

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



Respuesta de los extractos comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN), sobre los porcentajes de lignina, digestibilidad y grasa cruda de alfalfa (*Medicago sativa*) de dos años durante el ciclo primavera en la Comarca Lagunera.

Por:

ERICK ANÍBAL CASTILLO ESTRADA

TRABAJO DE OBSERVACIÓN

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Respuesta de los extractos comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN), sobre los porcentajes de lignina, digestibilidad y grasa cruda de alfalfa (*Medicago sativa*) de dos años durante el ciclo primavera en la Comarca Lagunera.

Por:

ERICK ANÍBAL CASTILLO ESTRADA

TRABAJO DE OBSERVACIÓN

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

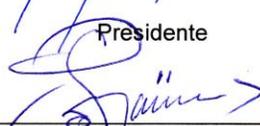
Aprobada por:


DR. JESÚS ENRIQUE CANTÚ BRITO

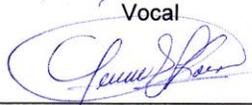
Presidente


MVZ. JOSÉ GUADALUPE CABELLO FAVELA

Vocal

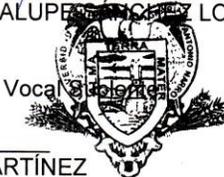

MC. SILVESTRE MORENO AVALOS

Vocal


MC. MARÍA GUADALUPE SÁNCHEZ LOERA

Vocal


MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Respuesta de los extractos comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN), sobre los porcentajes de lignina, digestibilidad y grasa cruda de alfalfa (*Medicago sativa*) de dos años durante el ciclo primavera en la Comarca Lagunera.

Por:

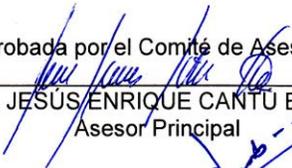
ERICK ANÍBAL CASTILLO ESTRADA

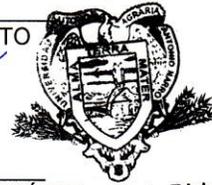
TRABAJO DE OBSERVACIÓN

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


DR. JESÚS ENRIQUE CANTU BRITO
Asesor Principal




MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, José Octavio Castillo Portillo y Patricia Estrada Gutiérrez, a **mis hermanos**, Marisela Castillo Estrada y José Octavio Castillo Estrada, por apoyarme durante toda mi carrera y hacer que lograra este éxito de ser profesionalista.

A mi Alma Mater, por los conocimientos adquiridos y por aceptarme ser parte de ella y darme una formación como profesionalista.

Al Dr. Jesús Enrique Cantú Brito, por brindarme su apoyo y permitirme ser parte de su trabajo de observación

A todos los maestros del departamento de Ciencias Médico Veterinarias, por sus sabios consejos y conocimientos.

A mis familiares, amigos y compañeros.

DEDICATORIAS

Dedico el presente trabajo de observación a las personas que siempre estuvieron conmigo a lo largo de estos 5 años de mi carrera que fueron parte esencial para lograr esta meta, que me brindaron su apoyo para dar este paso tan importante en mi vida : **mis hermanos** Marisela Castillo Estrada y José Octavio Castillo Estrada, **mis padres**, José Octavio Castillo Portillo y Patricia Estrada Gutiérrez que han estado incondicionalmente conmigo en todo momento y situación a lo largo de mi vida y que sin ellos no sería la persona que soy hoy en día, infinitas gracias.

A todos los miembros de mi familia que siempre me brindaron su apoyo para seguir a delante y terminar la carrera de Médico Veterinario Zootecnista que era un sueño que tenía desde niño, a todas las amistades que se formaron durante la carrera que brindaron enseñanzas buenas y malas. A todos los catedráticos que me transmitieron sus conocimiento durante las clases y prácticas.

A Dios y a la Virgencita que me han cuidado, bendecido y acompañado desde siempre.

RESUMEN

El presente trabajo de observación se desarrollo en la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna. El ensayo se llevó a cabo en un lote de terreno de 20 hectáreas localizado en las “Tablas de Frías” del Grupo Tricio Haro (GTH), en la Comarca Lagunera en la primavera de 2016 y tuvo como objetivo evaluar el impacto sobre la lignina, digestibilidad y grasa cruda en el cultivo de la alfalfa de segundo año en primavera-verano de la fertilización de extractos comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN) a diferencia de la comercial, se utilizó un lote experimental en bloques al azar con dos tratamientos (T₁= Lote con aplicación ECAN y T₂= Testigo productor) con 6 repeticiones y seis cortes. La alfalfa se estableció en diciembre de 2014. Las variables a evaluar fueron; obtener el porcentaje de lignina, digestibilidad y grasa cruda en el cultivo de la alfalfa de primavera.

Los resultados muestran que la aplicación de ECAN no provocó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos para las variables estudiadas. En lo que se refiere al contenido de lignina, las medias de los tratamientos fueron similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 7.73 ± 0.57 y el lote testigo de 6.78 ± 0.39 %, Para la digestibilidad *in vitro*, las medias de los tratamientos fueron estadísticamente similares, reportando una media del lote tratado de 84.17 ± 4.44 y el lote testigo de 84.50 ± 1.87 por ciento. Para el contenido de E.E. las medias de los tratamientos fueron similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 2.06 ± 0.37 y el lote testigo de 2.05 ± 0.29 por ciento. Se puede concluir que en general, después de la interpretación de resultados del laboratorio del análisis de la calidad nutritiva del forraje, indica que se obtuvo alfalfa en cuanto a la digestibilidad en los dos tratamientos de excelente calidad, es decir “Premium”

Palabras clave: Alfalfa, primavera, digestibilidad, *Ascophyllum nodosum*, y lignina

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Importancia de alfalfa	4
2.2 Uso Eficiente de los Nutrientes y digestibilidad en alfalfa	6
2.3 Lignina en alfalfa	7
2.4 Extracto etéreo (EE) (Grasas) en alfalfa	11
2.5 Digestibilidad en la alfalfa	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Ubicación del ensayo	21
3.2 Materiales	22
3.3 Métodos utilizados en el ensayo	24
3.3.1 Aplicación del producto ECAN en campo	24
3.3.2 Croquis del ensayo en el campo	26
3.3.3 Tratamientos del ensayo	27
3.3.4 Parámetros a observar	27
3.4. Estadística descriptiva en el ensayo	28
3.5 Colecta de muestras de forraje	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1 Resultados del contenido de lignina, %	31
4.2 Resultados del contenido de lignina, % de FDN	33
4.3 Resultados del contenido de digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	35
4.4 Resultados del contenido de extracto etéreo (%)	37
5. CONCLUSIÓN	39
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

ÍNDICE DE CUADROS

		Página
Cuadro 1	Contenido de lignina de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).	10
Cuadro 2	Contenido de extracto etéreo (Grasa cruda) de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).	12
Cuadro 3	Relación entre cinco categorías de calidad de alfalfa según su VRF y el aporte de extracto etéreo (FEDNA, 2016).	13
Cuadro 4	Análisis nutritivo de contenidos de Extracto Etéreo y Lignina en henos de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>) de tres calidades y heno de quihuilla (<i>Chenopodium albn</i>) (López et al., 1996).	14
Cuadro 5	Producción de materia seca, energía metabolizable, proteína digestible y digestibilidad de alfalfa en cuatro estados de madurez (Parsi et al., 2001).	15
Cuadro 6	Digestibilidad de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).	16
Cuadro 7	Composición química (g/kg materia seca (MS) de los substratos empleados en las incubaciones <i>in vitro</i> y digestibilidad <i>in vivo</i> de la materia seca (DMS; p.100) de dos tipos henos de alfalfa (Bochi-Brum et al., 1999).	17
Cuadro 8	Resultados del análisis del contenido de lignina (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.	31
Cuadro 9	Resultados del análisis del contenido de lignina de la FDN (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.	34
Cuadro 10	Resultados del análisis del contenido de digestibilidad <i>in vitro</i> (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.	35

Cuadro 11 Resultados del análisis del contenido del extracto etéreo (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016

37

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Localización del lote de terreno de 52 hectáreas a 2.5 km de la carretera Ejido Granada a Ejido Solís, utilizado para la evaluación de ECAN en alfalfa de segundo año en el ciclo de primavera del año 2016.	22
Figura 2	Presentación del producto aplicado al suelo al momento del riego en el cultivo de la alfalfa de primavera en el año 2016.	23
Figura 3	Panorama general del lote del ensayo del cultivar de alfalfa establecido en diciembre de 2014, contándose con una superficie de 20 hectáreas, 10 del lote tratado y 10 el lote testigo, durante el ciclo de primavera del año 2016.	24
Figura 4	Aplicación del producto en la corriente de agua de la tabla para una mejor distribución del producto, la coloración oscura-café, representa el producto en el agua de riego, al momento de su aplicación en la tabla de alfalfa.	25
Figura 5	Momento de la aplicación del producto en la corriente de agua de la tabla para una mejor distribución del producto, la coloración oscura-café, representa el producto en el agua de riego.	26
Figura 6	Metodología utilizada para la colecta de las muestras de alfalfa para su posterior análisis en el laboratorio, cortando a ras del suelo con unas tijeras de podar, en la alfalfa del ciclo de primavera del año 2016.	29
Figura 7	Panorama general del lote de alfalfa después del corte por parte del productor, preparado el cultivar para el próximo riego, en la alfalfa de dos años del ciclo de primavera del año 2016.	29

1. INTRODUCCIÓN

La Comarca Lagunera se sitúa como una de las cuencas lecheras más importantes de México debido a lo elevado de su producción de leche que en el año 2017 llegó a alcanzar los 2,371 millones de litros y un valor de la producción de 15,045 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2018).

Para lograr lo anterior, existe una dependencia permanente de provisión de forrajes y alimentos para la creciente cantidad de cabezas de ganado lechero, por lo que se establecen en la región 107,427 hectáreas de cultivos forrajeros, existiendo una fuerte dependencia del cultivo de la alfalfa que en el año 2017 llegó a alcanzar las 39,703 hectáreas, contribuyendo con una participación del 71 por ciento del valor de la producción, que corresponde a un ingreso de 2,047 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2018).

Sin embargo, ante la creciente necesidad por parte de los productores de leche y de forrajes de incrementar el rendimiento de sus cultivos, se han integrado prácticas más modernas de producción como lo son la introducción de nuevas variedades, mejores sistemas de riego, mejor control de plagas y enfermedades, así como la implementación del uso de fertilizantes alternativos como lo representan los fertilizantes orgánicos y dentro de ellos, los de origen marino procesados a partir de una alga marina el *Ascophyllum nodosum*, la cual ya se encuentra disponible en el mercado conocida como los extractos comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN).

