

Recibido 21 de octubre de 2015 // Aceptado 26 de diciembre de 2016 // Publicado online 02 de agosto de 2017

Alcanos en cultivares comerciales de festuca alta [*Lolium arundinacea* (Schreb.) Darbysh.] como indicador de su consumo por bovinos

BAKKER, M.L.¹; FERRAGINE, M.D.C.¹; BIGLIARDI, M.²

RESUMEN

Los n-alcanos son hidrocarburos de cadena lineal que componen la cera de la cutícula de las plantas y participan en numerosas funciones vitales. El contenido relativo de n-alcanos impares con diferente longitud de cadena de carbonos (patrón de alcanos) varía entre especies, cultivares y partes de planta, permitiendo su uso como marcadores naturales de composición de la dieta en estudios de herbivoría. Se analizó el contenido individual de los n-alcanos impares desde C23 hasta C35 en 12 cultivares (cvs) comerciales de festuca alta [*Lolium arundinacea* (Schreb.) Darbysh.], 10 continentales y 2 mediterráneos ("Arizona" y "Flecha"). El contenido total (mg/kg MS) de n-alcanos impares en los cvs fue, en orden creciente, "Arizona" (369), "FesCon3", "FesCon2", "AxL", "FesCon4", "Royal Q 100", "Flecha" (600 a 750) y "Taita", "FesCon1", "Malma", "GFL 200" y "GFL 201" (800 a 850). Los n-alcanos más abundantes en los cvs continentales fueron C31 (51±3%), C29 (25±2%) y C33 (14±2%), pero los cvs mediterráneos se diferenciaron marcadamente de los continentales y también entre ellos, "Arizona" tuvo menos C29 (20%) y más C33 (29%) mientras que "Flecha" tuvo más C29 (43%) y menos C33 (5%). Los cvs "Arizona" y "Flecha" tuvieron los patrones de alcanos más diferentes, lo que permitiría aplicar el método de los alcanos para estimar la proporción de estos cvs en la dieta de animales en pastoreo.

Palabras clave: alcanos, dieta, festuca alta.

ABSTRACT

The n-alkanes are lineal chain hydrocarbons that compose the wax of plant cuticles and participate in numerous vital functions. The relative content of odd-alkanes with different carbon chain length (alkane pattern) varies between species, cultivars and plant parts, allowing their use as natural markers of diet composition in herbivory studies. The content of individual odd-chain n-alkanes from C23 through C35 was analysed in 12 commercial cultivars (cvs) of tall fescue [*Lolium arundinacea* (Schreb.) Darbysh.], 10 continentals and 2 mediterraneans ("Arizona" and "Flecha"). Total content (mg/kg DM) of odd-alkanes was, in increasing order, "Arizona" (369), "FesCon3", "FesCon2", "AxL", "FesCon4", "Royal Q 100", "Flecha" (600 to 750) and "Taita", "FesCon1", "Malma", "GFL 200", "GFL 201" (800 to 850). Most abundant n-alkanes in continental cvs were C31 (51±3 %), C29 (25±2 %) and C33 (14±2 %), but mediterraneans differed markedly from continentals and also between them, "Arizona" had less C29 (20 %) and more C33 (29 %) while "Flecha" had more C29 (43 %)

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil. bakker@vet.unicen.edu.ar

²GENTOS SA.

and less C33 (5 %). The cvs "Arizona" and "Flecha" had the most different alkane patterns, which would allow the use of the alkane method to estimate the proportion of these cvs in the diet of grazing animals.

Keywords: alkanes, diet, tall fescue.

