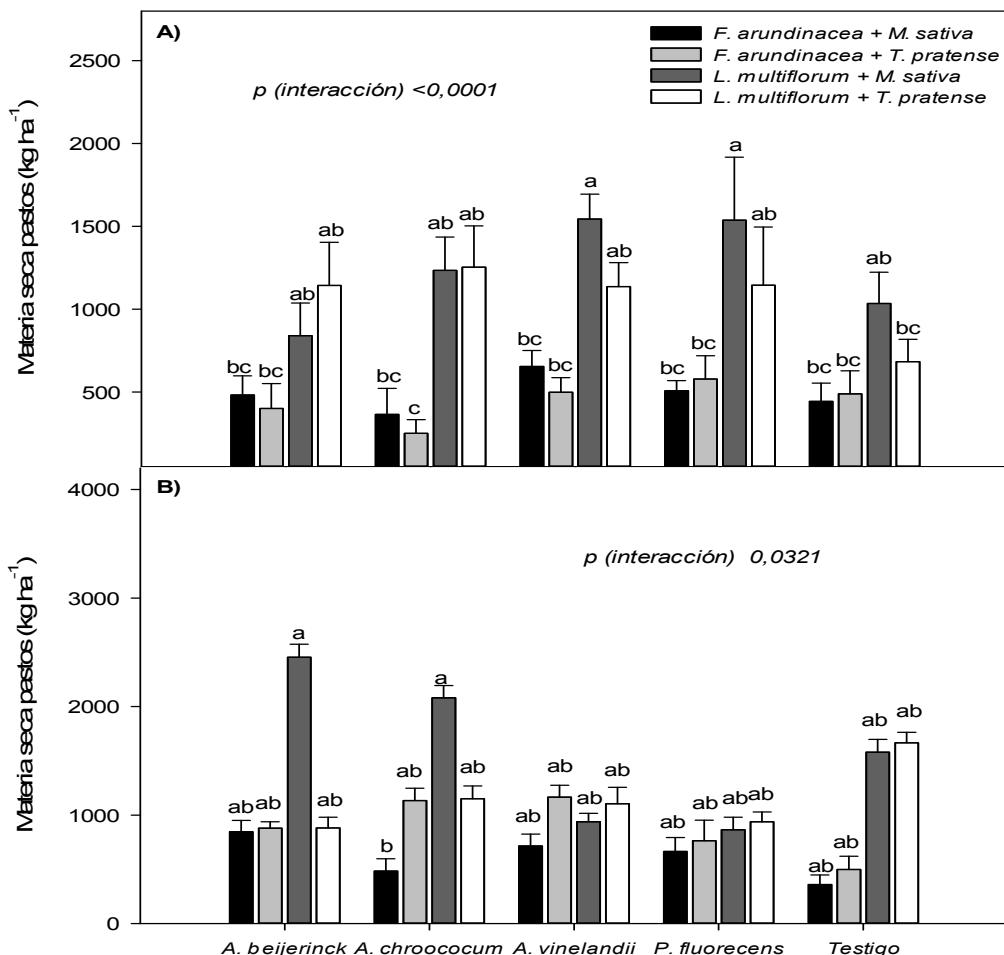


Fig. 1. Producción de forraje de los pastos a los 30 (A) y 60 DDS (B), en las asociaciones con leguminosas e inoculantes bacterianos promotores del crecimiento vegetal. Los valores de *p* indican el efecto de los factores sobre las variables dependientes después de un ANOVA de tres vías (pastos x leguminosas x inoculantes). Las barras verticales representan la media \pm DS ($n = 12$). Diferentes letras sobre las barras muestran diferencias estadísticas entre los tratamientos ($p < 0,05$).

Fig. 1. Forage production of the grasses at 30 (A) and 60 DDS (B), in associations with legumes and plant growth-promoting bacterial inoculants. The *p* values indicate the effect of the factors on the dependent variables after a three-way ANOVA (grasses x legumes x inoculants). The vertical bars represent the mean \pm SD ($n = 12$). Different letters above the bars indicate statistical differences between the treatments ($p < 0.05$).

mostró efectos significativos a los 30 y 60 DDS, independiente en el factor pastos, observándose que con la gramínea *F. arundinacea* las leguminosas tuvieron los mayores promedios de materia seca (30 y 60 DDS) con valores de 566,82 y 1058,50 kg ha⁻¹, respectivamente. Asimismo, hubo significancia estadística entre leguminosas, observándose el mayor promedio de materia seca en la leguminosa *M. sativa* a los 30 DDS (580,34 kg ha⁻¹) y 60 DDS (866,16 kg ha⁻¹).

El efecto de la interacción (pastos x leguminosas x inoculantes) en la producción de forraje de leguminosas se muestra en la Fig. 2. A los 30 DDS (Fig. 2A) se encontró que el tratamiento *F. arundinacea + M. sativa + P. fluorescens* tuvo la mayor materia seca (869,5 kg ha⁻¹) y a los 60 DDS fue el tratamiento *F. arundinacea + M. sativa + A. vinelandii* en contener la biomasa seca más alta (1.464,40 kg ha⁻¹) (Fig 2B).