Además, un número de productos comerciales de extracto de algas marinas están disponibles para su uso en agricultura y horticultura y puede ser utilizado

como extractos líquidos aplicados como aspersiones foliares, líquidos en el suelo, o en forma de polvo o granulado como acondicionadores del suelo y el estiércol (Thirumaran et al. 2009). Estos extractos son comercializados como bioestimulantes líquidos porque un análisis químico de las algas y sus extractos ha revelado la presencia de una amplia variedad de sustancias para promover el crecimiento de plantas como las auxinas, citocininas y betaines (Khan et al. 2015). Estas sustancias pueden influir en el desarrollo del sistema raíz y estimular el crecimiento (Durand et al. 2003; Stirk et al. 2004). Las algas son un recurso local barato a lo largo de la costa de las zonas agrícolas. En México, las algas son muy abundantes y representan un gran potencial para una eventual explotación comercial (Gojón-Báez et al. 1998).

Muchos de estos productos se han utilizado fuertemente en horticultura y frutales principalmente, pero su utilización en cultivos forrajeros y en particular en el cultivo de la alfalfa son escasos o nulos o la literatura respecto a los resultados es muy limitada, por lo que se hace necesario evaluarlos sobre todo su impacto en la calidad nutritiva de la alfalfa.

Por lo expuesto en las premisas anteriores, el presente trabajo de observación, tiene como principal objetivo observar el impacto de los Extractos Comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN), sobre el contenido de lignina, digestibilidad y grasa cruda en alfalfa de dos años en el ciclo de primavera.

Objetivo

El objetivo principal de este ensayo o trabajo de observación consiste en evaluar el impacto de los Extractos Comerciales de *Ascophyllum nodosum* (ECAN),

sobre el contenido de lignina, digestibilidad y extracto etéreo en alfalfa (*Medicago sativa*) de dos años durante el ciclo primavera en la Comarca Lagunera.

Objetivos específicos:

1).- Observar el efecto de los ECAN sobre el contenido de lignina (Lig, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo la primavera.

2).- Observar el efecto de los ECAN sobre la digestibilidad (Dig, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo la primavera.

3).- Observar el efecto de los ECAN sobre el porcentaje de extracto etéreo (EE, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo de primavera.

4).- Observar el efecto de los ECAN sobre el contenido de digestibilidad de la FDN a las 30 hr en la alfalfa de dos años durante la primavera.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Importancia de la alfalfa

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una planta perteneciente a la familia de las Leguminosas (Fabaceae). Es un cultivo forrajero perenne con un excelente potencial productivo, cuya duración en el campo puede ser de entre 3-4 años dependiendo de la frecuencia de sus cortes, y tiene la bondad de permitir hasta 10 o 12 cortes por año. Se cultiva principalmente en sistemas muy intensivos bajo riego en regiones o localidades con disponibilidad de agua del subsuelo o norias (FEDNA, 2016).

La alfalfa es ampliamente utilizada como forraje para el ganado debido a su alto contenido de nutrientes, sin embargo, la digestibilidad y utilización de la alfalfa por esos animales es dañado por su contenido de lignina. La lignina es un polímero complejo estructural que es el segundo componente más abundante de las paredes secundarias de la pared celular de las plantas (Grev et al., 2017), y que proporciona la dureza y rigidez necesaria para que las plantas permanezcan firmes y sólidas (Li et al., 2015a).

A medida que una planta madura, aumenta la concentración de lignina, llenando el espacio entre la celulosa, hemicelulosa y moléculas de pectina y formando vínculos con la hemicelulosa (Casler y Vogel, 2002).

Si bien es esencial para el normal crecimiento de las plantas, la deposición o acumulación de lignina en las paredes celulares vegetales pueden reducir el valor alimenticio de la alfalfa afectando negativamente la degradación microbiana ruminal y la digestión del alimento por las enzimas intestinales (Liu y Yu, 2011). La

lignificación ha sido reportado como el factor principal que limita tanto la digestibilidad *in vitro* de la pared celular de los polisacáridos de las plantas (Jung et al., 2012) y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DMS) de toda la planta forraje (Reddy et al., 2005). Estos efectos negativos han sido fundamentalmente asociados con la concentración de lignina, ya que numerosos estudios han encontrado y demostrado fuertes correlaciones negativas entre concentraciones de lignina y la digestibilidad del forraje (Reddy et al., 2005).

Con esa fuerte influencia sobre la digestibilidad del forraje, una pequeña disminución de la concentración de lignina en los forrajes, puede esperarse un incremento de la digestibilidad de la fibra en cualquier estado de madurez de las plantas (Undersander et al., 2009).

Predicciones realizadas por Casler (1987) estima que una sola unidad de disminución (g kg^{-1}) en la concentración de la (Lignina Acido Detergente) LAD del zacate bromo (*Bromus inermis* L.) se traduciría en un aumento de 7.0 unidades en la digestibilidad de la materia seca (DMS) *in vitro*. Estudios realizados en la alimentación y el pastoreo de animales han demostrado que los pequeños cambios en la digestibilidad del forraje pueden significar un considerablemente impacto el rendimiento y desempeño de los animales.

Las nuevas variedades de poblaciones de alfalfa que han reducido el contenido de lignina han mostrado un incremento en la DMS *in vitro*, y la digestibilidad ruminal *in situ*, y la DFDN *in vitro* (Reddy et al., 2005; Weakley et al., 2008; Undersander et al., 2009; Getachewet et al., 2011). Reddy et al. (2005) documentó una fuerte relación lineal negativa entre la digestibilidad *in situ* y los niveles de la LAD (Lignina del Acido Detergente) a través de todas las variedades

con reducida lignina. Además para aumentar la digestibilidad, la reducción de la lignina en las poblaciones de alfalfa también han demostrado reducir las concentraciones de FDN y mayores concentraciones de carbohidratos no fibrosos en comparación con variedades testigo (Reddy et al., 2005; Getachew et al., 2011; Li et al., 2015b), mientras que las concentraciones del nutriente PC (Proteína cruda) se mantuvieron en niveles similares para variedades reducidas en lignina y referencia con las alfalfas testigo (Getachew et al., 2011; Li et al., 2015a).

2.2 Uso Eficiente de los Nutrientes y digestibilidad en alfalfa

De acuerdo con Sheaffer y Undersander, (2015) la alfalfa es un importante cultivo forrajero que proporciona alimento para el ganado, así como algunos beneficios ambientales. El forraje de alfalfa es una buena fuente de proteína y fibra, pero su digestibilidad y la ingesta se han limitado por la baja digestibilidad de la pared celular. Las paredes celulares se componen aproximadamente el 40% y el 50% del forraje cosechado y están compuestas de celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, y proteínas. La digestibilidad de la pared celular es variable y está relacionado inversamente con la concentración de lignina. La lignina es un polímero fenólico indigestible ligado con celulosa, hemicelulosa y pectina en la pared celular. Constituye alrededor del 6-9% del peso seco de toda la planta de alfalfa y cerca del 20% de la pared celular (Hatfield et al., 2007).

Dentro de la planta, la lignina fortalece las paredes celulares que son los bloques de construcción estructurales para apoyar los tallos y las hojas. Las paredes de las células también actúan como el tubo del sistema vascular que transporta el agua y los nutrientes por toda la planta. Sin embargo, la estrecha asociación con la

lignina, celulosa y hemicelulosa en las paredes celulares de la alfalfa limita su degradación ruminal microbiana (Sheaffer y Undersander, 2015).

Desde hace mucho tiempo han existido esfuerzos para mejorar la calidad de forraje de alfalfa mediante el fitomejoramiento convencional, pero hasta ahora avances significativos en la mejora de la calidad de forraje no se ha hecho. Recientemente, tres empresas de cría de alfalfa anunciaron el desarrollo de variedades con menor contenido de lignina (Holin, 2014).

2.3 Lignina en alfalfa

De acuerdo con Putman et al., (2008), la lignina es una porción de la fibra neutro detergente (FDN) y la fibra detergente ácido (FDA) que es esencialmente indigestible. Sin embargo, a menudo la lignina bloquea la digestión de la celulosa y hemicelulosa las cuales están químicamente ligadas. La lignina puede contener de un 5-15% del heno de la materia seca en alfalfa. La lignina es un polímero formado de monolignoles derivados de la vía fenilpropanoi de de las plantas vasculares. Se deposita en las paredes celulares de las plantas como parte del proceso de maduración de la célula. En los forrajes, la lignina se considera como un componente anti-calidad por su impacto negativo en la disponibilidad nutricional de la fibra de la planta. La lignina interfiere con la digestión de los polisacáridos de la pared celular al actuar como barrera física para las enzimas microbianas. Por lo tanto, la lignificación tiene un impacto directo, y a menudo importante, en el valor de la energía digestible (ED) del forraje (Moore y Hans-Joachim, 2001).

Hay un número de factores relacionados con la planta que afectan la lignificación de las plantas individuales y de las comunidades vegetales. La lignificación está bajo control genético y hay considerables diferencias entre

especies, y aun entre genotipos de la misma especie, respecto a la concentración y composición de la lignina. Las diferencias genéticas de lignificación se expresan primeramente a nivel celular y son afectadas por las actividades bioquímicas y fisiológicas de la célula. Conforme la célula se diferencia ocurren diferencias en la lignificación, dependiendo de los tejidos y órganos que se estén desarrollando. La lignificación tiende a ser más intensa en tejidos estructurales como el xilema y esclerénquima. Los órganos de la planta que contienen altas proporciones de estos tejidos, tales como los tallos, son menos digestibles que aquellos que contienen bajas concentraciones (Moore y Hans-Joachim, 2001).

La lignina representa la porción altamente indigestible y está asociada con la fibra. Cuanto mayor sea el contenido lignina de una planta, expresado como un porcentaje de la FDN en una base materia seca, la digestibilidad del forraje será menor. El contenido de lignina de una planta aumenta a medida que la planta madura (Rasby et al., 2008).

La proporción de tejidos y órganos lignificados típicamente aumenta conforme la planta madura, por lo que a menudo hay una relación negativa entre la digestibilidad y madurez. Todos estos procesos de la planta responden a factores ambientales que pueden afectar la cantidad e impacto de la lignificación.