INTRODUCCIÓN

Los n-alcenos son hidrocarburos de cadena lineal que componen la cera de la cutícula de las plantas y participan en numerosas funciones vitales, tales como reducir la pérdida no estomática de agua, proteger contra la radiación UV, disminuir la acción del polvo, contaminantes del aire, bacterias y hongos, y, además, cumplen un rol importante en la interacción con los insectos (Kunst y Samuels, 2003). La mayoría de las especies forrajeras tienen una mezcla de n-alcenos con una abundancia mayor de aquellos con número impar de carbonos y longitud de cadena de entre 23 y 35 carbonos. Además, se han observado diferencias importantes en el contenido relativo de estos n-alcenos impares (patrón de alcanos) entre especies, cultivares y partes de planta, que permiten el uso de estos compuestos como marcadores naturales para estimar la composición, el consumo y la digestibilidad *in vivo* de la dieta en los estudios de herbivoría (método de los alcanos) (Mayes y Dove, 2000). Se conoce que la producción de alcanos por las plantas guarda una estrecha relación con la adaptación al ambiente, y, en los últimos años, se han publicado numerosos estudios (ver revisión de Yeats y Rose, 2013) que buscan dilucidar las vías de síntesis y su regulación a nivel génico, con el propósito de incorporar este aspecto en los programas de selección de las plantas forrajeras.

En el presente estudio se analizó el contenido y patrón de alcanos, desde C23 hasta C35, en 12 cultivares comerciales de festuca alta [*Lolium arundinacea* (Schreb.) Darbysh.] de diferente origen, 10 continentales y 2 mediterráneos, con el objetivo de caracterizar el material y evaluar el uso potencial del método de los alcanos para estimar la proporción de los distintos cultivares en la dieta de los animales en condiciones de pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 12 cultivares (cvs) comerciales de festuca alta [*Lolium arundinacea* (Schreb.) Darbysh.]. Según su origen, 10 cvs son continentales: "AxL", "GFL 200", "GFL 201", "Malma", "Royal Q 100", "Taita" (Gentos SA), "FesCon1", "FesCon2", "FesCon3", "FesCon4", y 2 cvs son mediterráneos: "Flecha" y "Arizona" (Gentos SA). Las muestras se recolectaron en mayo de 2015 del campo experimental del semillero Gentos SA, ubicado en Urquiza, partido de Pergamino, provincia de Buenos Aires (33° 53'

S; 60° 35' O). Los cvs fueron sembrados en marzo-abril de 2014, y fertilizados con urea (200 kg en otoño-invierno de 2014 y 100 kg en otoño de 2015); luego fueron sometidos a un régimen de pastoreo rotacional en franjas diarias (entre 6 y 8 pastoreos). Las muestras, que estuvieron conformadas exclusivamente por láminas vivas, se secaron en estufa a 60 °C durante 48 horas y luego se molieron con un molinillo eléctrico hasta un tamaño de partícula uniforme. Una sola alícuota de ~0,75 g de cada cv se procesó de acuerdo a un protocolo estandarizado (Bakker y Alvarado, 2006) que consiste en la saponificación con hidróxido de potasio etanólico a 90 °C durante 16 horas, seguido de la extracción con n-heptano y purificación del extracto mediante pasaje por una columna de sílica gel. El contenido (mg/kg MS) individual de n-alcenos impares, desde C23 hasta C35, se cuantificó usando los n-alcenos pares C22 y C34 como estándares internos, mediante cromatografía de gases en un equipo *Agilent* 6890, provisto de una columna SB1 (J&W). Las diferencias en el patrón de alcanos (% de cada n-alceno impar en el total de n-alcenos impares analizados) entre cvs se evaluaron con un análisis de componentes principales (ACP), usando el programa estadístico *InfoStat* (Di Rienzo *et al.*, 2008), sobre los datos transformados (*centred log ratios*) de acuerdo a Aitchinson (1986).

RESULTADOS

El contenido (mg/kg MS), individual y total de n-alcenos impares para cada cv se muestra en la tabla 1. Se observó un rango amplio en el contenido total de n-alcenos impares entre los cvs, "Arizona" presentó el contenido más bajo (369), mientras que, "FesCon3", "FesCon2", "AxL", "FesCon4", "Royal Q 100" y "Flecha" presentaron contenidos intermedios (600 a 750), y "Taita", "FesCon1", "Malma", "GFL 200" y "GFL 201" los más altos (800 a 850). En todos los cvs, el contenido de C31 (139 a 454) fue superior al de C33 (37 a 132), y el contenido de C35 fue muy bajo (<8) con excepción de "FesCon4" (17) y "Malma" (18).