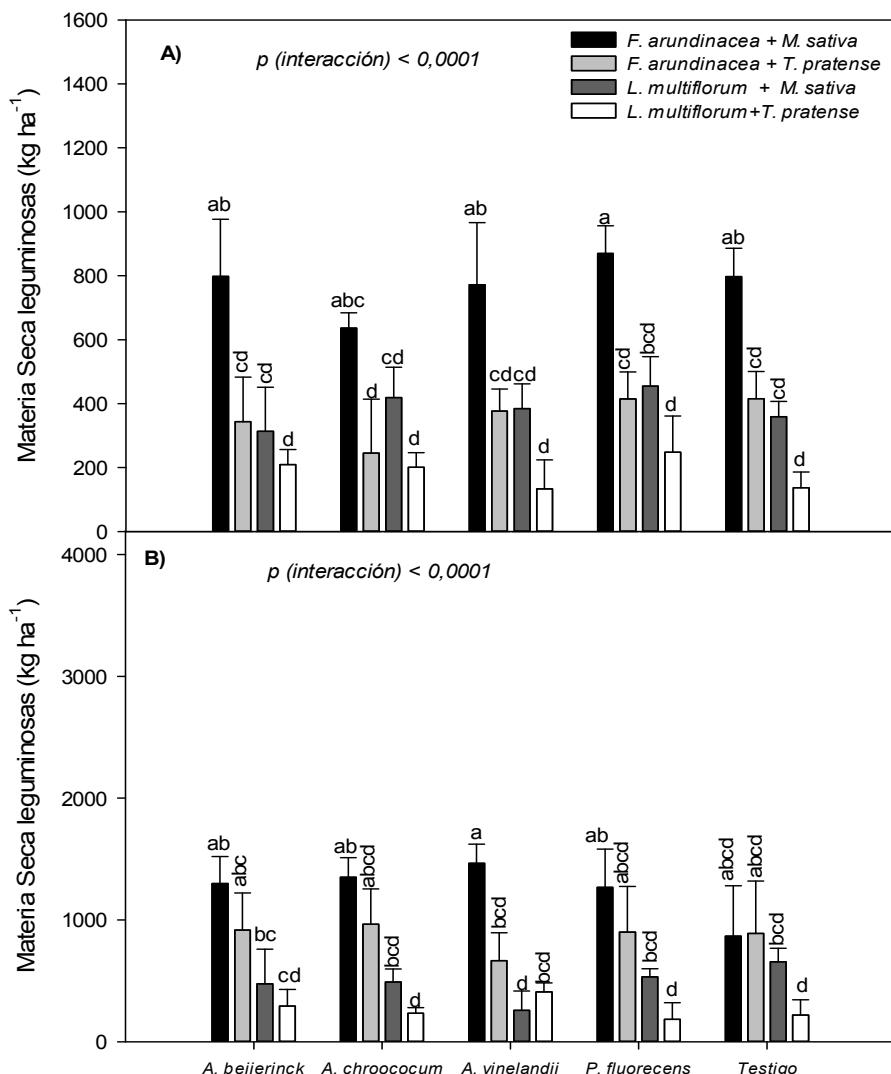


Fig. 2. Materia seca de leguminosas a los 30 (A) y 60 DDS (B), en las asociaciones con pastos e inoculantes bacterianos promotores del crecimiento vegetal. Los valores de p indican el efecto de los factores sobre las variables dependientes después de un ANOVA de tres vías (pastos x leguminosas x inoculantes). Las barras verticales representan la media ± DS (n = 12). Diferentes letras sobre las barras muestran diferencias significativas entre los tratamientos (p < 0,05).

Fig. 2. Dry matter of legumes at 30 (A) and 60 DDS (B), in associations with grasses and plant growth-promoting bacterial inoculants. The p-values indicate the effect of the factors on the dependent variables after a three-way ANOVA (grasses x legumes x inoculants). The vertical bars represent the mean ± SD (n = 12). Different letters above the bars indicate statistical differences between treatments (p < 0.05).

Composición microbiológica de los pastos con los diferentes inoculantes bacterianos

En la Tabla 1 se muestra los resultados de la composición microbiológica de los pastos con los diferentes inoculantes bacterianos evaluados. En el pasto *L. multiflorum* se evidenció que la mayor cantidad de bacterias ($2,90 \times 10^7$ UFC gss⁻¹),

hongos ($4,30 \times 10^7$ UFC gss⁻¹) y actinomicetos ($2,20 \times 10^3$ UFC gss⁻¹) fue obtenida con la aplicación de *A. vinelandii*, pero la concentración más alta de celulíticos ($3,40 \times 10^4$ UFC gss⁻¹) y fijadores de N de vida libre ($6,50 \times 10^2$ UFC gss⁻¹) se presentó cuando se inoculó con *A. chroococcum* al pasto *L. multiflorum*.

