



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

Título:

*“Evaluación del contenido de nitrógeno de la pared celular en distintos cultivares de *Medicago sativa L.*”*

MODALIDAD: Tesina.

AUTOR: SALTO, Amílcar Leonel

ASESOR: Ing. Agr. (MSc) FERNÁNDEZ, Juan Alfredo.

LUGAR DE REALIZACIÓN: Laboratorio de Química Analítica y Agrícola – Departamento de Física y Química - Facultad de Ciencias Agrarias - UNNE.

2019

Resumen:

El objetivo de este trabajo fue evaluar el contenido de nitrógeno insoluble de la fibra y NIDA (Nitrógeno insoluble en detergente ácido) en tres cultivares de alfalfa (*Medicago sativa L.*), en un año de producción. Las muestras fueron obtenidas de ensayos realizados en la Estación Experimental Agropecuaria INTA de Presidencia Roque Sáenz Peña, Provincia del Chaco. La pastura (alfalfa) fue implantada el día 28/04/16, en parcelas rectangulares de 2 x 3 m. Los cultivares evaluados fueron: Gapp (G969), Patriarca (Pro INTA) y Saladina (CUF 101). Se realizaron cortes al inicio de floración en cada parcela, utilizando un marco de 1 m² cortando a 5 cm de altura. Se llevó a estufa (65°C) hasta peso constante. Se utilizó un diseño experimental en bloques completamente al azar con parcela dividida. La determinación del contenido de los componentes nutricionales se realizó en el Laboratorio de Química Analítica y Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNNE. Se determinó Fibra Detergente Acido (FDA) y NIDA (nitrógeno insoluble de la Fibra detergente ácido) de los distintos cultivares. Los valores obtenidos se analizaron con el Test de Duncan. Con dichos valores se concluyó que la FDA en el cultivar Saladina (CUF 101) arrojó valores superiores (18,77%) para todas las fechas de corte, seguido por Gapp (G969) con 15,60%, y por último, Patriarca (Pro INTA) con porcentaje inferior de 14,26%, de estos valores no se encontraron diferencias significativas. Lo mismo para NIDA que arrojó valores de 0,68% en Saladina (CUF 101), (0,59 %) Gapp (G969) y (0,64 %) Patriarca.

ANTECEDENTES

El origen de esta forrajera (*Medicago sativa L.*) se centra en la zona del Golfo Pérsico, más específicamente en el actual Irán (Rodríguez et al., 1986), desde donde comenzó su dispersión hasta convertirse en una especie cosmopolita. Su domesticación ocurrió probablemente en múltiples lugares y las fechas no están claras (Small, 2011). Sin embargo, la alfalfa se menciona en textos babilónicos del 700 a. de C. (Hendry, 1923) lo que sugiere que se cultivaba en ese momento. Desde el centro de origen, la alfalfa se propagó en gran parte de Europa, norte de África, Oriente Medio y Asia Central y del Norte. El germoplasma de alfalfa se introdujo en Norte y Sur América, a partir del siglo XVI y en Australia en la década de 1800 (Barnes et al., 1977). Por la ruta del Pacífico ingresó a Perú, Chile y posteriormente a Argentina por vía terrestre.

La alfalfa es la planta forrajera tal vez más antigua y está hoy prácticamente extendida por todo el mundo (Pozo Ibáñez, 1977). Es una de las plantas más utilizadas como forraje, con aproximadamente 32 millones de hectáreas cultivadas; Estados Unidos y Argentina, con 16 millones tienen la mayor superficie sembrada (Bouton, 2001). Actualmente Argentina es uno de los productores más importantes de esta especie en el mundo y posee aproximadamente 3,7 millones de hectáreas sembradas, 60% como cultivos puros y 40% como pastura con mayor proporción de alfalfa en mezcla con gramíneas templadas anuales y/o perennes y en menor medida con gramíneas megatérmicas (Basigalup, com. pers., 2014).

La alfalfa ha sido tradicionalmente la forrajera más importante de Argentina, llegando en la década del 20 a cubrir una superficie de 8,5 millones de hectáreas. Sin embargo, los cultivos fueron declinando en su productividad y persistencia debido a múltiples factores, la mayoría provocados por inadecuadas prácticas de manejo y por la proliferación de insectos, enfermedades y malezas (Rossanigo, 1997). A partir de fines de la década del 70 comienzan a conocerse las primeras variedades de alfalfa sin reposo invernal (SRI) con buenas posibilidades de producción y, fundamentalmente, mayor persistencia. Con una de ellas, el cultivar CUF 101 (SRI), proveniente de la zona de California (EE. UU.), trascendiendo al gran cultivo y difundiéndose rápidamente, lo que lleva a ubicar dentro de la historia del panorama varietal un momento puntual que diferencia claramente dos etapas: hasta y a partir de CUF 101. Este hecho coincide con el comienzo de un período de recuperación del cultivo en el país (Rodríguez et al., 1986). La mayor superficie sembrada con alfalfa en la Argentina está delimitada por los paralelos 30° y 40° S y los meridianos 58° y 65° W, existiendo otras áreas de menor importancia, como las regiones de riego del Noroeste, Cuyo y Patagonia y la región Chaqueña (entre los 22° y 55° S y los 58° y 68° W). Esta extensa distribución norte - sur implica un amplio rango de adaptación a diversas condiciones ambientales. En aquellos lugares donde las temperaturas son favorables para el crecimiento de la alfalfa, los límites en la producción de forraje están establecidos por la disponibilidad de agua (Rodríguez et al., 1986). En Chaco hay implantadas, según el último censo, algo más de 11 mil hectáreas, las cuales son utilizadas principalmente bajo corte mecánico, para henificación o en algunos casos

