

El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba

López, C.; Odorizzi, A.; Basigalup, D.; Arolfo, V.; Martínez, M.J.



INTA Ediciones

Colección
RECURSOS



El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba

López, C.; Odorizzi, A.; Basigalup, D.; Arolfo, V.; Martínez, M.J.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación

CENTRO REGIONAL CÓRDOBA
EEA MANFREDI
2016

El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba

López, C. ¹; Odorizzi, A. ²; Basigalup, D. ²; Arolfo, V. ²; Martínez, M.J. ³

Publicación Técnica elaborada a partir de información generada por los Proyectos INTA PReT Cordo 1262204, PReT Cordo 1262205 y PNPA 1126072

CENTRO REGIONAL CÓRDOBA
EEA MANFREDI

El trébol de color blanco y su uso en la provincia de Córdoba : reflexiones y apuntes para el futuro de la agroindustria / Daniel H. Basigalup ... [et al.]. - 1a ed . - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Ediciones INTA, 2016.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-521-716-4

1. Plantas Forrajeras. 2. Calidad. I. Basigalup, Daniel H.
CDD 633.2



**Dirección Nacional Asistente de Sistemas de Información,
Comunicación y Calidad**
Gerencia de Comunicación e Imagen Institucional
Comunicación Visual Diseño: DG. *Liliana Estela Ponti*

¹ AER INTA Río Primero

² EEA INTA Manfredi-Área de Producción Animal

³ EEA INTA Manfredi-Área de Mejoramiento Genético Vegetal-Laboratorio de Calidad de Granos.

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni su almacenamiento en un sistema informático, ni su transmisión en cualquier formato o por cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia u otros métodos, sin el permiso previo del editor.

Prólogo

Ante las necesidades en la región central de la provincia de Córdoba de adecuar la investigación y la extensión al desarrollo ganadero presente desde la AER Río Primero y la EEA Manfredi se puso énfasis en la actualización y generación de información local referida al “trébol de olor blanco” (*Melilotus albus Medik*). La presente publicación técnica, además de ofrecer una descripción general de la especie y su uso en la producción ganadera, hace especial hincapié en la producción y en la calidad de esta forrajera; en la evolución del contenido de cumarina durante las etapas fenológicas del cultivo; y en las posibilidades de lograr —a través del mejoramiento genético— cultivares de bajo contenido de cumarina. Utilizando un sistema real de producción lechera, que en años discontinuos hizo uso del trébol de olor blanco para la confección de silos, se coordinaron tareas de campo y análisis de laboratorio que fundamentaron gran parte de las conclusiones que serán expuestas en este trabajo.

Agradecimientos

Un especial agradecimiento a la Ing. Agr. María del Carmen Spada, por sus invaluable aportes en la redacción del presente trabajo, a la Ing. Agr. María Alejandra Brunetti y a la Biól. Roxana Aguilar por los análisis químicos de las muestras de forraje.

Índice

I. Introducción	7
II. Morfología	8
III. Cumarina y dicumarol	9
IV. Recomendaciones para la realización de reservas	13
V. Variedades, ecotipos y procedencias	14
VI. Trébol de olor blanco en el centro de Córdoba	15
Ubicación geográfica	15
Implantación	15
Utilización de trébol de olor blanco	16
Producción forrajera	17
Problemas de suelo	19
Calidad forrajera	20
La especie como reserva forrajera	21
VII. Conclusiones	29
VIII. Bibliografía	30

I. Introducción

El nombre genérico *melilotus* deriva de las palabras griegas *meli* que significa “miel” y *lotos* que refiere a “una leguminosa”. El trébol de olor blanco, también llamado “melilotus blanco” o “melilotus alba”, es una leguminosa (*Fabaceae*) herbácea de ciclo anual o bianual, de alta calidad forrajera que se adapta a diversas condiciones ambientales. La especie contiene la sustancia denominada cumarina que, además de su olor característico, tiene la particularidad de provocar efectos no deseados (producción de dicumarol) cuando las plantas se deterioran por deficientes procesos de henificación o ensilado, fenómeno que no acontece en el pastoreo directo. A partir de la década de 1990, con el ingreso al país de cultivares de alfalfa (*Medicago sativa* L.) con mayor potencial forrajero, se produjo el desplazamiento del trébol de olor blanco hacia sectores de menor potencial productivo. Al arribar la “agricultura moderna”, constituida por tecnologías de insumos, se modificó el uso de la tierra destinando los mejores suelos para la producción de granos complementada con la producción de carne o leche provenientes de animales encerrados en corrales; en ese contexto, los abastecedores de terneros fueron forzados a radicarse en regiones con ambientes menos propicios para la alfalfa y más favorables para el trébol de olor blanco.

El género *Melilotus* comprende alrededor de 20 especies que son originarias de la región euro-afro-asiática que circunda el mar Mediterráneo y que están difundidas en todas las zonas templadas del mundo. El nombre común de “tréboles de olor” con que se las suele englobar se debe a la presencia de cumarina. Solo tres de estas especies cuentan con alguna importancia económica: el *Melilotus officinalis* (L.) Pall. o trébol de olor amarillo, el *Melilotus albus* y el *Melilotus indicus* (L.) All. o trébol de olor común. Mientras que las dos primeras son cultivadas en casi todo el mundo, la última crece espontáneamente y rara vez se la siembra. A este listado podría agregarse una cuarta, el *Melilotus dentatus* (W. & K.) Pers. que por su bajísimo contenido de cumarina reviste importancia en planes de mejoramiento genético tendientes a reducir el contenido de esta sustancia (Traverso *et al.*, 2005).

El trébol de olor blanco posee una gran adaptación ambiental, lo que explica su amplia difusión. El ambiente hace referencia a la existencia permanente y dinámica de las relaciones e interrelaciones entre las condiciones de suelo, de clima y de los vegetales, y donde la intervención del hombre juega un rol fundamental. En lo que respecta al suelo, esta especie se adapta a suelos de mediano a bajo potencial productivo, generalmente condiciones limitantes para el cultivo de alfalfa, sin descartar la posibilidad de su excelente productividad en suelos de alto potencial productivo. La intervención del hombre, que llamaremos manejo del cultivo, será especialmente tratada en este trabajo desde un enfoque práctico tendiente a su uso en la producción animal.

El trébol de olor blanco fue introducido en Norteamérica en el siglo xvii y en Sudamérica en el siglo xviii básicamente como alimento para el ganado. Actualmente tiene una dispersión cosmopolita que se extiende desde Canadá hasta Argentina. Puede convertirse en una especie invasora y competir con las especies nativas. Por un lado, se adapta a condiciones de déficit hídrico, por otro lado, tolera moderados encharcamientos. Se registraron buenas producciones de forraje con precipitaciones de 425 mm durante el ciclo de crecimiento (Mc Leod, 1982). Del mismo modo, la especie se desarrolla en suelos salinos, calcáreos o arenosos, pero no tolera suelos ácidos puesto que su rango óptimo de pH de 6,5 a 8,0; no obstante, alcanza producciones aceptables en suelos alcalinos (pH > 8,0) a punto tal que se lo ha observado vegetar sin problemas en las márgenes de

ríos de la provincia de Salta en suelos salino-sódicos con conductividades eléctricas de hasta 14 dS m⁻¹ (Berti, 2002).

La especie posee una gran variabilidad, tanto morfológica (altura, número de hojas, ramificaciones, rebrote, producción de biomasa, etc.) como fenológica (longitud de ciclo, largo del período de floración, etc.) (Smith y Gorz, 1965; Gorz y Smith, 1973; Stevenson, 1969). Dada su condición de leguminosa, tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con la bacteria *Sinorhizobium meliloti*. Sin embargo, pese a todas estas virtudes, en Argentina todavía no se le ha dado el lugar que merece como valiosa forrajera para los distintos sistemas de producción.

II. Morfología

Las plantas pueden llegar hasta casi los 3 m de altura, con tallos erectos y algo pilosos (Ríos *et al.*, 1993). Las hojas son alternas, compuestas (trifoliadas, como la alfalfa) y pecioladas. Los folíolos son obovados u oblongos, de 1,5 a 3 cm de largo y 5 a 10 mm de ancho y con márgenes denticulados, característica que los diferencia de la alfalfa donde solo el tercio superior de los folíolos es denticulado. El sistema radical es profundo y grueso, con una raíz típica o pivotante (Espinosa y Sarukhán, 1997; Rzedowski y Rzedowski, 2001). Las inflorescencias tienen de 10 a 25 cm de largo y están formadas por flores blancas dispuestas en racimos laxos. El fruto es una legumbre ovoide, de 3 mm de largo por 2 mm de ancho, dehiscente, de color café oscuro o negro cuando está maduro, con venación reticulada y usualmente de una sola semilla (monospermo), aunque puede llegar a tener dos o tres (Bolos y Vigo, 1984; Sagalvekov y Abubekero, 1991) (Figura 1).

Las semillas son oblongas, de 2 mm de largo por 1 mm de ancho, muy pequeñas (peso promedio de 1,45 g cada 1.000 semillas), de superficie lisa y de color amarillo-verdoso o café-amarillento; las de alfalfa son similares, aunque más arriñonadas. La producción de semilla oscila entre los 700 y 1500 kg ha⁻¹ que se dispersan por el viento y la lluvia (Smith y Gorz, 1965; Ríos *et al.*, 1993). Dependiendo del ambiente, la proporción de semillas duras puede llegar a 20 % o 30 %, las que pueden permanecer viables en el suelo por más de 20 años. En la zona centro de Córdoba, la floración se extiende desde mediados de noviembre hasta fines de abril.