Tabla 1. Composición microbiológica en las asociaciones de los pastos con inoculantes bacterianos.
Table 1. Microbiological composition in associations of pastures with bacterial inoculants.

Tratamientos	Bacterias	Hongos	Actinomicetes	SF	Celulolíticos	FNL
	(UFC gss ⁻¹)					
<i>L. multiflorum</i>	<i>A. chroococcum</i>	2,10 x 10 ⁷	5,80 x 10 ⁴	1,70 x 10 ³	0,00	3,40 x 10 ⁴
	<i>A. vinelandi</i>	2,90 x 10 ⁷	4,30 x 10 ⁷	2,20 x 10 ³	0,00	1,90 x 10 ⁴
	<i>A. beijerincki</i>	3,30 x 10 ⁶	2,60 x 10 ⁴	2,00 x 10 ³	0,00	2,20 x 10 ⁴
	<i>P. fluorescens</i>	2,60 x 10 ⁶	8,00 x 10 ⁵	1,90 x 10 ³	0,00	1,40 x 10 ⁴
	Testigo	2,50 x 10 ⁴	1,40 x 10 ⁵	3,20 x 10 ²	0,00	3,60 x 10 ²
<i>F. arundinacea</i>	<i>A. chroococcum</i>	2,00 x 10 ⁷	7,00 x 10 ⁵	1,50 x 10 ³	8,10 x 10 ³	2,80 x 10 ⁴
	<i>A. vinelandi</i>	1,60 x 10 ⁷	1,20 x 10 ⁵	6,10 x 10 ²	0,00	2,20 x 10 ⁴
	<i>A. beijerincki</i>	1,30 x 10 ⁷	7,70 x 10 ⁴	2,00 x 10 ³	5,10 x 10 ⁴	1,70 x 10 ⁴
	<i>P. fluorescens</i>	1,40 x 10 ⁷	1,20 x 10 ⁴	6,20 x 10 ²	0,00	2,00 x 10 ⁴
	Testigo	1,80 x 10 ⁷	2,00 x 10 ⁴	1,60 x 10 ³	0,00	1,60 x 10 ⁴

SF: Solubilizadores de fosforo, FNL: fijadores de nitrógeno de vida libre.

Por otra parte, el pasto *F. arundinacea* presentó las mayores poblaciones de bacterias (2,00 x 10⁷ UFC gss⁻¹), hongos (7,00 x 10⁵ UFC gss⁻¹) y celulíticos (2,80 x 10⁴ UFC gss⁻¹) con la inoculación de *A. chroococcum*. Sin embargo, cuando fue tratado el pasto *F. arundinacea* con *A. beijerincki* se evidenció la composición más alta de actinomicetes (2,00 x 10³ UFC gss⁻¹) y solubilizadores de fósforo (5,10 x 10⁴).

Composición bromatológica a los 30 DDS en gramíneas combinadas con leguminosas, tratadas con diferentes inoculantes bacterianos

Se observa las mayores concentraciones de proteínas con el inoculante *A. beijerincki* en los forrajes de *F. arundinacea* + *T. pratense* (28,12%) y *L. multiflorum* + *T. pratense* (26,87%) (Tabla 2). Los extractos etéreos más alto se reflejaron en los tratamientos de festuca + alfalfa + *A. chroococcum* (23,64 %) y *L. multiflorum* + *M. sativa* + *A. beijerincki* (17,89%).

En general, los mayores niveles de fibra fueron obtenidos en el tratamiento *F. arundinacea* + *T. pratense* + testigo (21,20%), pero en la asociación de *L. multiflorum* con las dos leguminosas, se observó que la combinación de su forraje con el de *T. pratense* bajo la inoculación de *A. beijerincki* mostró la mayor fibra (19,00%). En las asociaciones del pasto *L. multiflorum* con *M. sativa* y *T. pratense* se encontró las mayores cantidades de ELN con valores que fluctuaron de 33,26 a 55,76%. En contraste, las asociaciones de *F. arundinacea* con *M. sativa* y *T. pratense* fueron superiores en concentraciones de ceniza, obteniendo valores que oscilaron de 15,46 a 25,00%.

Composición química del forraje combinado de gramíneas con leguminosas a los 60 DDS, tratadas con diferentes inoculantes bacterianos

El pasto *F. arundinacea* + *T. pratense* + *P. fluorescens* obtuvo la mayor concentración de proteína (29,92%) en relación con los demás tratamientos, pero en la asociación de *L. multiflorum* con las leguminosas, se encontró que este pasto asociado con *M. sativa* e inoculado con *A. beijerincki* reflejó la mayor concentración de proteína (16,20%) (Tabla 3).

En las asociaciones del pasto *L. multiflorum* con *M. sativa* y *T. pratense* se presentaron las mayores concentraciones de ceniza y fibra, valores que fluctuaron de 17,27 a 38,27% y entre 18,40 a 23,70%, respectivamente. A su vez, que los mayores contenidos de ELN fueron obtenidos en los tratamientos *F. arundinacea* + *T. pratense* + *A. chroococcum* (42,91%) y *L. multiflorum* + *T. pratense* + *A. chroococcum* (46,36%).