para suministro en fresco (Chiossone, 2016). El Registro Nacional de Cultivares del INASE tiene más de 500 cultivares o variedades comerciales de alfalfa inscriptos, de los cuales cerca de 150 se pueden hoy encontrar en el mercado argentino. Esta oferta generosa, muchas veces hace difícil la elección de los cultivares más adecuados para las realidades del productor o del asesor profesional (Basigalup *et al.*, 2015). Es la principal especie forrajera del país y la base de la producción de carne y leche en la Región Pampeana. La difusión del cultivo se apoya en sus altos rendimientos de materia seca por hectárea (MS/ha-1), su excelente calidad forrajera y su gran adaptabilidad a diversas condiciones ambientales (suelo, clima y manejo). Por otro lado, su capacidad para la fijación del nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con *Sinorhizobium meliloti* la convierten también en un importante componente de la sustentabilidad (Basigalup *et al.*, 2007).

La alfalfa es un cultivo que por sus características sería deseable que esté presente en todas las cadenas forrajeras de los sistemas dedicados a la producción de carne y leche. Sin embargo, no todas las regiones son aptas para su establecimiento, dado que existen limitantes de tipo agroclimáticas (Bragachini *et al.*, 1996). Está morfológica y fisiológicamente adaptada para tolerar períodos de deficiencia hídrica de cierta duración y en menor medida al anegamiento, de ahí la importancia de brindar las mejores condiciones para un buen desarrollo del cultivo.

En los suelos del domo central agrícola del Chaco se registra un régimen pluviométrico hacia el oeste con 800 mm y hacia el este 1100 mm, evidenciándose variaciones de series y aptitudes de uso, pudiendo presentarse suelos pesados con presencia de sales en determinados sectores (Chiossone, 2015). Para una alta producción de forraje, la alfalfa requiere suelos agrícolas profundos (mayor a 1,2 m de profundidad efectiva), bien aireados, de reacción más bien neutra (pH 6,5 a 7,5) y buena fertilidad especialmente fósforo (P) y en menor proporción azufre (S) (Basigalup *et al.*, 2007). Por la longitud y profundidad de sus raíces, es resistente a la sequía, ya que obtiene agua de las capas profundas del suelo (Hughes *et al.*, 1980).

La temperatura es una variable ambiental importante, pues influye en su crecimiento y en la morfología de la planta. Es considerada una especie de día largo siendo la floración mayor en regiones con fotoperíodo superior a 12 horas (Horrocks y Valentine, 1999).

Las reservas nitrogenadas tienen importancia en algunos procesos relacionados con el rebrote y la tolerancia a las bajas temperaturas. La alfalfa depende en gran parte del nitrógeno proveniente de la fijación simbiótica para satisfacer sus requerimientos totales (Cangiano, 2007). Las variaciones estacionales de los niveles de reserva de estos compuestos en la raíz, tanto del nitrógeno total como de las proteínas solubles, sigue una tendencia similar a la de los carbohidratos (Li *et al.*, 1996). La disminución en los niveles de reservas nitrogenadas se produce como consecuencia de la alta tasa de crecimiento que muestran las alfalfas durante la primavera y el verano (Cangiano, 2007).

El grado de reposo de los cultivares se define en función de su respuesta al fotoperíodo. Así, los cultivares con reposo se caracterizan por detener su crecimiento a medida que se acorta el día y disminuye la temperatura. Los cultivares sin reposo están menos subordinados a la duración del fotoperíodo y continúan su crecimiento mientras las temperaturas superen los 5°C (Poole *et al.*, 2003). Dependiendo de la sensibilidad que muestren ante las temperaturas y la longitud del día, los cultivares se clasifican en grados de reposo invernal (GRI), que van desde 1 (extremadamente con reposo) hasta 11 (extremadamente sin reposo). En la actualidad, en Argentina se usan GRI de 5 a 10, con una marcada tendencia hacia los grados de menor reposo (7 a 10). A efectos de simplificar, se agrupan en tres grandes Grupos de Reposo Invernal: a- con reposo invernal (CRI), que incluye los $GRI \leq 5$; b- de reposo invernal intermedio (RI), que incluye a los GRI 6-7; y c- sin reposo invernal (SRI), que incluye a los GRI 8-10 (Basigalup *et al.*, 2015).