La temperatura, humedad del suelo, luz y fertilidad del suelo pueden tener también efectos directos o indirectos en la lignificación. Las prácticas de manejo más útiles para minimizarlos efectos negativos de la lignificación son la manipulación de las comunidades vegetales para que contengan más especies deseables y el manejo de la cosecha para mantener las plantas en estado vegetativo (Moore y Hans-Joachim, 2001).

Desde el año 1987 (García et al., 1987), reportaban una gran variabilidad de contenido de lignina en alfalfares ya que encontraron valores entre 3.72 y 15.30%, pero el 70% de las muestras reportó valores comprendidos entre 5.5 y 9.5% de lignina, considerados valores muy altos y que bajan el indicador de calidad en los alfalfares. Estudios reportados por SAGAR (2000), en alfalfas de la Comarca Lagunera los rangos de lignina en alfalfa verde fueron de 6.3, en heno 10.2 y en ensilado 7.3 por ciento. Ese mismo instituto reportó valores de lignina en alfalfas de variedades normales en cuanto a calidad nutritiva de 6.6 y variedades de alta calidad nutritiva de 6.1 por ciento. Por otro lado, Putman et al., (2008) reportan que la cantidad de lignina en el heno de alfalfa puede variar de 5 al 15 por ciento de la materia seca. Shewmaker et al., (2009), reportaron que los valores meta u objetivo en heno de alfalfa de rangos de entre 6.5 y 8.4 por ciento de lignina. Grev et al., (2017), mencionan en su estudio que la disminución del contenido de lignina en los cultivos de alfalfa permitirá incrementar el potencial del consumo por el ganado al incrementar su digestibilidad, teniendo como meta una disminución menor al (8%). El investigador Jaynes (2018), menciona que los rangos normales de lignina en alfalfa varían de 6.5 a 8.4 por ciento y que corresponden a un componente indigestible el cual incrementa a medida que la planta madura y al combinarse con altas temperaturas.

Resultados obtenidos por Treviño y Caballero (2011), sobre la composición químico-bromatológica y lignina (Cuadro 1) de diferentes cultivares de alfalfa muestran resultados correspondientes a las muestras recogidas durante el primer año del ensayo, las cuales no dieron lugar a diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los diversos cultivares.

Cuadro 1. Contenido de lignina de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).

CORTES	Aragón	Tierra de Campos	Europa	F.D. 100	Du Puits	Ranger
Año 1971						
1.º	10.7	9.6	12.2	10.1	11.9	11.3
2.º	8.8	9.5	11.1	10.6	10.5	11.5
3er.	10.0	9.3	9.0	9.5	8.3	9.8
MEDIA	9.8	9.5	10.8	10.1	10.2	10.8
Año 1972						
1.º	10.4	11.0	10.9	11.3	11.0	12.3
2.º	10.3	10.0	9.8	10.2	9.7	10.6
3er.	9.7	10.4	10.4	10.0	10.0	10.2
4.º	10.1	10.0	9.6	10.4	9.3	10.3
MEDIA	10.1	10.3	10.2	10.5	10.4	10.8

(*) Los valores con diferente letra exponencial difieren significativamente ($P < 0,05$).

Esos mismos investigadores reportaron que por lo que respecta a la celulosa y a la lignina, los porcentajes de estos constituyentes en los seis cultivares estudiados no mostraron variaciones significativas ($P < 0.05$) en ninguno de los dos años del ensayo. Los valores medios anuales estuvieron incluidos entre 24,1 % y 25,9 %, en 1971, y entre 26.0 % y 27,4 %, en 1972, para la celulosa, y entre 9,5 % y 10,8 % y 10.1 % y 10,8 %, respectivamente, para la lignina (Treviño y Caballero, 2011).

Parsi et al., (2001), reportaron valores de 11% de lignina en alfalfa, en las plantas jóvenes, el citoplasma compone una importante proporción de la materia seca (MS) siendo la pared celular (PC) menos importante. A medida que el forraje madura, diversos factores interactúan, disminuye el citoplasma aumentando los carbohidratos estructurales y la lignificación de los mismos. Esto se produce por un

aumento relativo de los tallos los cuales poseen más lignina que las hojas. La cantidad de lignina (L) es el factor más crítico que afecta a la digestibilidad (Dig.) encontrándose junto al sílice (Si) en cantidades variables en la PC, siendo la calidad afectada en forma primordial por la reducción de la Digestibilidad y la tasa de digestión, lo cual se refleja en un menor consumo voluntario (Parsi et al., 2001).

El haber evaluado estos forrajes de buena calidad, obedece a la necesidad de disponer de datos que cubran una amplia variedad de calidades, lo que permitirá formular conclusiones válidas respecto de la utilización digestiva de los alimentos en esta especie. Sin embargo, este mismo hecho dificulta las comparaciones con la literatura, que informa principalmente sobre forrajes de baja calidad, a juzgar por su composición química y, en otros casos, la calidad está definida por variables tales como el nivel proteico o niveles de fibra cruda (F.C.), sin considerar las paredes celulares y sus fracciones.

2.4 Extracto etéreo (EE) (Grasas) en alfalfa

El término extracto etéreo es utilizado para medir el contenido de grasa en un forraje (Undersander et al., 2011). De acuerdo con Putman et al., (2008), los lípidos o grasa cruda en alfalfa es material primario de la pared celular. El E.E. rara vez es evaluado en el heno de alfalfa debido a la baja presencia de triglicéridos y al solvente orgánico, ya que también se extrae clorofila, ceras, aceites volátiles y resinas, las cuales no contienen energía.

El contenido de grasa de las plantas de alfalfa es principalmente en la porción de la membrana celular de la célula y es normalmente bajo, con un promedio de 1.5% de la MS como extracto etéreo (EE) en el heno de alfalfa (Robinson et al., 2007; Putman et al., 2008). Sin embargo el E.E. rara vez se mide en heno de alfalfa

porque hay poca presencia de triglicéridos, y con el disolvente orgánico (por ejemplo, éter de petróleo o éter dietílico) también se miden extractos de clorofila, ceras, aceites volátiles y resinas, que no son contenido de energía (Robinson et al., 2007).

Resultados obtenidos por Treviño y Caballero (2011), sobre la composición químico-bromatológica y extracto etéreo (Grasa cruda) de diferentes cultivares de alfalfa muestran resultados correspondientes a las muestras recogidas durante el primer año del ensayo no dieron lugar a diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diversos cultivares. La proporción de extracto etéreo (Cuadro 2) fue, en todos los cultivares, más alta en el primero que en el segundo año del ensayo, oscilando los valores medios anuales de los cortes de 4,1 % (cultivar Tierra de Campos) a 4,6% (cultivar F.D. 100), en 1971, y de 3,8% (cultivar Europa) a 4,0% (cultivar F.D. 100), en 1972. Las diferencias no tuvieron diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 2. Contenido de extracto etéreo (Grasa cruda) de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).

CORTES	Aragón	Tierra de Campos	Europa	F.D. 100	Du Puits	Ranger
Año 1971						
1.º	4.1	4.3	4.1	4.2	4.8	4.3
2.º	4.4	3.9	3.9	3.9	4.1	4.1
3er.	4.1	4.2	4.9	4.8	4.9	4.5
MEDIA	4.2	4.1	4.3	4.3	4.6	4.3
Año 1972						
1.º	3.3	2.9	3.0	3.0	2.5	2.2
2.º	3.4	3.5	3.2	3.1	3.2	3.4
3er.	4.6	4.6	4.5	4.4	4.3	4.5
4.º	4.4	4.5	4.6	4.4	4.3	4.5
MEDIA	3.9	3.9	3.8	4.0	3.7	3.8

La FEDNA (2016) reporta una relación entre el contenido de extracto etéreo y el valor relativo del forraje para alfalfas de calidad excelente hasta de cuarta calidad, tal y como se puede observar en el cuadro 3.

Cuadro 3. Relación entre cinco categorías de calidad de alfalfa según su VRF y el aporte de extracto etéreo (FEDNA, 2016).

Calidad de alfalfa (VRF)	Extracto etéreo (Grasa cruda), %
Excelente (>151)	2.34
Primera (125-151)	2.11
Segunda (103-124)	2.00
Tercera (87-102)	1.86
Cuarta (75-86)	1.50

López et al., (1996), en un estudio sobre Digestibilidad aparente, extracto etéreo y lignina de forrajes secos por la alpaca (*Lama pacos*). I. Henos de alfalfa (*Medicago sativa*) de tres calidades y heno de quihuilla (*Chenopodium albus*) y consideran que el haber evaluado estos forrajes de buena calidad, obedece a la necesidad de disponer de datos que cubran una amplia variedad de calidades, lo que permitirá formular conclusiones válidas respecto de la utilización digestiva de los alimentos en esta especie.

Sin embargo, este mismo hecho dificulta las comparaciones con la literatura, que informa principalmente sobre forrajes de baja calidad, a juzgar por su composición química y, en otros casos, la calidad está definida por variables tales como el nivel proteico o niveles de fibra cruda (F.C.), sin considerar las paredes celulares y sus fracciones tal y como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. Análisis nutritivo de contenidos de Extracto Etéreo y Lignina en heno de alfalfa (*Medicago sativa*) de tres calidades y heno de quinhuilla (*Chenopodium album*) (López et al., 1996).

Nutrientes	Quinhuilla	Alfalfa C-1	Alfalfa C-3	Alfalfa C-4
Extracto etéreo, %	2.0 ± 0.2	3.4 ± 1.3	2.6 ± 0.3	2.6 ± 0.4
Lignina, %	6.6 ± 0.9	9.5 ± 0.7	10.1 ± 0.2	8.1 ± 0.1

El investigador Jaynes (2018), menciona que los rangos normales de extracto etéreo en alfalfa varían de 2.0 a 2.8 por ciento y que corresponde a un componente que incluye la grasa verdadera que contienen triglicéridos.

2.5 Digestibilidad en la alfalfa

El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y, por tanto, para la formulación de raciones para los animales rumiantes. Sin embargo, la determinación in vivo de la digestibilidad es un proceso laborioso y costoso, y que requiere el empleo de grandes cantidades de alimento, por lo que se han propuesto distintos métodos in vitro para su estimación (Bochi-Brum et al., 1999).

