

INFLUENCIA DEL SUELO Y LA FERTILIZACION NITROGENADA SOBRE EL CONTENIDO CUALI-CUANTITATIVO DE ALCALOIDES DE FESTUCA c.v. "EL PALENQUE"

Alicia E. Ramírez de Guglielmone (1), Alicia M. Saenz (1), María A. Carabelli (2), Mirta B. Guglielmoni (1),
E. O. Basile (3) y María C. Pereyra (1)

Recibido: 7/7/82

Aceptado: 17/12/82

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de distintos suelos y de la fertilización nitrogenada sobre el contenido cuali-cuantitativo de alcaloides de *Festuca alta* c.v. "El Palenque", cultivada en invernáculo.

El análisis de las muestras vegetales obtenidas por cortes periódicos en los seis ensayos realizados indicó:

- a) El c.v. "El Palenque" no posee cantidades significativas de un alcaloide, cuantitativamente importante en festucas tóxicas, el cual presenta características cromatográficas similares a lolina. Esta condición no varió en suelos de distinta composición química, ni con mayor disponibilidad de nitrógeno incorporado como fertilizante.
- b) La concentración de perlolina, fue variable en cada ensayo y mostró una relación inversa aunque no proporcional al contenido inicial de fósforo disponible en el suelo. Cortes sucesivos de material vegetal indicaron una disminución, y la fertilización nitrogenada, un incremento significativo en los niveles del alcaloide.

INFLUENCE OF THE SOIL AND THE NITROGEN FERTILIZATION ON THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE CONTENT OF ALKALOIDS OF TALL FESCUE c.v. "EL PALENQUE"

SUMMARY

The influence of different soils and of the nitrogen fertilization on the qualitative and quantitative content of alkaloids of tall fescue c.v. "El Palenque", growing in the green-house, has been studied.

Analysis of the vegetable samples obtained by periodic cuts from six assays indicated:

- a) The c.v. "El Palenque" does not have significant amounts of an alkaloid, quantitatively important in toxic tall fescues, which shows similar chromatographic properties to loline. This condition was invariable in soils with different chemical composition and with the increased availability of nitrogen incorporated as fertilizer.
- b) Perloline concentration was variable in each assay, showing an inverse although not proportional relation to the original content of the available phosphorus in the soils. Consecutive cuts of plant material indicated a decrease, and the nitrogen fertilization, a significant increase, on the alkaloid levels.

1) Cátedra de Bioquímica, Departamento de Química, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, (1417) Buenos Aires, Argentina.

2) Becaria de A.A.C.R.E.A.

3) Becario de Fundación Bunge y Born a través de Fundación Facultad de Agronomía.

INTRODUCCION

Es conocido que el pastoreo directo con *festuca alta* (*F. arundinácea* Schreb.), produce, en ocasiones, y en detrimento de sus valiosas condiciones agronómicas, casos de intoxicación bovina de indudable repercusión agropecuaria.

Si bien han sido descriptos síndromes en verano e invierno, el cuadro más frecuente en la pampa argentina es el conocido como "asoleamiento" o más propiamente "síndrome de verano" (Bush *et al.*, 1979).

La etiología de esta enfermedad es y ha sido ampliamente discutida, considerándose, en principio, como factor tóxico más probable, el contenido en perlolina (Bush *et al.*, 1970; Bush *et al.*, 1972; Boling *et al.*, 1975). Este es un alcaloide diazofenantrénico que, acompañado de precursores y/o derivados (Tookey y Yates, 1972) es el componente constante, cuantitativamente más importante de la fracción nitrogenada básica extraíble de festuca. En la especie ha sido descrita, además, otra familia de alcaloides, derivados del núcleo pirrolizidínico, de la que el constituyente mejor estudiado es la lolina (Tookey y Yates, 1972).

Trabajos previos de nuestro laboratorio (R. de Guglielmo y Sáenz, 1980, R. de Guglielmo *et al.*, 1982) indicaron que, mientras la concentración de perlolina en muestras de festucas inocuas es tanto o más elevada que en las tóxicas, la concentración de un alcaloide de características cromatográficas similares a lolina sólo es importante en festucas provenientes de potreros "problema". Se ha intentado, por ello, establecer una relación toxicidad-concentración del alcaloide caracterizado como lolina que, aunque indirecta, podría explicar aquellos resultados.