Los cortes de primavera-verano son más frecuentes que los de otoño-invierno. La mayor frecuencia de cortes en primavera-verano es consecuencia principalmente de la mayor temperatura, combinada con el fotoperíodo (Rossanigo *et al.*, 1995).

La alfalfa es una especie cuantitativa de día largo, que tiende a florecer más rápidamente con fotoperíodos largos; por lo tanto, durante los períodos del año con días más cortos, requiere mayores sumas térmicas para llegar al momento de corte (Fick y Mueller, 1989).

El mercado ofrece variedades de alfalfa con bajo reposo invernal, en Chaco la más utilizada por los productores es el cultivar Saladina. La misma, es ampliamente aceptada por los ganaderos de la región ya que presenta como característica sobresaliente su resistencia a las condiciones climáticas del lugar, a pesar de que ofrece una relativamente baja calidad. Más allá de este conocimiento empírico de los productores, es escasa la información sobre el desempeño de las distintas variedades en la región (Chiossone, 2015).

Para la evaluación de la calidad se han desarrollado métodos de análisis basados en las propiedades físicas y químicas de los forrajes. Un grupo importante de técnicas de análisis de calidad forrajera tienen como objetivo determinar la cantidad relativa de pared y de contenidos celulares. La pared celular está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, que contribuyen al basamento estructural de la planta y que constituyen la fibra del forraje. A medida que la planta avanza en su madurez, se incrementa el contenido de lignina, confiriendo mayor resistencia a la estructura. Para los rumiantes, la celulosa y la hemicelulosa son sólo parcialmente digestibles, en tanto que la lignina es indigestible. Por eso, el contenido de fibra se asocia negativamente con la calidad. Por otro lado, los contenidos celulares (citoplasma) son la parte de mayor valor nutritivo y de más alta digestibilidad, proveyendo la mayor parte de la PB, los carbohidratos solubles y los lípidos (grasas) (Basigalup, 2007).

OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar la variación del contenido de nitrógeno insoluble de la fibra en tres cultivares de alfalfa durante el año.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar la cantidad de fibra detergente ácido (FDA) en distintos cultivares alfalfa y en diferentes cortes durante el año.
- Determinar el contenido de nitrógeno insoluble de la Fibra detergente ácido (NIDA) en distintos cultivares alfalfa y en diferentes cortes durante el año.
- Interpretar los resultados del contenido de nitrógeno insoluble de la fibra en distintos cultivares de alfalfa.

HIPÓTESIS DEL TRABAJO

- Existe variación de la fibra detergente ácido (FDA) entre los diferentes cultivares de alfalfa durante las estaciones del año
- Existe diferencias del contenido de nitrógeno en la fibra detergente ácido (NIDA) entre los diferentes cultivares de alfalfa durante las estaciones del año.

MATERIALES Y MÉTODOS

A campo:

Las muestras donde se llevaron a cabo las diferentes determinaciones fueron obtenidas de ensayos realizados en la Estación Experimental Agropecuaria INTA de Presidencia Roque Sáenz Peña. Esta experimental se ubica en el departamento Comandante Fernández, Provincia del Chaco, sobre Ruta Nacional N° 95, a una altitud de 99 msnm. Cartográficamente se localiza a los 26° 50' de latitud Sur y 60° 25' de longitud Oeste. El clima de la Región es Subtropical, intermedio entre marítimo subhúmedo y continental seco con un promedio anual para la serie 1924/2011 de 990,3 milímetros (mm), concentradas en los meses de octubre a abril. La temperatura media anual es de 22,5°C, la máxima media anual de 28,2°C y la mínima media anual de 14,8°C, con temperaturas extremas de -8,7°C en agosto y 44,2°C en diciembre. Los cortes se realizaron al inicio de floración en cada parcela, utilizando un marco de 1m² cortando a 5 cm de altura. Se utilizó un diseño experimental en bloques completos al azar con parcelas divididas de modo que cada variedad formó parte de los tratamientos. Los bloques estuvieron representados por cada uno de los cortes realizados “Dic-16, Ene-17, Feb-17, Mar-17, May-17 y Jul-17” de manera aleatoria.

En laboratorio:

Una vez obtenidas las muestras de planta entera con sus identificaciones, fueron recibidas en el Laboratorio de Química Analítica y Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE, se pesaron en fresco y luego se llevaron a estufa a 65°C hasta peso constante, para determinar el porcentaje de materia seca (%MS). Posteriormente se molieron en un molino tipo Willey con tamiz de 1,5 mm, pasándolas dos veces para una mejor homogenización. Se almacenaron en bolsas de papel hasta la realización de los correspondientes análisis:

Fibra Detergente Ácido (FDA): por la metodología de Goering y Van Soest 1970. Para dicho procedimiento se prepararon sobres indegradables, los cuales fueron enumerados y pesados previamente. Luego se pesó 1g de muestra, se introdujo en el sobre y se los selló con cinta térmica selladora. Se colocó en un vaso de precipitado se agregó 100 mL de la solución de FDA y llevaron a plancha caliente durante una hora de hervor controlado. Luego se lavaron varias veces los con agua caliente y se colocaron en estufa durante 24 hs. El material seco se colocó el residuo en cápsulas de porcelana (previamente taradas) y se llevó a mufla para obtener el contenido de cenizas y realizar los cálculos correspondientes.