La digestibilidad de FDN se trata de una estimación de la proporción de los FDN digerida por los microbios del rumen durante un periodo de tiempo determinado (p. ej. 30 horas). Actualmente, los laboratorios podrán informar la digestibilidad de FDN en momentos diferentes, pero los más comunes son tiempos en 30 ó 48 horas. Cuanto mayor sea la digestibilidad de la FDN, mayor será el consumo de forraje y, en el caso de las vacas lecheras, existe además un efecto positivo en la producción. A medida que la lignina aumenta la NDFD disminuye (Rasby et al., 2008). El investigador Jaynes (2018), menciona que los rangos normales de digestibilidad in vitro a las 30 horas en alfalfa varían de 70 a 80 por ciento y que corresponde a la

obtención de un componente que simula la digestión del rumen en pruebas conducidas en laboratorio bajo una fermentación anaeróbica.

De acuerdo con García et al., (1987), valores de digestibilidad de 54.36 y 58.35% conducen a valores de digestibilidad relativamente bajos, sin embargo, el 70% de las muestras de los alfalfares reportaron valores comprendidos entre 53 y 63% de digestibilidad y solo el 15% de las muestras muestran valores superiores a los 63% de digestibilidad.

Parsi et al., (2001), reportaron valores de 54.05-65.13% % de digestibilidad en alfalfa cortada en 4 estados de madurez; pre-yema floral, yema floral, 1/10 de floración y Media floración, tal y como se muestra en el cuadro 5.

Cuadro 5. Producción de materia seca, energía metabolizable, proteína digestible y digestibilidad de alfalfa en cuatro estados de madurez (Parsi et al., 2001).

Variable	Pre-yema floral	Yema floral	1/10 floración	Media floración
MS (Kg/ha)	13.26	16.43	19.13	19.26
EM (Mcal/kg MS)	2.35	2.15	2.04	1.95
PD (%)	21.04	17.74	15.01	13.33
Digestibilidad, %	65.13	59.59	56.54	54.05

La etapa de madurez en la cosecha es el factor más importante para determinar la calidad del forraje de una especie determinada. La calidad del forraje de alfalfa disminuye conforme avance de la madurez del mismo. La digestibilidad del forraje las 2 o 3 primeras semanas de edad es superior al 80%. Esta disminuye en 0.5% por día hasta alcanzar un nivel por debajo del 50% (Orloff y Putnam, 2008)

De acuerdo con estudios realizados por Montoya (2011), concluye que el contenido de nutrientes del forraje de alfalfa producido en el Valle de Mexicali es muy variable y depende principalmente de la época del año en que se produce. En

los meses más cálidos la madurez se alcanza rápidamente y la calidad del forraje descende de forma más apresurada. La calidad y la producción de MS son inversamente proporcionales

Resultados obtenidos por Treviño y Caballero (2011), sobre la composición químico-bromatológica y digestibilidad de diferentes cultivares de alfalfa muestran resultados correspondientes a las muestras recogidas durante el primer año del ensayo no dieron lugar a diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los diversos cultivares. (Cuadro 6).

Cuadro 6. Digestibilidad de la materia seca (%) de diferentes cultivares de alfalfa (Treviño y Caballero, 2011).

CORTES	Aragón	Tierra de Campos	Europa	F.D. 100	Du Puits	Ranger
Año 1971						
1.º	59,9	61,5	57,3	61,3	57,7	58,3
2º	63,6	61,6	61,3	59,4	62,3	60,2
3er.	62,3	63,2	62,9	62,2	65,6	61,3
MEDIA	61,9	62,1	60,5	61,0	61,9	60,0
Año 1972						
1.º	59,7	58,7	58,1	58,0	58,3	54,7
2º	61,0	61,6	61,3	61,1	62,4	60,6
3er.	61,0	60,0	60,0	61,2	60,5	60,1
4º.	58,7	59,9	62,3	60,4	62,8	59,9
MEDIA	60,1 ab	60,1 ab	60,4ab	60,2ab	61,0«	58,8b

(*) Los valores con diferente letra exponencial difieren significativamente ($P < 0,05$).

Los valores medios anuales de los cortes estuvieron incluidos entre 59,9 % (cultivar Ranger) y 62,1 % (cultivar Tierra de Campos). En el segundo año dichos valores variaron desde 58,8 % (cultivar Ranger) a 61,0 % (cultivar du Puits), si bien

únicamente la diferencia entre estos dos porcentajes extremos fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$), puesto que los restantes cultivares dieron cifras de digestibilidad muy similares entre sí y a la del cultivar du Puits tal y como se puede observar en el cuadro 6.

En un estudio realizado por Bochi-Brum et al., (1999), documentaron valores de lignina y digestibilidad de la materia seca en dos tipos de alfalfa tal y como se muestra en el cuadro 7.

Cuadro 7. Composición química (g/kg materia seca (MS) de los substratos empleados en las incubaciones *in vitro* y digestibilidad *in vivo* de la materia seca (DMS; p.100) de dos tipos henos de alfalfa (Bochi-Brum et al., 1999).

Henos	Lignina, %	Digestibilidad de la materia seca, %
Alfalfa I	80	66.8
Alfalfa II	85	60.4
Gramíneas-leguminosas	88	62.6

Estudios reportados por SAGAR (2000), en alfalfas de la Comarca Lagunera los rangos de digestibilidad *in vitro* en verde fueron de 79.5, en heno 71.7 y en ensilado 74.1%. Ese mismo instituto reportó valores de digestibilidad en alfalfas de variedades normales en cuanto a calidad nutritiva de 79.6 y variedades de alta calidad nutritiva de 82.8 por ciento. Shewmaker et al., (2009), reportaron que los valores meta u objetivo en heno de alfalfa de digestibilidad de rangos de entre 70-80 por ciento a las 30 hr y de 75-83 por ciento a las 48 hr. Bani el tal., (2007) reportaron rangos de digestibilidad en cinco cultivares de alfalfa de 77.60 a 79.18 por ciento. En otro estudio Tremblay et al., (2002), documentaron digestibilidades promedio de toda la prueba en tallos y hojas de alfalfa con el NIRS, de (tallos) 45-67 % y en hojas de 67-86 por ciento de digestibilidad.

El forraje juega un papel fundamental en la alimentación de rumiantes, lo cual representa un aspecto relevante y a veces, el único componente de la dieta y la variación en su calidad tiene efectos directos sobre la funcionalidad digestiva, suplementación de concentrado, producción de leche y salud del animal. Los principales factores que influyen en la calidad del forraje son el tipo de especies forrajeras, etapa de madurez en la cosecha y, finalmente, la cosecha y las condiciones de almacenamiento, mientras que los parámetros medioambientales son generalmente considerados de importancia secundaria (Van Soest, 1994; Buxton y Fales, 1994). En el empeoramiento de la calidad de las leguminosas es principalmente atribuible a los tallos, mientras que los cambios en la calidad de las hojas son menos relevantes, y la calidad de forraje está principalmente relacionado a la calidad de su follaje (Van Soest, 1994). La temperatura puede modificar la morfología de la planta y forrajes crecidos a temperatura superior al óptimo, según se informa, crecen de forma más pequeñas y con tallos delgados pero además tienden lignificarse más (Buxton y Fales, 1994). Las principales variaciones en la digestibilidad del forraje son atribuibles a cambios en la digestibilidad de la fibra y de la NRC (2001) La ecuación para el cálculo de energía forraje sugiere evaluar NDF digestibilidad in vitro o procedimiento de ADL contenido. La variación genética entre cultivares para la digestibilidad de la fibra contenido ha sido informado, así como una relación negativa entre la digestibilidad y el rendimiento de forraje (Julier y Huyghe, 1997).

De acuerdo con investigadores como Hernández-Herrera et al., (2013), las macroalgas y algas son productos que han sido utilizados en todo el mundo para aumentar el crecimiento de la planta y rendimiento. La agricultura moderna en la

búsqueda de nuevas biotecnologías que permitirían una reducción en el uso de insumos químicos sin afectar negativamente el rendimiento de las cosechas o los ingresos de los agricultores. En los últimos años, la utilización de las algas marinas como fertilizante natural ha permitido en parte la sustitución parcial de los fertilizantes sintéticos convencionales (Khan et al. 2009; Zodape et al.2011).

Estos productos están disponibles para el uso en la agricultura y la horticultura, sin embargo, su empleo en cultivos forrajeros es nulo o muy limitados, razón por la cual, que el presente trabajo de observación tiende a investigar el efecto de dichos extractos sobre el impacto sobre los macro-nutrientes en el tejido foliar de la alfalfa de segundo año de verano y sobre el impacto de macro-nutrientes en el suelo, en la Comarca Lagunera.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La Comarca Lagunera está ubicada en el centro norte de México, esta conformada por 15 municipios, 10 de ellos en el estado de Durango y 5 del estado de Coahuila. Debe su nombre a las anteriores existentes trece lagunas en el área, entre las que se encontraban la “La Laguna de Mayran”, siendo la más grande reportada en América Latina y que era alimentada por agua de los ríos Nazas y Aguanaval (Cervantes y Franco, sin fecha).

La Comarca Lagunera, presenta un clima árido-semiárido, con fuertes variaciones estacionales y precipitaciones pluviales escasas, concentrándose en los meses de julio, agosto y septiembre; variando desde los 220 mm anuales en la parte baja de la cuenca, donde se ubica la mayor parte de la zona agrícola, hasta los 600 mm, en la parte alta de la cuenca en la Sierra Madre occidental.

El potencial de aguas subterráneas se constituye por 10 acuíferos, de los cuales 8 se localizan en la parte central de la Comarca lagunera y dos en la zona de Parras. Los suelos son grandes extensiones de terrenos planos, suelos calcáreos, de origen sedimentario, con endurecimiento en la capa superficial, debido al régimen climático, con afloramiento de sales, de diversos tipos de matorrales, suelos amarillos, blancos y de forma contrastante. Sus suelos aridisoles que cuentan con amplia gama de órdenes, sobre los cuales se practica una gran actividad ganadera y agricultura de riego muy especializada, lo que permite el desarrollo de grandes empresas y parques industriales. Lo anterior sitúa a la Comarca Lagunera como una de las zonas agrícolas más importantes de las cuencas centrales del norte (Cervantes y Franco, sin fecha).

La agricultura de riego cubre aproximadamente el 15% de la superficie, alrededor de unas 115 mil hectáreas, de las cuales el 15% se consideran clase I destinada a los cultivos de alfalfa, nogal, algodón, frijol, maíz y sorgo forrajeros y hortalizas (Cervantes y Franco, sin fecha).