Correlación entre variables

A los 30 DDS la longitud de raíz de leguminosas mostró asociaciones positivas con el peso de raíz de leguminosas y materia seca de leguminosas de los 30 DDS (Tabla 4). El peso de raíz de leguminosa de los 30 DDS tuvo asociaciones positivas con el peso de raíz de leguminosa de 60 DDS y con la materia seca de leguminosas de 30 y 60 DDS, pero también tuvo una relación inversamente proporcional con la materia seca de pastos de 30 DDS.

A los 30 DDS el peso de raíz de pastos tuvo una relación directamente proporcional con la materia seca de pastos de 30 DDS. Igualmente, a los 60 DDS el peso de raíz de pastos tuvo

Tabla 2. Composición bromatológica a los 30 días después de la siembra del forraje combinado de gramíneas y leguminosas e inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.
Table 2. Bromatological composition 30 days after sowing of combined forage of grasses and legumes inoculated with plant growth-promoting bacteria.

Tratamientos		PC	EE	Ceniza	FC	ELN
		(%)				
<i>F. arundinacea</i>	<i>A. Chroococum</i>	22,50	9,60	14,09	19,90	33,91
	<i>A. vinelandii</i>	21,90	6,71	22,11	18,90	30,38
	<i>M. sativa</i>	22,95	7,87	22,85	19,00	27,33
	<i>P. fluorescens</i>	22,86	6,34	20,94	17,30	32,56
	Testigo	18,12	5,00	18,48	14,00	44,40
	<i>A. chroococum</i>	22,05	6,25	23,64	19,80	28,26
<i>T. pratense</i>	<i>A. vinelandii</i>	26,32	5,35	20,77	19,50	28,06
	<i>A. beijerincki</i>	28,12	5,00	16,19	20,10	30,59
	<i>P. fluorescens</i>	23,45	4,70	20,22	20,20	31,43
	Testigo	18,27	6,64	17,50	21,20	36,39
	<i>L. multiflorum</i>	21,78	4,85	14,23	13,10	46,04
	<i>A. vinelandii</i>	18,12	6,33	13,93	14,60	47,02
<i>M. sativa</i>	<i>A. beijerincki</i>	17,00	6,26	15,57	16,20	44,97
	<i>P. fluorescens</i>	22,52	8,66	14,69	15,00	39,13
	Testigo	23,12	4,33	12,90	13,70	45,95
	<i>A. chroococum</i>	22,50	5,94	17,89	13,80	40,17
	<i>A. vinelandii</i>	20,62	5,76	14,69	14,20	44,73
	<i>T. pratense</i>	26,87	5,50	15,37	19,00	33,26
	<i>A. beijerincki</i>	23,40	5,54	15,47	14,10	41,49
	<i>P. fluorescens</i>	13,00	4,50	13,74	13,00	55,76
	Testigo					

asociación positiva con la materia seca de pasto de 60 DDS. La materia seca de pastos de 30 DDS tuvo una asociación negativa con la masa seca de leguminosas de 60 DDS. Mientras que la materia seca de leguminosa de 30 DDS tuvo una relación directamente proporcional con la materia seca de leguminosa de 60 DDS, pero tu una correlación negativa con la materia seca de pastos de 60 DDS.

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados mostraron diferencias entre especies forrajeras en la producción de materia seca, respecto a las gramíneas. El pasto *L. multiflorum* tuvo 143,72 y 82,03% más rendimientos que *F. arundinacea* a los 30 y 60 DDS, respectivamente. Esto pudo deberse que las condiciones edafoclimáticas en las que se desarrolló el presente estudio fueron ideales para el crecimiento y producción del pasto *L. multiflorum*. Se ha descrito que, en condiciones no limitadas de agua, ni de luz y nutrientes el pasto *L. multiflorum* tiene mayor potencial fotosintético, producción de foto-asimilados y rendimientos que *F. arundinacea* (Taleb et al., 2023). Sin

embargo, Sanchez et al. (2023) describen que estos forrajes tienen diferente arquitectura radicular, la que influye en su adaptación y producción, considerando el pasto *F. arundinacea* en tener raíces más gruesas y profundas, esto permite que en condiciones hídricas limitantes tenga una mayor exploración por agua y nutrientes, mientras que *Lolium perenne* tiene raíces finas y maximiza exploración de nutrientes en las capas más superficiales. También Martínez-González (2018) y Montemayor et al. (2006) sostienen que los pastos con un crecimiento erecto, llegan a tener más longitud y emisión foliar, permitiendo interceptar mayor radiación de luz, produciendo un mejor uso de esta para la producción de forraje.

