

## DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN HOJA TALLO Y DEL CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA L.*).

**Trucco, Rodrigo**

*Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional del Litoral*

*Director: Ríbero Gustavo Gabriel*

*Co-Director: Nescier Isabel de los Milagros*

Área: Ingeniería (Ingeniería Agronómica)

### INTRODUCCIÓN

La alfalfa es una planta forrajera perteneciente a la familia de las leguminosas (Fabaceae), más antigua e importante a nivel mundial. Argentina es uno de los productores más importantes de esta especie en el mundo y posee aproximadamente 3,7 millones de hectáreas sembradas. (Basigalup, 2007). Se utiliza principalmente como forraje y en la mayoría de las áreas geográficas, donde las producciones bovinas de leche y carne son relevantes, la alfalfa constituye uno de los componentes básicos en la alimentación del ganado (Chimicz, 1988).

La difusión del cultivo de alfalfa se apoya en sus altos rendimientos de biomasa en materia seca (MS) ha<sup>-1</sup>. Su excelente calidad forrajera es capaz de satisfacer las necesidades nutritivas de animales de altos requerimientos (Pereyra & W., 2006) y su gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales (Basigalup, 2007) acentúan su amplia difusión. Además, su amplia participación es impulsada por poseer características agronómicas valiosas como perennidad, plasticidad y capacidad para la fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico. (Muslera & García, 1991).

Además de la importancia de obtener un buen volumen de forraje, no menos relevante es la calidad que produce un alfalfar. (Elliot, 1972) menciona a la alfalfa como la especie de mayor valor nutritivo dentro de todos los cultivos forrajeros cultivados comercialmente. La proporción de hojas con respecto a los tallos -conocida como relación hoja/tallo (RHT)- es un indicador de calidad muy importante. Se busca que esta sea lo más alta posible; las hojas son más digestibles, tienen un contenido de proteína superior y por lo tanto mayor valor nutritivo (Fick & Holthausen, 1985) y su calidad se conserva durante más tiempo que la de los tallos. (Hittle, 1958) sugirió que cualquier cosa que aumenta la RHT también aumenta el valor nutritivo de la planta

El reposo invernal se refiere a la característica genética que permite a las plantas de alfalfa mantenerse en latencia durante el período de bajas temperaturas y menor longitud del día, previa a la acumulación de reservas en el sistema radicular y la corona.

Aunque el concepto de reservas en la planta hace referencia a varios compuestos en forma simultánea, los carbohidratos no estructurales son los que han sido objeto de la mayor cantidad de estudios destinados a explicar su relación con la persistencia y la productividad de la alfalfa.

Incidencia de la frecuencia de corte en la variación estacional del metabolismo de carbohidratos, y en las variables productivas y nutricionales de cultivares de alfalfa (*Medicago sativa L.*). Código 50120150100118LI – Director: Isabel de los Milagros Nescier- CAI+D 2016. UNL- Aprobado Anexo II – Res.-745° /17. PACT N° 38: Alternativas para mejorar la eficiencia y sustentabilidad de los sistemas productivos, considerando el consenso de la comunidad con respecto a las prácticas agronómicas utilizadas en la región central de Santa Fe. Director del PACT: Scotta Roberto Ricardo

## OBJETIVOS

- Optimizar el protocolo de determinación de carbohidratos en alfalfa.
- Evaluar el balance de carbohidratos solubles en tres variedades de alfalfa.
- Determinar la relación hoja/tallo a lo largo del periodo de muestreo.

## METODOLOGÍA

### Lugar de trabajo y diseño experimental:

El trabajo se llevó a cabo en el campo experimental de Producción Animal ubicado en la localidad "Rincón de Ávila", sobre ruta Provincial N° 6, a 31° 20' 08" latitud Sur, 60° 50' 48" longitud Oeste y a una altitud de 34 m s.n.m. La pastura fue implantada en el mes de agosto del año 2017 sobre un suelo Argiudol Típico (Panigatti, 2010). Se utilizaron tres cultivares de alfalfa, uno con reposo invernal intermedio (GR6- Verzi) y dos sin reposo invernal (GR10-Ruano), y (GR9-Mecha). Diseño de cuatro bloques, con los tres cultivares de alfalfa distribuidos aleatoriamente en tres parcelas. Se utilizó una densidad de siembra de 14 kg/ha y semilla peleteada con inoculante *Rizhobium meliloti*, fungicida, insecticida y cubierta de carbonato de calcio.