Nitrógeno Insoluble de la Fibra Detergente Ácido (NIDA): Del residuo de la FDA se determinó el contenido de nitrógeno por el método Micro Kjeldhal (Bateman, 1970), lo cual se deduce a partir del contenido de nitrógeno total de la muestra. Para esto se pesó 0,3 g de muestra del residuo que quedó en el sobre de FDA en un tubo de ensayo, se agregó 5 mL de ácido sulfúrico y mezcla catalítica. Se realizó la digestión en plancha caliente hasta que la solución quedó sin residuos en suspensión. Se dejó enfriar y se llevó a un volumen de 25 mL. Para la destilación se tomó 3 mL de la solución y se alcalinizó el medio con hidróxido de sodio al 30%. De esta manera se liberó el amoniaco arrastrado por una corriente de vapor y se lo recogió en un matraz que contiene ácido bórico 4%. Luego se tituló con ácido sulfúrico 0,01 N valorado. Con el valor obtenido de la titulación se calculó el contenido de nitrógeno total de la muestra y multiplicado por el factor 6,25 se lo convirtió en proteína bruta insoluble en FDA.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Caracterización AMBIENTAL

El crecimiento y el desarrollo la alfalfa (*Medicago sativa L.*), varía según la variedad, el medio ambiente donde se encuentre y las temperaturas. En la (figura 1) se presentan las variables ambientales que influyen en el crecimiento y desarrollo.

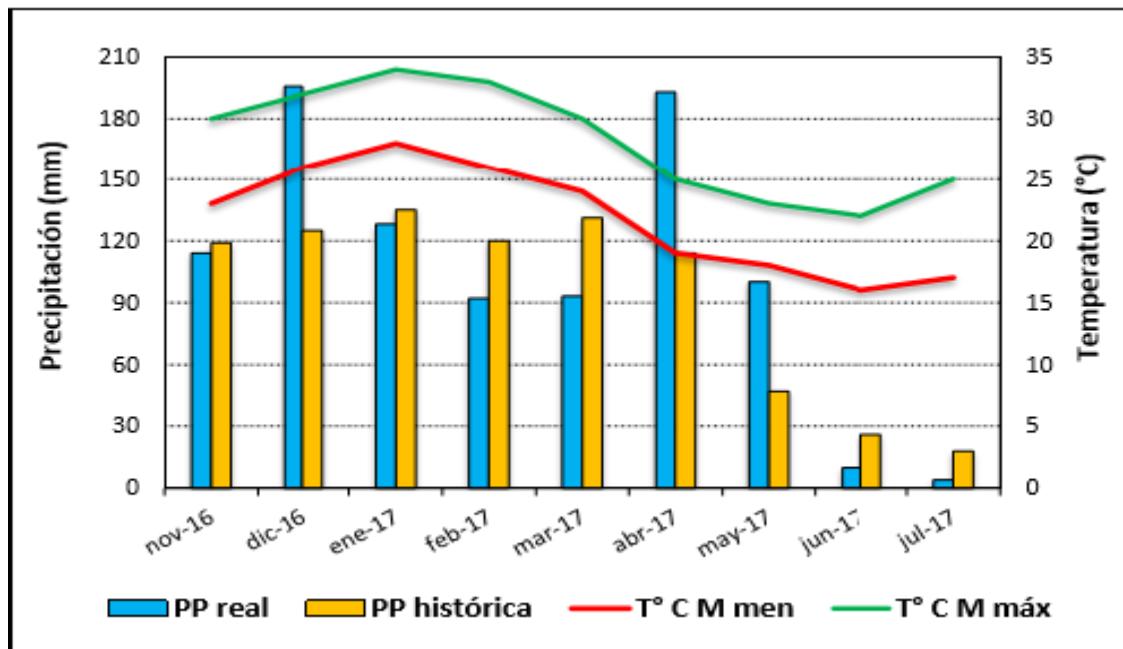


Figura 1: Datos de precipitación mensual (PP histórico y PP real) y temperatura media (T °C M máxima y T °C M mensual) durante el ensayo.

Horrocks y Valentine (1999) expresan que la temperatura es una variable ambiental importante, varía su crecimiento e influye en la morfología de la alfalfa. Cornacchione (2003) menciona que la temperatura del aire influye sobre la actividad metabólica de la planta; las altas temperaturas aumentan la actividad metabólica aumentando así la tasa de crecimiento. Complementando con Gómez (1971) que atribuye a las variaciones de temperatura los rendimientos del forraje, registrándose mayor producción en los cortes efectuados en épocas de elevada temperatura ambiental y alta precipitación pluvial.