La leguminosa *M. sativa* a los 30 y 60 DDS fue superior que *T. pratense* en rendimiento de materia seca. Igualmente, Sousa et al. (2020) encontraron que *M. sativa* en diferentes edades de rebrote durante dos años fue superior en producción de materia seca a *T. pratense*. Resultados que contrasta con la presente investigación y con lo descrito por Glowacki et al. (2023), quienes describen que *T. pratense* y *Medicago sativa* tienen

Tabla 3. Composición bromatológica a los 60 días después de la siembra del forraje combinado de gramíneas y leguminosas e inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.
Table 3. Bromatological composition 60 days after the planting of combined forage of grasses and legumes inoculated with plant growth-promoting bacteria.

Tratamientos		PC	EE	Ceniza	FC	ELN
<i>F. arundinacea</i>	<i>A. chroococum</i>	25,82	6,61	24,59	21,70	21,28
	<i>A. vinelandii</i>	22,79	6,50	25,00	22,80	22,98
<i>M. sativa</i>	<i>A. beijerincki</i>	26,77	8,15	17,41	24,40	23,27
	<i>P. fluorescens</i>	23,20	6,44	20,41	17,90	32,05
	Testigo	26,03	8,82	20,18	23,10	21,87
	<i>A. chroococum</i>	14,62	6,91	18,56	17,00	42,91
	<i>A. vinelandii</i>	20,00	5,64	15,46	19,00	39,90
	<i>T. pratense</i>	<i>A. beijerincki</i>	24,45	5,68	17,63	17,60
<i>L. multiflorum</i>	<i>P. fluorescens</i>	29,92	7,29	18,85	22,00	21,94
	Testigo	23,62	7,84	21,17	25,50	21,87
	<i>A. chroococum</i>	11,93	8,94	35,29	22,70	21,14
	<i>A. vinelandii</i>	13,72	9,55	34,23	23,90	18,60
	<i>M. sativa</i>	<i>A. beijerincki</i>	16,20	8,62	34,55	22,00
	<i>P. fluorescens</i>	16,19	8,94	38,27	23,70	12,90
<i>T. pratense</i>	Testigo	10,40	7,45	26,18	20,20	35,75
	<i>A. chroococum</i>	10,32	5,96	18,96	18,40	46,36
	<i>A. vinelandii</i>	14,85	10,80	19,20	24,60	30,55
	<i>A. beijerincki</i>	15,07	11,05	29,18	25,70	19,00
	<i>P. fluorescens</i>	15,30	7,89	17,24	22,40	37,17
	Testigo	15,52	8,39	31,38	21,30	22,97

Tabla 4. Correlación de Pearson entre las variables en estudio.

Table 4. Pearson correlation matrix of the variables under study.

	LRL 30 DDS	PRL 30 DDS	PRP 30 DDS	PRP 60 DDS	MSP 30 DDS	MSL 30 DDS	
LRP 30 DDS	0,16 NS						-1
PRL 30 DDS	0,38 **						-0,5
PRL 60 DDS	0,14 NS	0,51***	-0,11 NS				0
MSP 30 DDS	-0,16 NS	-0,40***	0,49***	0,12 NS			0,5
MSL 30 DDS	0,34**	0,36**	0,06 NS	-0,23 NS	-0,29 *		1
MSP 60 DDS	-0,03 NS	-0,23 NS	-0,20 NS	0,68***	0,13 NS	-0,37**	
MSL 60 DDS	0,22 NS	0,41***	-0,15 NS	-0,18 NS	-0,51***	0,63***	

LRL: longitud de raíz leguminosa, LRP: longitud de raíz pastos, PRL: Peso raíz leguminosa, PRP: peso raíz pastos, MSL: materia seca leguminosas, MSP: materia seca pastos, DDS: días después de la siembra. NS: no significativo, $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$, ($n=60$).

rendimientos estadísticamente similares en producción de materia seca. Sin embargo, Olson et al. (2023) describieron que durante las edades de corte avanzan los cultivares de *T. pratense* no tienen una persistencia en el rendimiento del forraje que puede ser inferiores a los de otras

leguminosas.

Se observó en la asociación de *L. multiflorum* + *M. sativa* que *P. fluorescens* y *A. beijerinck* mejoraron el rendimiento de materia seca del pasto a los 30 y 60 DDS. En esto mismo tiempo los mismos inoculantes bacterianos favorecieron

la producción de materia seca de *M. sativa* pero asociada con *F. arundinacea*. Esto se atribuye que en pleno establecimiento de *L. multiflorum* y *M. sativa* los exudados y nutrientes solubilizados por *P. fluorens* favorecieron la estimulación de brotes, lo que mejora la intercepción lumínica, reflejándose en aumento de materia seca (Hnini et al., 2024). En pleno desarrollo de los forrajes estos se vieron favorecidos por las bondades biológicas de *A. beijerinck* que son el aumento de N disponible en el rizósfera, lo que incrementa la biomasa aérea (Wang et al., 2022). Sin embargo, en el presente trabajo también se encontró que las plantas tratadas con inoculantes bacterianos tuvieron mejor rendimiento que las que no fueron inoculadas. Resultados que afirman lo descrito por Khoso et al. (2024), quienes sostienen que la aplicación de BPCV es una práctica efectiva que mejora el rendimiento de los cultivos en los sistemas agrícolas de manera sostenible.