Dado que el déficit de este alcaloide en las festucas inocuas analizadas podría ser consecuencia de condiciones edafológicas particulares y/o de variabilidad genética, en este trabajo se ha estudiado el contenido cuali-cuantitativo de alcaloides de festuca c.v.

"El Palenque" (originaria de la EERA, INTA, Pergamino, presuntamente inocua) cultivada en suelos de distinta procedencia y composición.

MATERIALES Y METODOS

Semilla de festuca "El Palenque" provista por la EERA Pergamino, INTA, se sembró en macetas (22 cm de diámetro x 35 cm de alto) que contenían suelos (muestras puntuales de capa arable) convenientemente preparados y provenientes de festucales tóxicos e inocuos y de la misma Estación Experimental. Los distintos tratamientos se identifican con el nombre del Establecimiento o potrero de los cuales se obtuvieron las muestras de tierra a saber:

PERGAMINO: EERA, INTA, Pergamino; LAUQUEN: Establecimiento particular del Pdo. de Guaminí; CLENANTU: potrero de un Establecimiento particular del Pdo. de Guaminí; PATIN: potrero de un Establecimiento particular del Pdo. de Castelli; LOS RIOJANOS: Establecimiento particular del Pdo. de Castelli; SAN ALBERTO: Establecimiento particular del Pdo. de Pehuajó. PERGAMINO y LAUQUEN son suelos de festucales inocuos.

El análisis químico parcial de alícuotas de los suelos se realizó en la Cátedra de Edafología de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Para disponer de material vegetal suficiente se utilizaron para cada tratamiento tres macetas, cada una de las cuales se sembró con 100 semillas; una vez asegurada la implantación, se raleó a un mismo número de plantas por maceta.

Las macetas se mantuvieron en invernáculo desde la siembra (23 de junio de 1980) hasta después del segundo corte (2 de octubre de 1980), lapso durante el cual se regaron hasta capacidad de campo. Luego se llevaron al exterior para someter a las plantas a condiciones ambientales naturales.

Se realizaron cinco cortes, uno cada vez

que las plantas alcanzaban en promedio 25-30 cm dejando un remanente de 6 cm.

Debido a que en algunos ensayos se manifestaron signos de clorosis y bajo ritmo de crecimiento, 120 días después de la siembra se fertilizó, en forma general, con urea (dosis total equivalente a 90 kg de urea/ha) en tres aplicaciones sucesivas cada cinco días.

La extracción de alcaloides del material vegetal, se llevó a cabo sobre una muestra compuesta, fresca o desecada espontáneamente, (una para cada tratamiento y obtenida de la mezcla de material de las tres macetas) con 10 volúmenes de etanol al 80 por ciento, durante una semana a temperatura ambiente, con agitación intermitente y un cambio de solvente.

Los líquidos etanólicos reunidos se concentraron a presión y temperatura reducidas hasta 1/10 de su volumen y los alcaloides totales se extrajeron y purificaron según el método de S. G. Yates (1963). El extracto ácido final (clorhidratos de alcaloides) concentrado a sequedad, se redisolvió con CIH 0,01 N y alícuotas iguales equivalentes a 2-4 g de pasto seco, se sembraron en calles adyacentes de una tira de papel SS 2043 BGL, que se sometió a cromatografía monodimensional descendente empleando n-butanol, ácido acético glacial, agua, (12: 3: 5), como solvente de desarrollo. Las áreas correspondientes a los alcaloides, delimitadas por comparación con testigos corridos en la misma tira y revelados con luz ultravioleta y con iodoplatinato de potasio (IPK), se recortaron y eluyeron con CIH 0,01 N. La absorbancia de los eluatos se midió en espectrofotómetro Shimadzu UV 110-02 contra blanco de papel.

