

## PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE TRÉBOL BLANCO A DIFERENTE REGÍMENES DE COSECHA Y FERTILIZACIÓN CON DIGESTATO

### WHITE CLOVER BIOMASS PRODUCTIVITY AT DIFFERENT HARVEST FREQUENCIES AND FERTILIZATION WITH DIGESTATE REGIMES

Gisela Aguilar-Benítez<sup>1</sup>, Orlando Zaca-Moran<sup>2a</sup>, Raúl J. Delgado-Macuil<sup>2b</sup>, Valentín López-Gayou<sup>2c</sup>, Angélica Bautista-Cruz<sup>3</sup>, María Myrna Solís-Oba<sup>2d</sup> y Rigoberto Castro-Rivera<sup>2e\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, C.P. 78377 San Luis Potosí, México  
<https://orcid.org/0000-0002-9243-3860>

<sup>2a</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, C.P. 90700, Tlaxcala, México  
<https://orcid.org/0000-0003-0859-0482>

<sup>2b</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, C.P. 90700, Tlaxcala, México  
<https://orcid.org/0000-0003-3934-6036>

<sup>2c</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, C.P. 90700, Tlaxcala, México  
<https://orcid.org/0000-0001-7882-9933>

<sup>3</sup> Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, C.P. 71233, Oaxaca, México  
<https://orcid.org/0000-0002-9751-7350>

<sup>2d</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, C.P. 90700, Tlaxcala, México  
<https://orcid.org/0000-0001-9347-9599>

<sup>2e</sup> Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, C.P. 90700, Tlaxcala, México  
<https://orcid.org/0000-0002-9083-1363>

\* Autor de correspondencia [rcastror@ipn.mx](mailto:rcastror@ipn.mx)

### RESUMEN

El trébol blanco es la leguminosa más utilizada en praderas asociadas con gramíneas para el pastoreo de animales en las zonas templadas del mundo. El objetivo del presente estudio fue evaluar la fertilización con digestato, a diferentes concentraciones y frecuencias de cosecha, sobre el rendimiento de materia seca, altura y composición morfológica del trébol blanco bajo condiciones de túnel de plástico tipo invernadero. Las concentraciones de digestato fueron: 0, 20, 40 y 60% y las frecuencias de corte, 4, 5 y 6 semanas. Se utilizó un diseño en bloques al azar con arreglo factorial 4x3, con cuatro repeticiones por tratamiento. Las diferencias entre tratamientos se analizaron mediante la prueba de Tukey ( $P<0,05$ ), utilizando el procedimiento Factorial ANOVA a través del software SAS. Los resultados mostraron que la concentración de digestato al 60% registró el mayor rendimiento de materia seca (196%), peso seco de hojas (178%), pecíolo (246%), tasa de crecimiento del cultivo (221%) y altura de la planta (25%), con respecto al testigo sin fertilizar. La frecuencia de cosecha determinó ( $P<0,05$ ) la altura, tasa de crecimiento, peso de estolón y el peso de la hoja. Se concluye que un manejo

**combinado de la fertilización con digestato y las frecuencias de corte incidió en todas las variables evaluadas, con excepción del peso del estolón.**

**Palabras clave:** *Trifolium repens*, frecuencia de corte, fertilizante orgánico, composición morfológica.

## ABSTRACT

White clover is the most widely used legume in grasslands associated with grasses for grazing livestock in temperate zones around the world. The aim of this study was to evaluate fertilization with digestate, at different concentrations and harvest frequencies, on the dry matter yield, height, and morphological composition of white clover under greenhouse-type plastic tunnel conditions. Digestate concentrations of 0, 20, 40, and 60% and cutting frequencies of 4, 5, and 6 weeks were used. A randomized block design with a 4×3 factorial arrangement was used, with four replicates per treatment. Differences between treatments were analyzed using Tukey's test ( $P<0.05$ ), using the Factorial ANOVA procedure of SAS software. The results showed that the 60% digestate concentration recorded the highest dry matter yield (196%), dry leaf weight (178%), petiole weight (246%), crop growth rate (221%), and plant height (25%) compared to the unfertilized control. Harvest frequency determined ( $P<0.05$ ) height, growth rate, stolon weight, and leaf weight. It is concluded that combined management of fertilization with digestate and cutting frequencies influenced all variables evaluated in this experiment, except for stolon weight.

**Keywords:** *Trifolium repens*, harvest frequencies, organic fertilizer, morphological composition.

## INTRODUCCIÓN

El trébol blanco (*Trifolium repens* L.) es leguminosa más utilizada en la asociación con gramíneas en el establecimiento de praderas mixtas en sistemas de producción animal, basados en pastoreo en zonas templadas; su característica más destacada es su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico biológicamente en el suelo. Esta cualidad lo convierte en una alternativa sostenible y rentable para reducir la dependencia de fertilizantes nitrogenados minerales, lo que beneficia tanto a las gramíneas asociadas como al medio ambiente (Thomson et al., 2018; Harris et al., 2023; Jezequel et al., 2024).

Su rápido establecimiento como cultivo de cobertura se debe a su hábito de crecimiento postrado mediante estolones, los cuales forman pecíolos y hojas trifoliadas. En los estolones se generan nudos y nuevas raíces que originan nuevas plantas, las cuales, junto con las plantas iniciales, incrementan la densidad de esta especie en poco tiempo (Harris et al., 2023). Esto le confiere mayor persistencia, rendimiento de tejido foliar y resistencia al pastoreo (Lai et al., 2025). Además, cuando la densidad de plantas es alta, estas producen flores y semillas, principalmente con pastoreos no intensivos con baja densidad animal por superficie, constituyendo así una forma de resiembra natural que permite la regeneración de la pradera, incluso en condiciones de baja disponibilidad de agua (Castro et al., 2012; Lai et al., 2025).

Sin embargo, a pesar de las bondades

y atributos del trébol blanco, existe poca información sobre su manejo y comportamiento en monocultivo al ser sometido a diferente régimen de cosecha en las distintas épocas del año y del tiempo de establecimiento de la pradera o cultivo (Gutiérrez-Arenas et al., 2018; Hernandez et al., 2023). La información sobre su patrón de rebrote es limitada, algunos estudios recomiendan cosechar cada seis semanas en primavera – verano y ocho semanas en otoño – invierno (Hernández et al., 2023). La mayoría de la información en publicaciones científicas se centran en la respuesta de la materia seca en praderas asociadas con otras gramíneas como el ballico perenne (*Lolium perenne* L.) y el pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.) a diferentes proporciones de siembra y frecuencias de pastoreo (Castro et al., 2012; Malinowski et al., 2012; Moreno-Carrillo et al., 2015; Rojas et al., 2016; Lai et al., 2025), en su mayoría en praderas sin fertilizar y sin especificar la respuesta del trébol blanco en la simbiosis gramínea-leguminosa.

Dentro de los fertilizantes orgánicos o bioestimulantes se tiene a los digestatos, subproductos de la digestión anaeróbica de los residuos sólidos orgánicos de rumiantes (degradados por fermentación anaeróbica). Estos aportan minerales esenciales, fitoreguladores, microelementos y microorganismos que favorecen el retorno de nutrientes al suelo, mejorando el desarrollo y comportamiento productivo de las plantas, reduciendo la dependencia de fertilizantes químicos (Castro-Ramos et al., 2022; Castro-Sierra et al., 2024;

Pawlett et al., 2015). Además, tienen efectos positivos sobre las propiedades físicoquímicas del suelo, como la reducción de la densidad aparente, aumento de la conductividad eléctrica y la mejora de la capacidad de retención de humedad (Nkoa, 2014).