Determinación de los componentes nutricionales

Fibra Detergente Ácido (FDA)

Las determinaciones mediante FDA, buscan conocer las fracciones de celulosa y lignina de la pastura. Estos compuestos se incrementan con el avance de los estadios fenológicos de las forrajeras. Ello implica una correlación negativa con la Digestibilidad de la Materia Seca y un menor contenido energético aprovechable. En forrajes conservados (henos y silajes), se suele determinar la proteína ligada a FDA (Mc Donald et al., 2001). A medida que avanzan los estados de madurez disminuyen los porcentajes de proteínas y minerales, aumentando los componentes que reducen la calidad del forraje, como fibra

(celulosa y hemicelulosa) y lignina, un forraje de alta calidad está directamente relacionado con un alto contenido de hojas y bajo porcentaje de tallos. Con la madurez también disminuyen la digestibilidad del forraje y el consumo animal (Romero et al., 1995). Tomando los valores promedios para todas fechas de corte (figura 2) Saladina (CUF 101) presentó un elevado porcentaje de FDA con 18,77%, en comparación a Gapp (G969) 15,66% y Patriarca (Pro INTA) 14,26%. Estas variaciones según bibliografía consultada tienen una relación directa con las condiciones ambientales de temperatura y humedad.

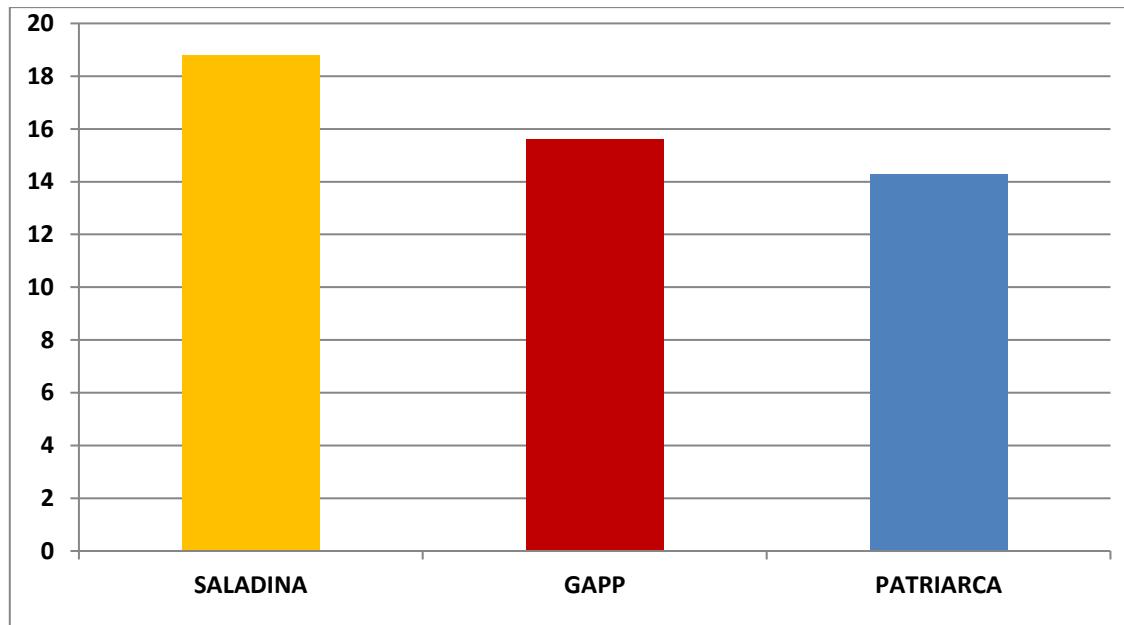


Figura 2: Valores promedios de FDA en distintos cultivares de alfalfa.

Con lo observado en la figura 3 podemos concluir que FDA en la materia seca tuvo variación numérica en los cultivares durante su periodo de producción, en donde se destaca Saladina para los meses de diciembre – febrero – marzo – mayo y julio con valores superiores de 27,58%-19,09%-15,43%-15,80%-15,85%, y siendo inferiores los de Gapp (G969) y Patriarca (Pro INTA). También se aprecia que en el mes de enero Gapp presentó 19,86 de MS, superando a Saladina y Patriarca con 18,92% y 18,97% respectivamente. Camacho, García y García Muñiz (2002) remarcan que el contenido de FDA para cada variedad de alfalfa varía en las diferentes estaciones del año. Para la asociación que contiene la variedad Saladina (Cuf 101) los mayores valores de FDA se obtuvieron durante las estaciones de verano (40.2%), otoño (43%) e invierno (42.4%), y el más bajo durante la primavera (33.1%).

Al analizar FDA y fechas de cortes las diferencias no fueron estadísticamente representativa ($p > 0,05$) según Test de Tukey $\alpha=0,05$.