3.1 Ubicación del ensayo

El lote de terreno localizado para el presente trabajo de observación fue en el predio de la unidad de producción del Grupo Tricio Haro, en la pequeña propiedad conocida como las “Tablas de Frías”, aproximadamente a 2.5 km de la carretera entre el Ejido Granada hacia el Ejido Solís, contándose con un lote total de terreno de 52 hectáreas, con un sistema de riego conocido como válvulas alfalferas, lo cual permite la irrigación en cuatro tablas en la misma salida, partiendo de la válvula de salida del agua de 12 pulgadas de diámetro, asegurando el riego en una superficie aproximada de una hectárea, la superficie del ensayo fue de total 20 ha, distribuidas en 10 ha tratadas con ECAN y 10 ha utilizadas como testigo con la fertilización del productor (Figura 1).

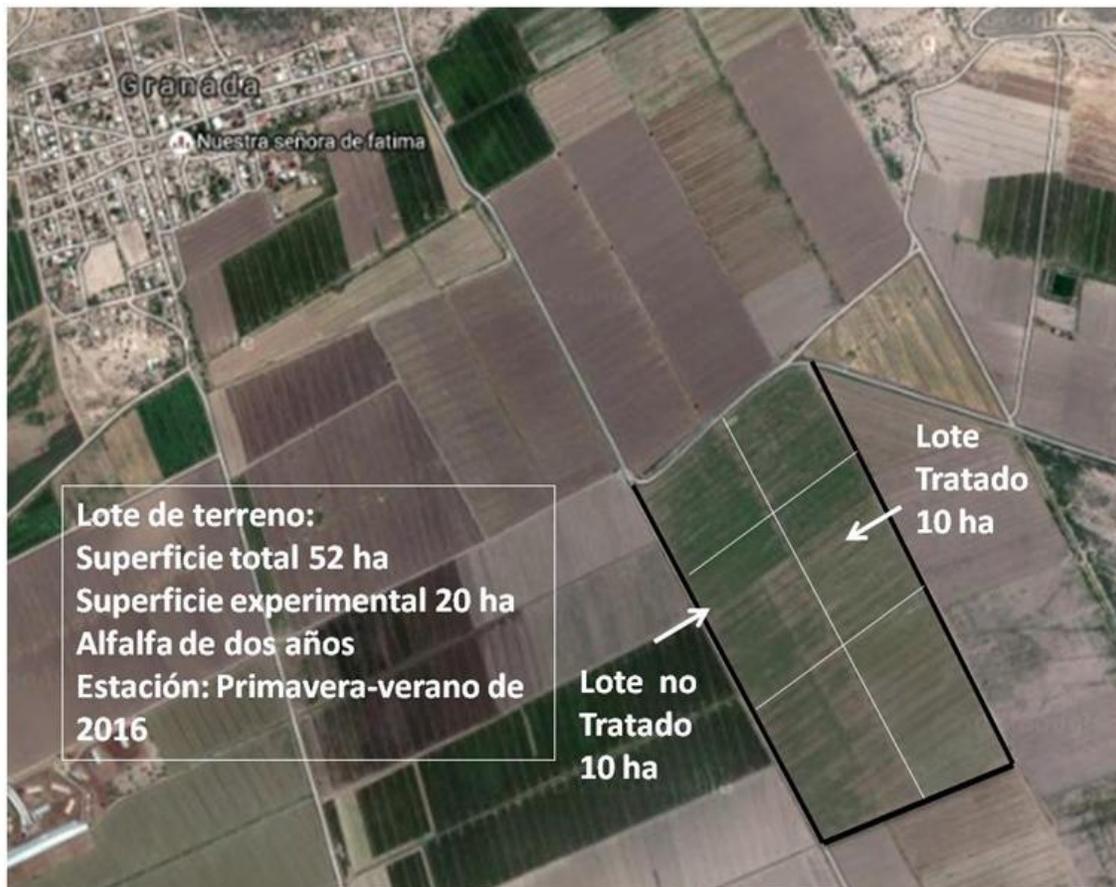


Figura 1. Localización del lote de terreno de 52 hectáreas a 2.5 km de la carretera Ejido Granada a Ejido Solís, utilizado para la evaluación de ECAN en alfalfa de segundo año en el ciclo de primavera del año 2016.

3.2 Materiales

Acadian™ se deriva exclusivamente de *Ascophyllum nodosum*, las especies de algas más investigados para su uso en la agricultura. Con el respaldo de décadas de ensayos de campo, Acadian™ ha demostrado estimular el crecimiento de las raíces, reducir los efectos negativos del estrés, y aumentar el rendimiento y calidad, para un cultivo más sano desde la siembra hasta la cosecha. Acadian™ - Ayudando nuestro mundo a crecer con plantas más saludables (Figura 2).

3.3 Métodos utilizados en el ensayo

Se realizó un muestreo en el lote experimental en un lote de terreno de aproximadamente 20 ha, 10 establecidas con el producto y 10 ha como testigo, se obtuvieron muestras representativas de suelo ($n=6$) en cada lote y se levantaron además las muestras de forraje de la alfalfa en la primavera (Figura 3).



Figura 3. Panorama general del lote del ensayo del cultivar de alfalfa establecido en diciembre de 2014, contándose con una superficie de 20 hectáreas, 10 del lote tratado y 10 el lote testigo, durante el ciclo de primavera del año 2016.

3.3.1 Aplicación del producto (ECAN) en campo

La aplicación del producto ECAN se dosificó a razón de 1.0 Lt/ha. Para la aplicación del producto en el campo, este se dividió en tablas o melgas de las mismas dimensiones en cuanto largo y ancho (30 m x 300 m) haciendo un total de 9000 m² el área de la tabla. Al momento de cada riego se realizó la preparación en campo al diluir 900 ml del producto ECAN en un recipiente de 20 lts para aplicar en cada tabla, distribuyendo el producto de manera uniforme cada 15 minutos en la

salida del agua de la válvula del sistema de riego, en algunos riegos de tuvo el apoyo de un dosificador, tal y como se muestra en las figura 4.



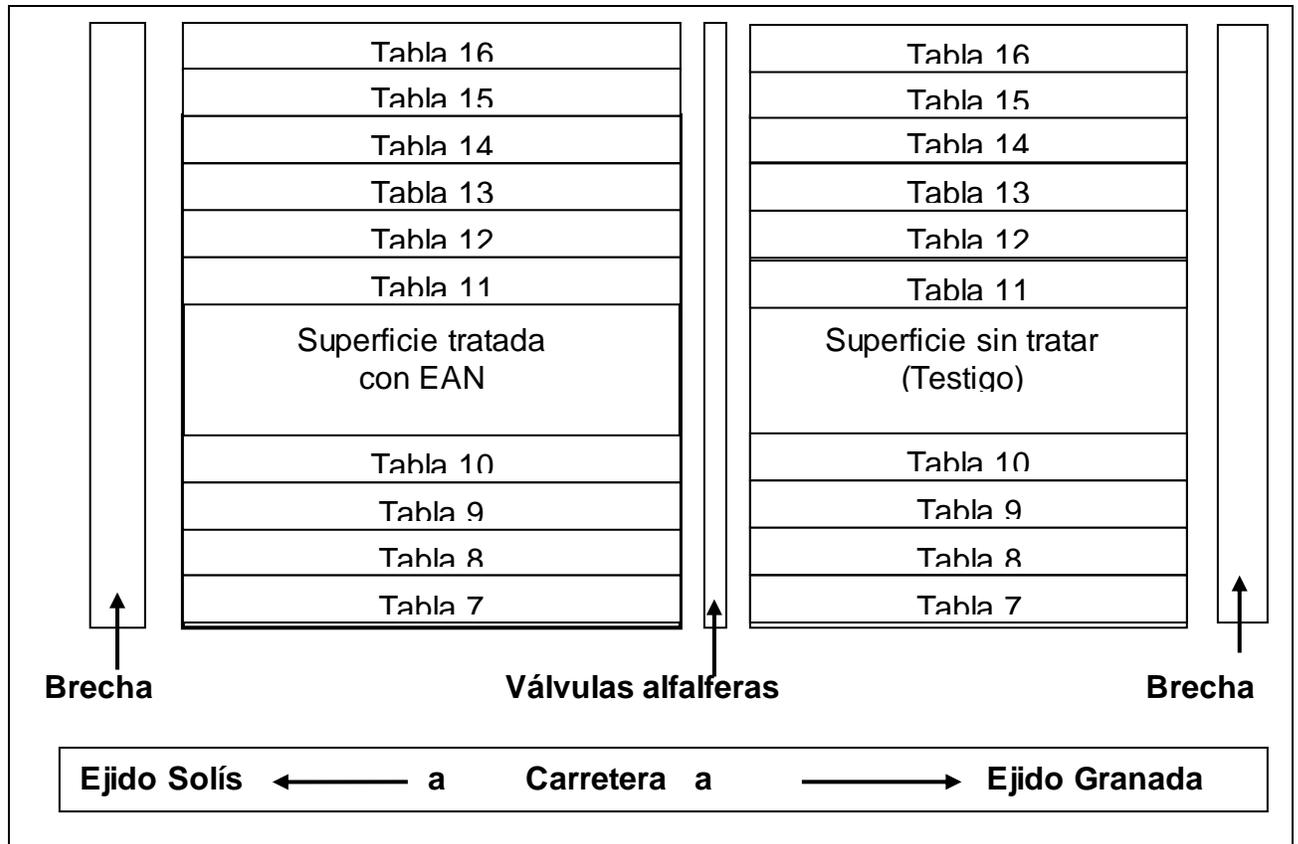
Figura 4. Aplicación del producto en la corriente de agua de la tabla para una mejor distribución del producto, la coloración oscura-café, representa el producto en el agua de riego, al momento de su aplicación en la tabla de alfalfa.

El producto se aplicó al centro del lote desde la tabla 7 a la 16 en el centro de las 10 hectáreas (T₁) y 10 ha como lote testigo, (Figura 5) con el objetivo de evitar los efectos de orilla, tanto en el lote tratado como en el lote testigo, recibieron las mismas prácticas de manejo por parte del productor, en lo que se refiere a control de maleza, plagas y enfermedades.



Figura 5. Momento de la aplicación del producto en la corriente de agua de la tabla para una mejor distribución del producto, la coloración oscura-café, representa el producto en el agua de riego.