RESULTADOS Y DISCUSION

Perlolina es el único alcaloide de festuca que se ha podido identificar luego de la separación cromatográfica, sobre la base de su color amarillo a la luz natural y por disponer de droga pura como patrón, cedida gentil-

mente por el Dr. S. G. Yates (Peoria, Illinois, EE.UU.). En efecto, el alcaloide, obtenido de festuca y separado por cromatografía, fue eluido y recromatografiado en el sistema habitual de solventes utilizado en nuestro laboratorio, así como en el de Yates (1963) o bien sobre silicagel G (Bush y Jeffreys, 1975) como perlolina base. En todos los casos su Rf fue similar al del testigo corrido simultáneamente. Además, el espectro de absorción de dicho alcaloide mostró un máximo en 395 nanómetros y una Eh específica idéntica a la informada por Yates (1975).

El otro alcaloide cuantitativamente importante, lolina, se supone corresponde, en el sistema cromatográfico utilizado en nuestro laboratorio, al componente de Rf 0,16-0,19 pues, eluido y recromatografiado según Yates y Tookey (1965), presenta un Rf de 0,12, idéntico al informado por estos autores para clorhidrato de festucina, (lolina, según Tookey y Yates, 1972) y con similares características de tinción con IPK. Asimismo, este alcaloide, convertido en su forma básica y recromatografiado según Bush y Jeffreys (1975) muestra un Rf de 0,10, correspondiente a lolina base. Ya que no se dispone de droga patrón (que no es actualmente producto comercial) la identificación de este alcaloide no puede ser confirmada. Por esta razón, y a falta de pruebas más concluyentes, en el presente trabajo se reconoce presuntamente como lolina al componente designado con el número 2 en el Cuadro 1.

Aunque se han podido separar quince alcaloides distintos de festuca, en el Cuadro 1 figuran sólo aquellos que se han valorado, dado la restricción impuesta por las bajas concentraciones del resto.

Ante la imposibilidad actual de su identificación (excepto lolina y perlolina) los alcaloides son designados con un número, en orden creciente de sus respectivos Rfs, consignándose además, algunas otras características para su detección cromatográfica y valoración espectrofotométrica.

Como se señaló en la Introducción, la principal diferencia encontrada en el análisis cuali-cuantitativo de alcaloides de festucas

CUADRO 1: Separación de alcaloides de *Festuca alta* por cromatografía monodimensional descendente en papel.

Mancha No	Rf (límites)	Observación al UV	Tinción con IPK **	absorbancia a (nm) ***
1	0,11-0,13	absorbe (violeta)	azul	270
2*	0,16-0,19	-	azul-violáceo	270
3	0,21-0,24	fluoresce (amarillo)	azul-violáceo	270
5	0,34-0,36	-	violeta	270
7	0,40-0,42	fluoresce (azul-celeste)	-	230
8	0,49-0,52	fluoresce (amarillo)	violeta	270
9*	0,54-0,58	absorbe (amarillo)	amarillo-marrón	395
10	0,59-0,64	fluoresce (celeste)	violeta	270
11	0,68-0,71	fluoresce (violeta)	-	270

Solvente: n butanol, ácido acético glacial, agua, 12: 3: 5.

* Manchas 2 y 9 han sido caracterizadas como lolina y perlolina, respectivamente (ver texto).

** IPK: Preparado según Busch y Jeffreys (1975).

*** No ha sido posible determinar a excepción de perlolina, la longitud de onda óptima para medir absorbancia de las manchas.

tóxicas e inocuas, fundamentalmente en material obtenido en los meses de primavera-verano, estuvo relacionada a la concentración del alcaloide caracterizado como lolina. En la Figura 1 pueden observarse los cromatogramas de alcaloides de extractos de muestras obtenidas en los festucales cuyo suelo se utilizó para los ensayos de este trabajo.