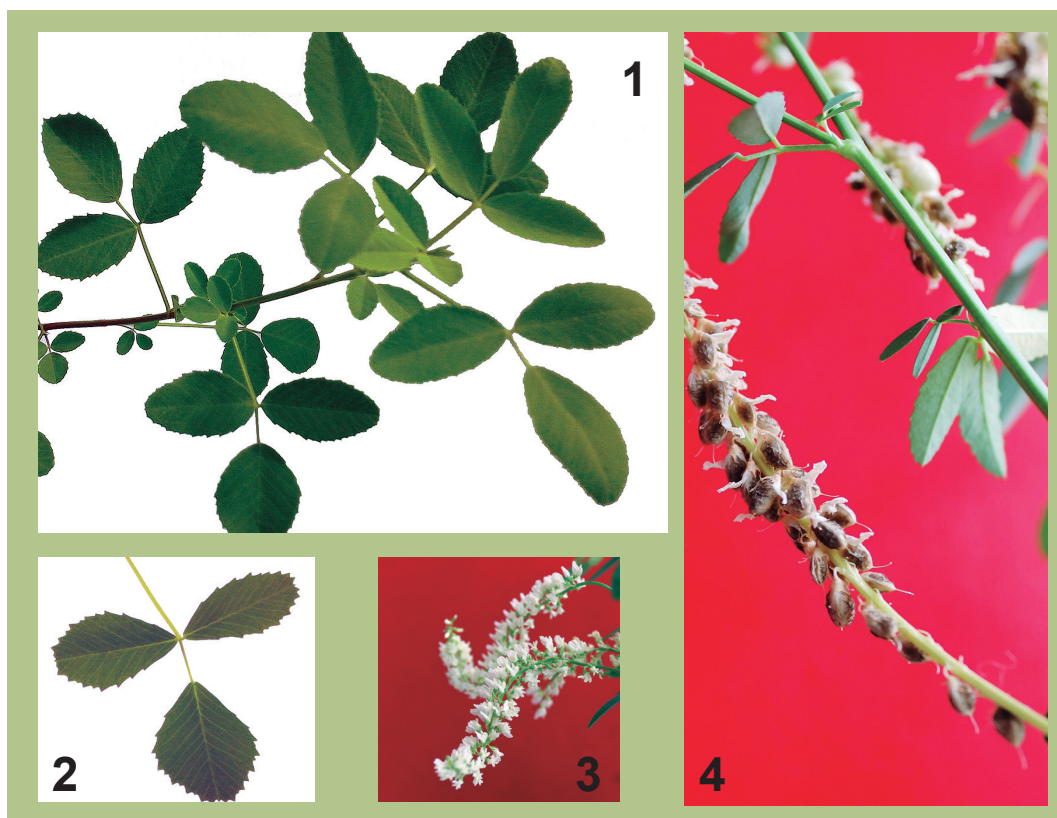


Figura 1. Morfología de *M. albus*: 1) tallo con hojas alternas y pecioladas; 2) hoja compuesta por folíolos denticulados; 3) inflorescencias con flores dispuestas en racimos laxos; y 4) frutos inmaduros. Fuente: Dr. Ariel Odorizzi y Mg. Valeria Arolfo.

III. Cumarina y dicumarol

La principal restricción para el uso del trébol de olor blanco es el contenido de cumarina, un compuesto natural que sintetiza y que, por la acción de determinados hongos que intervienen en procesos de putrefacción, se transforma en dicumarol, un factor antinutricional con propiedades tóxicas. El problema se descubrió en 1920 en praderas de EE. UU. y de Canadá donde —por inconvenientes climáticos— se sustituyó al maíz como alimento para los animales por el trébol de olor dulce (*Melilotus officinalis*), lo que originó una enfermedad hemorrágica. Recién en 1940 se indicó al dicumarol como agente causante de la enfermedad. Los estudios realizados permitieron concluir que ninguna de las 60 cumarinas naturales o sintéticas analizadas eran patógenas *per se* y que solamente en el heno contaminado con ciertos hongos (*Penicillium* sp., *Mucor* sp. y *Aspergillus* sp.) se producía la transformación de la cumarina en dicumarol, un potente anticoagulante. Se han registrado graves intoxicaciones en bovinos alimentados con heno o silaje de especies de *Melilotus* mal conservados (Ragonese y Milano, 1984). Las hemorragias, no pocas veces mortales, provocadas por el dicumarol se deben a que este inhibe en el hígado la formación de la protrombina, una enzima que interviene en la síntesis de la

vitamina K (Deulofeu *et al.*, 1969).

Las leguminosas, como familia botánica, constituyen las especies mejor adaptadas del reino vegetal, reflejándose su nivel de especialización en la cantidad y diversidad de compuestos químicos que derivan de su metabolismo secundario y que son sintetizados por las células como defensa ante los herbívoros, las plagas y las enfermedades foliares (García *et al.*, 2005). Entre esos compuestos se encuentra la cumarina ($C_9H_6O_2$), una lactona perteneciente a la familia de las benzopironas que se define químicamente como el éster cíclico 1-benzopiran-2-ona y que es en realidad un metabolito secundario de los procesos de la planta. En su estado natural la cumarina se caracteriza por una estructura cristalina e incolora que se encuentra en los tegumentos de las semillas y en los frutos, las flores, las raíces, las hojas y los tallos, aunque la mayor concentración se da en general en frutos y flores. Por un lado, la cumarina funciona como una defensora de la planta ya que su sabor amargo le confiere propiedades supresoras del apetito (*anti-feeding* en inglés) en los herbívoros, lo que disminuye el impacto del pastoreo sobre el forraje. Esto explicaría evolutivamente su presencia en diferentes especies vegetales, especialmente en pastos y tréboles. Por otro lado, la cumarina tiene propiedades antimicrobianas e insecticidas y también interviene en la captación de la radiación UV y en la inhibición de la germinación. Paradójicamente, a pesar del sabor amargo de la cumarina, se han denominado a varias plantas que la poseen con nombres como “trébol dulce” o “grama dulce”.

El contenido de cumarina es variable no solo entre diferentes especies de *Melilotus*, sino también entre variedades, ecotipos e individuos de la misma especie. También varía a lo largo del desarrollo de la planta —posiblemente por su papel en los mecanismos de defensa para protegerla de la herbivoría excesiva—, aumentado en general hacia la fase reproductiva, siendo máximo en hojas nuevas y yemas o como respuesta a factores de estrés bióticos (plagas y enfermedades) o abióticos (salinidad, alcalinidad, deficiencias nutricionales en el suelo, etc.) (Nair *et al.*, 2010).

En un ensayo realizado en la EEA Manfredi con un ecotipo de *M. albus* proveniente de Santiago del Estero (Argentina) se determinaron valores promedio de contenido de cumarina en la materia seca (MS) de 6,44 mg g⁻¹ (rango 4,60-8,05 mg g⁻¹) en estado vegetativo tardío (120 días aproximadamente desde la siembra); 9,01 mg g⁻¹ (rango 6,50-10,26 mg g⁻¹) al 10 % de floración; y 9,60 mg g⁻¹ (rango 8,43-10,35 mg g⁻¹) al 100 % de floración (Figura 2).

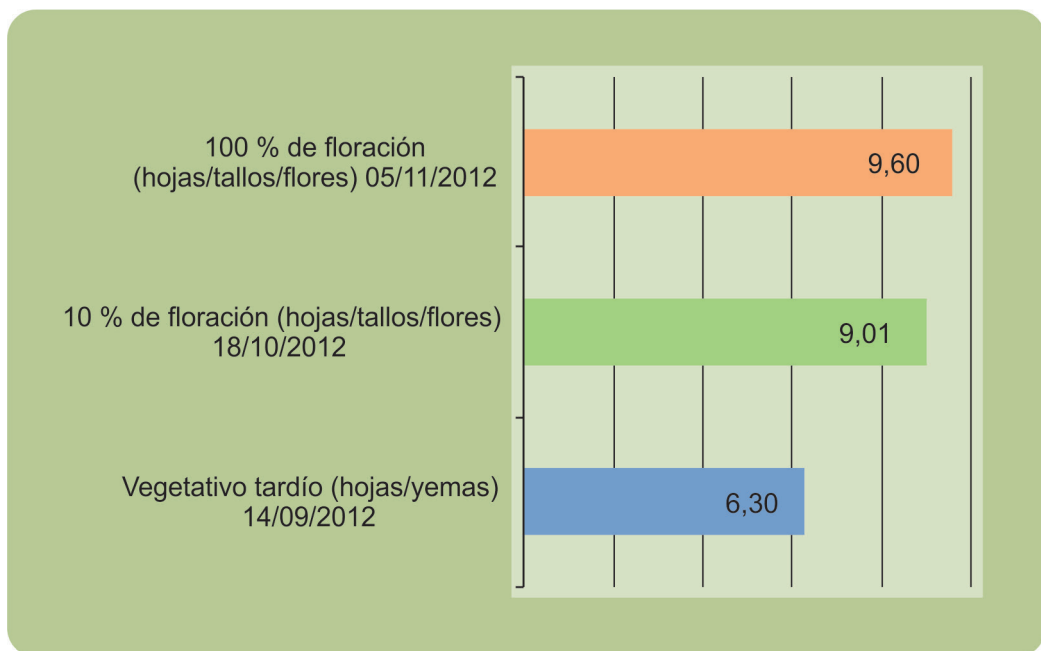


Figura 2. Valores de cumarina (mg g^{-1}) en la MS de plantas de trébol de olor blanco en diferentes estados fenológicos.