No obstante, a pesar de los beneficios que tienen BPCV la biomasa de las leguminosas *M. sativa* y *T. pratense*, fueron afectadas con la asociación de pasto *L. multiflorum*. En este sentido, indicaría que las pasturas con un crecimiento erecto podrían atenuar el desarrollo de las fabáceas por competencia de luminosidad y nutrientes del suelo, fenómeno detectado en este trabajo, debido a que las distancias de siembra pudieron ser limitada para estas asociaciones de gramíneas y leguminosas (Castillo y Villalobos, 2021). Por otra parte, Angel et al. (2024) manifiestan que, para mitigar esta afectación en cultivos asociados, se debe hacer un arreglo espacial de la siembra, según la especie o hábito de crecimiento.

Respecto a la composición bromatológica también se observó una respuesta diferencial en cada asociación, especialmente, a los 30 DDS con el inoculante *A. beijerincki* se evidenció los mejores resultados de proteína en la combinación de los forrajes *F. arundinacea* + *T. rufolium* *pratense* y *L. multiflorum* + *T. rufolium* con 28,12 y 26,87%, respectivamente. Estos resultados también muestran que la leguminosa *T. rufolium* mejora la calidad nutricional del forraje disponible. Sin embargo, se encontró concentraciones de proteína similares a las reportadas por Oliva et al. (2018), quienes, en diferentes sistemas silvopastoriles, *T. rufolium* tuvo de 24,50 a 27,74% de proteína. Estas concentraciones son superiores a las halladas por Morales et al. (2013), en el pasto *F. arundinacea* en monocultivo (20,6 %) y asociado con *Lotus uliginosus* (20,1 %).

Los resultados de correlación de Pearson mostraron un incremento directo entre la biomasa de raíz y área de los pastos, lo que indica que existe una dependencia entre las raíces con el follaje de las gramíneas forrajeras; esto no se observó con

las leguminosas, en ningún tiempo de evaluación. Este hallazgo demuestra que las gramíneas distribuyen homogéneamente los foto-asimilados a la producción de hojas, crecimiento de tallos y raíces (Sinaluisa et al., 2022), así, induciendo un incremento sostenido en la producción de biomasa forrajera (Paredes-Mendoza et al., 2021).

CONCLUSIONES

Los inoculantes bacterianos incrementaron la producción de biomasa seca de pastos y leguminosas, mostrando que son una estrategia biológica sostenible para mejorar la morfo-productividad de especies forrajeras.

El pasto *L. multiflorum* tuvo una mayor producción forraje asociado con *M. sativa* e inoculado con *A. beijerinck* a los 60 DDS. A diferencia del pasto *F. arundinacea* que en este mismo tiempo alcanzo el mayor rendimiento de forraje, pero asociado con *T. pratense* e inoculado con *A. vinelandii*. La leguminosa *M. sativa* alcanzó la mayor biomasa seca a los 60 DDS, cuando estuvo asociada e inoculada con *F. arundinacea* y *A. beijerinck*, respectivamente.

La mezcla de forraje entre gramíneas y leguminosas incrementa la calidad nutricional, alcanzándose las mayores concentraciones de proteínas con la inoculación de *A. beijerincki* en las asociaciones que tuvo la leguminosa trébol rojo con los pastos *F. arundinacea* y *L. multiflorum*.

AGRADECIMIENTOS

A los estudiantes y docentes de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo de la Unidad de Estudios a Distancia (Ecuador) por su valioso apoyo en la investigación.

Contribución de autores

Redacción y preparación del borrador original: Roger Pincay. Investigación, revisión bibliográfica y administración del proyecto: Ricardo Luna y Carlos Molina. Metodologías, análisis estadísticos, revisión y discusión del manuscrito: Manuel Carrillo y Roger Pincay. Todos los autores han leído y aceptado la versión final del manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, P., F. Peña-Ramos, J. García-López, F. Hernández-Guzmán, N. Camposeco-Montejo, R. Martínez-Martínez, y S. Juanes-Márquez. 2023. Rendimiento de forraje estacional de alfalfa a diferentes edades de rebrote en el sureste de Coahuila. Revista Fitotecnia Mexicana 46(4A): 505-505. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.4A.505>