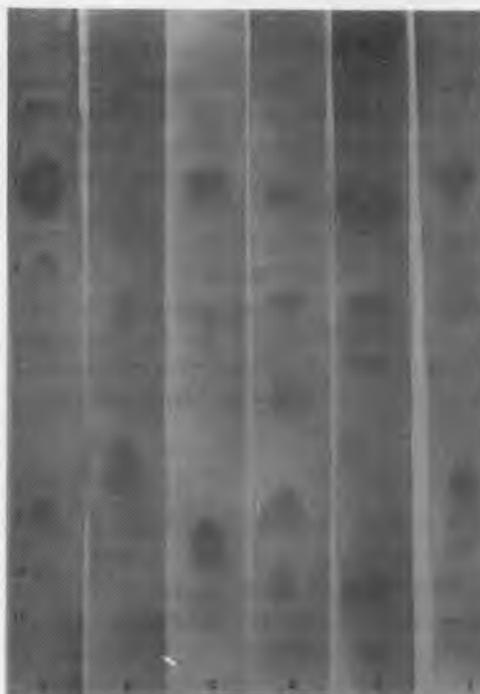
Figura 1: Alcaloides en festucas tóxicas e inocuas.

El festucal de origen de cada una de las muestras analizadas y las respectivas fechas de recolección fueron: A: Clenantú (Tóxico) en noviembre de 1980; B: c.v. "El Palenque" de Pergamino (innocuo) en diciembre de 1979; C: San Alberto (tóxico) en noviembre de 1980; D: Lauquen (innocuo) en febrero de 1980; E: Patín (tóxico) en abril de 1981; F: Los Riojanos (tóxico) en abril de 1980.

Los cromatogramas fueron teñidos con IPK según Materiales y Métodos. Las áreas marcadas, no coloreadas, corresponden a alcaloides detectados al UV que son IPK negativos.

En el primer cromatograma se identifican los alcaloides por su número, según el Cuadro 1.

La flecha indica la dirección de corrida.



Las muestras inocuas se caracterizaron por un déficit o aún una virtual ausencia de lolina. De todo el material analizado, sólo ha sido posible identificar, por su cultivar de origen, al proveniente de la EERA, INTA, Pergamino, que corresponde al c.v. "El Palenque", obtenido en dicha Estación por el Ing. Agr. H. Serrano, y que ha resultado inocua a través de varios años de pastoreo directo. La posibilidad de contar con semilla "El Palenque" fiscalizada, permitió ensayar su cultivo en condiciones edafológicas distintas (ver Materiales y Métodos), para estudiar

la eventual influencia de éstas en el contenido cuali-cuantitativo de alcaloides.

El análisis químico parcial de los suelos utilizados en los distintos ensayos mostró al proveniente del Pdo. de Pergamino y al del Pdo. de Pehuajó (San Alberto), como el más rico y el más pobre, respectivamente, en fósforo disponible inicial. El ensayo sobre el primero produjo plantas de follaje escaso, con signos tempranos de clorosis. En cambio, el suelo de San Alberto y aquéllos dos provenientes de la Cuenca del Salado (estos último los de mayor contenido inicial de nitró-

CUADRO 2: Influencia del suelo y de la fertilización nitrogenada sobre los niveles relativos de alcaloides en festuca c.v. "El Palenque".