Los cvs continentales en general presentaron un patrón de alcanos similar, con un alto contenido relativo de C31 (51±3%), seguido de C29 (25±2%) y C33 (14±2%) (promedio ± desvío estándar), pero los cvs mediterráneos "Arizona" y "Flecha" parecen diferenciarse marcadamente de los continentales y también entre sí, "Arizona" presentó un bajo contenido relativo de C29 (20%) y alto contenido relativo de C33 (29%), mientras que "Flecha" presentó un alto

Cultivar	Contenido de alcanos (mg/kg MS)							Total
	C23	C25	C27	C29	C31	C33	C35	
Continetales								
AxL	8	18	30	150	328	75	8	616
GFL 200	5	23	40	203	398	120	5	792
GFL 201	3	13	34	219	426	115	5	816
Malma	6	29	43	184	412	132	18	824
Royal Q 100	2	13	31	188	383	112	4	734
Taita	3	20	40	240	454	96	4	858
FesCon1	3	11	28	219	429	131	6	827
FesCon2	5	14	27	159	360	99	5	669
FesCon3	8	27	50	153	318	95	6	656
FesCon4	9	42	59	179	325	95	17	727
Mediterráneos								
Arizona	3	13	25	76	139	108	7	369
Flecha	7	22	43	318	308	37	6	739

Tabla 1. Contenido de n-alcanos impares (C23-C35) en cultivares comerciales de festuca alta.

contenido relativo de C29 (43%) y muy bajo de C33 (5%) (figura 1). El ACP separó a los cvs sobre el eje CP1 del biplot (50% de la variación total) de acuerdo a un mayor contenido relativo de C23 y C25 y menor contenido relativo de C31: "FesCon3", "FesCon4", "Arizona", "Flecha", "Malma" y "AxL", y, a la inversa: "FesCon1", "GFL 201", "Royal Q 100", "Taita", "FesCon2" y "GFL 200"; luego, sobre el eje CP2 del biplot (33% de la variación total) se manifestaron las marcadas diferencias en el contenido relativo de C29 y C33 de los cvs "Arizona" y "Flecha" (figura 2).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los cvs comerciales de festuca alta analizados en este estudio presentaron contenidos totales y relativos de n-alcanos impares que están dentro del rango conocido para las festucas (Maffei, 1996). El único análisis de festuca alta que existe para la zona geográfica de referencia (provincia de Buenos Aires) proviene de una pastura polifítica evaluada en octubre-noviembre, con un contenido total de n-alcanos impares de entre 600 y 650 mg/kg MS y un alto contenido relativo de C31 (53-67%) y C29 (25-17%) (Alvarado *et al.*, 2001); esta información y la del presente estudio (con excepción de los cvs "Arizona" y "Flecha") se puede comparar con los datos publicados por Maffei (1996) para festuca alta cultivada en parcelas experimentales en Turín, Italia (300 mg/kg MS con 50% de C31 y 17% de C29) y Cortes *et al.* (2005) para una pastura de festuca alta durante la primavera, mantenida mediante cortes mecánicos a 9 cm de altura, en Clermont-Ferrand, Francia (400 y 900

mg/kg MS en mayo y junio, respectivamente, con un promedio de 50% de C31 y 20% de C29).

Estudios recientes muestran que existe una relación directa entre un mayor contenido relativo de n-alcanos impares de cadena larga, más hidrofóbicos, y la adaptación a climas secos y calurosos, tanto en especies C4 como en C3 (Bush y McInerney, 2015), lo que podría explicar la mayor abundancia de C33 en el cv mediterráneo "Arizona". Con respecto a la mayor abundancia de C29 en el cv "Flecha", para su interpretación solo se dispone del análisis de varias especies de festucas nativas de la zona de influencia del INTA-Río Gallegos (Cesa y Bakker, 2007), el cual reveló, además de contenidos totales de n-alcanos impares en un rango mucho más amplio (*F. gracillima*: 300 mg/kg MS, *F. pallescens*: 600 mg/kg MS y *F. pirogea*: 2000 mg/kg MS), una proporción de C29 de entre 40 y 70% del total, lo que se puede considerar como un valor muy alto para las gramíneas. Se sugiere, a partir de un estudio realizado en pastizales naturales de China, que un aumento del contenido del alcano C29 podría ser indicador de sobrepastoreo (Zhang *et al.*, 2004).