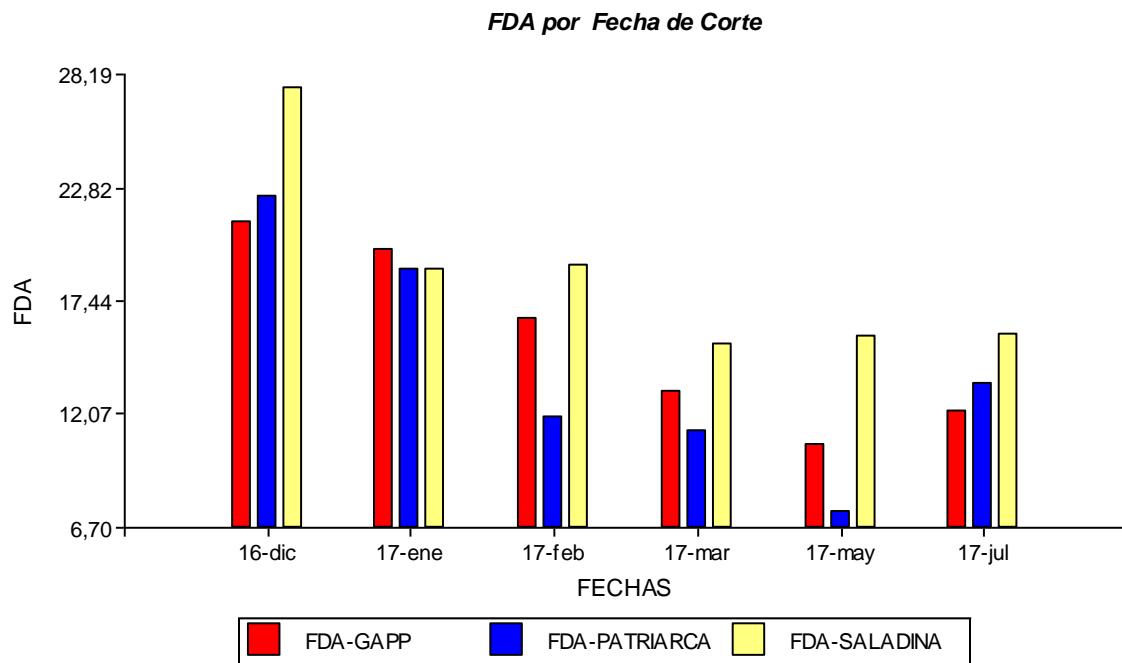


Figura 3: FDA en los cultivares por fechas de cortes.

Nitrógeno Insoluble de la Fibra detergente ácido (NIDA)

El nitrógeno insoluble en una solución ácido detergente (NIDA) es el nitrógeno que permanece en el residuo FDA, ya sea por causas naturales o como resultado de las alteraciones producidas durante el almacenamiento o procesado de los forrajes (Goering *et al.*, 1972). Es considerada como indegradable ya que contiene proteínas asociadas con lignina y taninos (Sniffen *et al.*, 1992). El nitrógeno asociado con la FDA es normalmente proteína ligada a la pared celular que también incluye al nitrógeno indigestible encontrado en el residuo ácido detergente. En la figura 4, no hay diferencias significativas entre los cultivares, debido a la gran variabilidad que presenta este parámetro en cada cultivar. Se observa que Saladina para todas las fechas de corte presentó 0,68% de NIDA en la materia seca, Patriarca 0,64% y Gapp con 0,59%.