Alcaloide No	Pergamino Corte No					Lauquén Corte No				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
1	45,0	5,1	21,8	13,7	7,7	16,7	n.d.	0,46	2,8	4,9
3	n.d.	n.d.	n.d.	6,1	29,0	n.d.	37,0	18,4	10,6	n.d.
5	21,6	n.d.	7,5	15,8	26,5	21,3	23,4	6,4	11,9	n.d.
7	29,7	2,6	n.d.	12,8	n.d.	15,2	n.d.	7,4	10,1	n.d.
8	n.d.	12	n.d.	23,0	18,8	n.d.	12,2	13,4	8,7	14,4
9	1423,4	283,8	4,5	4566,0	4256,4	2155,2	554,7	58,1	3178,5	1736,8
10	n.d.	43,0	46,3	49,0	44,4	46,0	28,3	47,9	44,7	26,9
11	n.d.	7,7	28,8	30,6	n.d.	n.d.	16,8	44,7	10,6	n.d.
	Clenantú					San Alberto				
1	16,1	n.d.	9,8	n.d.	7,4	22,0	6,4	21,6	40,2	12,2
3	n.d.	2,5	n.d.	n.d.	26,9	5,0	n.d.	n.d.	n.d.	17,0
5	19,9	32,2	11,7	10,7	13,8	18,0	n.d.	13,2	36,1	14,4
7	46,5	n.d.	n.d.	n.d.	4,9	n.d.	28,8	7,0	n.d.	n.d.
8	25,7	17,5	23,0	38,5	11,3	n.d.	19,2	4,7	9,3	18,5
9	2738,6	1129,5	107,8	3170,7	1597,2	3048,0	2017,9	786,1	1479,4	1540
10	34,0	59,1	35,2	42,4	15,5	48,0	23,7	17,2	27,3	21,5
11	n.d.	22,8	n.d.	21,5	n.d.	n.d.	26,9	14,2	25,5	46,7
	Patín					Los Riojanos				
1	59,5	n.d.	7,2	36,2	4,9	48,0	18,6	n.d.	n.d.	1,7
3	19,8	15,3	15,2	n.d.	19,9	n.d.	n.d.	n.d.	14,5	13,7
5	13,3	10,0	13,4	n.d.	15,9	52,0	19,4	10,9	19,2	10,8
7	n.d.	30,3	20,1	n.d.	22,1	51,6	24,3	n.d.	13,6	20,0
8	n.d.	14,6	11,8	13,8	17,7	n.d.	26,9	21,4	40,7	16,5
9	2380,9	1846,0	27,0	543,3	882,7	4464,3	1605,2	605,5	3032,8	1629,5
10	78,1	82,8	17,1	23,6	28,3	49,6	48,7	14,1	42,7	25,6
11	33,1	43,2	14,2	10,7	n.d.	n.d.	51,3	n.d.	24,0	14,2

Origen del suelo: ver Materiales y Métodos. Los alcaloides se identifican según el número correspondiente del Cuadro 1. Fecha de realización de los cortes: I: 15/08/80; II: 2/10/80; III: 10/12/80; IV: 9/02/81; V: 10/04/81. La fertilización con urea se realizó entre el 3er. y 4to. corte según Materiales y Métodos. La concentración de alcaloides se expresa como absorbancia $\times 10^3/g$ de pasto seco. n.d.: no determinado.

geno), sustentaron el desarrollo más satisfactorio.

La escasez de material vegetal de que se dispuso en algunos casos y el agotamiento natural de los suelos luego del primer y/o segundo corte limitó la posibilidad de valorar algunos alcaloides que habitualmente se encuentran en poca cantidad. Los componentes valorados en los cinco cortes realizados en los seis distintos ensayos, figuran en el Cuadro 2. Cabe aclarar que el alcaloide 1, que en el primer corte de algunos ensayos, presenta valores importantes de concentración, puede no ser un componente puro, pues el alcaloide halostacina, mencionado por Bush y Jeffreys (1975), que no fue valorado y que en nuestro sistema cromatográfico corresponde al de Rf 0,13-0,15, se superpone parcialmente con aquél.

La concentración de alcaloides individuales descendió, con alguna excepción, entre el primer y el tercer corte, sugiriendo que la disminución de la reserva nitrogenada del suelo es factor limitante de su producción. La fertilización con urea promovió una respuesta general de incremento (cuarto y quinto cortes), la que fue máxima en el ensayo con el suelo de Pergamino, precisamente el de más pobre desarrollo original. Es difícil interpretar al presente la importancia e implicancias metabólicas de esos cambios en los alcaloides no identificados.

Con respecto a lolina, en ningún caso los cromatogramas obtenidos con extractos de alcaloides de "El Palenque", demostrar que en las muestras analizadas hubiera cantidad apreciable de este alcaloide, ya sea por tinción con IPK (Figura 2) o por elución y espectrofotometría de la zona de Rf 0,16-0,19. Ello fue un hecho constante, a pesar de:

- a) Las distintas fechas en que se realizaron los cortes, algunos en pleno período estival.
- b) La variabilidad de los suelos, varios de los cuales han sido en su zona de origen sustrato de festucales tóxicos con elevada concentración de lolina (Figura 1).