Los resultados de este estudio preliminar indican que, en función del contenido y patrón de alcanos observados, es posible la aplicación del método de los alcanos para estimar el consumo de forraje y la proporción de diferentes cvs de festuca alta en la dieta de animales en pastoreo. Los n-alcanos C31 y C33, con los que generalmente se estima el consumo de forraje, estuvieron presentes en todos los cvs con valores que permitirían una estimación confiable según la experiencia conocida (Dove y Mayes, 2006). Además, si

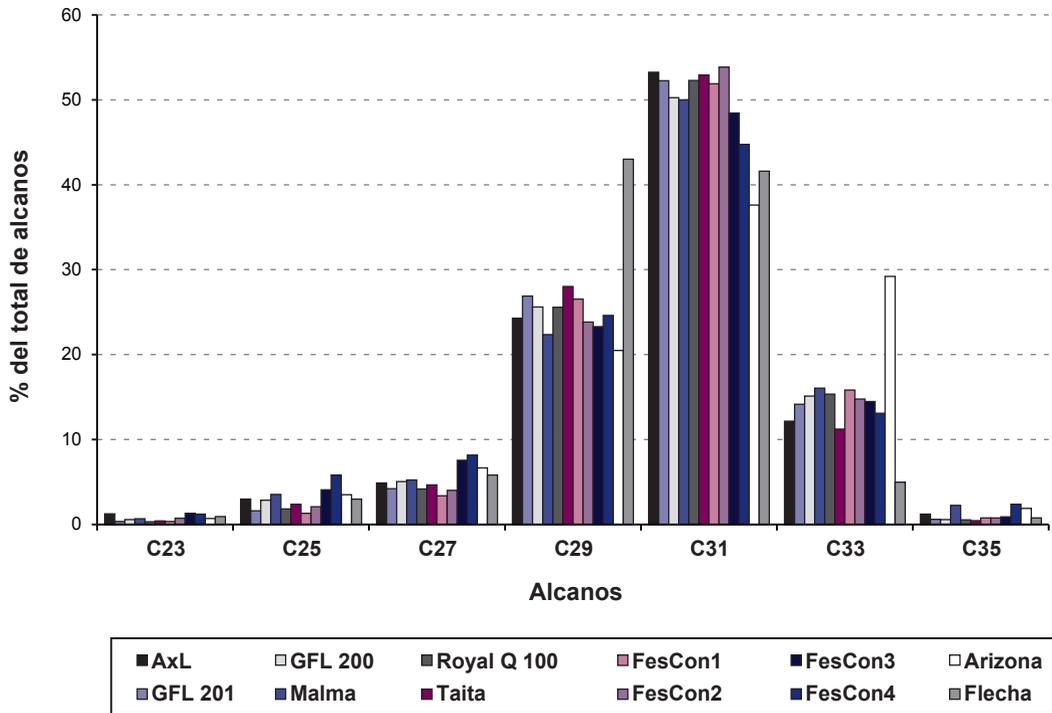


Figura 1. Patrón de alcanos (C23-C35) en cultivares comerciales de festuca alta.

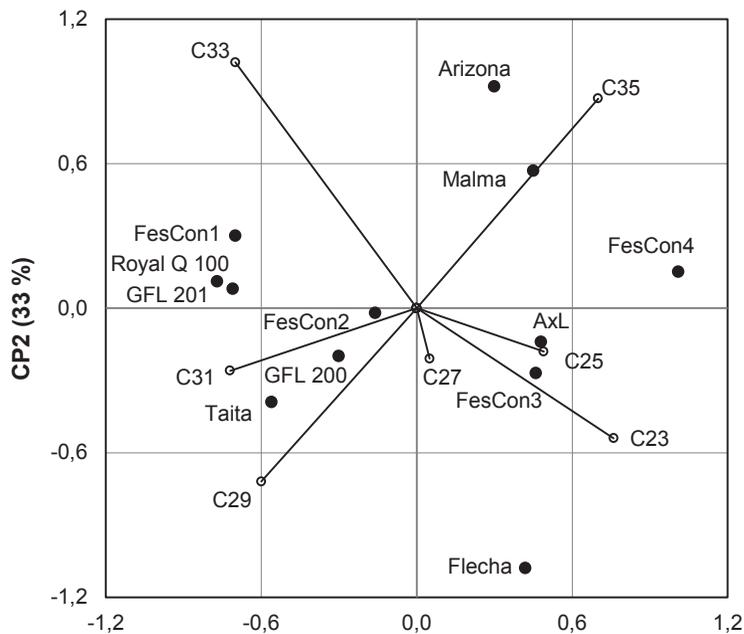


Figura 2. Biplot del análisis de componentes principales sobre el patrón de alcanos (C23-C35) en cultivares comerciales de festuca alta. Las flechas indican las diferencias más importantes en el contenido de C29 y C33.