3.3.2 Croquis del ensayo en el campo



3.3.3 Tratamientos del ensayo

En el ensayo se realizaron dos tratamientos: (T₁= Lote con aplicación del producto ECAN y T₂= Testigo con fertilización comercial regional) con 6 repeticiones (6 muestras de cada lote). Para la distribución y aplicación del producto se realizó de la siguiente manera:

Tratamiento	Dosis de producto/ha	Momento de la aplicación
1. Testigo regional del productor	0.0	
2. Acadian suelo aplicado al momento del riego después de cada corte (etapa enero y julio) Número de riegos estimado 5 y 5 aplicaciones.	1.0 l/ha	Disolución del producto (1.0 lt) en una cubeta de 20 lts, para dosificarlo a la superficie de cada tabla de alfalfa, para posteriormente colocarlo al momento del riego en la válvula de la salida del agua.

3.3.4 Parámetros a observar

1. Toma de fotografías al lote de terreno antes de cada aplicación de producto y posteriormente durante la estación de crecimiento activo del cultivo al momento del corte.
2. En caso de detectar alguna enfermedad o plaga en el lote, se obtendrá la tasa y severidad muestreando cada planta (10 muestras por repetición y tratamiento)
2. Observar el efecto de los ECAN sobre el contenido de lignina (Lig, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo la primavera.
3. Observar el efecto de los ECAN sobre la digestibilidad (Dig, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo la primavera.

4. Observar el efecto de los ECAN sobre el porcentaje de extracto etéreo (EE, %) en la alfalfa de dos años durante el ciclo de primavera.
5. Observar el efecto de los ECAN sobre el contenido de digestibilidad de la FDN a las 30 hr en la alfalfa de dos años durante la primavera.

3.4 Estadística descriptiva en el ensayo

Para la interpretación de los resultados se utilizó la estadística descriptiva del paquete del programa Excel 2016, obteniendo medias, error estándar, desviación estándar y rangos de valores mínimos y máximos en los dos tratamientos que fueron; (T₁= Lote con aplicación del producto ECAN y T₂= Testigo regional) con 5 repeticiones (cinco de cada lote) (n= 10).

3.5. Colecta de muestras de forraje

Para la evaluación y colecta del tejido foliar de la planta se tomaron muestras representativas de cada lote al momento del corte del productor, por lo que se observó que el lote tratado con el producto generalmente observó un estado fenológico más avanzado en cuanto al por ciento de floración se refiere, en comparación con el lote testigo (normalmente presentó menos floración entre 15-20%), seleccionando las plantas al azar al centro de la tabla y cortando la parte aérea de la planta a ras del suelo, para posteriormente colocarlo en una bolsa de plástico previamente etiquetada, para enviarla para su traslado al laboratorio en un tiempo menor a las dos horas después de la colecta (Figura 6).

En la figura 6, se puede observar el cultivo de la alfalfa después del corte por el productor, teniendo que esperar de 10 a 12 días después del corte, para que el productor levantara los bordos de cada tabla y poder realizar el riego para poder realizar la próxima aplicación del producto (Figura 7).



Figura 6. Metodología utilizada para la colecta de las muestras de alfalfa para su posterior análisis en el laboratorio, cortando a ras del suelo con unas tijeras de podar, en la alfalfa del ciclo de primavera del año 2016.



Figura 7. Panorama general del lote de alfalfa después del corte por parte del productor, preparado el cultivar para el próximo riego, en la alfalfa de dos años del ciclo de primavera del año 2016.

Los análisis del forraje se realizaron en el Laboratorio certificado Agrolab de México S.A de C.V. en la ciudad de Gómez Palacio Durango, utilizando la técnica de análisis de alimentos de forrajes conocida como NIRS (por sus siglas en Ingles) Near Infrared Reflectance Spectroscopy y en español conocido como el análisis el método de espectroscopia en el infrarrojo cercano.

Cabe mencionar que el NIRS en los resultados de sus salidas proporciona en su composición los valores de materia seca, proteína cruda con sus variantes, la fibra detergente neutra y ácida y sus variantes los carbohidratos no fibrosos, TND, energías netas de lactación, ganancia de peso, mantenimiento y metabolizable así como el porcentaje de lignina, % de MS y lignina, % de FDN, digestibilidad in vitro 30 horas, digestibilidad de la FDN, 30 horas, almidón, grasa cruda entre muchos otros.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del contenido de lignina, %

De acuerdo a los resultados obtenidos por el análisis de varianza en lo que el contenido de lignina se refiere, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$), observando valores muy similares entre los tratamientos por lo que no existió efecto de la aplicación del ECAN, en alfalfa de dos años, siendo las medias de los tratamientos similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 7.73 ± 0.57 y el lote testigo de 6.78 ± 0.39 %, tanto el error estándar, como la desviación estándar y los rangos máximos y mínimos, así como el rango óptimo se pueden observar en el cuadro 8.

Cuadro 8. Resultados del análisis del contenido de lignina (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.

Variable, Lignina, % MS	Fecha de muestreo	T ₁ %	T ₂ %	Rango óptimo (Van Soest, 1992)
No. de muestra				
1	18-feb-16	7.30	5.10	
2	22-mar-16	6.30	6.50	
3	29-abr-16	8.20	7.00	
4	23-may-16	7.00	7.00	
5	21-jun-16	10.30	8.00	
6	08-ago-16	7.30	7.10	
\bar{X}		7.73	6.78	7.0-7.5
EE		0.57	0.39	
Desv St		1.39	0.95	
Rangos (Min y Max)		6.3-10.3	5.1-8.0	
DMS (0.05)		ns	ns	

(\bar{X})= Media de los tratamientos, (EE)= Error estándar, (Desv St) Desviación estándar, (Min)= Mínimo, (Max)= Máximo. Medias con diferente letra dentro de las columnas son diferentes estadísticamente (DMS_{0.05}). ns =no significativa.

Al analizar los datos reportados en el lote tratado para cada corte, se puede observar que en el corte 5 del mes de junio se obtuvo el mayor valor con 10.30, seguido del mes de abril, sin embargo, el corte 2 del mes de marzo fue el reportó el valor más bajo con 6.30, es decir de mejor calidad. Respecto al lote testigo se observó una mayor consistencia en los valores obtenidos, el corte más sobresaliente fue el corte 1 el mes de febrero con 5.10, de mejor calidad y siendo el corte 5 del mes de junio el que aportó el valor más alto con 8.0 por ciento, es decir de menor calidad. Este valor, mientras más elevado sea, es de menor calidad y valores inferiores se consideran de mejor calidad, debido a que la lignina es un compuesto no digestible.

Lo que se observó en campo al momento del corte de productor, fue que normalmente el lote tratado se encontraba en un mayor estado avanzado de madurez en comparación con el lote testigo, es decir, que el producto tuvo efecto sobre un crecimiento y desarrollo de floración más temprano en el lote tratado y más tardío en el testigo (65% de floración vs 25% de floración), por lo que el testigo se cortó en un estado fenológico menos avanzado y por eso reportó menor contenido de lignina, consistente con lo expuesto por Parsi et al., (2001) que a medida que el forraje madura, diversos factores interactúan, disminuye el citoplasma aumentando los carbohidratos estructurales y la lignificación de los mismos.

Estudios realizados por Paulson et al., (2008), en Dairyland Laboratories in Arcadia, WI, reportaron valores de lignina en alfalfa de 7.3-8.1 % de la MS, similares a los obtenidos en este estudio. Shewmaker et al., (2009), reportaron que los valores meta u objetivo en heno de alfalfa de rangos de entre 6.5 y 8.4 por ciento de lignina. Grev et al., (2017), mencionan en su estudio que la disminución del contenido de

lignina en los cultivos de alfalfa permitirá incrementar el potencial del consumo por el ganado al incrementar su digestibilidad, teniendo como meta una disminución menor al (8%). El investigador Jaynes (2018), menciona que los rangos normales de lignina en alfalfa varían de 6.5 a 8.4 por ciento.

Treviño y caballero (2011), reportaron valores entre 9,5 % y 10,8 % y 10.1 % y 10,8 %, en cuatro respectivamente, para el contenido de lignina, valores superiores a los encontrados en esta investigación.

Estudios reportados por SAGAR (2000), en alfalfas de la Comarca Lagunera los rangos de lignina en alfalfa verde fueron de 6.3, en heno 10.2 y en ensilado 7.3 por ciento. Ese mismo instituto reportó valores de lignina en alfalfas de variedades normales de 6.6 y variedades de alta calidad nutritiva de 6.1 por ciento. Por otro lado, Putman et al., (2008) reportan que la cantidad de lignina en el heno de alfalfa puede variar de 5 al 15 por ciento de la materia seca.

4.2 Resultados del contenido de lignina, % de FDN

Los resultados obtenidos por el análisis de varianza en lo que el contenido de lignina en por ciento de la FDN se refiere, no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), observando valores muy similares entre los tratamientos por lo que no existió efecto de la aplicación del ECAN, en alfalfa de primavera de dos años, siendo las medias de los tratamientos similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 26.32 ± 0.88 y el lote testigo de 21.70 ± 1.16 %, tanto el error estándar, como la desviación estándar y los rangos máximos y mínimos, así como el rango óptimo se pueden observar en el cuadro 9.

Cuadro 9. Resultados del análisis del contenido de lignina de la FDN (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.

Variable, Lig FDN, % MS	Fecha de muestreo	T ₁ %	T ₂ %	Rango óptimo (Cherney et al., 2004)
No. de muestra				
1	18-feb-16	27.10	18.90	
2	22-mar-16	29.40	20.70	
3	29-abr-16	24.20	18.40	
4	23-may-16	24.20	22.40	
5	21-jun-16	25.00	25.10	
6	08-ago-16	28.00	24.70	
\bar{X}		26.32	21.70	27.0-27.8
EE		0.88	1.16	
Desv St		2.17	2.85	
Rangos (Min y Max)		24.2-29.4	18.4-25.1	
DMS (0.05)		ns	ns	

(\bar{X})= Media de los tratamientos, (EE)= Error estándar, (Desv St) Desviación estándar, (Min)= Mínimo, (Max)= Máximo. Medias con diferente letra dentro de las columnas son diferentes estadísticamente (DMS_{0.05}). ns =no significativa.

Investigadores como Cherney et al., (2004) reportaron en su estudio que los rangos del contenido de lignina de la FDN (%) varían de 27.0-27.8 %, valores ligeramente inferiores a los obtenidos en el lote tratado, sin embargo, en el testigo si se observó una drástica disminución, ya que la determinación de este componente se relaciona con el consumo de forraje.