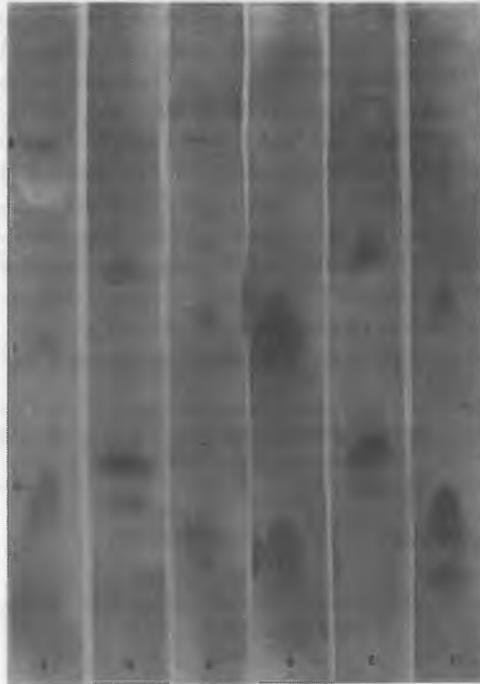


Figura 2: Alcaloides de festuca c.v. "El Palenque" cultivada en suelos de distinto origen.

Los cromatogramas fueron teñidos con IPK y los alcaloides y la dirección de corrida igual que en Figura 1.

El origen del suelo (según Materiales y Métodos) y el número de corte son: A: Pergamino, corte I; B: Clenantú, corte II; C: Patín, corte III; D: Lauquen, corte IV; E: Los Riojanos, corte IV; F: San Alberto, corte V.

- c) La estimulación del crecimiento vegetal promovida por la fertilización nitrogenada.

Los resultados presentes confirman otros hallazgos de nuestro laboratorio, cuando la variedad "El Palenque" fue cultivada a campo, en zonas tan distintas como el Pdo. de Guaminí, en el sudoeste de la Pcia. de Buenos Aires (R. de Guglielmo *et al.*, 1981) o en el Pdo. de Luján (experimentos en curso). Recientemente se ha informado en EE.UU. (Jones *et al.*, 1981) que acetil lolina y formil lolina aparecen en concentraciones muy elevadas en cultivares propios y líneas experi-

mentales de festuca, infectadas con *Epichloe typhina*, un hongo endófito identificado, por otra parte, en la mayoría de las muestras de esta forrajera cuando provoca baja performance animal (Bacon *et al.*, 1977; Hoveland *et al.*, 1980). En cambio, en plantas no infectadas, los niveles de dichos alcaloides son muy inferiores, por lo que, si bien parecen ser componentes nitrogenados propios, serían inducibles en determinadas circunstancias. Si esto es así, y teniendo en cuenta los resultados presentes, es lógico suponer que en el c.v. "El Palenque", la concentración de lolina debe ser suficientemente pequeña como para no alcanzar los límites de sensibilidad del método de valoración utilizado. En relación a ello, dicha virtual ausencia de lolina en los ensayos realizados, puede interpretarse ya sea como una resistencia de la variedad "El Palenque" a infección con *Epichloe typhina*, o bien que hasta el presente, y por lo menos, la semilla utilizada, no ha sufrido contaminación fúngica. Mientras ambos aspectos merecen posterior estudio, los resultados obtenidos indican que el c.v. "El Palenque" sometido, aunque en forma restringida por la naturaleza del ensayo, a condiciones variables del cultivo, es fenotípicamente deficiente en lolina.

La concentración de perlolina en los cortes de cada uno de los ensayos mostró, a través del tiempo, variaciones cualitativamente similares a los otros alcaloides. Los valores absolutos fueron, en cambio, muy superiores, y distintos en cada ensayo, dependiendo, sobre todo en el primer corte, más que de la concentración total de nitrógeno en el suelo, de los niveles de fósforo disponible y en relación inversa a éste (Cuadro 3). Cabe aclarar que, dado que en los ensayos, los suelos utilizados son muestras puntuales de capa arable, la concentración de este macroelemento, puede no estar indicando los valores promedio para cada una de las zonas en que se obtuvieron dichos suelos. Por ello, los resultados presentes no reflejarían una situación extrapolable a campo para el lugar de origen. Sin embargo, son comparativamente válidos en cuanto la concentración de fósforo disponible, medida por análisis químico de los suelos, fue la que realmente influyó en el desarrollo vegetal de cada uno de los ensayos.