En general, la fracción sólida del digestato (biosol) está compuesta principalmente por materia orgánica de difícil degradación, fósforo y sólidos volátiles, la fracción líquida (biol o digestato) es rica en nutrientes solubles como nitrógeno y potasio (Provenzano et al., 2014). Por ello, la fracción sólida es considerado abono orgánico y la fracción líquida como fertilizante orgánico o bioestimulante (Scaglia et al., 2015).

La efectividad de la fertilización con digestato en gramíneas forrajeras ha sido reportada por Walsh et al. (2012), quienes indican que en *Lolium perenne* se obtuvo rendimientos superiores ( $P<0,05$ ) en comparación con praderas asociadas con trébol blanco y a praderas puras, fertilizadas con N y NPK; otros estudios demostraron que las asociaciones de gramíneas y leguminosas (ballico perenne, pasto ovillo y trébol blanco) son más productivas que los cultivos forrajeros en monocultivo (Flores et al., 2015; Moreno-Carrillo et al., 2015; Rojas et al., 2017). Por lo tanto, conocer la respuesta de estas a la fertilización con digestato, permitiría establecer estrategias de manejo (fertilización y frecuencias de cosecha) para un uso integral de este subproducto y de la

pradera (Rancane et al., 2016, 2017), además de su alto potencial en el manejo de los desechos sólidos de origen animal (Nkoa, 2014).

Debido a lo anterior, y considerando la escasa información sobre el efecto de las frecuencias de defoliación en el trébol blanco en praderas puras o monocultivo y la fertilización con digestato con digestato, se planteó la hipótesis alterna de que al menos en un tratamiento habrá diferencias ( $P<0,05$ ) en las variables evaluadas, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes concentraciones de digestato y estrategias de cosecha sobre el rendimiento de materia seca, tasa de crecimiento del cultivo y la composición morfológica del trébol blanco bajo condiciones de un túnel de plástico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción del experimento y área de estudio

El experimento se llevó a cabo de junio de 2017 a marzo de 2018, en un invernadero de plástico tipo túnel, sin control de temperatura y humedad relativa, ubicado en el Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional, ubicado a 19°16'50.3" N, 98°21'58.1" O, a 2221 msnm. Los registros de temperatura máxima, mínima y humedad relativa se obtuvieron mediante un Hobo Data Logger de la marca ONSET fabricado en Estado Unidos, que se muestran en la Fig. 1.

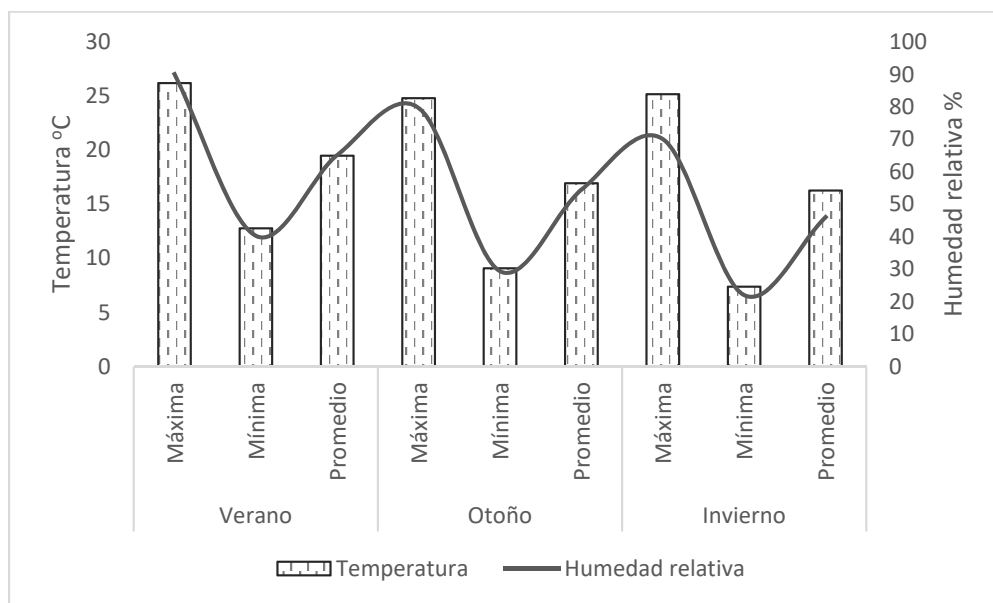


Fig. 1. Humedad relativa, y temperaturas máximas, mínimas y promedio dentro del invernadero de plástico.

Fig. 1. Relative humidity, and maximum, minimum and average temperatures inside the plastic greenhouse.

### Establecimiento y manejo del cultivo

Lasiembradetrébolblancoserealizócolocando 10 semillas en bolsas de plástico negro con 1,5 kg de sustrato (unidad experimental), obtenido de la parcela experimental del CIBA-IPN, Unidad Tlaxcala, cuyas características fisicoquímicas se muestran en la Tabla 1. Tras la emergencia de las plántulas, se realizó un aclareo manual para homogenizar una población inicial de cinco plantas por unidad experimental. El periodo de establecimiento fue de 60 días posteriores a la siembra; consecutivamente, antes de iniciar la asignación de tratamientos y el experimento, se realizó un corte de homogenización a cinco cm de altura, respecto al nivel del suelo, con el objetivo de reducir el efecto de covariable del forraje residual.

El digestato líquido o bioestimulante se obtuvo de los efluentes del digestor tipo túnel de plástico del módulo de bovinos lecheros de la Granja Experimental del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y sus características químicas se muestran en la Tabla 2. La aplicación de las diferentes concentraciones del digestato se realizó cada 2 semanas suministrando las diluciones en 300 mililitros de agua por cada unidad experimental. El riego de las unidades experimentales se efectuó semanalmente a capacidad de campo, asegurando una humedad del suelo del 80%.

### Variables evaluadas

#### *Rendimiento de materia seca*

El rendimiento de materia seca (MS) se determinó cortando todo el material vegetal presente por encima de cinco cm de altura respecto al nivel del suelo, en las fechas de cosecha correspondientes a la frecuencia de corte asignada. La biomasa cosechada se lavó para eliminar cualquier residuo de suelo, se pesó en fresco y posteriormente se deshidrató en una estufa de aire forzado de la marca RIOSSA modelo H-102 fabricada en México, a 70 °C durante 48 h, obteniéndose así el peso de la materia seca.

El rendimiento de MS por hectárea no se extrapoló, debido a que el trébol blanco presenta un hábito de crecimiento postrado. Por lo tanto, la densidad de plantas por hectárea depende de múltiples factores, y únicamente se reporta el rendimiento de materia seca por unidad experimental.

#### *Composición morfológica*

El forraje cosechado en los muestreos se separó en los diferentes componentes morfológicos: hoja compuesta (desde la base del raquis primario y los tres folíolos), pecíolo (desde la base de la inserción del estolón hasta el raquis primario) y el estolón. Posteriormente, cada componente se deshidrató en una estufa de aire forzado de la marca RIOSSA, modelo H-102 fabricada en México, a 70 °C durante 48 h, y se obtuvo el peso en base seca de cada uno.

**Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del suelo de la parcela experimental del CIBA-IPN (capa de 10-40 cm).**

**Table 1. Physical and chemicals properties of the soil in the CIBA-IPN experimental plot (10-40 cm layer).**

| Elemento          | Resultado | Interpretación | Elemento            | Resultado                               | Interpretación |
|-------------------|-----------|----------------|---------------------|---|----------------|
| pH                | 7,21      | Mod. alcalino  | Clase textural      | Franco                                  |                |
| CE                | 0,60 dS/m | Bajo           | Densidad aparente   | 0,99 g/cm <sup>3</sup>                  |                |
| MO                | 2,43%     | Mod. Alto      | Punto de saturación | 40%                                     | Medio          |
| N-NO <sub>3</sub> | 16,8 ppm  | Mod. Alto      | Capacidad de campo  | 21,3%                                   | Medio          |
| P-Bray            | 2,12 ppm  | Muy Bajo       | Cond. Hidráulica    | 5 cm/h                                  | Mod. Alto      |
| K                 | 537 ppm   | Mod. Alto      | Carbonatos totales  | 2,46%                                   | Bajo           |
| Ca                | 1.396 ppm | Mod. Alto      | CIC                 | 12,6                                    | Mod. Bajo      |
| Mg                | 488 ppm   | Mod. Alto      | Salud del suelo     | 268 mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> | Muy Alto       |
| Na                | 62,1 ppm  | Mod. bajo      |                     |   |                |
| Fe                | 24,4 ppm  | Mod. Alto      |                     |   |                |
| Zn                | 3,02 ppm  | Mod. Alto      |                     |   |                |
| Mn                | 27,7 ppm  | Alto           |                     |   |                |
| Cu                | 0,94 ppm  | Medio          |                     |   |                |
| B                 | 0,35 ppm  | Bajo           |                     |   |                |
| S                 | 23,4 ppm  | Alto           |                     |   |                |

**Tabla 2. Análisis químico del extracto de Sargazo utilizado en el experimento.**  
**Table 2. Chemical analysis of the Sargassum extract used in the experiment.**

| Elemento                                      | Resultados | Elemento                 | Resultados |
|---|------------|--------------------------|------------|
| pH  | 5,44       | Boro (ppm)               | 5,05       |
| Conductividad Eléctrica (dS m <sup>-1</sup> ) | 26,5       | Humedad (%)              | 97,8       |
| Fosforo (%)                                   | 0,0096     | Materia orgánica (%)     | 0,31       |
| Nitrógeno (%)                                 | 0,15       | Cenizas (%)              | 1,88       |
| Calcio (%)                                    | 0,03       | Carbono orgánico (%)     | 0,18       |
| Magnesio (%)                                  | 0,06       | Relación C/N (Base seca) | 1,15       |
| Potasio (%)                                   | 0,18       | Arsénico (ppm)           | 0,05       |
| Cobre (ppm)                                   | 0,16       | Bario (ppm)              | 0,5        |
| Sodio (%)                                     | 0,44       | Cadmio (ppm)             | 0,005      |
| Hierro (ppm)                                  | 2,69       | Cromo (ppm)              | 0,3        |
| Manganeso (ppm)                               | 0,63       | Níquel (ppm)             | 0,25       |
| Zinc (ppm)                                    | 2,21       | Cobalto (ppm)            | 0,025      |
|   |            | Aluminio (ppm)           | 0,10       |

### *Altura de forraje*

Antes de cada corte asignado a la unidad experimental, la altura del trébol blanco se midió con una regla graduada de 30 cm y una precisión de 0,1 cm, de la marca MP (México Paper), modelo PA004, fabricada en México. La medición se realizó colocando la regla en la parte central de la unidad experimental, completamente vertical desde la base del sustrato hasta el foliolo superior más joven de cinco peciolo (Castillo et al., 2009; Castro et al., 2011).

### *Tasa de crecimiento del cultivo*

La tasa de crecimiento (TC) se calculó utilizando los datos de rendimiento de materia seca por corte, mediante la siguiente fórmula:

$$TC = \frac{FC}{t}$$

donde FC = forraje cosechado (g MV maceta) y t = días transcurridos entre un corte y el siguiente.

El forraje cosechado se separó en los componentes morfológicos: hoja (trifolios), peciolo, estolones, inflorescencia y material muerto. Cada componente se pesó en fresco y posteriormente se secó en una estufa de aire forzado de la marca RIOSSA modelo H-102 fabricada en México a 70 °C, por 48 h y se registró su peso seco.

### **Diseño y Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño en bloques al azar con arreglo factorial 4×3. Los factores evaluados

fueron: concentración de digestato (0, 20, 40 y 60%) y frecuencia de defoliación (4, 5 y 6 semanas), considerando la concentración de 0% como el testigo sin fertilizar. En total se generaron 12 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, siendo la unidad experimental la bolsa de plástico con una planta de trébol blanco. Los valores obtenidos se agruparon por corte y por época del año. Se realizó la prueba Levene para evaluar la homogeneidad de las varianzas, y posteriormente, los datos se analizaron mediante el procedimiento factorial ANOVA y PROC GLM del Software estadístico (SAS Institute., 2002) versión 9.0 para Windows®. Las medias de los tratamientos se compararon utilizando la prueba de medias de Tukey con un nivel de significancia del 5 y 1% (P<0,05 y P<0,01).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Rendimiento de materia seca**

El rendimiento de MS del trébol blanco presentó valores diferenciados en función de los factores evaluados. La concentración del digestato al 60% estimuló la mayor cantidad de materia seca (P<0,05), superando en 168, 88 y en 34% en la época de verano; 225, 108 y 15% en otoño y 220, 116 y 19% en invierno a las concentraciones de 0, 20 y 40% de digestato, respectivamente. En cuanto al rendimiento acumulado, la concentración del 60% fue superior (P<0,05) en 196, 104 y 21% a comparación con las mismas concentraciones.

Respecto a las estrategias de cosecha no se observaron diferencias significativas (P>0,05) entre cosechar cada cuatro y cinco semanas en verano;

sin embargo, estas frecuencias produjeron en promedio 92% más forraje ( $P<0,05$ ) que los cortes realizados cada seis semanas. En otoño e invierno, el comportamiento fue inverso: cosechar cada seis semanas registró los mayores rendimientos ( $P<0,05$ ), superando en 21 y 27% a los cortes cada cinco y cuatro semanas, respectivamente. No obstante, el rendimiento acumulado entre las frecuencias de cosecha no mostró diferencias significativas ( $P>0,05$ ). Con respecto a la significancia de los factores, la frecuencia de corte no afectó ( $P>0,05$ ) el rendimiento acumulado de materia seca, ni presentó interacción significativa con la concentración de digestato durante el otoño (Tabla 3).