Lo observado en campo al momento de los cortes al analizar los datos obtenidos en el lote tratado, se puede observar que en el corte 2 del mes de marzo se obtuvo el mayor valor con 29.40 %, seguido del mes de agosto, sin embargo, los cortes 3 y 4 de los meses de abril y mayo reportaron el valor más bajo con 24.20 %, es decir de mejor calidad. Respecto al lote testigo se observó una menor consistencia en los valores obtenidos, el corte más sobresaliente fue el corte 5 del mes de junio con 25.10, de mejor calidad y siendo los cortes 1 y 3 de los meses de

febrero y abril los que aportaron el valor más bajo con 18.40 y 18.90 por ciento, es decir de menor calidad.

4.3 Resultados del contenido de digestibilidad *in vitro* (%)

Los resultados obtenidos por el análisis de varianza en lo que el contenido de digestibilidad *in vitro* (%) se refiere, no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), observando valores muy similares entre los tratamientos por lo que no existió efecto de la aplicación del ECAN, en alfalfa de primavera de dos años, siendo las medias de los tratamientos similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 84.17 ± 4.44 y el lote testigo de 84.50 ± 1.87 por ciento, tanto el error estándar, como la desviación estándar y los rangos máximos y mínimos, así como el rango óptimo se pueden observar en el cuadro 10.

Cuadro 10. Resultados del análisis del contenido de digestibilidad *in vitro* (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.

Variable, Dig in vitro, %	Fecha de muestreo	T ₁ %	T ₂ %	Rango óptimo (Shewmaker et al., 2009)
No. de muestra				
1	18-feb-16	85.00	86.00	
2	22-mar-16	85.00	89.00	
3	29-abr-16	84.00	82.00	
4	23-may-16	90.00	89.00	
5	21-jun-16	80.00	84.00	
6	08-ago-16	81.00	77.00	
\bar{X}		84.17	84.50	70.0-80.0
EE		1.44	1.87	
Desv St		3.54	4.59	
Rangos (Min y Max)		80-90	77-89	
DMS (0.05)		ns	ns	

(\bar{X})= Media de los tratamientos, (EE)= Error estándar, (Desv St) Desviación estándar, (Min)= Mínimo, (Max)= Máximo. Medias con diferente letra dentro de las columnas son diferentes estadísticamente ($DMS_{0.05}$). ns =no significativa.

Cabe mencionar que de acuerdo a los valores obtenidos en este estudio, se consideran alfalfa de primerísima calidad, es decir, “Premium” ya que su digestibilidad es muy elevada, sobrepasando el rango óptimo deseado reportado por investigadores como Shewmaker et al., (2009). La digestibilidad del forraje de alfalfa entre las 2 o 3 primeras semanas de edad es superior al 80%. Esta disminuye en 0.5% por día hasta alcanzar un nivel por debajo del 50% (Orloff y Putnam, 2008). Por otro lado, Bochi-Brum et al., (1999), documentaron valores de digestibilidad de la materia seca en dos tipos de alfalfa reportando 60.4 y 66.8 por ciento, en alfalfa de primera y segunda calidad.

Estudios reportados por SAGAR (2000), en alfalfas de la Comarca Lagunera los rangos de digestibilidad *in vitro* en verde fueron de 79.5, en heno 71.7 y en ensilado 74.1 por ciento. Ese mismo instituto reportó valores de digestibilidad en alfalfas de variedades normales de 79.6 por ciento y variedades de alta calidad nutritiva de 82.8 por ciento, valores similares a los documentados en el presente estudio. Shewmaker et al., (2009), reportaron que los valores meta u objetivo en heno de alfalfa de digestibilidad de rangos de entre 70-80 por ciento a las 30 hr y de 75-83 por ciento a las 48 hr. Bani el tal., (2007) obtuvieron rangos de digestibilidad en cinco cultivares de alfalfa de 77.60 a 79.18 por ciento. En otro estudio Tremblay et al., (2002), documentaron digestibilidades promedio de toda la prueba en tallos y hojas de alfalfa con el análisis de forrajes NIRS, de (tallos) 45-67 % y en hojas de 67-86 por ciento de digestibilidad.

Paulson et al., (2008), en estudios realizado en Dairyland Laboratories in Arcadia, WI, reportaron valores de digestibilidad *in vitro* en alfalfa de entre 77.0-81.2 % de la MS, valores similares a los obtenidos en este trabajo.

4.4 Resultados del contenido de extracto etéreo (%)

Los resultados obtenidos por el análisis de varianza en lo que el contenido de extracto etéreo (%) se refiere, no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), observando valores muy similares entre los tratamientos por lo que no existió efecto de la aplicación del ECAN, en alfalfa de primavera de dos años, siendo las medias de los tratamientos similares estadísticamente, reportando una media del lote tratado de 2.06 ± 0.37 y el lote testigo de 2.05 ± 0.29 por ciento, tanto el error estándar, como la desviación estándar y los rangos máximos y mínimos, así como el rango óptimo se pueden observar en el cuadro 11.

Cuadro 11. Resultados del análisis del contenido del extracto etéreo (%) del forraje de alfalfa de dos años tratado con ECAN vs Testigo comercial en la Comarca Lagunera, en ciclo de primavera el año 2016.

Variable, E.E., % No. de muestra	Fecha de muestreo	T ₁ %	T ₂ %	Rango óptimo (Jaynes, 2018)
1	18-feb-16	3.60	3.20	
2	22-mar-16	1.60	1.90	
3	29-abr-16	1.60	1.10	
4	23-may-16	2.00	1.90	
5	21-jun-16	1.00	1.70	
6	08-ago-16	2.53	2.50	
\bar{X}		2.06	2.05	2.0 a 2.8
EE		0.37	0.29	
Desv St		0.91	0.72	
Rangos (Min y Max)		1-3.6	1.1-3.2	
DMS (0.05)		ns	ns	

(X)= Media de los tratamientos, (E.E.) = Extracto etéreo, (EE)= Error estándar, (Desv St) Desviación estándar, (Min)= Mínimo, (Max)= Máximo. Medias con diferente letra dentro de las columnas son diferentes estadísticamente ($DMS_{0.05}$). ns =no significativa.

Paulson et al., (2008), reportan en un estudio realizado en Dairyland Laboratories in Arcadia, WI, valores de extracto etéreo (grasa) en alfalfa de 2.5-3.3

% de la MS, valores ligeramente mayores a los encontrados en este estudio. Sin embargo el investigador Jaynes (2018), en otro estudio menciona que los rangos normales de extracto etéreo en alfalfa varían de 2.0 a 2.8 por ciento, dentro de los rangos obtenidos en esta investigación. López et al., (1996) en henos de alfalfa de tres calidad encontraron rangos de C-1 de 3.4, C-2 de 2.6 y de C-4 de 2.6 por ciento de E.E. La FEDNA (2016) reporto una relación entre el contenido de extracto etéreo y el valor relativo del forraje para alfalfas de calidad excelente, siendo la de calidad excelente de 2.34 por ciento y en la de cuarta calidad (75-86 de VRF) con solo 1.50 por ciento de E.E.

Resultados obtenidos por Treviño y Caballero (2011), sobre la composición químico-bromatológica y extracto etéreo (Grasa cruda) de diferentes cultivares de alfalfa mostraron resultados que indican que la proporción de extracto etéreo en todos los cultivares, fue más alta en el primero que en el segundo año del ensayo, oscilando los valores medios anuales de los cortes de 4.1 % (cultivar Tierra de Campos) a 4.6% (cultivar F.D. 100), en 1971, y de 3.8% (cultivar Europa) a 4.0% (cultivar F.D. 100), valores más altos a los obtenidos en el presente estudio.

Otros investigadores como Chase y Cherney (2012), reportan grasa, % en alfalfa en promedio de 3.73, mientras que en alfalfas normales rangos de 2.95-4.51, valores un poco superiores a los encontrados en este trabajo.

6. CONCLUSIÓN

Después de llevar a cabo el análisis de la información obtenida de los resultados de este trabajo de observación y una vez llevados a cabo los análisis descriptivos y de observación correspondientes se puede concluir lo siguiente:

1).- No se encontraron evidencias de que con la aplicación del ECAN, se puede incrementar la digestibilidad y disminuir el contenido de componentes de las paredes celulares de las plantas como la lignina, sin embargo, en cuanto a la digestibilidad del forraje obtenida, se considera que en los dos tratamientos se obtuvo alfalfa de excelente calidad, es decir "Premium"

2).- Se hace necesario realizar estudios en estos cultivares, realizando el corte cuando cada uno de los lotes alcance el porcentaje de floración deseada (10-15%), ya que se observó que en el lote tratado, al momento del corte, siempre presentó un mayor grado de floración y madurez, en comparación con el lote testigo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bani P., A. Minuti., Obonyo Luraschi, M. Ligabue, and F. Ruozzi. 2007. Genetic and environmental influences on in vitro digestibility of alfalfa. *Italian Journal of Animal Science*. 6:sup1, 251-253.
- Bochi-Brum, O., M. D. Carro, C. Valdés, J. S. González y S. López. 1999. Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. *Arch. Zootec*. Vol. 48, num. 181 p. 51-61
- Buxton, D. R. and S. L. Fales. 1994. Plant environment and quality. p. 155-199. In G.C. Fahey, Jr., M. Collins, D.R. Mertens, and L.E. Moser (eds.) *Forage quality, evaluation and utilization*. ASA, CSSA, and SSA, Madison, Wisc
- Casler, M. D. 1987. In: vitro digestibility of dry matter and cell wall constituents of smooth bromegrass forage. *Crop Sci*. 27(5):931–934. doi:10.2135/cropsci1987.0011183X002700050021x
- Casler, M. D., D. R. Buxton, and K. P. Vogel. 2002. Genetic modification of lignin concentration affects fitness of perennial herbaceous plants. *Theor. Appl. Genet*. 104(1):127–131. doi:10.1007/s001220200015
- Cervantes E. Marta C., y A. Franco González. Sin fecha. Diagnostico ambiental de la Comarca Lagunera. En línea: <http://observatoriogeograficoamericalatina.org.mx/egal11/Procesosambientales/Impactoambiental/22.pdf>
- Chace L.E. and D.J. Cherney. 2012. Using Grass Forages in Dairy Cattle Rations (PDF Download Available). Available from: https://www.researchgate.net/publication/266064741_Using_Grass_Forages_in_Dairy_Cattle_Rations [accessed May 15 2018].
- Cherney, D. J. R., J. H. Cherney, and L. E. Chase. 2004. Lactation performance of Holstein cows fed fescue, orchardgrass, or alfalfa silage. *J. Dairy Sci*.87:2268-2276.
- Durand N, Briand X, Meyer C. 2003. The effect of marine bioactive substances (NPRO) and exogenous cytokinins on nitrate reductase activity in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant* 119:489–493
- FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2016. Tablas FEDNA de valor nutritivo de forrajes y suplementos fibrosos húmedos. (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid,