Los resultados parciales de nuestro laboratorio (R. de Guglielmone y Sáenz, 1980) y otros ensayos actualmente en curso pueden vincularse con un informe anterior de Gentry *et al* (1969) acerca del efecto inhibitor

CUADRO 3: Influencia de nutrientes del suelo en la concentración de perlolina de festuca alta c.v. "El Palenque".

Origen del suelo	Concentración inicial de Nitrógeno total g %*	Concentración inicial de Fósforo ppm*	Concentración de perlolina **				
			Corte No				
			I	II	III	IV	V
Pergamino	0,150	51,4	111,4	22,2	0,4	357,5	333,3
Patín	0,360	28,9	186,4	144,5	2,1	42,5	69,1
Clenantú	0,290	18,6	214,4	88,4	8,4	248,3	125,1
Lauquen	0,130	12,8	168,8	42,9	4,5	248,9	136,0
Los Riojanos	0,320	9,9	349,6	125,7	47,4	237,5	127,6
San Alberto	0,090	7,6	238,6	158,0	61,6	115,8	120,6

Origen del suelo, según Materiales y Métodos. Fecha de los cortes y fertilización como en Cuadro 2.

* La concentración inicial de Nitrógeno total y Fósforo disponible, en los suelos, se determinó en la Cátedra de Edafología de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, según: Conti M.; Richter M.; Giuffré L. 1976, *IDIA*, 343-348: 719-722 y Bray R. H. y Kurtz T. 1945, *Soil Sci.*, 59: 39 respectivamente.

** La concentración de perlolina en las muestras se expresa como microgramos/g de pasto seco de acuerdo a $Eh_0 = 0,0128$, en 3 ml de CIH 0,01 N.

del fósforo del suelo sobre los niveles de perlolina en festuca.

El mecanismo bioquímico y/o biofísico, por el cual el fósforo disponible del suelo regula la concentración de perlolina en la planta es, en este momento, desconocido y merece, por tanto, estudios futuros.

La fertilización nitrogenada realizada entre el tercer y cuarto corte (ver Materiales y Métodos), produjo, respecto de la concentración de perlolina, una respuesta positiva en todos los ensayos, resultados que confirman los obtenidos por otros autores (Gentry et al., 1969; Bush y Buckner, 1973).

El conjunto de datos obtenidos permite suponer que la concentración de perlolina, a diferencia de la de lolina, estaría íntimamente relacionada a la disponibilidad de nutrientes del suelo.

CONCLUSIONES

- 1) *Festuca alta* c.v. "El Palenque", demostró ser fenotípicamente deficiente en lolina ya sea sometida a alta temperatura ambiente, variabilidad en la composición química del suelo y/o fertilización nitrogenada.
- 2) La concentración de perlolina no siempre responde a la disponibilidad de nitrógeno total en el suelo, sino que parece estar eventualmente condicionada, en forma inversa, a la concentración de fósforo disponible.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido apoyado por subsidios del CONICET (legajo N° 8808 a/80 y b/81), de C.A.F.P.T.A. (Plan N° 154/80/81), de SUBCYT (N° 9723/81-20) y de la Fundación Bunge y Born a través de la Fundación Facultad de Agronomía.

A.A.C.R.E.A. y Fundación Bunge y Born han contribuido mediante becas otorgadas a integrantes del equipo de trabajo.

Se agradece la colaboración del Sr. Gregorio J. Segal en las tareas de laboratorio.

El Profesor Luis A. Barberis y el Ing. Agr. Alfonso Struffolino han prestado su valioso asesoramiento en la realización de los cultivos en el invernáculo de la Cátedra de Fertilidad y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Se agradece a la Cátedra de Edafología el análisis químico parcial realizado sobre las distintas muestras de suelo ensayadas.

La EERA, INTA, Pergamino, ha provisto la semilla fiscalizada c.v. "El Palenque", utilizada en todos los ensayos y muestra de suelo de la misma Estación.