- Angel, A., C. García-Munguía, A. García-Munguía, C. Lemus-Flores, y S. Morales-Flores. 2024. Los sistemas silvopastoriles y las condiciones para su establecimiento: Sistemas silvopastoriles. Revista Mexicana de Agroecosistemas 11(2).
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 15th Ed. Arlington, Virginia, USA. 168p.
- Bolaños-Aguilar, E. D., F. Enríquez-Quiroz, A. Fragozo Islas, R. Castañeda Arriola, M. Montero-Lagunes y J. Vinay. 2024. Comportamiento productivo de una asociación Mombaza-Kudzú en diferentes épocas del año. Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias 15(4): 913–929. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i4.6470>.
- Castillo, A. R., y M. Villalobos. 2021. Producción animal en pasturas de tres leguminosas asociadas con *Urochloa decumbens* en los Llanos Orientales de Colombia. Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales 9(2): 192-205. [https://doi.org/10.17138/tgft\(9\)192-205](https://doi.org/10.17138/tgft(9)192-205)
- Castro, R., A. Hernández, H. Vaquera, J. Hernández, Q. de la Paz, A. Carrillo, J. Enríquez y P. Martínez. 2012. Comportamiento productivo de asociaciones de gramíneas con leguminosas en pastoreo. Revista fitotecnia mexicana 35(1): 87-95.
- Espinales-Suárez, H. O., R. Pincay-Ganchozo y R. Luna-Murillo. 2021. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal inoculadas en dos asociaciones forrajeras: *Brachiaria decumbens* + *Clitoria ternatea* y *Brahiaaria híbrido* cv. Mulato + *Clitoria ternatea*. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinaria 5(2): 2134-2148. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.423.
- Espinoza-Coronel, A. L., D. Franco-Ochoa, P. Fajardo-Espinoza, G. Real-Goya y R. Pincay-Ganchozo. 2020. Crecimiento y rendimiento de *Clitoria ternatea* con la aplicación de fertilizantes biológicos. Nexo Agropecu 8(2): 43-51.
- Glowacki, S. C., M. Komainda, E. Leisen, and J. Isselstein, 2023. Yield of lucerne-grass mixtures did not differ from lucerne pure stands in a multi-site field experiment. European Journal of Agronomy 150: 126927.
- Hnini, M., K. Rabeh, and M. Oubohssaine. 2024. Interactions between beneficial soil microorganisms (PGPR and AMF) and host plants for environmental restoration: A systematic review. Plant Stress 11: 100391.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censo Agropecuario INEC. 2024. Encuesta de superficie agropecuaria del Ecuador.
- Instituto Nacional de Metrología e Hidrología INAMHI. 2023. Datos meteorológicos del cantón La Maná. Cotopaxi, Ec. s.p.
- Joseph, L., E. Cremonese, M. Migliavacca, A. Schaumberger, and M. Bahn. 2025. Warming, elevated CO₂ and drought in combination amplify shifts in canopy greenness dynamics in managed grassland. Agriculture, Ecosystems & Environment 378: 109304. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.109304>.
- Khoso, M. A., S. Wagan, I. Alam, A. Hussain, Q. Ali, S. Saha, T. Poudel, H. Manghwar, and F. Liu. 2024. Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. Plant Stress 11: 100341.
- Kumar, A., V. Singh, V. Tripathi, P. Singh, and A. Singh. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): perspective in agriculture under biotic and abiotic stress. In: Crop Improvement through Microbial Biotechnology Chapter 16, 333-342. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00016-5>
- Martínez-González, J. C. 2018. El pasto gatton (*Panicum maximum* cv. gatton panic) una alternativa para el noroeste del Chaco, Argentina. Agro Productividad 11(5): 118-123.
- Minitab. Guía del usuario: Software estadístico; Versión 19; Minitab Inc.: State College, PA, EE. UU., 202.
- Montemayor, J. A., A. Zermeño, J. Olague, R. Aldaco, M. Fortis, E. Salazar y C. Vázquez-Vázquez. 2006. Efecto de la densidad y estructura del dosel de maíz en la penetración de la radiación solar. Phyton 75: 47-53.
- Morales, A., J. León, E. Cárdenas, G. Afanador y J. Carulla. 2013. Composición química de la leche, digestibilidad in vitro de la materia seca y producción en vacas alimentadas con gramíneas solas o asociadas con *Lotus uliginosus*. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia 60 (1): 32-48.
- Oliva, M., L. Valqui, J. Meléndez, M. Milla, S. Leiva, R. Collazos y J. Maicelo. 2018. Influencia de especies arbóreas nativas en sistemas silvopastoriles sobre el rendimiento y valor nutricional de *Lolium multiflorum* y *Trifolium repens*. Scientia Agropecuaria 9(4): 579-583.
- Olson, G. L., R. Smith, C. Teutsch, and J. Henning. 2023. 2023 Alfalfa, Red Clover, and White Clover Grazing Tolerance Report (Report PR842). University of Kentucky, Martin-Gatton College of Agriculture, Food and Environment.