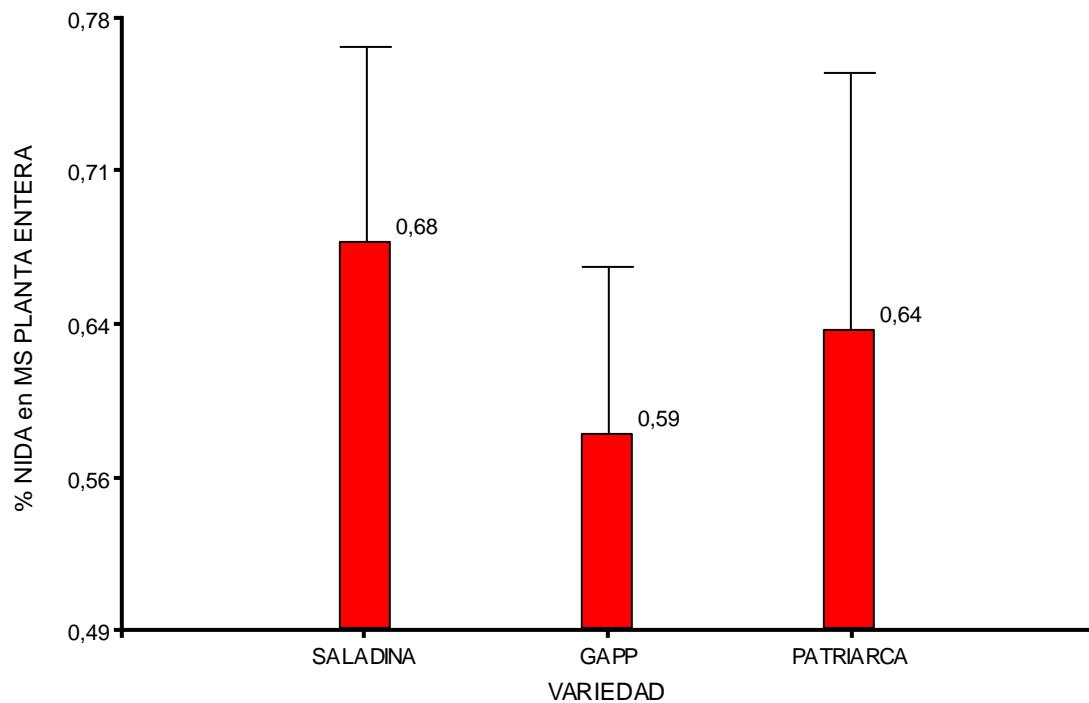


Figura 4: Porcentaje de NIDA total de cada cultivar, las líneas representan el desvió estándar.

En la figura 5, se observa que los cultivares presentaron alto valor de NIDA en la primera fecha de corte (16-dic) y última (17-jul), esto se debería a las condiciones ambientales favorables de temperatura y humedad para el crecimiento, favoreciendo el aumento de la pared celular que se relaciona con el alto contenido en lignina y se tradujo en este aumento. Para las siguientes fechas se observó que Saladina mantuvo a lo largo de su periodo de producción altos porcentaje de NIDA de MS, a diferencia de Gapp y Patriarca que mostraron menores contenidos de NIDA hasta la fecha de corte del 17 de mayo.

Al comparar NIDA de cada variedad y diferentes fechas de cortes las diferencias no fueron estadísticamente representativa ($p > 0,05$) según Test de Tukey $\alpha=0,05$.

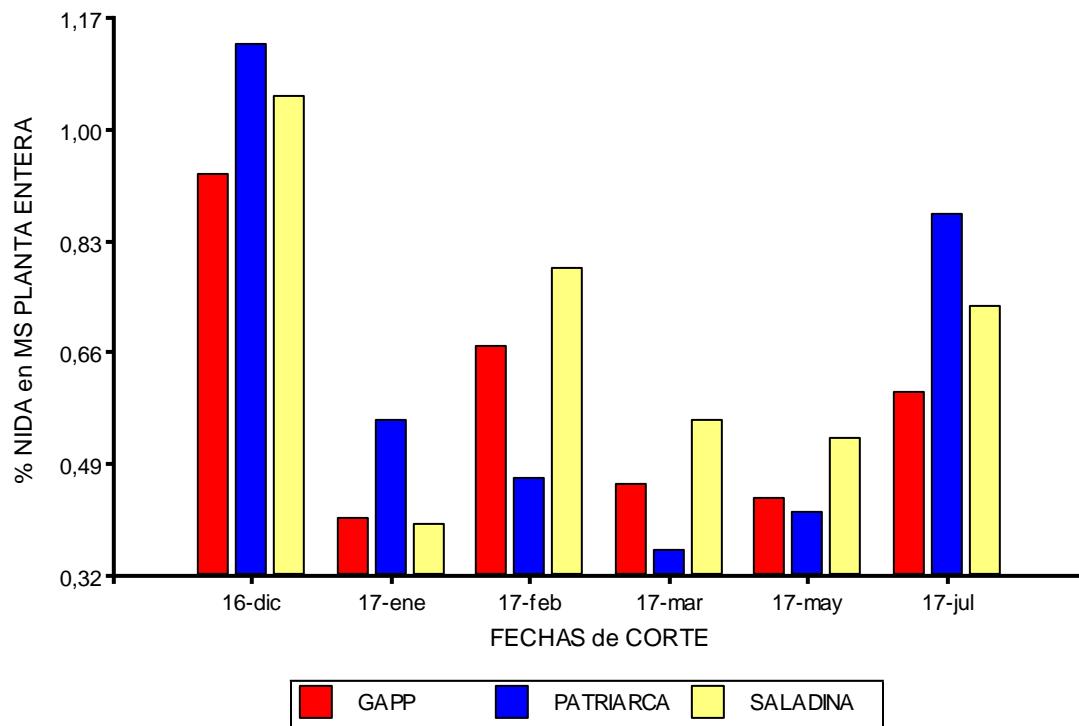


Figura 5: NIDA en diferentes fechas de corte.

CONCLUSIONES

- Existen diferencias de FDA y NIDA entre los distintos cultivares evaluados en esta experiencia.
- Para todas las fechas de corte, Saladina presentó contenido más alto de FDA y NIDA indicando menor valor nutritivo.
- Patriarca y Gapp, poseen menor contenido de FDA y NIDA, comparándolo con Saladina, lo que indicaría mayor valor nutricional.