**Altura de trébol blanco**

La altura del forraje del trébol blanco presentó diferencias significativas ( $P>0,05$ ) durante el verano, sin embargo, en el resto de las épocas evaluadas y en el promedio final se registraron diferencias significativas ( $P<0,05$ ). Los tratamientos con las concentraciones más altas de digestato (40 y 60%) fueron los que alcanzaron mayores alturas. En otoño, con excepción del testigo (0%), no se observaron

diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre el resto de los tratamientos. En invierno, las concentraciones más altas (40 y 60%) superaron en 80 y 30%, respectivamente al testigo, y a las concentraciones más bajas (0 y 20%). En el promedio final, estas concentraciones mostraron incrementos de 25 y 13%, respectivamente. En cuanto a las frecuencias de defoliación, cosechar cada seis semanas permitió que el trébol blanco desarrollara pecíolos más largos, registrándose así las mayores alturas ( $P<0,05$ ) en todas las épocas evaluadas y en el promedio final. En verano, la altura fue superior en 24 y 11%; en otoño 21 y 9%; y en invierno 60 y 30%, con respecto a las cosechas cada cuatro y cinco semanas. El promedio final mostró incrementos del 32 y 16%, respectivamente. Por otro lado, la interacción entre concentraciones de digestato y la frecuencia de cosecha no presentaron significancia ( $P>0,05$ ) durante el verano (Tabla 3).

**Composición morfológica**

**Hoja**

La producción de hoja (desde la base del raquis primario y los tres folíolos) mostró que, con excepción del otoño, donde las concentraciones

**Tabla 3. Rendimiento de materia seca y altura de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) a diferentes concentraciones de digestato y frecuencias de cosecha.**

**Table 3. Dry matter yield and height of white clover (*Trifolium repens* L.) at different digestate concentrations and harvest frequencies.**

| Factor                     | Materia seca (g MS maceta) |        |          |           | Altura (cm) |         |          |          |
|----------------------------|----------------------------|--------|----------|-----------|-------------|---------|----------|----------|
|                            | Verano                     | Otoño  | Invierno | Acumulado | Verano      | Otoño   | Invierno | Promedio |
| Concentración de digestato |                            |        |          |           |             |         |          |          |
| 0                          | 1,9 Ad                     | 1,6 Ab | 1,49 Ad  | 5,1 d     | 18,4 Aa     | 13,3 Bb | 9,7Cc    | 13,8 c   |
| 20                         | 2,7 c                      | 2,5 b  | 2,21 c   | 7,4 c     | 18,8 Aa     | 13,9Bab | 13 Bb    | 15,3 b   |
| 40                         | 3,8 b                      | 4,5 a  | 4,01 b   | 12,4 b    | 18,5 Aa     | 15,9 Ba | 16,6 Ba  | 17,0 a   |
| 60                         | 5,1 a                      | 5,2 a  | 4,78 a   | 15,1 a    | 19,7 Aa     | 15,3 Ca | 17,4 Ba  | 17,5 a   |
| Prom.                      | 3,4A                       | 3,4A   | 3,1A     |           | 18,8A       | 14,6B   | 14,2B    |          |
| Frecuencia de defoliación  |                            |        |          |           |             |         |          |          |
| 4                          | 3,9 Aa                     | 3,1 Bb | 2,78 Bb  | 9,8 a     | 16,8 Ac     | 13,2 Bb | 11,1 Cc  | 13,7 c   |
| 5                          | 4,2 Aa                     | 3,3 Bb | 2,94 Bb  | 10,4 a    | 18,7 Ab     | 14,6Bab | 13,6 Cb  | 15,6 b   |
| 6                          | 2,1 Bb                     | 3,9A a | 3,65 Aa  | 9,7 a     | 20,9 Aa     | 16 Ca   | 17,8 Ba  | 18,2 a   |
| Prom.                      | 3,4A                       | 3,4A   | 3,1B     |           | 18,8 A      | 14,6 B  | 14,2 B   |          |
| Significancia              |                            |        |          |           |             |         |          |          |
| Conc                       | **                         | **     | **       | **        | NS          | **      | **       | **       |
| FC                         | **                         | *      | **       | NS        | **          | **      | **       | **       |
| C *FC                      | **                         | NS     | **       | **        | NS          | *       | **       | **       |

Medias con letras minúsculas iguales en columnas y mayúsculas en hileras no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0,05). FC= Frecuencias de corte, C= Concentración, Sig.= Significancia, NS= No significativo ( $P>0,05$ ), \*=( $P<0,05$ ); \*\*=( $P<0,01$ ).



más altas de digestato (40 y 60%), no presentaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ), la mayor concentración (60%) registró la producción más alta ( $P<0,05$ ) en el resto de las épocas y en la acumulación total. Los incrementos fueron del 166, 100 y 41% en verano; 181, 93 y 11% en otoño; 190, 93 y 16% en invierno y 178, 98 y 20% en la acumulación de hoja, en comparación con las concentraciones de 0, 20 y 40% de digestato, respectivamente. Respecto a la frecuencia de cosecha, en otoño e invierno no se observaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ); sin embargo, en verano la frecuencia de corte cada cuatro semanas registró los valores máximos ( $P<0,05$ ), superando en 35 y 228% a las frecuencias de cinco y seis semanas, respectivamente. En el rendimiento acumulado de hoja, no se detectaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre cosechar cada cuatro y cinco semanas, aunque en promedio superaron en 26% a la frecuencia de seis semanas (Tabla 4).

#### Pecíolo

En el peso seco del pecíolo, la concentración de digestato al 60%, registró los valores más altos en todo el experimento ( $P<0,05$ ), superando en 200, 100 y 38% en verano; 240, 183 y 21% ( $P>0,05$ ) en otoño; 291, 166 y 22% en invierno; 246, 136 y

23% en el rendimiento total, en comparación con las concentraciones de 0, 20 y 40% de digestato, respectivamente. Respecto a las frecuencias de defoliación, la cosecha cada seis semanas fue superada en 108% por los cortes cada cuatro y cinco semanas en verano; En otoño, ocurrió lo contrario: cosechar cada seis semanas fue superior ( $P<0,05$ ) en 33% a los cortes hechos cada cinco semanas, pero no mostró diferencias significativas ( $P>0,05$ ) con la de cuatro semanas. En invierno, cortar cada cuatro y cinco semanas fueron superadas en promedio 93% por la frecuencia de seis semanas ( $P<0,05$ ); sin embargo, en el rendimiento total no se observaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre frecuencias de defoliación (Tabla 4).

#### Estlón

El peso seco del estolón, que corresponde al punto de crecimiento del trébol blanco, que permite la formación y crecimiento del pecíolo y, en consecuencia, la producción de hojas mostró que en otoño no hubo diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre las concentraciones evaluadas, ni se evidenció efecto de los factores ni de las interacciones. En invierno, la concentración del 20% promovió el menor peso seco de este componente. En verano y en el rendimiento

**Tabla 4. Rendimiento de hoja y pecíolo de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) a diferentes concentraciones de digestato y frecuencias de cosecha.**