Nair *et al.* (2010) analizando 34 plantas de trébol de olor blanco al 90 % de floración obtuvieron valores de 0,464 a 0,585 % de MS (equivalentes a 4,64-5,85 mg g^{-1}), considerados unos de los más altos entre varias especies de *Melilotus*. Estos mismos autores mencionaron que la cantidad de cumarina requerida para producir niveles peligrosos de dicumarol bajo condiciones ideales para el desarrollo de hongos probablemente sea del orden de 0,4 % de MS (o sea 4 mg g^{-1}). Para la alimentación humana, y usando el principio “tan bajo como sea razonablemente posible”, la Unión Europea estableció un límite máximo de cumarina de 0,02 % (EFSA, 2004). Posteriormente, Abraham *et al.* (2010) propusieron como límite tolerable para los humanos una ingesta diaria de hasta 0,1 mg kg^{-1} de peso corporal.

La cantidad de cumarina requerida para producir niveles peligrosos de dicumarol en el ganado rumiante no está concluyentemente determinada, no solo porque faltan investigaciones en el tema, sino también porque depende de muchos factores, tales como características propias de cada especie y de ecotipos e individuos dentro de cada especie. En este contexto, si bien se desconoce el nivel aceptable para el ganado, se estima que las concentraciones tolerables se ubicarían debajo de 0,4 % de MS, y que muy posiblemente lleguen a niveles tan bajos como 0,02 % de MS. Concentraciones de dicumarol de 20 a 30 mg kg^{-1} de heno ingerido a lo largo de varias semanas suelen ser necesarias para causar envenenamiento en el ganado (Merck Veterinary Manual, 2016).

En animales gestantes, el dicumarol atraviesa la placenta y puede afectar al feto produciendo hemorragias fatales en encías y ombligos de neonatos. Los terneros pueden morir asintóticamente en los primeros días de vida o pueden presentar una

sintomatología diversa. Se ha comprobado que los recién nacidos son los más sensibles a la intoxicación, que puede ser causa importante de muertes perinatales. Otros autores, como Cotran *et al.* (2000), admiten que la intoxicación de los bovinos ocurre cuando se ingieren ≥ 20 mg de dicumarol kg^{-1} de heno. Por su parte, la Universidad de Cornell (*Cornell University website*) advierte que valores superiores a 10 mg kg^{-1} de dicumarol son riesgosos. Aunque una gran cantidad de especies animales son susceptibles, los casos de envenenamiento implicaron siempre al ganado bovino y, en una medida limitada, a ovejas, cerdos y caballos.

En Argentina, el heno de diferentes forrajeras se produce íntegramente con secado natural en el campo. Sin embargo, es importante destacar que el contenido de cumarina en el heno difiere si este es secado al aire o secado en horno. Al abordar el tema del secado del material verde, la mayoría de las investigaciones consultadas referidas a la extracción de cumarina para la industria medicinal, coinciden en señalar que existe relación entre el sistema de secado –horno o natural– y la cantidad de producto obtenida. En la Universidad de Cuenca, Ecuador, concluyeron que el secado natural elimina menos cantidad de agua que el secado artificial y que cuando la cantidad de agua supera el 10 % (secado natural) se favorecen reacciones enzimáticas que originan cambios en la estructura química de las hojas (evidenciados en cambios de color) que, por consiguiente, disminuyen la cantidad de cumarina obtenida (Muñoz Montenegro y Sarmiento Sinch, 2010).

En esa línea, Radünz *et al.* (2012), trabajando en la extracción de cumarina en el cultivo de guaco (*Mikania glomerata* Spreng), indicaron que el secado a temperatura ambiente produjo 0,27 % de cumarina en la MS mientras que el secado artificial a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ y a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ elevó los niveles a 0,33 % y 0,51 % de MS, respectivamente. Los autores concluyeron que el contenido de cumarina fue afectado por el método de secado. También Pereira (2000) obtuvo el menor rendimiento de cumarina a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ y el mayor a $50 \text{ }^\circ\text{C}$.

En la EEA Manfredi, sobre muestras de dos procedencias de *M. albus* (Sampacho y María Luisa), se compararon tres métodos de secado: temperatura ambiente a $22 \text{ }^\circ\text{C}$; estufa a $55 \text{ }^\circ\text{C}$; y liofilización (deshidratación por congelamiento y posterior extracción del agua por sublimación mediante vacío). Los resultados se resumen en la Tabla 1. En coincidencia con los trabajos anteriormente mencionados, se concluyó que a menor temperatura de secado, menor resultó el contenido de cumarina (% de MS).

Tabla 1. Determinación de cumarina en la MS (g kg^{-1}) en dos procedencias de trébol de olor blanco (Sampacho y María Luisa) sometidos a tres métodos de secado: $22 \text{ }^\circ\text{C}$, $55 \text{ }^\circ\text{C}$ y liofilización.

Sampacho			María Luisa		
g cumarina kg^{-1} MS			g cumarina kg^{-1} MS		
22 °C	55 °C	Liofilizado	22 °C	55 °C	Liofilizado
4,11	9,21	10,39	2,35	5,4	10,68

Tanto la presencia o ausencia de cumarina como el tipo de cumarina (libre o acomplejada) son caracteres que están bajo control genético (Schaeffer *et al.*, 1960; Goplen *et al.*, 1957; Gorz y Haskins, 1960). La ausencia de cumarina se debe a la condición génica homocigota recesiva *cucu*. En consecuencia, a través del mejoramiento es posible el desarrollo de cultivares de trébol de olor blanco con nulo o bajo tenor de cumarina, como ha sucedido con la obtención de *Polara* en Canadá (Goplen, 1971) y *Denta* en los Estados Unidos (Smith y Evers, 2005). Una población derivada del cruzamiento de los cultivares estadounidenses *Emerald* (forma anual con tallos finos) x *Denta* (forma bianual con baja cumarina), facilitadas por el Dr. G. Smith, de la Universidad de Texas, EE. UU., se está usando en la EEA Manfredi como padre donante en un proceso de retrocruzamiento para el desarrollo de variedades de bajo contenido de cumarina adaptadas a las condiciones ambientales de Argentina. Como padre recurrente se utiliza al ecotipo Santiago del Estero, de buena foliosidad y excelente producción forrajera.

Eliminar por completo el contenido de cumarina puede ser contraproducente, ya que –como se ha mencionado– suele ser un compuesto secundario importante para la supervivencia de las plantas ante estreses ambientales o ataque de plagas y agentes patógenos (Wink, 1988). Sin embargo, frente a toxicidad que puede tener en el ganado, la obtención de cultivares con bajas concentraciones de cumarina constituye un objetivo importante, al igual que la cuantificación de los niveles de tolerancia animal.

IV. Recomendaciones para la realización de reservas

Para la confección de reservas forrajeras de *M. albus*, sea heno o silaje, es importante realizar el manejo apropiado en cada caso a fin de minimizar el peligro de intoxicación de los animales y lograr la menor cantidad de pérdidas y la mayor calidad posibles. Por un lado, un forraje con exceso de humedad puede favorecer la proliferación de hongos y el desarrollo de fermentaciones indeseables durante el ensilado; por otro lado, un contenido de humedad excesivamente bajo puede impedir la correcta compactación del silo, lo que interferirá en el adecuado proceso de fermentación por exceso de oxígeno. Los errores que deberían evitarse tienen mucho que ver con cortes efectuados en momentos inoportunos o con la maquinaria inapropiada. El momento ideal para el corte del trébol de olor blanco es cuando el cultivo se encuentra en estado vegetativo tardío; no obstante, es común que se realice en estadios fenológicos más avanzados a fin de priorizar la cantidad de materia seca. Los cortes tardíos traen aparejados una disminución de la digestibilidad y un aumento en el contenido de cumarina, como ya fuera señalado.

Para la henificación, el uso de corta-hileradora de discos con acondicionador a rodillo es lo más recomendable para acelerar el secado y mantener calidad. El corte con desmalezadora tipo hélice genera excesivas pérdidas de hojas y no permite el correcto acondicionamiento de los tallos, aumentando el tiempo necesario para que la andana alcance el contenido de humedad óptimo para henificar (15 %). Obviamente, esto último se debe complementar con las condiciones climáticas imperantes durante el corte y el secado, ya que cuanto más favorables sean para una rápida deshidratación del forraje más alta será la calidad del heno obtenido.

Finalmente, tanto la estiba de los rollos o fardos a la intemperie como el deficiente tapado del silo o mal uso del silo durante el suministro a los animales favorecerán la

proliferación de hongos, con la consiguiente pérdida de calidad y el aumento del riesgo de intoxicaciones.

V. Variedades, ecotipos y procedencias

En el Registro Nacional de Cultivares (RNC), que conduce el Instituto Nacional de Semillas (INASE), hay inscriptas tres variedades de trébol de olor blanco: *Baralbo*, *Faraón UBA-UNL* y *Pergamino El Domador MAG*. Las dos últimas son variedades desarrolladas hace mucho tiempo y de muy difícil disponibilidad de semilla en el mercado. En cambio, la primera forma parte del catálogo de la empresa Barenbrug-Palaversich, que la comercializa como una variedad bianual, de porte semierecto, corona ancha y buena producción primaveral.