- España p 80-93. En línea: <http://www.fundacionfedna.org/forrajes/> introducción-forrajes
- García C. B., A. García C., M. Rico Rodríguez y M.S. García C. 1987. Composición química y digestibilidad de alfalfa deshidratada destinada al comercio exterior. En línea: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/76158/1/Composici%C3%B3n%20qu%C3%ADmica%20y%20digestibilidad%20de%20alfalfa%20deshidratada%20destinada%20al%20comercio%20exterior.pdf>
- Getachew, G., A.M. Ibanez, W. Pittroff, A.M. Dandekar, M. McCaslin, S. Goyal et al. 2011. A comparative study between lignin down regulated alfalfa lines and their respective unmodified controls on the nutritional characteristics of hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170(3–4):192–200. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.09.009
- Gojón-Báez H.H, Siqueiros-Beltrones D.A, Hernández-Contreras H. 1998. In situ ruminal digestibility and degradability of *Macrocystis pyrifera* and *Sargassum* spp. in bovine livestock. *Cienc Mar* 24:463–481
- Grev, Amanda M., M. Scott Wells, Deborah A. Samac, Krishona L. Martinson, and Craig C. Sheaffer. 2017. Forage Accumulation and Nutritive Value of Reduced Lignin and Reference Alfalfa Cultivars. *Crop Economics, Production & Management. Agronomy Journal* • Volume 109, Issue 6 p 2749-2761
- Hatfield, R.D., H.J. Jung, G. Broderick, and T. Jenkins. 2007. Nutritional Chemistry of Forages. *In Forages, the Science of Grassland Agriculture*. R.F. Barnes et al., ed. Blackwell Pub. Ames, Iowa.
- Hernández-Herrera, R.M., Santacruz-Ruvalcaba, F., Ruiz-López, M.A. et al. *J Appl Phycol* (2014) 26: 619. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>
- Holin, F. 2014. Low-lignin alfalfas move toward the market. *In Hay and Forage grower*. Nov 14, 2014. <http://hayandforage.com/hay/low-lignin-alfalfas-move-toward-market>.
- Jaynes Lynn. 2018. Understanding your forage analysis; Value ranges and definitions. Forage Production. Progressive Forage. En Línea: Hay-Silage-Pasture. <https://www.progressiveforage.com/forage-production/harvest-and-storage/understanding-your-forage-analysis-value-ranges-and-definitions>
- Julier, B. and Huyghe, C. 1997. Genetic variation for digestibility and fiber contents in the *Medicago sativa* complex. In: Proc. of the XIth EUCARPIA Meeting of the group *Medicago*, Brno (Czech Republic), pp. 74-76.

- Jung Hans-Joachim G., Deborah A.Samac GautamSarath. 2012. Modifying crops to increase cell wall digestibility. *Plant Science Volumes* 185–186, April 2012, Pages 65-77
- Khan W, Rayirath U. P, Subramanian S, Jithesh M. N, Rayorath P, Hodges M, Critchley A. T, Craigie J. S, Norrie J, Prithiviraj B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation* 28:386-399.
- Khan, Z. I., Ahmad, K., Ashraf, I., Gondal, S., Sher, M., Hayat, Z., Tufarelli, V. 2015. Bioconcentration of some macrominerals in soil, forage and buffalo hair continuum: A case study on pasture irrigated with sewage water. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(3), 249–255. <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.11.016>
- Li, X., Y. Zhang, A. Hannoufa, and P. Yu. 2015a. Transformation with TT8 and HB12 RNAi constructs in model forage (*Medicago sativa*, alfalfa) affects carbohydrate structure and metabolic characteristics in ruminant livestock systems. *J. Agric. Food Chem.* 63 (43):9590–9600. doi:10.1021/acs.jafc.5b03717
- Li, X., Y. Zhang, A. Hannoufa, and P. Yu. 2015b. Transformation with TT8 and HB12 RNAi constructs in model forage (*Medicago sativa*, alfalfa) affects carbohydrate structure and metabolic characteristics in ruminant livestock systems. *J. Agric. Food Chem.* 63 (43):9590–9600. doi:10.1021/acs.jafc.5b03717
- Liu, N., and P. Yu. 2011. Molecular clustering, interrelationships and carbohydrate conformation in hull and seeds among barley cultivars. *J. Cereal Sci.* 53(3):379–383. doi:10.1016/j.jcs.2011.02.011
- López V. Alejandro, Cabrera C. Raúl, Rojas S. M. Eugenia. 1996. Digestibilidad aparente de forrajes secos por la alpaca (*Lama pacos*). I. Henos de alfalfa (*Medicago sativa*) de tres calidades y heno de quinhuilla (*Chenopodium albus*). *Avances en Ciencias Veterinarias*, Vol. 11 (1) Enero - Junio 1996
- Montoya Buenrostro Estela. 2011. Variación en el contenido de nutrientes en Alfalfa (*Medicago sativa*) cosechada a diferente edad de rebrote y época del año. Tesis M.C. Universidad Autónoma De Baja California Instituto De Ciencias Agrícolas. Mexicali, Baja California.
- Moore Kenneth J. and Hans-Joachim G. Jung. 2001. Lignin and fiber digestion *J. Range Manage.* 54: 420–430 July 2001

- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington DC.
- Orloff, S. B. and Putnam D. H. 2008. Harvest strategies for alfalfa. Manual Irrigated Alfalfa Management for Mediterranean and Desert Zones
- Parsi Jorge, Leopoldo Godio, Raúl Miazzo, Roberto Maffioli, Alberto Echevarría y Pedro Provensal. 2001. Valoración nutritiva de los alimentos y formulación de dietas. Cursos de Producción Animal, FAV UNRC. Sitio Argentino de Producción Animal. En línea: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/16-valoracion_nutritiva_de_los_alimentos.pdf
- Paulson Jim, Mary Raeth-Knight, and James Linn, 2008. Grass vs. Legume Forages for Dairy Cattle. Forage Focus –Dairy- December. University of Minnesota and Hans Jung, USDA-ARS. En línea: <http://www.midwestforage.org/pdf/323.pdf.pdf>
- Putman D.H., P. Robinson and Ed DePeters. 2008. Forage Quality and Testing. Irrigated Alfalfa management for Mediterranean and Desert Zones. University of California. Chapter 16. Publication 8302. P 1-25
- Rasby Rick J., Paul J. Kononoff, and Bruce E. Anderson. 2008. Understanding and Using a Feed Analysis Report. This NebGuide provides tips on how to interpret and use a feed analysis report. Nebraska Extension. University of Nebraska–Lincoln. Publication G1892.
- Reddy, M.S.S., F. Chen, G. Shadle, L. Jackson, H. Aljoe, and R.A.Dixon. 2005. Targeted down-regulation of cytochrome P450enzymes for forage quality improvement in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(46):16573–16578.doi:10.1073/pnas.0505749102
- Robinson Peter, Putnam D.H. and DePeters. 2007. Fundamentals of alfalfa quality. 37th California Alfalfa & Forage Symposium.
- SAGAR. 2000. Producción y utilización de la alfalfa en la zona norte de México. Libro Técnico No. 2 Oct. 2000. SAGAR-INIFAP, CIRNOC, CELALA, Matamoros, Coahuila. Mex.
- Sheaffer Craig, and Dan Undersander. 2015. New reduced lignin alfalfa varieties: A potential forage quality breakthrough. Forage Production. University of Minnesota Extension. En línea: <https://www.extension.umn.edu/agriculture/forages/variety-selection-and-genetics/reduced-lignin-alfalfa-varieties/>. 2015
- Shewmaker G. E., M. Chahine and Rikki Wilson. 2009. Parameters for good quality alfalfa hay p. 1-10. En Línea:

- <http://www.extension.uidaho.edu/forage/Proceedings/2009%20proceedings/parameters%20for%20quality%20hay.pdf>
- SIAP-SAGARPA. 2018. Producción agropecuaria y pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agropecuaria en la Región Lagunera. Coahuila y Durango. En línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo>.
- Stirk W. A, Arthur G. D, Lourens A.F, Novák O, Strnad M, van Staden J. 2004. Changes in cytokinin and auxin concentrations in seaweed concentrates when stored at an elevated temperature. *J Appl Phycol* 16:31–39
- Thirumaran G, Arumugam M, Arumugam R, Anantharaman P. 2009. Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Abelmoschus esculentus* (l) Medikus. *Am Euras J Agron* 2:57–66
- Tremblay, G. F., Bélanger, G., McRae, K. B. and Michaud, R. 2002. Leaf and stem dry matter digestibility and ruminal undegradable proteins of alfalfa cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 82: 383–393.
- Treviño Jesús y Rafael Caballero. 2011. Estudio comparado de la composición químico-bromatológica y digestibilidad de diferentes cultivares de alfalfa (*Medicago sativa*, L.). Instituto de Alimentación y Productividad Animal. C.S.I.C Madrid. En línea: polired.upm.es/index.php/pastos/article/download/719/713
- Undersander, D. 2016. 2016 Alfalfa trial results. 2016 Alfalfa trial results. <http://fyi.uwex.edu/forage/alfalfa-trial-results-2016/>(accessed 5 Apr. 2017).
- Undersander, D., Cosgrove, D., Cullen, E., Grau, C., Rice, M., Renz, M., Sheaffer, C., Shewmaker, G., and Sulc, M. 2011. Alfalfa management guide. ASA/CSSA/SSSA publication. <http://www.agronomy.org>. (accessed 23 Feb. 2017).
- Undersander, D., M. McCaslin, C. Sheaffer, D. Whalen, D. Miller, D. Putnam, and S. Orloff. 2009. Low lignin alfalfa: Redefining the yield/quality tradeoff. UC Coop. Ext., Reno, NV. p. 1–4.
- Van Soest, P.J. 1994 Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca, 476.
- Weakley, D., D.R. Mertens, and M. McCaslin. 2008. Lactating cow responses to alfalfa hays with down-regulated lignin biosynthesis. *J. of Dairy Sci.* 91:170.
- Zodape, S.T.; Gupta, A.; Bhandari, S.C.; Rawat, U.S.; Chaudhary, D.R.; Eswaran, K. y Chikara, J. 2011. Foliar application of seaweed sap as bioestimulant for

enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.).
J Sci Ind Res India, 70 (3): 215-219.