

# Efecto del estado de madurez de la planta sobre la composición de la fracción nitrogenada de la alfalfa aragón (*Medicago sativa* L.)

JESÚS TREVIÑO Y MARÍA T. HERNÁNDEZ

Instituto de Alimentación y Productividad Animal. C.S.I.C. Madrid-3

## RESUMEN

*Se ha realizado un estudio sobre la composición de la fracción nitrogenada de la alfalfa Aragón a cinco diferentes estados de madurez progresiva de la planta. Las determinaciones sobre las muestras recogidas fueron las siguientes: Nitrógeno total, nitrógeno no proteico, nitrógeno extractable con alcohol al 80 %, nitrógeno de péptidos, nitratos y aminoácidos.*

*Los resultados obtenidos mostraron que las concentraciones de las diferentes fracciones nitrogenadas y de los aminoácidos individuales disminuyeron con la edad de la planta. Sin embargo, las variaciones en las concentraciones de N no proteico y de los aminoácidos individuales fueron mínimas cuando los valores fueron expresados como porcentaje del nitrógeno total y de g. de aminoácido / 16 g de N, respectivamente. Esto último parece indicar que, la calidad biológica de la proteína fue poco modificada por el estado de crecimiento y desarrollo de la alfalfa.*

## INTRODUCCIÓN

La proporción de proteína bruta es uno de los parámetros más frecuentemente utilizados para estimar la calidad nutritiva de la hierba como alimento para el ganado. Con relación a esto, sin embargo, hay que tener presente que la proteína bruta constituye una fracción compleja que incluye un conjunto de compuestos nitrogenados con valor biológico muy diferente y cuya proporción relativa dentro de la fracción total puede variar entre límites bastante amplios. Además, tampoco se ha de olvidar

que algunos de estos compuestos pueden dar lugar a intoxicaciones en los animales que los consumen, en el caso de que dichos compuestos se acumulen en las plantas en concentraciones superiores a determinados índices de tolerancia.

Hasta el presente, la mayor parte de la información de que se dispone sobre el contenido proteico de las especies pratenses y forrajeras se refiere a la cantidad de proteína bruta expresada como porcentaje de la materia seca del material analizado y son escasos los datos existentes en los que se diferencian las diversas fracciones nitrogenadas cuyo conjunto constituyen aquella.

En el caso concreto de la alfalfa, diversos autores (FERGUSON y TERRY, 1954; FAUCONNEAU, 1960; MEYER et al., 1965; SMITH y SUND, 1965) han descrito aspectos específicos sobre la composición de la fracción nitrogenada de esta forrajera. Sin embargo, en la mayor parte de los casos, los datos proporcionados, o bien son incompletos, o bien no contemplan la evolución que experimenta la composición química con el estado de crecimiento y desarrollo de la planta. Por otra parte, el que la información se refiera a cultivares de otros países que han estado sometidos a condiciones de cultivo muy diferentes a las del nuestro, hace bastante dudosa su posible aplicación a los ecotipos españoles de alfalfa.

El presente trabajo ha tenido una doble finalidad. De una parte, el obtener información sobre la composición de la fracción nitrogenada de la alfalfa Aragón; de otra, conocer cómo evolucionan las proporciones de los principales constituyentes de esta fracción siguiendo el ciclo de crecimiento de la planta.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo, con alfalfa ecotipo Aragón, tuvo una duración de tres años (1970-1972) y fue realizado en una parcela situada en las proximidades de Madrid (Puerta de Hierro), provista de sistema de riego por aspersión. La parte central de la parcela fue dividida en cuatro subparcelas de 225 m.<sup>2</sup>, en cada una de las cuales se dispuso un diseño experimental en cuadrado latino 5 x 5. Una diferente subparcela fue utilizada para cada ciclo de crecimiento.

La fertilización anual, realizada en el mes de febrero, consistió en la adición de 80 Kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 150 Kg de K<sub>2</sub>O por hectárea.

La recogida de muestras se hizo a cinco progresivos estados de madurez de la planta: (A) Vegetativo, 20-25 cm. de altura; (B) vegetativo, 35-40 cm. de altura; (C) prefloración; (D) iniciación de floración y (E) plena floración.

Las muestras, inmediatamente después de recogidas, fueron desecadas en estufa de aire forzado a 85° C durante 22 horas. Una vez desecadas y molidas, las trescientas muestras recogidas fueron reducidas a cinco muestras compuestas mediante mezcla de todas las tomadas al mismo estado de madurez de la planta durante los tres años del ensayo. De esta forma se obtuvo una muestra media para cada uno de los estados de crecimiento considerados.