Productores y profesionales del agro han contribuido en la provisión de las distintas muestras de capa arable.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bacon C. W.; J. K., Porter; J. D. Robbins and E. S. Lutrell, 1977. Epichloe typhina from toxic tall fescue grasses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34 (5): 576-581.
- 2) Boling J. A.; L. P. Bush; R. C. Buckner; L. C. Pendlum; P. B. Burrus; S. G. Yates; S. P. Rogovin and H. L. Tookey, 1975. Nutrient digestibility and metabolism in lambs fed added perloline. *J. Anim. Sci.*, 40: 972-976.
- 3) Bush L. P.; J. A. Boling; G. Allen and R. C. Buckner, 1972. Inhibitory effects of perloline to rumen fermentation "in vitro". *Crop Sci.*, 12: 277-279.
- 4) Bush L. P.; J. A. Boling and S. G. Yates, 1979. Chap. XIII: Animal Disorders. In Tall Fescue. Ed. by R. C. Buckner and L. P. Bush. ASA Publications. Madison, Wisconsin. U.S.A. Pág. 247-272.
- 5) Bush L. P. and R. C. Buckner, 1973. Tall fescue toxicity. Ed. A. G. Matches. Antiquity components of forages. *Crop. Sci. Soc. Am.*, Madison, Wisconsin. Pág. 99-112.
- 6) Bush L. P. and J. A. D. Jeffreys, 1975. Isolation and separation of tall fescue and ryegrass alkaloids. *J. Chromatogr.*, 111: 165-170.
- 7) Bush L. P., C. Streeter and R. C. Buckner, 1970. Perloline inhibition of "in vitro" rumi-

- nal cellulose digestion. *Crop Sci.*, 10: 108-109.
- 8) Gentry C. E.; R. A. Chapman; L. Henson and R. C. Buckner, 1969. Factors affecting the alkaloid content of tall fescue. *Agron. J.*, 61: 313-316.
 - 9) Hoveland C. S.; R. L. Haaland; C. C. King Jr.; W. B. Anthony; E. M. Clark; J. A. Mc Guire; L. A. Smith; H. W. Grimes and J. L. Holliman, 1980. Association of *Epichloe typhina* fungus and steer performance on tall fescue pasture. *Agron. J.*, 72 (6): 1.064-65.
 - 10) Jones T. A.; R. C. Buckner; L. P. Bush; R. A. Chapman; P. B. Burrus; and D. R. Varney, 1981. Association of the endophytic fungus, *Epichloe typhina*, with loline alkaloid content of tall fescue. *Abs. Herbage abstracts*, 51 (8): 434.
 - 11) Ramírez de Guglielmon A. E. y A. M. Sáenz, 1980. Determinación de alcaloides de *Festuca arundinacea* (Schreb.) en relación con toxicidad. Memorias del III Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias. Ed. por Sociedad de Medicina Veterinaria. Buenos Aires. Pág. 204-214.
 - 12) Ramirez de Gugliemone A. E.; A. M. Sáenz; M. A. Carabelli; M. B. Guglielmoni; E. O. Basile; J. O. Sveruga, 1981. Festucas tóxicas e innocuas: Diferencias en el contenido de alcaloides y su relación con un ensayo preliminar a campo. *Rev. CREA*, 92: 40-47.
 - 13) Ramírez de Guglielmon A. E.; A. M. Sáenz; S. I. Gahan; M. A. Carabelli; M. Guglielmoni, 1982. Alcaloides de festuca: variaciones cuali-cuantitativas y toxicidad. Producción Animal vol. IX. En prensa.
 - 14) Tookey H. L. and S. G. Yates, 1972. The alkaloids of tall fescue: loline (festucine) and perloline. *Anales de la Real Sociedad Española de Física y Química.*, 68: 921-935.
 - 15) Yates S. G., 1963. Paper chromatography of alkaloids of tall fescue hay. *J. Chromatogr.*, 12: 423-426.
 - 16) Yates S. G. and H. L. Tookey, 1965. Festucine, an alkaloid from Tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.): Chemistry of the functional groups. *Aust. J. Chem.*, 18: 53-60.
 - 17) Yates S. G.; S. P. Rogovin; L. P. Bush; R. C. Buckner and J. A. Boling, 1975. Isolation of perloline, the yellow alkaloid of tall fescue. *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 14: 315-319.