**Table 4. Leave and petiole yield of white clover (*Trifolium repens* L.) at different digestate concentrations and harvest frequencies.**

| Factor                     | Hoja (g MS maceta) |        |          |       |           | Pecíolo (g MS maceta) |       |          |       |           |
|----------------------------|--------------------|--------|----------|-------|-----------|-----------------------|-------|----------|-------|-----------|
|                            | Verano             | Otoño  | Invierno | Prom. | Acumulado | Verano                | Otoño | Invierno | Prom. | Acumulado |
| Concentración de digestato |                    |        |          |       |           |                       |       |          |       |           |
| 0                          | 0.9Ad              | 1.1 Ab | 1.0 Ad   | 1 d   | 3.03 d    | 0.6 Ad                | 0.5Ab | 0.45Ac   | 0.51d | 1.5 d     |
| 20                         | 1.2Bc              | 1.6 Ab | 1.5 Ac   | 1.4 c | 4.25 c    | 0.9 Ac                | 0.6Bb | 0.66Bc   | 0.72c | 2.2 c     |
| 40                         | 1.7Bb              | 2.8 Aa | 2.5 Ab   | 2.3 b | 7.01 b    | 1.3 Ab                | 1.4Aa | 1.44Ab   | 1.38b | 4.2 b     |
| 60                         | 2.4Ba              | 3.1 Aa | 2.9 Aa   | 2.8 a | 8.44 a    | 1.8Aa                 | 1.7Aa | 1.76Aa   | 1.75a | 5.2 a     |
| Prom                       | 1,5B               | 2,2A   | 1,9A     |       |           | 1,1A                  | 1,1A  | 1,1A     |       |           |
| Frecuencia de Defoliación  |                    |        |          |       |           |                       |       |          |       |           |
| 4                          | 2.3Aa              | 2.1ABa | 1.92 Ba  | 2.1a  | 6.3 a     | 1.5 Aa                | 1 Bab | 0.84Cb   | 1.1 a | 3.3 a     |
| 5                          | 1.7Bb              | 2.2Aa  | 1.95ABa  | 1.95a | 5.8 a     | 1.3 Aa                | 0.9Bb | 0.95Bb   | 1.05a | 3.2 a     |
| 6                          | 0.7Bc              | 2.0Aa  | 2.12Aa   | 1.63a | 4.8 b     | 0.67Bb                | 1.2Aa | 1.45Aa   | 1.1 a | 3.3 a     |
| Prom                       | 1.5 B              | 2.1A   | 1.9A     |       |           | 1.2 A                 | 1.03A | 1.08A    |       |           |
| Significancia              |                    |        |          |       |           |                       |       |          |       |           |
| Conc                       | **                 | **     | **       |       | **        | **                    | **    | **       |       | **        |
| FC                         | **                 | NS     | NS       |       | **        | **                    | *     | **       |       | NS        |
| C*FC                       | **                 | *      | **       |       | **        | **                    | NS    | **       |       | **        |

Medias con letras minúsculas iguales en columnas y mayúsculas en hileras no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0,05). FC= Frecuencias de corte, C= Concentración, Sig.= Significancia, NS= No significativo ( $P>0,05$ ), \*=( $P<0,05$ ); \*\*=( $P<0,01$ ).

acumulado, las concentraciones más altas (40 y 60%), no registraron diferencias significativas entre ellas ( $P>0,05$ ), pero produjeron incrementos de 240 y 54% en verano y en 307 y 220% en el acumulado total en comparación con las concentraciones de 0 y 20%. Respecto a las frecuencias de cosecha en otoño e invierno no evidenció efecto significativo de este factor ( $P>0,05$ ), pero sí resultó superior ( $P<0,05$ ) en 28% al corte cada cuatro semanas (Tabla 5). Y finalmente las interacciones entre los factores evaluados no fueron significativas ( $P>0,05$ ) en el comportamiento del estolón, debido tal vez a que el experimento se llevó a cabo en bolsas de plástico.

**Tasa de crecimiento del trébol blanco**

La tasa de crecimiento del cultivo registró que el mayor valor se obtuvo con la concentración de digestato al 60% ( $P<0,05$ ), superando en 166, 100 y 33% en verano; 240, 133 y 16% en invierno y 221, 114 y 25% en el promedio acumulado, en comparación con las concentraciones de 0, 20 y 40%, respectivamente. En otoño las concentraciones más altas (40 y 60%) superaron ( $P<0,05$ ) en 130% a las más bajas (0 y 20%). Respecto a las frecuencias de corte, con excepción del otoño, donde no se observaron diferencias

significativas ( $P>0,05$ ), en las demás épocas evaluadas cosechar cada cuatro semanas registró los valores más altos ( $P<0,05$ ). Esta frecuencia fue superior en 16 y 180% en verano; 112 y 88% en invierno y en 20 y 52% en el promedio final, en comparación al cosechar cada cinco y seis semanas, respectivamente.

**DISCUSION**

Con respecto al rendimiento de materia seca, Castro et al. (2013) argumentan que las estrategias de manejo de praderas basadas en las frecuencias de defoliación, ya sea por corte o pastoreo, determinan el aporte al rendimiento de cada componente morfológico, el cual está correlacionado con el valor nutritivo independientemente de la especie de forraje producida. El aprovechamiento de un cultivo forrajero o pradera debe considerar la etapa fenológica, priorizando la fase vegetativa y minimizando la transición al estado reproductivo, con el fin de asegurar una mayor producción y proporción de hojas en relación con los tallos (Perreta y Vegetti, 2005). La importancia de las estrategias de cosecha radica en que determinan la formación de nuevo tejido vegetal, la utilización de las reservas de carbohidratos y la cantidad de

**Tabla 5. Rendimiento de estolón y tasa de crecimiento del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) a diferentes concentraciones de digestato y frecuencias de cosecha.**

**Table 5. Stolon yield and growth rate of white clover (*Trifolium repens* L.) at different digestate concentrations and harvest frequencies.**

| Factor                     | Estolón (g MS maceta) |        |          |           | Tasa de crecimiento (g MS maceta d) |         |          |           |
|----------------------------|-----------------------|--------|----------|-----------|-------------------------------------|---------|----------|-----------|
|                            | Verano                | Otoño  | Invierno | Acumulado | Verano                              | Otoño   | Invierno | Acumulado |
| Concentración de digestato |                       |        |          |           |                                     |         |          |           |
| 0                          | 0,05 Ac               | 0,01Ba | 0,01Bb   | 0,07 c    | 0,06Ad                              | 0,05ABb | 0,04Bd   | 0,14 d    |
| 20                         | 0,11Abc               | 0,02Ba | 0,004Bab | 0,13 bc   | 0,08Ac                              | 0,07ABb | 0,06Bc   | 0,21 c    |
| 40                         | 0,14Aab               | 0,06Ba | 0,03Bab  | 0,23 ab   | 0,12Ab                              | 0,13 Aa | 0,12 Ab  | 0,36 b    |
| 60                         | 0,2Aa                 | 0,07Ba | 0,06Ba   | 0,34 a    | 0,16Aa                              | 0,15ABa | 0,14 Ba  | 0,45 a    |
| Frecuencia de defoliación  |                       |        |          |           |                                     |         |          |           |
| 4                          | 0,11 Ab               | 0,02Ba | 0,01 Ba  | 0,14 b    | 0,14 Ba                             | 0,11 Ca | 0,17Aa   | 0,35 a    |
| 5                          | 0,19 Aa               | 0,03Ba | 0,03 Ba  | 0,26 a    | 0,12Ab                              | 0,09B a | 0,08Bb   | 0,29 b    |
| 6                          | 0,07 Ab               | 0,07Aa | 0,04 Ba  | 0,18 ab   | 0,05Bc                              | 0,09Aa  | 0,09Ab   | 0,23 c    |
| Significancia              |                       |        |          |           |                                     |         |          |           |
| C                          | **                    | NS     | *        | **        | **                                  | **      | **       | **        |
| FC                         | **                    | NS     | NS       | *         | **                                  | *       | **       | **        |
| C*FC                       | NS                    | NS     | NS       | NS        | **                                  | *       | **       | **        |

Medias con letras minúsculas iguales en columnas y mayúsculas en hileras no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0,05). FC= Frecuencias de corte, C= Concentración, Sig.= Significancia, NS= No significativo ( $P>0,05$ ), \*=( $P<0,05$ ); \*\*=( $P<0,01$ ).