### Toma de muestras:

El muestreo fue realizado a una profundidad de 15 cm, realizando el corte sobre 20 cm en dirección a la línea de siembra y 20 cm perpendicular a dicha línea, extrayendo de esta manera una superficie de 400 cm<sup>2</sup>. Se llevaron a cabo tres muestreos respetando una frecuencia de 21 días. El primero fue realizado el 28/04/18, el segundo el 18/05/18 y el tercero el 08/06/18.

### Procesamiento de muestras y porcentaje de materia seca:

Posterior a cada muestreo se hizo un recuento de plantas y se registraron datos morfológicos que puedan ser relevantes a la hora de hacer inferencias y sacar conclusiones. Se realizó el lavado de raíces con agua, luego se determinó la materia seca según (AOAC, 1990).

### Relación Hoja:Tallo:

Cada muestra se separó en hojas y tallos y se pesó cada fracción. A partir de dichos valores se obtuvo la Relación Hoja:Tallo estimada como el cociente entre el peso seco de las fracciones hoja (folíolos, pecíolos, estípulas, etc.) y tallo.

### Evaluación de la concentración de carbohidratos solubles en alfalfa:

Existen técnicas de laboratorio que permiten determinar el contenido de carbohidratos no estructurales presentes en los distintos órganos del cultivo. De toda la gama de metodologías existentes, MCW descripto por (Bielek & Turner, 1966) y Etanol 80% fueron seleccionadas para la puesta a punto de la técnica. La razón de esta selección fue con el objetivo de realizar una comparación y en consecuencia definir la más adecuada para utilizar en el resto de la investigación. Tras finalizar la prueba de análisis, se optó por Etanol 80% como método a efectuar en el resto de las determinaciones del ensayo debido a las ventajas técnicas y operacionales que la misma presenta en contraste a MCW. Entre los beneficios encontrados, en lo que refiere al aspecto económico, Etanol 80 % v/v es una técnica que demanda un menor costo por análisis de muestra, en contraposición a MCW que al requerir

una mayor cantidad de insumos implica un costo por mayor. En cuanto al tiempo demandado y en la complejidad operacional, la técnica de Etanol 80% v/v se destaca por sobre MCW por su rapidez y simplicidad. Además, los resultados obtenidos no presentaron diferencias significativas entre ambos métodos.

Para efectuar las determinaciones analíticas el material fue molido en molinillo eléctrico y se pasó por tamiz con malla de 1 mm.

### Determinación de carbohidratos solubles:

A partir de 50 mg de material vegetal seco se extrajeron los azúcares solubles mediante cuatro extracciones con etanol al 80% v/v a ebullición, el residuo resultante se secó a temperatura ambiente para posterior determinación de almidón.

### Cuantificación de carbohidratos solubles:

La cuantificación de la concentración de azúcares solubles en hojas, raíces y corona se realizó por espectrofotometría a la longitud de onda de 490 nm, utilizando el método colorimétrico fenol-sulfúrico descrito por (Dubois, Giles, & Hamilton, 1956).

## RESULTADOS



Gráfico 1: Relación Hoja:Tallo promedio de cada variedad para cada uno de los muestreos.

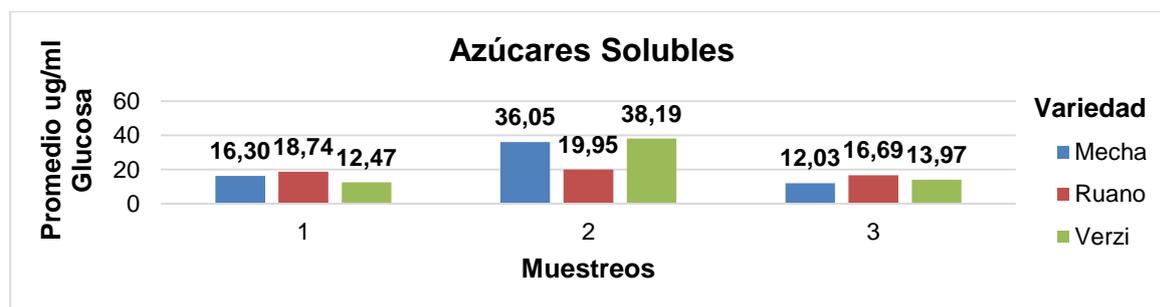


Gráfico 2: Cuantificación promedio de la concentración de azúcares solubles, expresada en ug/ml Glucosa, de cada variedad para cada uno de los muestreos.