fuera de interés, sería factible estimar la proporción en la dieta de aquellos cvs que presentaron los patrones de alcanos más diferentes, "Arizona" y "Flecha", tanto en estudios de preferencia de los distintos cvs como en condiciones

de pastoreo sobre pasturas consociadas, ya sea con otros cvs o con otras especies que tengan patrones de alcanos contrastantes. Se observó que el n-alkano C35, con el que se puede estimar directamente la digestibilidad aparente *in*

vivo, estuvo presente en todos los cvs, pero con valores en general muy bajos (<8 mg/kg MS), lo cual, en función de su recuperación fecal y potenciales errores analíticos (Dove y Mayes, 2006), no permitiría una estimación confiable del parámetro; sin embargo, en los cvs "FesCon4" y "Malma" (que presentaron valores cercanos a 20 mg/kg MS) se podría realizar esta estimación con una evaluación previa del grado de error en el que se va a incurrir.

BIBLIOGRAFÍA

- AITCHINSON, J. 1986. The Statistical Analysis of Compositional Data. Chapman and Hall. Londres. Reino Unido.
- ALVARADO, P.I.; BAKKER, M.L.; BRIZUELA, M.A.; CID, M.S. 2001. Contenido de n-alcenos en las principales especies de plantas de pasturas cultivadas del sudeste de Buenos Aires. Revista Argentina de Producción Animal, 21(1), 155.
- BAKKER, M.L.; ALVARADO, P.I. 2006. Alcanos lineales de la cera cuticular de hojas de *Populus alba*, *Populus deltoides* (Salicaceae), *Robinia pseudoacacia* (Fabaceae), *Ulmus pumila* (Ulmaceae) y *Fraxinus americana* (Oleaceae) en Tandil, Buenos Aires, Argentina. Darwiniana, 44, 58-63.
- BUSH, R.T.; MCINERNEY, F. 2015. Influence of temperature and C4 abundance on n-alkane chain length distributions across the central USA. Organic Geochemistry, 79, 65-73.
- CESA, A.; BAKKER, M. 2007. Estudio inicial del contenido y patrón de alcanos en especies forrajeras con diferente nivel de preferencia por los ovinos en la estepa patagónica, Santa Cruz, Argentina. xx Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA), xxx Reunión de la Asociación Peruana de Producción Animal (APPA) y v Congreso Internacional de Ganadería de Doble Propósito. 22-25 de octubre de 2007, Cusco, Perú.
- CORTES, C.; DAMASCENO, J.C.; BECHET, G.; PRACHS, S. 2005. Species composition of ryegrass (*Lolium perenne*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*) mixtures using various combinations of n-alkanes. Grass and Forage Science, 60, 254-261.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. 2006. Protocol for the analysis of n-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. Nature Protocols, 1(4), 1680-1697.
- KUNST, L.; SAMUELS, A.L. 2003. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. Progress in Lipid Research, 42, 51-80.
- MAFFEI, M. 1996. Chemotaxonomic significance of leaf wax alkanes in the Gramineae. Biochemical Systematics and Ecology, 24, 53-64.
- MAYES, R.W.; DOVE, H. 2000. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. Nutrition Research Reviews, 13, 107-138.
- YEATS, T.H.; ROSE, J.K. C. 2013. The formation and function of plant cuticles. Plant Physiology, 163, 5-20.
- ZHANG, Y.; TOGAMURA, Y.; OTSUKI, K. 2004. Study on the n-alkane patterns in some grasses and factors affecting the n-alkane patterns. The Journal of Agricultural Science (Cambridge), 142, 469-475.