área foliar remanente, lo cual es característico de cada especie (Simon et al., 2004). En el presente estudio se observó que la fertilización con digestato tiene un efecto estimulante sobre el rendimiento de forraje y, combinada con una frecuencia de cosecha óptima resulta fundamental para conocer el comportamiento productivo de la especie en las diferentes épocas del año. Generalmente, en cultivos sin fertilizar se conocen los efectos que alteran la capacidad de rebrote y del rendimiento de la especie forrajera, siendo la temperatura y frecuencia de cosecha las de mayor importancia. No obstante, se conoce que los cortes frecuentes producen menor rendimiento con respecto a los periodos de cosecha más largos (Hernández et al., 2023). Sin embargo, en el rendimiento de MS acumulada del trébol blanco no registró diferencias en este trabajo; así mismo, se menciona que el valor nutritivo del trébol blanco no tiene cambios en toda la época de producción, independientemente de la frecuencia de corte a la que se someta esta especie (Castelán et al., 2002).

La edad de la pradera o el tiempo que una especie tiene de establecida en la parcela afecta el rendimiento de MS, el cual no es constante y depende de los diferentes esquemas de defoliación; Springer y Aiken (2015) mencionan que es mejor cosechar el trébol blanco cada 28-40 días, en verano, que hacerlo cada dos semanas, ya que, a corto y mediano plazo el rendimiento se ve reducido con cortes muy frecuentes, lo cual coincide con lo reportado en este estudio.

Por otra parte, el rendimiento de MS del trébol blanco, establecido a partir de semillas se caracteriza por dos formas de crecimiento. La primera corresponde a una etapa de desarrollo de la raíz principal, a partir de la cual se forman estolones radiales; esta fase, dura de uno a dos años después de la siembra. Posteriormente, ocurre una forma de crecimiento clonal, cuando la raíz principal y el eje del tallo primario mueren, lo que desencadena la producción de nuevos estolones que se desarrollan como plantas clonales independientes (Harris et al., 2023). Los resultados obtenidos de este experimento sugieren que la fertilización con digestato tuvo efecto marcado en esta etapa de establecimiento del trébol blanco a pesar de que el cultivo se desarrolló en condiciones semi controladas en un túnel de plástico.

La importancia de medir la altura del follaje es porque hay correlación positiva con el rendimiento de la pradera (Castro et al., 2011). Los resultados de este experimento muestran que a mayor concentración de digestato, mayor altura y rendimiento (Tabla 3). Sin embargo, en lo que respecta a las frecuencias de corte, no se observa relación entre la altura y el rendimiento

de MS. Heshmati et al. (2020) mencionan que el rendimiento de cuatro años de evaluación, el trébol blanco en praderas puras y asociadas con ballico perenne la producción de MS del trébol fue similar ( $P>0,05$ ) en ambas praderas; sin embargo, cuando el trébol se asocia con tres especies los rendimientos son diferenciales. Por su parte, la población del trébol se mantiene constante ( $P>0,05$ ) en todas las praderas evaluadas, lo cual difiere a lo reportado por Castro et al. (2012), al demostrar que a pesar de que la proporción del trébol blanco se mantuvo constante (40%) en el establecimiento, los rendimientos fueron contrastantes ( $P<0,05$ ) en las diferentes asociaciones evaluadas.

Gutiérrez-Arenas et al. (2018) mencionan que en praderas de trébol blanco con cuatro años de establecimiento el mayor índice de área foliar en la época de verano se registró en la semana cinco de crecimiento ( $P<0,05$ ). En este trabajo, el mayor peso seco de hoja se registró a la cuarta semana de crecimiento. En las épocas de otoño e invierno, las frecuencias de corte no registraron diferencias ( $P>0,05$ ), lo que coincide con lo descrito por Scheneiter et al. (2009), quienes argumentan que las diferentes variedades de trébol blanco, tienen mecanismos heterogéneos para la acumulación de materia seca, y que el tamaño de la hoja influye más que la tasa de aparición de hojas, en la acumulación de biomasa producida.

La importancia del aporte de la hoja al rendimiento y valor nutritivo del trébol es respaldado por lo que argumenta Simon et al. (2004) al sustentar que la respuesta de trébol blanco a las frecuencias de defoliación varía dependiendo del tamaño de las hojas en las diferentes variedades. En condiciones de invernadero, al evaluar tres variedades de diferente tamaño concluye que el mayor registró del rendimiento de MS, en la variedad de hoja grande, lo determinó la longitud y peso del pecíolo.

Hogh-Jensen et al. (2001) mencionan que el mayor aporte al rendimiento del trébol blanco es el del componente morfológico pecíolo, y que, a la vez, se registró un rápido crecimiento de éste cuando se tenían cantidades suficientes de N, P y K en el suelo. Por lo que, en el este sentido el resultado registrado de este trabajo en las concentraciones de digestato fue lo que promovió un mayor aporte de este componente al rendimiento. Simon et al. (2004) también señalan que el crecimiento del pecíolo está estrechamente relacionado con el tamaño de la hoja y la concentración de carbohidratos tanto en los mismos estolones y raíces, reportando que en variedades de hoja grande es mayor a la concentración de carbohidratos en las hojas que en las variedades de hojas de tamaño

pequeño, independientemente de los intervalos de defoliación a los que es sometida la especie, lo que indica una mayor dependencia de los carbohidratos almacenados en las variedades de hoja grande. Mientras que, en condiciones de pastoreo una mayor longitud del pecíolo aumenta la disponibilidad para el animal y, por lo tanto, la remoción del tejido foliar, lo que posteriormente promovería el crecimiento de nuevas hojas y estolones.

Simon et al. (2004) mencionan que la tasa de crecimiento del estolón es inversamente proporcional al tamaño de la hoja; es decir, entre más pequeño, mayor crecimiento, y la relación peso/ longitud del estolón, aumento cuando la frecuencia de defoliación aumento. Black et al. (2009) indican que una de las ventajas del trébol es su plasticidad o la modificación de sus puntos de crecimiento; por ejemplo, si la frecuencia e intensidad del pastoreo aumenta, el trébol responde, produciendo hojas más pequeñas, pecíolos más cortos, y mayor densidad de estolones y puntos de crecimiento, y si la frecuencia de defoliación se reduce, ocurre lo contrario. Pero esta respuesta es diferencial, dependiendo de las variedades que se estén produciendo, las cuales se clasifican por el tamaño de la hoja.

Castro et al. (2012), mencionan que la tasa de crecimiento del trébol varía dependiendo de la época del año, registrándose mayores valores en primavera y verano, en comparación que otoño e invierno. Además, la frecuencia de defoliación influye en el porcentaje del trébol blanco en praderas asociadas; sin embargo, este aportó del 49-51% del forraje total, superando significativamente a las gramíneas ( $P < 0,05$ ).