BIBLIOGRAFÍA:

- Barnes D. K., Bingham E. T., Murphy R. P., Hunt O. J., Beard D. F., Skrdla W. H., Teuber L. R. 1977. *Alfalfa germplasm in the United States: Genetic vulnerability, use, improvement, and maintenance.* USDA-ARS Tech. Bull. 1571. Washington, DC.
- Basigalup, D.; Arolfo, V. & Odorizzi, A. 2015. Cultivares De Alfalfa. Forrajes Conservados. Tecnologías para producir carne, leche y bioenergía en origen. Jornada Nacional de Forrajes Conservados. Editor, M. A. Bragachini. INTA. Buenos Aires. Cap. II, pag. 38-40. EEA Manfredi-INTA.
- Basigalup D. H., Castell C. V., Giaveno C. D. 2004. *Response to selection for lower initial rate of dry matter disappearance in the development of a bloat tolerant non dormant alfalfa population.* Journal of Genetics & Breeding 57(1): 31-38.
- Basigalup D. H. 2007. Mejoramiento genético y desarrollo de variedades. En: Basigalup, D.H. (ed). El cultivo de la alfalfa en la Argentina. Ediciones INTA. pag. 81.
- Basigalup D. H., Rossanigo R., Ballario M. V. (2007). Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. En: Basigalup, D.H. (ed). El cultivo de la alfalfa en la Argentina. Ediciones INTA. pag. 13-25.
- Basigalup D. H. 2014. Situación de la alfalfa en Argentina. 5º Jornada Nacional de Forrajes Conservados. Ediciones INTA. pag. 95-99.
- Bouton, J. H. 2001. *Alfalfa. In: Proceedings of the XIX International Grassland Congress.* Sao Pedro, Sao Paulo, Brazil. pag: 545-547.
- Camacho García, J. L. y García-Muñiz, J. G. 2003. Producción y calidad del forraje de cuatro variedades de alfalfa asociadas con trébol blanco, ballico perenne, festuca alta y pasto ovillo. Derechos reservados, Copyright © 2003. Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo México-Texcoco. Estado de México, México.
- Cangiano C. A. 2007. Crecimiento y manejo de la defoliación. En: El cultivo de la alfalfa en la Argentina. . Basigalup, D.H. (ed). Ediciones INTA. pag 251-254-256-257-259-260-265-266.
- Chiossone, J. 2015. La ganadería en Chaco. Chaco-Argentina. INTA. EEA Sáenz Peña. 43 pag.
- Chiossone, J. L. 2016. Recría y engorde de vacunos en pastoreo de alfalfa y suplementación. C.R. Chaco - Formosa, E.E.A. Sáenz Peña. Grupo de Extensión y Experimentación en Sistemas Ganaderos y Forestales.
- Fick G. W., Mueller S. C. 1989. *Alfalfa: Quality, maturity, and mean stage of development.* Cornell Univ. Inform. Bull. 217: 1-13.
- Goering, H. K. y Van Soest, P. J. 1970. *Forage Fibre Analyses. Apparatus, reagents, procedures and some applications.* Agric. Hanbook, No. 379; Dept.Doc., US Gov't Printing off., Washington.
- Hendry G. W. 1923. *Alfalfa in history.* J. Am. Soc. Agron., 15: 171-176.

- Horrocks, R. D. y Valentine, J. F. 1999. Harvested Forages. Academic Press. Oval Road, London. United States of America. 426 p.
- Hughes, H.D., M. E. Heath y D. S. Metcalf. 1980. Forrajes. Editorial CECSA. México. 758 pag.
- Li R., Volenec J. J., Joern B. C., Cunningham S. M. (1996). *Seasonal changes in nonstructural carbohydrates, protein, and macronutrients in roots of alfalfa, red clover, sweetclover and birdsfoot trefoil*. Crop Science 36: 617-623.
- Mc Donald, P., J. Edwards., J.F.P. Greenhalgh. (2001). Nutrición animal. 5ta Edición, CA Editorial ACRIBIA SA Zaragoza España.
- Muslera Pardo E. de, Ratera García C. 1991. La alfalfa. En: Praderas y forrajes. Ed. MundiPrensa. Madrid. España, pag. 625-694.
- Pozo Ibáñez, M. Del. 1977. La Alfalfa Su Cultivo y Aprovechamiento. 2^a. Edición Madrid Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Rodríguez, J. A.; Holgado, M. W. de y Vicente, R. E. H. 1986. Evaluación de cultivares de alfalfa y panorama varietal en la Argentina. En: Investigación, Tecnología y Producción de Alfalfa. INTA. Buenos Aires. Argentina. pag. 325-369.
- Romero N. A., Comerón E. A., Ustarroz E. 1995. Crecimiento y utilización de la alfalfa, En: Hijano E. H., Navarro A. (eds.) La alfalfa en la Argentina pag. 149-172.
- Rossanigo, R. O. 1995. Como elegir las alfalfas. In: Primer Congreso Nacional de Lechería. pag. 68-74.
- Rossanigo, R. 1997. Alfalfa. Panorama Varietal; Plagas; Control Malezas; Utilización Y Manejo. Invernada bovina en zonas mixtas. Agro 2 de Córdoba. Capítulo I: 6-36. INTA, Centro Regional Córdoba, EEA Marcos Juárez.
- Small E. 2011. *Alfalfa and relatives: evolution and classification of Medicago*. NRC Research Press, pag. 727.