No obstante lo anterior, para la gran mayoría de las empresas semilleras, la semilla de trébol de olor blanco no es un producto de venta permanente. La disponibilidad de semilla comercial es intermitente y está sujeta a la eventual cosecha de lotes de productores en distintas zonas y a la no siempre firme demanda del mercado. Las plantas tienen por lo general una alta capacidad para producir semillas, pero la calidad de la semilla que se obtiene es variable y depende del ambiente.

La oferta comercial se compone generalmente de semilla identificada (solo como especie) y, en el mejor de los casos, de ecotipos o “procedencias” de cierta nominación. Los ecotipos –como “Santiago del Estero”, “La Sarita”, “Logroño” o “Sampacho”– son el producto de la cosecha continuada de poblaciones que se fueron adaptando a lo largo de los años a las determinadas condiciones ambientales de una determinada región o área. Las “procedencias” tienen un proceso similar, pero llevado a cabo por un productor específico durante menos tiempo que los ecotipos. Ejemplos de “procedencias” son las denominaciones “Lazzero”, “Peuser” o “Marano”.

La proporción de semillas duras es impredecible, aunque suele oscilar entre 20 % y 30 % como valores promedio en lotes de reciente cosecha. Esas semillas pueden permanecer viables en el suelo por más de 20 años conformando un “banco de semillas” que posibilita la resiembra o la aparición espontánea en los lotes cuando las condiciones ambientales son favorables (Lucca y Braccini, 2011).

Crocker y Barton (1957) estudiaron diversos aspectos de la producción de semilla en colecciones de trébol de olor blanco y registraron variaciones del 98 % en el número de semillas duras producidas en distintos años por las mismas accesiones de germoplasma. También verificaron la correlación entre las condiciones de floración, el tamaño de las semillas –cantidad de semillas pequeñas– y la permeabilidad del tegumento: cuando las condiciones climáticas favorecieron la producción de semillas pequeñas, estas presentaron mayor impermeabilidad en sus tegumentos. En la misma dirección, Oliveira Prendes *et al.* (2007) concluyeron que las semillas recién cosechadas de especies anuales de los géneros *Medicago* y *Melilotus* requieren un tratamiento de escarificación si se quiere determinar su viabilidad antes del almacenaje en una colección de germoplasma.

Como ya fuera mencionado, el *M. albus* cuenta con alta capacidad de resiembra, inclusive en los casos en que se hayan cosechado sus semillas, porque las máquinas cosechadoras no recogen la totalidad producida por las plantas. Por lo tanto, para favorecer

la renovación de una pastura de trébol de olor blanco es conveniente realizar una labor complementaria (Figura 3) que ayude a la incorporación de las semillas que quedaron, al tiempo que se airea el suelo y se facilita la entrada de agua (López y Zampini, 1979).



Figura 3. Plantas maduras ya semilladas (izq.) y rolo renovador de pasturas (der.).

Resumiendo, las semillas de *M. albus* –sean de procedencia propia o de terceros– suelen presentar problemas de germinación (semillas verdes, duras, o de baja energía), que pueden a su vez entorpecer la implantación del cultivo y favorecer la invasión de malezas. En consecuencia, es una práctica siempre recomendable la realización de un análisis de germinación para conocer la calidad de la semilla que se va a utilizar.

VI. Trébol de olor blanco en el centro de Córdoba

Ubicación geográfica. En el territorio agrícola-ganadero central de la provincia de Córdoba, el 67,2 % de las tierras son aptas para agricultura, con suelos de clase III. Por su parte, las tierras ganaderas ocupan el 28,1 % y se concentran en suelos clases VI y VII. Estos sectores presentan en muchos casos serias limitaciones por problemas de salinidad y alcalinidad, especialmente en zonas cercanas a la Laguna Mar Chiquita. La ganadería bovina incluye tanto la producción de carne como de leche. Respecto de la última, los departamentos del territorio forman parte de dos de las tres cuencas lecheras que tiene la provincia de Córdoba.

Implantación. Las siembras de trébol de olor blanco con mayor difusión incluyen tanto la especie pura como en mezclas. La siembra de cultivos puros se realiza, entre otras razones, para ocupar zonas de mala calidad de suelos, controlar malezas, mejorar la aireación en las situaciones de pisos duros, contar con pasto en época crítica y mantener categorías específicas de animales. Dado que esta leguminosa tiene la capacidad de desarrollar sus raíces hasta aproximadamente un metro de profundidad, cuando las plantas mueren quedan las perforaciones en el perfil causadas por el crecimiento del sistema radical (cincel biológico). Se ha comprobado que una precipitación de 100 mm fue absorbida por un rastrojo de *Melilotus* en un lapso de solo 2 a 3 horas. La siembra en mezcla significa que la especie es acompañada por otra forrajera, como por ejemplo

avena (Figura 4), a fin de incorporar otras cualidades: mejorar la dieta animal en el período de escasez de pastos, disminuir las consecuencias del timpanismo y diluir el contenido de cumarina. Otra alternativa, característica de la región templada semiárida con ambientes marginales para la alfalfa, es la siembra de trébol de olor blanco junto a pasturas perennes como –entre otras– la grama Rhodes (*Chloris gayana* Kunth), particularmente en áreas de campos bajos.



Figura 4. Trébol de olor puro (izq.) y con avena como cultivo acompañante (der.).

Para una buena implantación de trébol de olor blanco en el centro de Córdoba, se debe lograr una densidad de 300 a 500 plantas m^{-2} . Esto supone sembrar, sea al voleo o en líneas a 17,5 o 20 cm, entre 8 y 12 $kg\ ha^{-1}$, según la calidad de la semilla. Si la semilla fuera de reciente cosecha, con un alto porcentaje de semillas duras, se aconseja la escarificación. Por lo general, las plantas nodulan sin dificultad, pero la inoculación con *Sinorhizobium meliloti* (el mismo inoculante que se utiliza para la alfalfa) es una práctica siempre recomendable.

La preparación del suelo para una siembra convencional debe proveer una cama fina, firme y pareja. Atentos al tamaño pequeño de las semillas, la profundidad no debería sobrepasar 1 cm en suelos de textura fina o 1,5 cm en suelos más sueltos. Si se utilizara la siembra directa, es fundamental la elección de un cultivo antecesor que provea un escaso volumen de rastrojo y que libere el suelo para una época óptima de siembra. En este sentido, y asimilando la experiencia con la alfalfa, los cereales de invierno, la moha y el mijo, aparecen como buenos cultivos antecesores. El otoño (marzo-abril) es el período adecuado para la siembra de las especies anuales, en tanto que la primavera (fines de agosto-principios de octubre) lo es para las bianuales, dado que estas últimas necesitan una estación de crecimiento completo para alcanzar una alta producción en la siguiente temporada.

Utilización de trébol de olor blanco. La Agencia de Extensión Rural (AER) Río Primero está evaluando y promocionando desde 1979 la inserción del trébol de olor blanco en los sistemas de producción ganadero-agrícolas del centro-este de Córdoba. Las excelentes características que presenta esta especie la constituyen en una alternativa muy favorable para la producción de carne y leche en los ambientes restrictivos de la región. La evidencia empírica resalta la importancia de su uso en sistemas ganaderos que empleen pastoreos

intensos –pero no frecuentes– entre los meses de agosto y diciembre, donde se necesita la disponibilidad de forraje de alta calidad, particularmente a la salida del invierno.

La conservación de trébol de olor blanco, ya sea henificado o ensilado, también es una práctica ocasional en algunos productores del área. Según experiencias locales, el contenido de MS del material para ensilar es frecuentemente el principal limitante para la preservación satisfactoria del forraje. Como ya fuera señalado, niveles muy bajos de humedad (mayor contenido de MS) dificultan la compactación rápida de la masa ensilada mientras que los excesos de humedad serán un obstáculo para la correcta fermentación, diluyendo la concentración de los ácidos grasos de cadena corta, promotores de la fermentación, y prolongando el proceso fermentativo. Por un lado, el lento descenso del pH de una masa ensilada con exceso de humedad favorecerá la intervención de microorganismos poco deseables en la fermentación (bacterias del género *Clostridium* y otras similares, que son generadoras de ácido butírico). Por otro lado, la apropiada madurez del forraje asegura el suministro de una correcta cantidad de azúcares fermentables para las bacterias del silo y el máximo valor nutritivo para la óptima alimentación del ganado. En síntesis, tanto la adecuada madurez del forraje como el exacto contenido de humedad son esenciales para lograr la rápida exclusión del oxígeno en el silo y alcanzar así una óptima fermentación bacteriana.

Producción forrajera. Durante la década de 1970, distintos investigadores de Córdoba (Cangiano, 1979; Cangiano *et al.*, 1981) evaluaron el impacto del rendimiento de forraje y la calidad del trébol de olor blanco en la producción ganadera. Como en todas las forrajeras, a partir del pasaje del estado vegetativo al reproductivo se producen cambios muy acentuados en el valor nutritivo porque al progresar el ciclo de crecimiento se reduce considerablemente la formación de hojas y los tallos adquieren consistencia leñosa. En consecuencia, el correcto aprovechamiento del forraje de alta calidad que se genera en un breve lapso de tiempo (antes de la floración) demanda la planificación de pastoreos eficientes y oportunos o, en su defecto, el diseño de otras alternativas de aprovechamiento como la confección de reservas.