- Organización de las Naciones Unidas Para La Agricultura y Alimentación 2023. FAOSTAT [Base de datos de uso de tierras agrícolas]. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/RL>.
- Paredes-Mendoza, M., D. Espinosa-Victoria y H. Mancera. 2021. Estudio de metabolitos producidos por bacterias que solubilizan fosfato aislado de la raíz y rizoplano de gramíneas. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research* 4(4): 4944–4949. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-012>
- Pincay-Ganchozo, R., R. Luna-Murillo, A. Espinoza-Coronel y M. Medina. 2020. Inoculantes bacterianos del género *Azotobacter* en la asociación del pasto *Andropogon gayanus* con *Clitoria ternatea* y kudzu (*Pueraria phaseoloides*). *Nexo agropecuario* 8(2): 27-35.
- Pratibha, Y., and S. Krishna. 2015. Plant growth promoting Rhizobacteria: an effective tool to remediate residual organophosphate pesticide methyl parathion, widely used in Indian agriculture. *Journal of Environmental Research and Development* 9 (4):1138.
- Rouquette, M., and G. Aiken. 2020. Foreword. Management Strategies for sustainable cattle production in southern pastures, xi-xii. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814474-9.00001-3>.
- Sánchez, A. V., L. Ferron, N. Bennegadi-Laurent, I. Trinsoutrot-Gattin, J. Van Groenigen, and G. Moinet. 2023. Root trait complementarity improves yield of ryegrass (*Lolium perenne* L.) and tall fescue (*Festuca aurundinacea* Schreb.) in a low P soil. pp. 58-58. In Wageningen Soil Conference 2023, Wageningen University & Research.
- Sánchez-Yáñez, J. M., J. Carrillo Amezua, L. Márquez Benavides, J. Villegas Moreno y D. Dasgupta-Schuber. 2007. Breve Tratado de Microbiología de Agrícola: teoría y práctica. p 117. Universidad Michoacanáde San Nicolás de Hidalgo. Secretaría de Difusión Cultural y Extensión Universitaria Centro de Investigación, Morelia, Michoacán, México.
- Shang, X., H. Liu, J. Zhang, H. Zong, C. Cao, L. Hou, W. Zhang, Y. Long, Y. Gao, and X. Hou. 2023. The application of plant growth-promoting rhizobacteria enhances the tolerance of tobacco seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 265: 115512. doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115512.
- Sinaluisa, F. D., J. León-Ruiz, M. Peralta-Culcay y A. Suárez-Tapia. 2022. Valoración de la relación C/N de dos cultivos de cobertura vicia (*Vicia stenophylla*) y centeno (*Secale cereale*) en tres localidades de la provincia de Chimborazo. Polo del conocimiento 7(2): 1683-1695. <https://doi.org/10.23857/pc.v7i2.3673>.
- Singh, D., S. Singh, V. Singh, A. Gupta, M. Aamir, and A. Kumar. 2020. Plant growth-promoting bacteria and their role in environmental management. *Abatement of Environmental Pollutants* 161–175. doi:10.1016/b978-0-12-818095-2.00008-4
- Sousa, D. O., H. Hansen, O. Hallin, L. Nussio, y E. Nadeau. 2020. Una comparación de dos años sobre el valor nutritivo y el rendimiento de ocho cultivares de alfalfa y un cultivar de trébol rojo. *Ciencia de pastos y forrajes* 75(1): 76-85. <https://doi.org/10.1111/gfs.12459>.
- Taleb, M. H., M. Majidi, F. Pirnajmedin, and S. Maibody. 2023. Plant functional trait responses to cope with drought in seven cool-season grasses. *Scientific Reports* 13(1): 5285.
- Trumpp K.R., J. Dubeux, L. Garcia, D. Jaramillo, J. Pereira, E. Santos, L. Queiroz, I. Bretas, M. Ruiz-Moreno, C. de Souza, L. Sollenberger, N. Di Lorenzo, and J. Vendramini. 2025. Integrating forage legumes reduces dependence on N fertilizer and increases the stability of grazing systems. *European Journal of Agronomy* 170: 127708.
- Wang, G., Y. Ren, X. Bai, Y. Su, and J. Han. 2022. Contributions of beneficial microorganisms in soil remediation and quality improvement of medicinal plants. *Plants* 11(23): 3200.
- Wang, H., J. Song, Y. Fan, J. Xia, L. Jiang, Q. Zhang, H. Li, J. Ru, J. Feng, K. Lingjie, J. Zhang, X. Qiu, G. Zhou, B. Li, J. Zhou, and S. Wan. 2025. Responses of plant community drought resistance and resilience to warming and nitrogen addition vary with recurrent droughts in a semi-arid grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 389: 109712. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2025.109712> Get rights and content.
- Yan, H., X. Zhou, K. Zheng, S. Gu, H. Yu, K. Ma, Y. Zhao, Y. Wang, H. Zheng, and H. Liu. 2022. Grass-legume mixtures enhance forage production via the bacterial community. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 338: 108087. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108087>.

- Zegler, C. H., M. Renz, G. Brink, and M. Ruark. 2020. Assessing the importance of plant, soil, and management factors affecting potential milk production on organic pastures using regression tree analysis. Agricultural Systems 180: 102776. <https://doi.org/10.1016/j.agrsy.2019.102776>.
- Zhang, T., Q. Jian, X. Yao, L. Guan, L. Li, F. Liu, C. Zhang, D. Li, H. Tang, and L. Lu. 2024. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and quality of several crops. *Heliyon* 10(10): e31553.