La extracción y estimación de las distintas fracciones nitrogenadas (N total, N extractable con alcohol al 80 %, N de péptidos y N no proteico) fueron realizadas de acuerdo con el procedimiento descrito por GOSWAMI y WILLCOX (6). El contenido en nitratos fue determinado colorimétricamente mediante el método del ácido fenol-disulfónico de HUMPHRIES (7). Para el análisis de aminoácidos, las muestras (0,2 g) fueron hidrolizadas con CLH-6 N (400 ml.) en reflujo y bajo corriente de nitrógeno durante 22 horas; el aminograma se obtuvo con un autoanalizador Hitachi Perkin-Elmer 032\*. La cistina fue determinada como ácido cisteico (MOORE, 1963).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 figuran los resultados de N total, N no proteico y nitratos obtenidos para la alfalfa Aragón a cinco diferentes estados de madurez de la planta. En la Tabla 2 aparecen los datos para esos mismos estados correspondientes a los distintos aminoácidos.

La concentración de N total disminuyó de forma continua desde un valor máximo de 4,80 % (20-25 cm. altura de la planta) a un valor mínimo de 2,78 % (estado de plena floración), lo que supone una variación del 42 % entre ambos estados extremos de vegetación. Esencialmente esta variación fue debida al efecto de la edad o madurez de la planta ( $r = -0,992$  y  $r^2 = 0,984$ ), la cual actúa, como es bien sabido, a través de dos procesos simultáneos y con resultados aditivos en este sentido: la disminución de la relación hojas/tallos y el incremento de la proporción de fibra en el tallo. La reducción media diaria de la proporción de N total fue de 0.06 puntos, cantidad que se mantuvo bastante constante a todo lo largo del ciclo de crecimiento de la planta.

Los valores de N no proteico oscilaron entre 1,36 % (20-25 cm. de altura) y 0,84 % (plena floración), mostrando dichos valores una tendencia decreciente con la madurez de la planta similar a la encontrada para el contenido de N total ( $r = -0,953$ ). Sin embargo, cuando los niveles de N no proteico fueron expresados como porcentajes del N total (Tabla 1), las proporciones de aquél encontradas para los distintos estados de crecimiento fueron muy semejantes entre sí y las relaciones de N no proteico / N total tuvieron un valor aproximadamente de 1 : 3. Esto parece indicar que los cambios en las concentraciones de N total y de N no proteico ocurridos a lo largo del ciclo de crecimiento de la alfalfa fueron proporcionalmente casi los mismos, siendo muy escasa la influencia de la edad de la planta sobre el valor de la relación entre ambos grupos de constituyentes nitrogenados. Por otra parte, la proporción de N de péptidos en la fracción de N no proteico se mantuvo también bastante constante en los distintos estados de crecimiento, oscilando las cifras entre el 29,8 y el 32,3 %, es decir, una relación aproximada de 1 : 3.

El contenido en nitratos también disminuyó con la madurez de la planta. La concentración de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) fue alta y permaneció prácti-

---

(\*) Concedido por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

TABLA 1

EFFECTO DE LA MADUREZ SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE DIFERENTES FRACCIONES NITROGENADAS EN LA ALFALFA ARAGON (% SOBRE M. S.).

	ESTADOS DE CRECIMIENTO					Coeficiente correlación r
	Vegetativo 20-25 cm.	Vegetativo 35-40 cm.	Pre-floración	10 % floración	50 % floración	
Total de días (1)	—	9	17	27	32	
N total	4,80	4,15	3,57	3,00	2,78	—0,992
N extractable con alcohol al 80 %	0,92	0,80	0,70	0,63	0,58	—0,918
N de péptidos	0,44	0,34	0,30	0,28	0,26	—0,974
N no proteico	1,36	1,14	1,00	0,91	0,84	—0,953
Nitratos (NO)	0,53	0,53	0,50	0,25	0,25	—0,860
% de N no proteico sobre N total	28,33	27,47	28,01	30,33	30,21	
% de N de péptidos sobre N total	9,17	8,19	8,40	9,33	9,35	
% de Nitratos sobre N total	11,04	12,77	14,00	8,33	8,99	

- (1) Tiempo requerido por la alfalfa para alcanzar los siguientes estados de crecimiento a partir del de 20-25 cm. de altura de la planta.  
Significativamente correlacionado con la edad de la planta (P=0,05).  
Significativamente correlacionado con la edad de la planta (P=0,01).