Por otro lado, estos resultados difieren a los reportados por Heshmati et al. (2020), quienes concluyen que cultivar gramíneas y leguminosas en praderas mixtas o asociadas permite rendimiento más altos de MS, en comparación con praderas de una sola especie o en monocultivo. No obstante, en trébol blanco al ser evaluado por cuatro años consecutivos, el rendimiento de MS, en praderas puras y asociadas con ballico perenne, reportaron que la producción de MS fue similar ( $P > 0,05$ ) en ambas praderas. En cambio, cuando fue asociada con la achicoria (Asteraceae) los rendimientos de las leguminosas incrementaron, y lo mismo ocurrió cuando se asociaron las tres especies. Mientras que la población del trébol se mantuvo constante ( $P > 0,05$ ) en todas las praderas.

Otros autores mencionan que el aporte del trébol blanco es muy bajo cuando es sometido a diferentes frecuencias en las diferentes épocas del año. Moreno-Carrillo et al. (2015) argumentan que el aporte al rendimiento de MS de trébol blanco tuvo un promedio de 13% en praderas asociadas,

siendo superado por malezas y otros pastos que representaron el 19% de la composición botánica. Flores et al. (2015) reportaron que las praderas asociadas en su segundo año de establecidas producen 22% más MS que los praderas puras o monocultivos, y el trébol blanco fue la especie que aportó mayor porcentaje al rendimiento (44%).

Nkoa (2014) reportó que los resultados del efecto de la aplicación de digestatos en cultivos, pueden ser clasificados en tres grupos, los primeros donde los resultados son similares a suelos sin fertilizar, los segundos, donde los resultados son similares a la adición de abonos o estiércoles sin degradar, y los terceros, donde los resultados son similares o superiores a los fertilizantes químicos. Coelho et al. (2020) mencionan que las respuestas en los rendimientos de forraje promovidos por el digestato y los purines de ganado fueron similares ( $P > 0,05$ ), comparables con los rendimientos más altos del fertilizante químico (nitrato de amonio) con 27% de nitrógeno y concluye que con la fertilización con digestato, las especies forrajeras difieren en su comportamiento, y el ballico perenne muestra una mayor respuesta que el trébol blanco.

Dahlin et al. (2015) reportan que la fertilización con digestato, en praderas asociadas de trébol pratense y ballico, incrementan la concentración de Cu y Zn en el suelo, muy cercano a los requerimientos mínimos necesarios que reporta el National Research Council (NRC), en suelos de baja fertilidad. Así mismo, mencionan que el aprovechamiento de los subproductos que se pueden reciclar requiere de conocimiento de las características de estos y de su manejo, y del proceso en un sistema suelo planta, incluyendo el efecto de las especies que están en competencia y de su composición en praderas asociadas.

En cuanto al efecto que tiene el digestato en las plantas, se ha reportado que previene enfermedades, mejora la resistencia a condiciones de estrés y mejora la calidad de las cosechas (Nkoa, 2014). Por su parte, Wang et al. (2018) señalan que la fracción líquida del digestato de la digestión anaeróbica de estiércol de cerdo, aceleró la germinación, la elongación de las raíces y le crecimiento de plántulas de maíz, al ser diluido al 50%. Algunos de estos efectos, como el enraizamiento, han sido atribuidos a la presencia de fitorreguladores en el digestato (Ertani et al., 2013; Scaglia et al., 2015).

## CONCLUSIONES

La concentración de digestatos registró efectos en el rendimiento de materia seca, peso de la hoja y el pecíolo, estolón, altura del forraje y tasa de crecimiento del cultivo. Mientras que

las frecuencias de defoliación solo intervinieron en la altura del forraje, hoja, estolón y tasa de crecimiento del cultivo.

A excepción del estolón, donde las interacciones de los factores evaluados no registraron efecto, en la tasa de crecimiento del cultivo y el rendimiento de la hoja fue altamente significativo.

Un programa de manejo donde se incluya fertilización con digestato, aunado a una frecuencia de defoliación óptima, permitirá obtener mayores rendimientos de materia seca en trébol blanco.

Cosechar cada cuatro semanas con fertilizaciones en altas concentraciones del digestato, permitirá obtener rendimientos altos de materia seca a corto plazo, y a largo plazo también tendrá efectos benéficos a la salud y fertilidad de los suelos.

### Contribución de autores

Los siguientes autores tuvieron una participación activa en la revisión de literatura: Gisela Aguilar Benítez, Orlando Zaca Moran, Valentín López Gayou y María Myrna Solís Oba; en la elaboración de la metodología: Gisela Aguilar Benítez, Raúl Delgado Macuil y Martha Angélica Bautista Cruz; En el análisis y discusión de los resultados: Rigoberto Castro Rivera y Gisela Aguilar Benítez; en la revisión y aprobación final del artículo: todos los autores.

### LITERATURA CITADA

- Black, A. D., A. S. Laidlaw, D. J. Moot, and P. O'Kiely. 2009. Comparative growth and management of white and red clovers. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 48(2): 149–166.
- Castelán, M. E., E. C. Tomei, M. E. Cioltti, and C. R. Linsdtrom. 2002. Efecto de la frecuencia de corte en el rendimiento de materia seca y valor nutritivo de *Trifolium repens* CV Haifa. *Revista Argentina de Producción Animal* 22(1): 21–27.
- Castillo, G. E., B. Valles de la Mora, y R. J. Jarillo. 2009. Relación entre materia seca presente y altura en gramas nativas del trópico mexicano/ Relationship between standing dry matter and plant height in grasses native to the Mexican tropics. *Técnica Pecuaria México* 47(1): 79–92.
- Castro, R. R., G. A. Hernández, B. G. Aguilar, y R. O. Ramírez. 2011. Comparación de métodos para estimar rendimiento de forraje en praderas asociadas Comparison of methods for estimating forage yield in associated pastures. *Naturaleza y Desarrollo* 9(1): 38–46.
- Castro, R. R., G. A. Hernández, H. H. Vaquera, , G. J. de la P. Hernández, C. A. R. Quero, Q.J. F. Enríquez, y H. P. A. Martínez. 2012. Comportamiento productivo de asociaciones de gramíneas con leguminosas en pastoreo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35(1): 87–95.
- Castro, R. R., G. A. Hernández, R. O. Ramírez, B. G. Aguilar, Q. J. F. Enríquez y P. S. I. Mendoza. 2013. Crecimiento en longitud foliar y dinámica de población de tallos de cinco asociaciones de gramíneas y leguminosa bajo pastoreo. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4(2):201–215.
- Coelho, J. J., A. Hennessy, I. Casey, C. R. S. Bragança, T. Woodcock and N. Kennedy. 2020. Biofertilisation with anaerobic digestates: A field study of effects on soil microbial abundance and diversity. *Applied Soil Ecology* 147: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103403>
- Dahlin, A. S., A. Ramezani, C. D. Campbell, S. Hillier and I. Öborn, I. 2015. Waste recovered by-products can increase growth of grass-clover mixtures in low fertility soils and alter botanical and mineral nutrient composition. *Annals of Applied Biology* 166(1): 105–117. <https://doi.org/10.1111/aab.12168>
- Ertani, A., D. Pizzeghello, A. Baglieri, V. Cadili, F. Tambone, M. Gennari and S. Nardi. 2013. Humic-like substances from agro-industrial residues affect growth and nitrogen assimilation in maize (*Zea mays* L.) plantlets. *Journal of Geochemical Exploration* 129: 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.10.001>
- Flores, S. E. del J., G. A. Hernández, R. J. D. D. Guerrero, C. A. R. Quero, y H. P. A. Martínez. 2015. Productividad de asociaciones de pasto ovillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perenne (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias* 6(3): 337–347.
- Gutiérrez-Arenas, A. F., A. Hernández-Garay, H. Vaquera-Huerta, J. L. Zaragoza-Ramírez, M. J. Luna-Guerrero, S. Reyes-Castro y D. A. Gutiérrez-Arenas. 2018. Análisis de crecimiento estacional de Trébol Blanco (*Trifolium repens* L.). *Agro Productividad* 11(5): 62–68.
- Harris, C., R. Chystopher, S. Humphrey-Ackumey, R. Mercer, P. Ney, and F. L.W. Ratnieks. 2023. Pollinator spillover: Hay cutting of grass with white clover, *Trifolium repens*, displaces bees and increases their abundance in adjacent patches of bramble, *Rubus fruticosus*. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 354: 108581.