En valores promedio, la biomasa aérea del trébol de olor blanco se compone de 47 % de hojas y 53 % de tallos, que son la parte más fibrosa y menos digestible (Ríos *et al.*, 1993). Las evaluaciones realizadas en la EEA Manfredi indican que la proporción de hojas varía a lo largo del ciclo y según la fecha de siembra. En siembras tempranas (marzo-abril), la proporción de hojas al momento del primer corte superó el 85 % mientras que para siembras más tardías (mediados a fines de mayo) el primer aprovechamiento registró menos del 64 % de hojas en la masa cosechada (Olivo y Spada, com. pers., 2015⁴). La fracción hoja es la de mayor valor forrajero e incluye a las hojas propiamente dichas, los pecíolos y las inflorescencias.

De acuerdo con datos recogidos por la AER Río Primero en suelos de buenas condiciones de la región central de Córdoba, la producción total de forraje (hojas + tallos) de las formas anuales en campos de productores oscila entre 1,5 y 4,4 t MS ha⁻¹. Por su parte, las producciones de las formas bianuales pueden alcanzar valores de 2,2 a 3,5 t MS ha⁻¹ durante el primer año y de 2,2 a 9,4 t MS ha⁻¹ en el segundo año. En suelos salinos (5 dS m⁻¹) se registraron producciones de 1,7 a 2,2 t MS ha⁻¹. Los cultivos

⁴ Ings. Agrs. Recursos forrajeros, INTA, EEA Manfredi.

bianuales sembrados en la primavera ofrecen normalmente su primer corte o pastoreo en verano con suficiente tiempo para rebrotar antes del invierno; durante el segundo año se pueden obtener dos cortes teniendo la precaución de que el primero se haga alto (a unos 25 cm) y antes de la floración para evitar que las plantas se vuelvan leñosas y de baja palatabilidad.

Como antecedentes de producción forrajera en el área central de Córdoba, Cangiano (1979) midió 5500 kg MS acumulada ha⁻¹ en la EEA Manfredi mientras que López y Zampini (1979) informaron rendimientos totales (hojas más tallos en los meses de diciembre y enero) de 3500 y 4500 kg MS ha⁻¹ en campos de buenos suelos de productores del área de la AER Río Primero. En la EEA Manfredi, durante la temporada 2012, se evaluó la producción forrajera de diez materiales de trébol de olor blanco, a saber: dos cultivares: Baralbo (Barenbrug) y El Domador (INTA Pergamino); una partida comercial (Guasch); una línea experimental de INTA Pergamino (LE Pe-2005); y seis poblaciones o procedencias: Laguna Larga (Córdoba), Santiago del Estero, Sampacho (Córdoba), Lazzero (Río Primero, Córdoba), Peuser (Río Primero, Córdoba) y Marano (Río Primero, Córdoba). El ensayo se sembró el 03/05/2012 y se usó una densidad de siembra de 20 kg ha⁻¹. El diseño experimental fue de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones y las parcelas fueron de 1 x 5 m. Se efectuaron dos cortes de forraje: uno el 30/10/2012 (con las plantas a una altura promedio de 70 cm) y otro el 14/12/2012 (50 % floración). La Tabla 2 contiene los resultados promedio del total de participantes en cada corte con los valores mínimos y máximos de cada caso. Se aprecia que la etapa vegetativa (octubre) fue la más productiva, aunque con una gran dispersión entre los participantes, dado que el valor máximo superó casi tres veces al mínimo obtenido; por el contrario, en el corte durante la etapa reproductiva, los rendimientos tendieron a acercarse y el valor máximo superó al mínimo en menos de una vez.

Tabla 2. Estado del cultivo y producción kg MS ha⁻¹. Valores medios de los 10 participantes. EEA

Evaluación Fecha	Estado del cultivo	kg MS ha ⁻¹ promedio	kg MS ha ⁻¹ mínimo	kg MS ha ⁻¹ máximo
30/10/2012	Vegetativo (70 cm de altura)	2462	1340	4011
14/12/2012	50 % floración	1929	1569	2813

INTA Manfredi, temporada 2012.

La comparación de la producción acumulada entre los participantes se resume en la Tabla 3. Pese a la ausencia de diferencias estadísticamente significativas, ligado a un CV

de 35 % (datos no mostrados), se resaltan las buenas producciones del ecotipo Santiago del Estero y de las procedencias de la zona de Río Primero.

Procedencia	Kg MS ha ⁻¹
Santiago del Estero	5.580 a ^(*)
Peuser	5.322 a
Marano	5.080 a
Guasch	4.739 a
Lazzero	4.460 a
Baralbo	4.083 a
LE Pe-2005	3.913 a
Sampacho	3.708 a
Laguna Larga	3.579 a
El Domador	3.448 a

^(*)Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0,05$) por la prueba DGC (Di Rienzo *et al.*, 2002).

Tabla 3. Rendimiento de forraje (kg MS ha⁻¹) de diez procedencias de trébol de olor blanco en la EEA Manfredi, 2012.

También en el INTA Manfredi Olivo y Spada (2015) llevaron a cabo en 2014 un ensayo con tres fechas de siembra (04/04/2014, 20/04/2014 y 19/05/2014) y tres momentos de corte: altura de 20-25 cm, intercepción del 50 % de la radiación solar (RS) e intercepción del 75 % de la RS. De los valores de MS ha⁻¹ obtenidos (Tabla 4) se destaca el impacto negativo de las siembras tardías sobre la producción de forraje acumulada durante la temporada.

Estado de la pastura	04/04/2014 (kg MS ha ⁻¹)	24/04/2014 (kg MS ha ⁻¹)	19/05/2014 (kg MS ha ⁻¹)
20-25 cm altura	5.711	4.661	2.557
50 % RS interceptada	6.239	3.532	3.572
75 % RS interceptada	5.584	4.526	3.004

Tabla 4. Producción (kg MS ha⁻¹) de trébol de olor blanco sembrado en tres fechas y tres frecuencias de defoliación. RS = radiación solar.

Problemas de suelo. La superficie forrajera total del área central de Córdoba, tanto de pasturas implantadas (anuales y perennes) como naturales, disminuyó en los últimos años. Evidentemente, esto marcó el inicio de un cambio significativo en los sistemas de producción, particularmente en la disminución del stock ganadero y en la reubicación de los rodeos (particularmente de cría, aunque también algunos de tambo) hacia áreas del territorio con menor potencial productivo. En estas últimas, el trébol de olor blanco ofrece posibilidades muy interesantes, en especial para el uso de suelos halomórficos, caracterizados por contener una excesiva cantidad de sales neutras o muy alcalinas. Esta situación abarca un variado mosaico de aptitudes –desde suelos salinos a salino-sódicos y sódicos– que restringen el crecimiento vegetal por varios factores (mal drenaje, anegamiento, salinidad, alcalinidad, etc.) y determinan barreras a la producción agrícola (Etchevehere, 1976).

En la Universidad Nacional de Tucumán Toll Vera *et al.* (2009) evaluaron al trébol de olor blanco en condiciones de suelos salino-sódicos y presencia de napa freática cercana a la superficie, registrando producciones de 4.500 kg a 6.100 kg MS ha⁻¹ año⁻¹, con muy alto crecimiento primaveral y buena calidad de semillas producidas. Concluyeron que la especie tiene excelentes perspectivas de utilización en regiones marginales.

No obstante, para una consideración integral de la oferta forrajera en áreas marginales, se debe también prestar atención a limitantes específicas que esas condiciones imponen. Según resume Ochoa (2011), el estrés salino provoca tres efectos sobre las plantas: a) osmótico, b) nutricional y c) tóxico. Mientras que el primero origina menor disponibilidad de agua para la planta, los otros dos implican alteraciones en procesos metabólicos y fisiológicos. En el caso de un exceso de sodio, la toxicidad puede ser directa (alteración de procesos celulares *per se*) o indirecta, por deterioro de la estructura del suelo, lo que restringe el crecimiento de las plantas por deficiencias de oxígeno y disminución del movimiento del agua edáfica.

Las deficiencias nutricionales del suelo, en particular las referidas a micronutrientes, pueden reflejarse en el valor nutritivo del forraje de trébol de olor blanco y causar trastornos en los animales tales como carencias o desequilibrios minerales que afecten la producción, la reproducción y la salud general. Sobre estos aspectos, si bien la información generada en la región central de Córdoba es escasa, existe un trabajo de Postma *et al.* (2010) referido a deficiencias de cobre en bovinos en el que se cita un estudio de Mombelli y Fader (1985) que analiza tanto la relación entre bajos niveles de cobre y excesos de molibdeno como el impacto del exceso de azufre en el agua sobre la disponibilidad del cobre y la alta concentración de hierro y molibdeno en la materia seca del forraje.

Balbuena y Mastrandea (2003) informaron que el pastoreo de un trébol de olor blanco que crecía en un suelo con pH alcalino y exceso de molibdeno causó en los bovinos una serie de trastornos clínicos que incluyeron diarrea profusa, envaramiento, dolor y anorexia. También Moncada (2001) afirmó que tanto las deficiencias de algunos minerales –entre ellos calcio, fósforo, cobalto, cobre, yodo, manganeso y selenio– como los excesos de molibdeno afectaron la reproducción.

Calidad forrajera. El trébol de olor blanco es una forrajera de alta calidad y equilibrado contenido de nutrientes durante las etapas de crecimiento vegetativo, pudiendo alcanzar valores de alrededor de 75 % de digestibilidad y contenidos de hasta 25 % de proteína bruta (PB). Comparado con la alfalfa tiene un contenido similar de energía metabolizable

(EM), pero puede ser ligeramente más alto en PB digestible. El contenido de PB del heno de trébol de olor blanco a menudo supera el 15 % de la MS. Durante su crecimiento vegetativo es una planta apetitosa; sin embargo, el incremento de cumarina al acercarse la etapa reproductiva lo hace marcadamente menos palatable. En las Tablas 5 y 6 se presentan los valores de calidad obtenidos de lotes de trébol de olor blanco cosechados en el área de influencia de la AER Río Primero.