## DISCUSIÓN/CONCLUSIÓN

De los tres muestreos realizados el que presentó la mayor relación hoja:tallo promedio para cada una de las variedades evaluadas fue el tercero. En este último la relación fue siempre superior a uno, mientras que en los demás la relación nunca superó la unidad. Esto

se debió a que las condiciones ambientales previas al muestreo fueron óptimas, lo que no ha sucedido en los dos primeros muestreos en donde la baja relación fue como consecuencia, para el primer caso, de las condiciones de sequía extrema que se venían manifestando desde diciembre del año anterior, y para el segundo caso, del anegamiento producto de las abundantes precipitaciones ocurridas en la primer y segunda semana de mayo. Estos fenómenos dieron lugar a una masiva caída de hojas que se tradujo en una dominancia de los tallos sobre los órganos foliares.

El muestreo 2 fue el que presentó mayor concentración de carbohidratos solubles expresados en ug/ml Glucosa, debido a que las plantas, luego de recuperarse de las condiciones de sequía y previo al efecto adverso del anegamiento, lograron establecer un área foliar lo suficientemente grande como para permitir obtener altas tasas de fotosíntesis, y así lograr una significativa producción de carbohidratos. Esto no fue lo ocurrido en el muestreo 1 y 3, debido a que en el primero las plantas no presentaban un buen desarrollo foliar, lo que no posibilitaba una producción significativa de carbohidratos. Mientras que en el tercero la razón fue la reducida frecuencia de muestreo que, en combinación con las bajas temperaturas y la baja radiación, propias de la época, no permitieron que el área foliar que se estaba generando llegue a su pico máximo para obtener altas tasas de fotosíntesis y así una alta producción de carbohidratos por día.

De acuerdo a lo analizado se observó que el factor determinante fue el tiempo meteorológico, el cuál de forma directa o indirecta permite que tanto la relación hoja:tallo como la concentración de carbohidratos solubles varíen de forma positiva o negativa. Es por ello que toda práctica que permita mitigar los efectos adversos del ambiente, se traducirá en mejores resultados de ambas variables.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- AOAC.** (1990). Official Methods of Analysis. *AOAC INTERNATIONAL*.
- Basigalup, D. H.** (2007). *El cultivo de la alfalfa en la Argentina*. Buenos Aires: INTA.
- Bielesk, R. L., & Turner, N. A.** (1966). Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *NCBI*.
- Chimicz, J.** (1988). Los sistemas de producción de leche en Argentina. *Revista Argentina de Produccion Animal*.
- Cornacchione, M.** (2003). Alfalfa, crecimiento y manejo para un uso eficiente como integrante de la cadena forrajera de los sistemas ganaderos locales. *Sitio Argentino de Produccion Animal*.
- Dubois, M., Giles, K. A., & Hamilton, J. K.** (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*.
- Elliot, F.** (1972). Breeding for forage yield and quality. *Alfalfa Science and Technology*.
- Fick, G., & Holthausen, R.** (1985). Alfalfa leaf protein and stem cell wall polysaccharide yields under hay and biomass management systems. *Crop Science*.
- Hittle, C.** (1958). The effect of height and frequency of cutting on the yield. *American Society of Agronomy*.
- Muslera, E. d., & García, C. R.** (1991). *Praderas y forrajes: producción y aprovechamiento*. Mundi Prensa Libros S.A.
- Panigatti, J.** (2010). *200 años, 200 suelos*. Buenos Aires: INTA.
- Pereyra, H. R., & W., P. T.** (2006). Producción y distribución de forraje de alfalfa (*Medicago sativa*). *Sitio Argentino de Producción Animal*.