- Hernandez, M. E., R. J. Ventura, G. C. J. Wilson, P. M. A. Maldonado, R. J. D. Guerrero, A. G. Munguia y G. A. R. Rojas 2023. Análisis de crecimiento estacional de una pradera de trébol Blanco (*Trifolium repens* L.). Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 14(1):190-203. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i1.5187>
- Heshmati, S., B. Tonn and J. Isselstein. 2020. White clover population effects on the productivity and yield stability of mixtures with perennial ryegrass and chicory. Field Crops Research 252(November 2019): 107802. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107802>
- Hogh-Jensen, H., V. Fabricius and J. K. Schjoerring. 2001. Regrowth and nutrient composition of different plant organs in grass-clover canopies as affected by phosphorus and potassium availability. Annals of Botany 88(1): 153–162. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1446>
- Jezequel, A., L. Delaby, Z. C. McKay, C. Fleming and B. Horan. 2024. Effect of sward species diversity combined with a reduction in nitrogen fertilizer of the performances of spring-calving grazing dairy cows. Journal of Dairy Science 107(12):11104-11116.
- Malinowski, D. P., D. P. Belesky, J. M. Ruckle and J. M. Fedders. 2012. Productivity and botanical composition of orchardgrass-white clover swards in a cool-temperate hill land region of the eastern United States. Grassland Science 58(4): 188–200. <https://doi.org/10.1111/j.1744-697x.2012.00259.x>
- Moreno-Carrillo, M. A., A. Hernández-Garay, H. Vaquera-Huerta, C. Trejo-López, J. A. Escalante-Estrada, J. L. Zaragoza-Ramírez y B. M. Joaquín-Torres. 2015. Productividad de siete asociaciones y dos praderas puras de gramíneas y leguminosas en condiciones de pastoreo. Revista Fitotecnia Mexicana 38(1): 101–108. <https://doi.org/10.35196/rfm.2015.1.101>
- Nkoa, R. 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. Agronomy for Sustainable Development 34(2): 473–492. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0196-z>
- Pawlett, M., L. K. Deeks and R. Sakrabani. 2015. Nutrient potential of biosolids and urea derived organo-mineral fertilisers in a field scale experiment using ryegrass (*Lolium perenne* L.). Field Crops Research 175: 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.02.006>
- Perreta, M., and a. Vegetti. 2005. Formas de crecimiento y efectos del corte en gramíneas forrajeras. Revista FAVE 11(1/2): 68–79.
- Provenzano, M. R., A. D. Malerba, D. Pezzola and G. Gigliotti, G. 2014. Chemical and spectroscopic characterization of organic matter during the anaerobic digestion and successive composting of pig slurry. Waste Management 34(3): 653–660.
- Rancane, S., A. Karklins, D. Lazdina, P. Berzins, A. Bardule, A. Butlers and A. Lazdins. 2016. The evaluation of biomass yield and quality of phalaris arundinacea and festulolium fertilised with bio-energy waste products. Agronomy Research 14(1): 198–210.
- Rancane, S., A. Karklins, D. Lazdina, P. Berzins, A. Bardule, A. Butlers and A. Lazdins. 2017. Biomass yield and chemical composition of *Phalaris arundinacea* L. using different rates of fermentation residue as fertiliser. Agronomy Research 15(2): 521–529.
- Rojas, G. A. R., G. A. Hernández, W. Ayala, P. S. I. Mendoza, C. S. Joaquín, H. H. Vaquera y S. M. A. Ortega. 2016. Comportamiento productivo de praderas con distintas combinaciones de ovillo (*Dactylis glomerata* L.), ballico perenne (*Lolium perenne* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias 48(2): 57–68.
- Rojas, G. A. R., G. A. Hernández, C. A. R. Quero, R. J. D. D. Guerrero, W. Ayala, R. J. L. Zaragoza y L. C. Trejo. 2017. Persistencia de *Dactylis glomerata* L. solo y asociado con *Lolium perenne* L. y *Trifolium repens* L. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7(4): 885. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i4.262>
- SAS, and Inst. 2002. *SAS User's Guide*.
- Scaglia, B., M. Pognani, and F. Adani. 2015. Evaluation of hormone-like activity of the dissolved organic matter fraction (DOM) of compost and digestate. Science of the Total Environment 514: 314–321.
- Scheneiter, O., B. Rosso, and M. Corletto. 2009. Attributes related to seasonal herbage growth in white clover. *Scientia Agricola* 66(1): 20–27. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162009000100003>
- Simon, J. C., A. Jacquet, M. L. Decau, E. Goulas and F. Le Dily. 2004. Influence of cutting frequency on the morphology and the C and N reserve status of two cultivars of white clover (*Trifolium repens* L.). European Journal of Agronomy 20(4): 341–350. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(03\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(03)00042-X)
- Springer, T. L. and G. E. Aiken. 2015. Harvest frequency effects on white clover forage biomass, quality, and theoretical ethanol yield. Biomass and Bioenergy 78: 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.04.003>

- Lai, S., R. Chang, Z. Xu, W. Wang and F. Hou. 2025. Grazing combined with white clover reseeded enhances grassland productivity by improving soil nitrogen and phosphorus availability and regulating microbial diversity. *Journal of Environment Management* 393:126971
- Thomson, A. L., D. J. Humphries, J. E. Archer, N. W. Grant, and C. K. Reynolds, 2018. Short communication: A survey of glass-clover ley management and creation of a near infra-red reflectance spectroscopy equation to predict clover concentration. *Animal Feed Science and Technology* 245: 48-53.
- Walsh, J. J., D. L. Jones, G. Edwards-Jones and A. P. Williams. 2012. Replacing inorganic fertilizer with anaerobic digestate may maintain agricultural productivity at less environmental cost. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175(6): 840–845. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200214>
- Wang, Y., W. Li, F. Wang, S. Liu and W. Wang. 2018. Performance of maize plant reconstruction and storage nutrient mobilization induced by liquid phase of anaerobically digested pig manure. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 20(1): 274–282. <https://doi.org/10.1007/s10163-016-0576-y>