Tabla 5. Valores de calidad de las fracciones hoja y tallo en plantas de trébol de olor blanco cortadas al 50 % de floración.

		PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	Dest (%)
Planta	Fracción hoja	31,5	23,4	14,1	78
	Fracción tallo	6,2	74	56,4	48,6

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA.

Tabla 6. Valores de calidad en las fracciones hoja, tallo y flor en plantas de trébol de olor blanco cortadas al inicio y en plena floración.

			PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	ISDMS (%)
Planta	Inicio de floración	Fracción hoja	28,5	14,9	12	79,5
		Fracción tallo	12,6	55,5	41,1	56,9
	Plena floración	Fracción hoja	27,4	17,8	14,7	77,4
		Fracción tallo	9,3	62,4	48,1	51,4

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; ISDMS= digestibilidad in situ de la materia seca.

Como es esperable, los análisis de calidad revelan que el mayor contenido de PB se encuentra en las hojas y el de FDN en los tallos.

La especie como reserva forrajera. La calidad de algunos silos de trébol de olor blanco confeccionados en el área de la AER Río Primero se presenta en las Tablas 7 y 8.

Tabla 7. Valores de calidad de dos silos de trébol de olor blanco confeccionados en el Departamento Río Primero (Córdoba) con cortes al 70 % de floración

Silo	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)
1	42,4	14,9	52,9	37,7	61,6
2	41,2	14,7	53,7	39,1	60,6

Referencias: MS= materia seca; PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; Dest= digestibilidad estimada de FDA.

Tabla 8. Valores de digestibilidad *in situ* de la materia seca (ISDMS) de silos de trébol de olor blanco confeccionados en el dpto. Río Primero (Córdoba) bajo tres condiciones de cultivo: corte a inicios de floración, corte al 100 % de floración y forraje afectado por hongos.

Silo	ISDMS (%)
Inicio a baja floración	70,2
Plena floración	60,7
Afectado por hongos	58

Referencia: ISDMS= digestibilidad *in situ* de la materia seca

Los primeros análisis de reservas forrajeras hechas con trébol de olor blanco en el territorio central de Córdoba datan de 1997 cuando, en oportunidad de la Exposición Agrícola-Ganadera “Hacia la Ganadería del 2000” realizada en La Para (Córdoba) y organizada por la Federación Agraria Argentina y las AER INTA Río Primero y Arroyito, se presentaron los datos de calidad de rollos de trébol de olor blanco envueltos (silo-pack) que se habían confeccionado con el cultivo cortado a mediados de floración (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis del valor nutritivo de rollos de trébol de olor blanco (silo-pack) cortado al 50 % de floración en el dpto. Río Primero (Córdoba) en 1997.

MS (%)	PB (%)	FDA (%)	FDN (%)	D _{est} (%)	EM _{est} (McalEM kg MS ⁻¹)
27,37	17,77	41,72	51,43	49,99	1,8

Referencias: MS= materia seca; PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; EM_{est}= energía metabolizable estimada. Fuente: Laboratorio UCC.

Poco antes del evento mencionado, Gaggiotti *et al.* (1996) habían publicado la tabla de composición química de alimentos que se basaba en los resultados promedio obtenidos en el laboratorio del INTA Rafaela y que incluía valores de fardos y silos de trébol de olor blanco. Paralelamente también se habían publicado informes sobre la alta calidad nutritiva de *M. albus* (Cangiano *et al.*, 1981), aunque en la práctica su uso se restringió exclusivamente al pastoreo directo.

Posteriormente, en un establecimiento lechero del dpto. Río Primero, (Córdoba) se utilizó al trébol de olor blanco para confeccionar en 2007 un silo puente y en 2011 un silobolsa (Figura 5). En ambos años, las precipitaciones durante el período octubre-diciembre fueron normales en comparación con las registradas en la región para la serie 1977-2015 (datos no mostrados). También la radiación solar, las temperaturas máximas y la humedad relativa del ambiente durante esos meses en ambos años no registraron desvíos de la media histórica y permitieron acondicionar el forraje sin inconvenientes. Se puntualizan las condiciones de ese trimestre porque es el de mayor importancia para las tareas operativas de corte, acondicionamiento y confección del silo.



Figura 5. Silo puente (izq.) y silobolsas (der.) confeccionados en un tambo del dpto. Río Primero en 2007 y 2011, respectivamente.

Para los silos que se hicieron en 2007 los lotes se cortaron en tres estadios de desarrollo: 100 % de floración, 10 % de floración y estado vegetativo del rebrote del corte anterior (Figura 6). De cada uno se extrajeron al azar 10 plantas representativas –que fueron separadas en hojas, flores y tallos– para realizar análisis de calidad a fin de evaluar el valor nutritivo de cada componente.



Figura 6. Trébol de olor blanco, rebrote (izq.) y 100 % floración (der.).

En la Tabla 10 se presentan los valores promedio de cada componente considerando los tres momentos de corte en conjunto. El objeto de esta caracterización fue estimar la calidad media de todo el material disponible en el campo.

Tabla 10. Calidad nutritiva promedio de los componentes de las plantas considerando en conjunto los tres momentos de corte: rebrote, 10% y 100% de floración.

Parámetros	Hojas	Flores	Tallos
PB (%)	29,3	25,74	9,97
FDN (%)	11,5	21,02	59,32
FDA (%)	10,1	16,68	46,04
D_{est} (%)	81	75,91	53,03
CE_{est}	2,9	2,73	1,91

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; CE_{est}= concentración energética estimada.

La calidad nutritiva de hojas, flores y tallos para cada momento de corte se ofrece en las Tablas 11, 12 y 13, respectivamente.

Tabla 11. Calidad nutritiva de la fracción “hojas” para cada momento de corte

Muestra	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)	CE _{est}
100 % floración	30,89	11,46	9,59	81,43	2,93
Inicio floración	29,63	11,53	10,08	81,05	2,92
Rebrote	29,19	11	10,04	81,08	2,92

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; CE_{est}= concentración energética estimada.

Tabla 12. Calidad nutritiva de la fracción “flores” para cada momento de corte

Muestra	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)	CE _{est}
100 % floración	23,9	24,23	19,84	73,44	2,64
Inicio floración	25,52	20,06	16,12	76,34	2,75

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; CE_{est}= concentración energética estimada.

Tabla 13. Calidad nutritiva de la fracción “tallos” para cada momento de corte

Muestra	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)	CE _{est}
100 % floración	8,33	65,64	51,53	48,76	1,76
Inicio floración	12,58	55,46	41,06	56,91	2,05
Rebrote	10,63	50,54	40,05	57,7	2,08

Referencias: PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; CE_{est}= concentración energética estimada.

Se aprecia que, como sucede normalmente, los tallos reflejan más claramente que las otras fracciones los cambios de estructura (lignificación) que se dan a medida que avanza el ciclo de desarrollo de las plantas. La pérdida de calidad de esta fracción entre el rebrote y la plena floración se evidencia en la disminución del contenido proteico, de la digestibilidad y del valor energético, y en el incremento de las concentraciones de fibra. Las otras dos fracciones (hojas y flores) no manifiestan mayores cambios de calidad con el avance de los estadios fenológicos. Por ello, es importante conocer la evolución de los parámetros de calidad forrajera a efectos de ajustar el manejo del cultivo para la confección de reservas (heno o silaje), definiendo así el momento óptimo corte y el acondicionamiento adecuado del forraje. Con referencia al silaje, Peñagaricano *et al.* (1977) resaltan la importancia de compactar adecuadamente la masa de forraje a fin de eliminar rápidamente el aire y favorecer una correcta fermentación que asegure el mantenimiento de la calidad nutritiva por un lapso prologando. Es importante tener presente que ningún sistema de conservación aumentará el valor nutritivo original del forraje y que la verdadera estimación de la calidad forrajera se obtiene a través de la respuesta animal.

Respecto de las fechas de elaboración de los silos puente en 2007, los cortes se efectuaron entre noviembre (silo I) y mediados de diciembre (silos II y III), con el cultivo en distintos momentos de floración. En todos los casos, se empleó maquinaria y personal del propio establecimiento. El corte para el silo I se realizó en un estado avanzado de floración, con tallos ya lignificados y con forraje que tenía bajo nivel de calidad (Figura 7).



Figura 7. Aspecto general del silo I (izq.) y detalle de los tallos lignificados (der.).

El silo II se elaboró con el cultivo en un estado temprano de floración (Figura 8, izq.), lo que proporcionó una masa de forraje con tallos poco lignificados, valores de digestibilidad cercanos al 70 % y buenos niveles de PB y FDN. Por el contrario, el silo III se cortó en un estado de floración avanzada (Figura 8, der.), lo que condicionó una menor calidad forrajera de la masa ensilada; además, el tapado de este silo fue deficiente, lo que ocasionó fermentaciones indeseables y procesos de putrefacción.



Figura 8. Vista del estado general de la pastura al momento del corte a principios de floración para el silo II (izq.) y en floración avanzada para el silo III (der.).