camente constante durante los estados vegetativos (0,53 %), disminuyendo después de forma muy acusada al llegar al estado de floración (0,25 %). Según estos resultados, la alfalfa Aragón acumuló cantidades significativas de nitratos, especialmente en los estados jóvenes del crecimiento, y ello podría tener cierta importancia en relación con la posible aparición de efectos tóxicos en los animales que la consumen. En este sentido, BEHAEGHE y CARLIER (1) han apuntado que "se puede determinar de manera aproximada el umbral de toxicidad por nitratos en los rumiantes, mediante la conversión en porcentaje de nitratos ( $\text{NO}_3$ ), sobre una ingesta de 15 Kg de materia seca para un animal de 500 Kg de peso vivo, a partir de la dosis tóxica dada en gramos/Kg de p.v.; los resultados de estos cálculos expresados como porcentaje sobre materia seca son: 1,0 % (BRADLEY et al., 1940), 1,7 % (WRIGHT y DAVISON, 1964), 1,6 % (VAN BURC, 1966) y 0,9 % (LAWRENCE et al., 1968). Estas cifras, comparadas con nuestros resultados, son de dos a tres veces superiores a las más altas que hemos obtenido para la alfalfa Aragón en el período de máxima acumulación de nitratos (estados tempranos de crecimiento); en consecuencia, parece muy improbable que la alfalfa Aragón pueda dar lugar a la aparición de intoxicación por nitratos aun en el caso de que este forraje constituyera la ración única ingerida por el animal.

En cuanto a la composición aminoacídica y su evolución con la edad de la planta, los resultados que aparecen en la Tabla 2 muestran que las concentraciones individuales de los diferentes aminoácidos disminuyeron de forma continua desde las primeras etapas del crecimiento vegetativo hasta la etapa de plena floración. Sin embargo, resulta interesante resaltar que el estado de crecimiento de la planta tuvo escasa influencia sobre las concentraciones de cada uno de los aminoácidos en el caso de que dichas concentraciones fueran expresadas como gramos de aminoácidos / 16 gramos de N (Tabla 2), hecho que, por otra parte, coincide con los datos obtenidos por MEYER et al. (9) para la alfalfa cv. Búffalo. Existieron variaciones en los valores correspondientes a la lisina, histidina y serina que estuvieron significativamente correlacionados ( $P = 0,05$ ) con la edad de la planta; las proporciones de lisina e histidina mostraron una evolución decreciente ( $r = -0,906$  y  $r = -0,942$ , respectivamente), en tanto que la proporción de serina fue ascendente ( $r = 0,927$ ). De todas formas, la magnitud de estas variaciones en conjunto fue pequeña y, por tanto, no fue posible establecer una relación clara entre la composición en aminoácidos de la proteína de la alfalfa y el estado de mayor o menor madurez de la planta; esto, a efectos prácticos, se traduce en un hecho de cierta importancia y es el de que la calidad nutritiva de la proteína de la alfalfa no parece ser que experimente modificaciones de consideración a través de las diferentes etapas de su período de crecimiento y desarrollo.

Finalmente, otro hecho que también queremos señalar antes de concluir es el de que, cuando se comparan los datos obtenidos para la composición aminoacídica de la alfalfa Aragón con aquéllos otros existentes en la bibliografía relativos a cultivares de alfalfa de otros países (MEYER et al., 1965; FAUCONNEAU y PTON, 1965) se observan algunas diferencias cuantitativas en los niveles de diversos aminoácidos, especialmente los que se refieren al ácido aspártico, glicina, alanina y arginina, que pudieran resultar significativas. La explicación de estas diferencias de composición

TABLA 2

EFECTO DE LA MADUREZ SOBRE LA COMPOSICION EN AMINOACIDOS DE LA ALFALFA ARAGON.

	ESTADOS DE CRECIMIENTO										Coeficiente correlación r
	Vegetativo 20-25 cm.		Vegetativo 35-40 cm.		Pre-floración		10 % floración		50 % floración		
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	
Lisina	2,04	6,79	1,73	6,68	1,24	5,55	0,99	5,29	1,01	5,81	-0,906
Histidina	0,65	2,17	0,54	2,11	0,44	1,97	0,36	1,90	0,32	1,84	-0,942
Arginina	1,33	4,44	1,21	4,66	0,95	4,25	0,87	4,62	0,85	4,92	-0,028
Acido aspártico	3,19	10,63	2,89	11,13	2,60	11,63	2, 25	12,02	1,91	11,02	+0,045
Treonina	1,21	4,02	1,11	4,29	0,95	4,25	0,80	4,25	0,80	4,62	+0,606
Serina	1,17	3,91	1,03	3,97	0,93	4,16	0,82	4,36	0,81	4,68	+0,927
Acido glutámico	2,77	9,24	2,48	9,56	2,06	9,22	1,83	9,77	1,77	10,19	+0,138
Prolina	1,38	4,59	1,16	4,48	1,09	4,88	0,98	5,25	0,85	4,92	+0,286
Glicina	1,36	4,52	1,25	4,82	1,07	4,79	0,84	4,46	0,81	4,68	+0,693
Alanina	1,92	6,40	1,68	6,48	1,39	6,22	1,16	6,20	1,15	6,63	-0,096
Valina	2,07	6,90	1,84	7,10	1,53	6,85	1,31	7,00	1,22	7,05	+0,067
Cistina	0,43	1,45	0,35	1,36	0,30	1,34	0,26	1,37	0,22	1,30	-0,427
Metionina	0,48	1,60	0,40	1,53	0,34	1,52	0,29	1,53	0,26	1,48	-0,458
Isoleucina	1,18	3,94	1,10	4,25	0,96	4,29	0,75	3,99	0,71	4,09	+0,530
Leucina	2,27	7,57	2,08	8,02	1,60	7,16	1,42	7,56	1,30	7,47	-0,068
Tirosina	0,97	3,24	0,86	3,32	0,72	3,22	0,68	3,62	0,65	3,73	+0,487
Fenilalanina	1,31	4,37	1,21	4,66	0,96	4,29	0,86	4,57	0,85	4,92	+0,272

(a) Aminoácidos expresados en % sobre materia seca.

(b) Aminoácidos expresados como g. aminoácido/16 g. de N.

Valores en la columna (b) significativamente correlacionados con la edad de la planta (P=0,05).

podría estar, a nuestro juicio, o bien en las particulares condiciones en que se realizaron las determinaciones analíticas, o bien que aquéllas fueran una consecuencia del efecto varietal y/o de las condiciones del medio ambiente.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) BEHAEGHE, T. J.; CARLIER, L. A., 1973: Proc. 5 th General Meeting of European Grassland Federation. Uppsala, 28, 52.
- (2) BRADLEY, W. B., EPPSON, H. F.; BEATH, O. A., 1940: Wyoming Agric. Exp. Sta. Bull. 241.
- (3) FAUCONNEAU, G., 1960: Proc. 8 th Internatoinal Grassland Congress. Reading, 8 B/2, 7.
- (4) FAUCONNEAU, G.; PION, R., 1965: Fourrage, VI, 60.
- (5) FERGUSON, W. S.; TERRY, R. A., 1954: J. Sci. Fd. Agric., 5, 5.
- (6) GOSWAMI, A. K.; WILLCOX, J. S.; 1969. J. Sci. Fd. Agric. 20, 592.
- (7) HUMPHRIES, E. C., 1956: *Modern methods of plant analysis*. (Ed. Paech K., Tracey V. M., Spring-Verlag. Berlin).
- (8) LAWRENCE, T.; WARDER, F. G.; ASHFORD, R., 1968: Canadian J. Pl. Sci. 48, 85.
- (9) MEYER, R. M.; BARTLEY, E. E.; DEVOE, C. W., 1965: J Dairy Sci, 48, 213.
- (10) MOORE, S., 1963: J. Biol. Chem., 238, 235.
- (11) SMITH, D.; SUND, J. M., 1965: J. Agric. Fd. Chem. 13, 81.

#### THE INFLUENCE OF GROWTH STAGE ON THE CONCENTRATIONS OF VARIOUS NITROGEN FRACTIONS IN ARAGON LUCERNE (MEDICAGO SATIVA L.)

#### SUMMARY

Aragón lucerne was harvested at five stages of increasing maturity during three consecutive years. Samples were analyzed for contents of total N, non protein N, 80 % ethanol extractable N, peptide N, nitrates and individual amino acids.

The concentrations of the different nitrogen fractions and individual amino acids in the dry matter decreased as forage age advanced. However, there was little change in the concentrations of non protein N and individual amino acids when the data were expressed as percentage of total N and g amino acid/16 g N, respectively. Lucerne accumulated nitrate in relatively high amounts at early stages of growth.