Si bien se anticipaba la baja calidad del forraje cortado en floración avanzada, se eligió igualmente ese momento de corte para reducir el contenido de humedad a fin de favorecer una fermentación adecuada y reducir la posible proliferación de hongos que pudiera posteriormente causar trastornos durante la conservación y la alimentación del ganado. No obstante, los problemas de tapado en el silo III condicionaron menores valores de calidad respecto del silo I, que se cortó también en floración avanzada. Las comparaciones de calidad entre los tres silos se resumen en la Tabla 14. Como ya fuera señalado anteriormente, se concluye que para conseguir una alta calidad forrajera y una adecuada conservación de la masa ensilada, se recomienda cortar a comienzos de floración y realizar una adecuada compactación y un correcto tapado del silo.

Tabla 14. Calidad nutritiva de tres silos realizados en 2007 en distintos momentos de corte: floración avanzada (silo I), floración temprana (silo II) y floración avanzada más incorrecto tapado del silo (silo III).

Muestra	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D (%)	CE _{est}
Silo III	53,2	11,3	60,9	48,6	58,7	1,9
Silo I	45,9	11,3	61,2	45,5	60,7	2
Silo II	49,9	13,8	52,5	39,3	70,2	2,2

Referencias: MS= materia seca; PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D= digestibilidad *in situ* (3 novillos); CE_{est}= concentración energética estimada. **Fuente:** EEA Manfredi.

El ensilaje del trébol de olor blanco en 2011 se hizo a través de una empresa contratista de servicios que utilizó el sistema de silobolsa (Figura 9). Respecto de los silos de 2007, se apreció mayor eficiencia de picado y mejor conservación de los silos.

Figura 9. Trabajos de picado (izq.) y embolsado (der.) para los silos confeccionados en 2011.



En esta oportunidad, el material verde utilizado presentaba un desarrollo homogéneo y se encontraba en un mismo lote, del que se tomaron 19 muestras al azar que se enviaron al laboratorio para analizar las calidades de las fracciones hoja y tallo. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Valores promedio (19 muestras) de parámetros de calidad de hojas y tallos de una pastura de *M. albus* cortada en 2011 para confeccionar un silobolsa.

Muestra	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)	CE _{est}
Hoja	31,5	23,41	14,14	77,96	2,81
Tallo	6,15	74	56,44	48,58	1,75

Referencias: MS= materia seca; PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D= digestibilidad *in situ* (3 novillos); CE_{est}= concentración energética estimada. **Fuente:** EEA Manfredi.

Si bien estos valores son similares a los obtenidos en los análisis para los silos realizados en 2007 (Tablas 10, 11 y 13), las condiciones ambientales de 2011 (mayores temperaturas y más alta humedad relativa) hicieron que el contenido de FDN en los tallos fuera mayor al inicio de floración. Sin embargo, la calidad final de los silobolsas (Tabla 16) fue similar a la del silo II obtenido en 2007 (Tabla 14), particularmente en el contenido de energía metabólica. Por un lado, es probable que el aspecto uniforme de la pastura en 2011 haya contribuido a una mayor eficiencia de cosecha, con menos pérdidas de hojas, que pudo haber compensado la mayor concentración de fibra en los tallos. Por otro lado, las diferencias operativas entre ambos años mejoraron el tamaño del picado, lo que permitió una más eficiente compactación. También la ausencia de roturas en las bolsas permitió adecuadas condiciones de fermentación por carencia de oxígeno.

Tabla 16. Valores promedio de calidad del ensilado en los silobolsas realizados en 2011.

MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	D _{est} (%)	CE _{est}	pH
41,8	14,8	53,3	38,4	61,1	2,2	4,4

Referencias: MS= materia seca; PB= proteína bruta; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido; D_{est}= digestibilidad estimada de FDA; CE_{est}= concentración energética estimada.

La confección de silos de trébol de olor blanco permitió al productor realizar una mejor planificación de la oferta forrajera durante la época invernal, manteniendo buenos niveles de producción de leche a lo largo del ciclo en que se suministró al rodeo. Es oportuno mencionar que durante la utilización de los silos se realizaron controles sanitarios permanentes a fin de detectar efectos nocivos que pudieran deberse a la cumarina, sin registrarse inconvenientes en ningún momento. Tampoco se produjeron incidentes en la entrega a la industria por gusto u olor desagradable en la leche.

VII. Conclusiones

► Por un lado, en el territorio central de la provincia de Córdoba, donde existen alrededor de un millón de hectáreas de menor potencial productivo (“marginales”), el trébol de olor blanco ofrece condiciones de adaptabilidad y de alta productividad forrajera de excelente valor nutritivo. No obstante, las prácticas de manejo –sea bajo pastoreo o bajo corte para la realización de reservas– deben evitar su uso en estados avanzados de crecimiento (plena floración y semillazón), dado que la calidad forrajera decrece significativamente. Por otro lado, un adecuado manejo de la producción de semilla, que favorezca la alta capacidad de resiembra natural de la especie, permitirá asegurar su presencia en los lotes con escaso a nulo costo de implantación.

► Atentos a la calidad dispar de las partidas comerciales de semilla de *M. albus*, es conveniente analizar su calidad (porcentaje de germinación, energía germinativa, pureza y porcentaje de semillas duras) para evitar fallas de implantación que aumentan los costos y disminuyen la eficiencia productiva.

► La cumarina es una sustancia que las plantas de trébol de olor blanco contienen como modo de defensa ante otros organismos de la naturaleza. Su contenido se incrementa a medida que se avanza hacia la floración. Además de su olor característico, la cumarina no ofrece inconvenientes cuando la pastura se usa en estado verde bajo pastoreo directo. Sin embargo, cuando la pastura se emplea para la henificación o el ensilado, se debe evitar la generación de condiciones de putrefacción que favorezcan el desarrollo de ciertos hongos que transforman la cumarina en dicumarol, un potente anticoagulante que causa diversos trastornos a los animales. Para estos efectos antinutricionales no se cuenta por el momento con ninguna solución.

► El tipo de secado de las plantas de trébol de olor blanco influye en el contenido de cumarina; el secado natural es el que condiciona menores concentraciones. No obstante, durante la henificación se recomienda adecuar las actividades de corte, acondicionamiento, secado en campo y estiba a las condiciones climáticas imperantes en cada lugar, a fin de disminuir el contenido de cumarina y los riesgos de su desnaturalización.

► En sistemas reales de producción tambera en el área de la AER INTA Río Primero no se detectaron efectos adversos por el uso de ensilaje de trébol de olor blanco en los niveles de producción de leche ni tampoco penalidades por olor o sabor inapropiados. Cuando los silos estuvieron adecuadamente confeccionados, su calidad nutritiva fue semejante –y en algunos casos superior– a la de los silos de maíz que se confeccionaron en el mismo establecimiento.

► Para el ensilado el contenido de humedad del forraje tiene una importancia fundamental. El exceso de humedad favorece la contaminación con hongos y las fermentaciones indeseables; por el contrario, un contenido excesivamente bajo impide la correcta compactación del silo, lo que facilitará el desarrollo de fermentaciones indeseables por exceso de oxígeno.

► El momento ideal de corte para la realización de reservas de *M. albus* es entre el estado vegetativo tardío y principios de floración. No obstante, para aumentar la cantidad de materia seca por hectárea es una práctica común realizar el corte en estados avanzados de floración, generando un producto con significativas pérdidas de calidad.

VIII. Bibliografía

- ABRAHAM, K.; WOHLIN, F.; LINDTNER, O.; HEINEMEYER, G.; LAMPEN, A. Toxicology and risk assessment of coumarin: Focus on human data. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54: 228-239, 2010.
- BALBUENA, O.; MASTANDREA, O.: Trastornos clínicos en bovinos pastoreando *Melilotus alba* con niveles altos de molibdeno en la zona centro-chaqueña. EEA Colonia Benítez, Resistencia, Chaco, p. 3, 2003.
- BERTI, R. Empleo de melilotus y cebada negra en mejoramiento de suelos salinos y alcalinos en márgenes del Río Juramento. Informes internos, EEA Salta (inédito), 2002.
- BOLOS, O.; VIGO, J.: Flora deis Paisas Catalans Vol. I. Ed. Barcino, Barcelona, p. 736, 1984.
- CANGIANO, C.; MELO, O.; MAURO, G.; BULASCHEVISCH, M.: Valor nutritivo del trébol de olor blanco anual (*Melilotus albus* Medik) consumo y digestibilidad "in vivo" a galpón y estimación de la digestibilidad de la ingesta por novillos en pastoreo. *Rev. Arg. de Prod. Anim.* 8:539-546, 1981.
- CANGIANO, C.; MOMBELLI, J.: Curva de crecimiento del trébol de olor blanco anual (*Melilotus albus* Medik). *Revista de investigaciones agropecuarias INTA. Serie 2 Vol. XII N.º 2*, 1975.
- CANGIANO, C. A.: 1979. Producción y calidad de forraje del trébol de olor blanco anual (*Melilotus alba* Medik). INTA, EEA Manfredi. *Inf. Técnica N.º 82*: p.19, 1979.
- CORNELL UNIVERSITY. Coumarin Glycosides. Disponible: <http://poisonousplants.ansci.cornell.edu/toxicagents/coumarin.html> (consulta 04/05/2016).
- COTRAN, R.; KUMAR, V.; COLLINS, T.: 2000. Doença dos eritrócitos e distúrbios hemorrágicos. En: Robin (ed) *Patologia Estrutural e Funcional*, 6.ª ed., Guanabara Koogan, pp. 540-579, Río de Janeiro, 2000.
- CROCKER, W.; BARTON, L.: *Physiology of seeds*. Chronica Botánica Co., Waltham, MA, 1957.
- DEULOFEU, V.; MARENZI, A.; STOPPANI, A.: *Química Biológica*, El Ateneo, 9.ª, ed., pp. 418-1325, Buenos Aires, 1969.
- DI RIENZO, J. A.; GUZMÁN, A. W.; CASANOVES, F.: A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics* 7(2): 129-142, 2002.
- EFSA: Opinion of the scientific panel of food additives, flavourings, processing aids and materials in contacts with food (AFC). *EFSA Journal* 104: 1-36, 2004.
- ESPINOSA, F.; SARUKHÁN, J.: *Manual de malezas del valle de México: claves, descripciones e ilustraciones*. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F, Fondo de Cultura Económica, 1997.
- ETCHEVEHERE, P. H.: 1976. Normas de reconocimiento de suelos. INTA-CIRN. Publ. N.º

152, 2.^a ed., Buenos Aires, p. 211, 1976.

GAGGIOTTI, M.; ROMERO, L.; BRUNO, O.; COMERON, E.; QUAINO, O.: Tabla de composición química de alimentos. INTA, Centro Regional Santa Fe, EEA Rafaela, ed. Perfil S. A., Argentina, pp. 42-46, 1996.

GARCÍA, D. E.; MEDINA, M. G.; SOCA, M.; MONTEJO, I. L.: Toxicidad de leguminosas forrajeras en la alimentación de los animales monogástricos. *Pastos y Forrajes* 28 (4): 279-289, 2005.

GOPLEN, B.; GREENSHIELDS, J.; BAENZIGER, H.: The inheritance of coumarin in sweetclover. *Can. J. Botany* 35: 583-593, 1957.

GOPLEN, B.: Polara, a low coumarin cultivar of sweetclover. *Can. J. Plant Sci.* 51: 249-251, 1971.

GORZ, J. H.; HASKINS, F.: Genetic blocks in the synthesis of coumarin in *Melilotus alba*. *Journal of Heredity* 51: 74-76, 1960.

GORZ, J. H.; SMITH, W. K.: Forages. *The Science of Grassland Agriculture*. En: Heath, M.; Metcalfe, D.; Barnes, R., ed. *Forages. The Science of Grassland Agriculture*. Iowa Univ. Press. Iowa, USA, p. 755, 1973.

LÓPEZ, C.; ZAMPINI, J. L.: Experimentación en campos de productores del área: medición de materia seca en forrajeras. INTA, Agencia de Extensión Rural Río Primero, 1979.

LUCCA, ALESSANDRO E BRACCINI.: Bancos de sementes e mecanismos de dormência em sementes de plantas daninhas. En: Rubem Silvério de Oliveira, R. S. Jr.; Jamil Constantin, J.; Hiroko Inoue, M. (ed) *Biología e Manejo de Plantas Daninhas*, Omnipax, Curitiba (PR), pp. 37-66, 2011.

Mc LEOD, E.: *Feed the soil*. Organic Agriculture Research Institute. Graton, CA, 1982.

MERCK VETERINARY MANUAL. Overview of Sweetclover Poisoning. MerckManuals.com . Disponible: www.merckvetmanual.com/sweet_clover_poisoni (Consulta 15/04/2016).

MOMBELLI, J. C.; FADER, O. W.: Informe de la EEA Manfredi (INTA). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 4(3): 31-33, 1985.

MONCADA, A. H.: Implicaciones metabólicas en el aborto bovino. Seminario de Nutrición, Reproducción y Clínica de Bovinos. Universidad de Antioquia, Medellín. En: Campos, R. G y Hernández E. A. 2008. *Relación nutrición-fertilidad en bovinos: un enfoque bioquímico y fisiológico*. Departamento de Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 2001.

MUÑOZ MONTENEGRO, J. F.; SARMIENTO SINCHI, D. G.: Valoración comparativa de dos métodos de secado de plantas medicinales a través de la cuantificación de flavonoides y cumarinas, Universidad de Cuenca, Ecuador, 2010.

NAIR, R.; WHITTALL, A.; HUGHES, S.; CRAIG, A.; REVELL, D.; MILLER, S.; POWELL, T.; AURICHT, G.: Variation in coumarin content of *Melilotus* species grown in South Australia. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 53(3): 201-213, 2010.

- OCHOA, M. A.: Pasturas y vegetación natural, Agricultura Extensiva, Suelos, INTA, EEA Rama Caída, 2011.
- OLIVEIRA PRENDES, J. A.; AFIF KHOURI, E. J.; ORTIZ GARCÍA, J.: Evaluación de un método de escarificación mecánica en la germinación de semillas de leguminosas pratenses, Pastos xxxvii (2): 179-191, 2007.
- OLIVO, S.; SPADA, M. DEL C.: Efecto de la fecha de siembra y frecuencias de defoliación sobre la producción de forraje de *Melilotus albus*. Comunicación. Rev. Arg. Prod. Anim. (en prensa), 2015.
- PEÑAGARICANO, J. A.; ARIAS, W.; LLANEZA, J. N.: Ensilaje. Manejo y utilización de las reservas forrajeras, Editorial Hemisferio Sur, Montevideo, Uruguay, 1977.
- PEREIRA, A. M. S.: Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. Journal of Herbs, Spices e Medicinal Plants 7 (2): 1-10, 2000.
- POSTMA, G. C.; MINATEL, L.; CARFAGNINI, J. C.: Deficiencia de cobre en bovinos en pastoreo de la Argentina,, Revista Argentina de Producción Animal Vol. 30 (2): 189-198, Facultad de Ciencias veterinarias, Universidad de Buenos Aires 2010.
- RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; BARBOSA, L. C. A.; ROCHA, R. P.; BERBERT, P. A.: Rendimiento extrativo de cumarina de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) submetidas a diferentes temperaturas de secagem. Rev. Bras. Plantas Med.14 (3): p.453-457, 2012.
- RAGONESE, A.; MILANO, V.: 1984. Vegetales y substancias tóxicas de la flora argentina. En: Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería, t.II, 2.^a ed., Acme, Buenos Aires, pp. 168-413, 1984.
- RÍOS, S.; SÁNCHEZ ZAMORA, M.; CORREAL, E.; ROBLEDO, A.: *Melilotus albus* Medik, una leguminosa de uso múltiple para las tierras calizas de la España seca, Pastos XXI (1): 61-76, 1993.
- RZEDOWSKI, G.; RZEDOWSKI, J.: Flora fanerogámica del valle de México, 2.^a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México, 2001.
- SAGALVEKOV, U.; ABUBEKEROV B.: *Melilotus alba* cv. Omskii Skorospelyi. Seleksiya-i-Semenovodstvo-Moskva. Moskva. URSS, 5, pp. 45-47, 19991.
- SCHAEFFER, G.; HASKINS, F.; GORZ, H.: Genetic control of coumarin biosynthesis and p-glucosidase activity in *Melilotus alba*. Biochem. Biophys. Res. CO. 3: 268-271, 1960.
- SMITH, G.; EVERS, G.: 2005. Concurrent selection for low coumarin and multi-stemmed crowns in annual sweetclover. En: O'Mara *et al.* (ed.) 20th Int. Grassland Congress/ Offered Papers, Wageningen Academic Publishers, Países Bajos, p. 83, 2005.
- SMITH, W.; GORZ, H.: Sweetclover improvement. Adv. Agron. 17:163-231, 1965.
- STEVENSON, G.: 1 An agronomic and taxonomic review of the genus *Melilotus*. Can. J. Plant Sci. 49:1-20, 1969.

- TOLL VERA, J. R.; LAGOMARSINO, E. D.; MARTIN, G. O. (H); NICOSIA, M. G.; FERNÁNDEZ, M. M.: Evaluación del trébol de olor blanco (*Melilotus albus* Medik) en suelos salinos con presencia de napa freática en el oeste de Santiago del Estero. Primer Congreso Red Argentina de Salinidad. Facultad de Agronomía y Zootecnia, U.N. de Tucumán, 2009.
- TRAVERSO, J. E.; BABINEC, F. J.; TROIANI, H.: 2005. Caracterización y agrupación de entradas por compatibilidad de caracteres fenotípicos en el género *Melilotus*, Publicación Técnica N.º 64, INTA, EEA Anguil, p. 16, 2005.
- WINK, M.: Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics* 75: 225-233, 1988.

Esta publicación resume los trabajos sobre el cultivo de trébol de olor blanco (*Melilotus albus* Medik) que se realizaron conjuntamente en la AER Río Primero y en la EEA INTA Manfredi del CR Córdoba. Las investigaciones fueron financiadas por los Proyectos INTA: PReT Cordo 1262204, PReT Cordo 1262205 y PNPA 1126072.

La presente publicación técnica, además de ofrecer una descripción general de la especie y su uso en la producción ganadera, hace especial hincapié en la producción y en la calidad de esta forrajera; en la evolución del contenido de cumarina durante las etapas fenológicas del cultivo; y en las posibilidades de lograr —a través del mejoramiento genético— cultivares de bajo contenido de cumarina. Utilizando un sistema real de producción lechera, que en años discontinuos hizo uso del trébol de olor blanco para la confección de silos, se coordinaron tareas de campo y análisis de laboratorio que fundamentaron gran parte de las conclusiones que se exponen en este trabajo.

Este trabajo proporciona una muy interesante información sobre el cultivo de trébol de olor blanco ante las necesidades en la región central de la provincia de Córdoba de adecuar la investigación y la extensión al desarrollo ganadero presente con actualización y generación de información local.



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación