

1941

1941
XX

VARIACION DEL ACEITE DEL PINUS PONDEROSA SEGUN LAS
ESTACIONES Y LA EDAD DE LAS AGUJAS

Secretario General del Consejo Federal de Inversiones

Ing. Juan José Ciácerá

Dirección Cooperación Técnica

Ing. Susana Blundi

Autores:

Fields W. Cobb
John Bergot
Hollis Barber

Responsable Técnico: Ing. Jorge Baldoni

Traducción: Lic. Marina Pulkrabek
Ing. Graciela Seigelchifer



CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

VARIACION DEL ACEITE DEL PINUS PONDEROSA SEGUN LAS
ESTACIONES Y LA EDAD DE LAS AGUJAS

Secretario General del Consejo Federal de Inversiones
Ing. Juan José Ciácerá

Dirección Cooperación Técnica
Ing. Susana Blundi

Autores:

Fields W. Cobb

John Bergot

Hollis Barber

+

Traducción: Lic. Marina Pulkrabek

Ing. Graciela Seigelchifer

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

VARIACION DEL ACEITE DEL PINUS PONDEROSA SEGUN LAS ESTACIONES Y LA EDAD DE LAS AGUJAS

Eugene ZAVARIN, Fields W. COBB, Jr., John BERGOT y Hollis W. BARBER.

Laboratorio de productos forestales de la Universidad de California, Richmond, California y el Departamento de Patología Vegetal, Berkeley, California, U.S.A. (Recibido el 3 de junio de 1971).

Resumen

Se investigó la influencia de las estaciones y la edad de las agujas en el rendimiento y composición del aceite de las agujas del Pinus Ponderosa. El aceite rinde un producto de 0,13% sobre la base del peso del tejido verde. La composición promedio es de 11,9% de α -pineno, 70,2% de β -pineno, 8,0% de 3-careno, 5,0% de mirceno, 1,8% de limoneno, 2,2% de β -felandreno y 6,4% de metil chavicol (monoterpenos totales = 100%). La cantidad de metil chavicol y los monoterpenoides totales son más altos en verano, más bajos en las agujas maduras de un año y decrece con la edad. Un significativo aumento del 3-careno y disminución del β -pineno se registra en las agujas jóvenes.

Introducción

El avance más importante en la reducción de la variabilidad estacional y de edad de las muestras de las agujas empleadas en estudios ecológicos y quimicotaxonómicos lo constituyó la

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

exclusión de las muestras recogidas durante el período comprendido entre el despunte de las agujas y el tiempo en que alcanzan su máxima longitud.

Introducción

La composición y cantidad del aceite volátil presente en el follaje depende de los genotipos de la planta así como de diversas variables no genéticas conectadas con el medio ambiente y de los procesos asociados con el desarrollo de la planta. Si bien existen algunas investigaciones sobre los cambios estacionales en el rendimiento del aceite de Pinus, los resultados son contradictorios y los patrones varían de especie a especie. La variabilidad diurna del rendimiento del aceite fue objeto de un estudio en particular, se empleó el follaje de Pinus Sylvestris y se registraron amplitudes más bien bajas entre un 5 y 9%. Se dispone de menor cantidad de información sobre el cambio estacional en la composición del aceite. Okay informó que existía poca o ninguna variación en las cuatro especies de pinos turcos que incluyeron Pinus nigra y Pinus Sylvestris, mientras que Stankovic descubrió un aumento de los componentes más volátiles en invierno, así como un máximo de β -pineno en otoño, en el Pinus nigra de Yugoslavia. Juvonen, que trabajó con Pinus Sylvestris Finlandés no encontró grandes variaciones estacionales en la composición del aceite de agujas maduras, mientras que el aceite de agujas jóvenes y alargadas, variaba en gran medida en el contenido de α -pineno, el que aumentaba del 7,4% en junio a 36,4% en agosto. Con relación a los cambios anuales el aceite asociado con la edad de las agujas, Poltavtchenko, y colaboradores registraron en el mismo pino los rendimientos de aceite más altos en las agujas más jóvenes (recolectadas en invierno), los rendimientos disminuyen con la edad de las agujas pero sin registrar diferencias paralelas en la composición del aceite.

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

En conexión con nuestro trabajo en curso sobre la importancia ecológica del aceite de hoja de *Pinus Ponderosa* (correlación de los parámetros químicos con la susceptibilidad de la *P. Ponderosa* a los patógenos insectos y a la contaminación ambiental, pareció necesario el determinar la variabilidad estacional y la de año a año del aceite a fin de estandarizar los procedimientos de recolección y para evaluar los resultados de otros estudios. El presente estudio contiene los resultados de los esfuerzos experimentales en este sentido.

El aceite de las ramas y agujas del *Pinus Ponderosa* Laws que se obtuvo en un rendimiento del 0,11%, fue previamente investigado por Schorger, quien descubrió que estaba compuesto por un 2% de (-) α -pineno, 75% de (-) β -pineno, 6% de (+) limoneno, 7% de borneol, 2% de acetato de bornilo y 3% de "Aceite verde".

Resultados y Discusión

Cualitativamente nuestros resultados coincidieron en gran medida con la información obtenida por Schorger. Sin tener en cuenta los descubrimientos de algunos monoterpenoides adicionales, cuantitativamente menores, la única gran diferencia recidía en la identificación del metil chavicol como el principal componente del aceite, que a veces representaba.

Los componentes de alta ebullición aparecían en una cantidad menor. La variabilidad de árbol a árbol era baja en lo que concierne a los hidrocarburos monoterpeno pero la variabilidad del metil chavicol fue mayor (Tabla 1).

TABLA 1. COMPOSICION DEL ACHITE DE HOJA DEL PINUS PONDEROSA

Arbol N°	Rendimiento de aceite % en peso	Porcentajes de rendimiento de monoterpenos totales								
		Pineno	Car- feno	Pineno A3-Careno	Mirceno	Limoneno	Filan- treno	Metil Ebullición Chavi- col más alta desconoc.		
Porcentajes de rendimiento de monoterpenos totales*										
1	0.10	12.6	tr	80.7	3.5	2.1	0.5	0.6	3.1	0.2
2	0.06	12.4	tr	82.5	3.4	1.4	0.3	0.7	20.2	2.0
3	0.12	11.9	tr	83.2	1.5	1.5	1.2	1.2	55.0	2.6
4	0.09	11.6	tr	79.7	6.1	2.5	0.4	0.8	13.2	3.9
5	0.15	12.1	tr	81.5	1.0	3.7	1.0	1.7	2.7	4.4
Veinticinco árboles de Pinus Ponderosa de las inmediaciones+										
Media	0.13	11.9	-	70.2	8.0	5.0	1.8	2.2	6.4	Sin
Desviación estandar	0.05	1.5	-	6.9	2.8	3.7	1.1	1.5	5.8	determ.
Coefficiente de variación	0.35	0.12	-	0.09	0.35	0.74	0.61	0.68	0.90	

* Las agujas se desarrollaron en 1968 y se recogieron el 8 de mayo de 1969. El rendimiento se expresa en porcentajes sobre el total de agujas frescas y los componentes individuales (que en este caso incluyen el metil chavicol) sobre la base de hidrocarburos monoterpénicos fijados en 100%. El terpenoleno se hallaba presente en algunas muestras aunque nunca en grandes cantidades; no se registró la presencia del salineno ni del -felandreno, así como Y -terpinenos. En algunas muestras de encontraron vestigios de un componente desconocido, al que tentativamente se identificó como cis-ocimeno.

+ Agujas desarrolladas en 1969, muestras recogidas en julio de 1969.

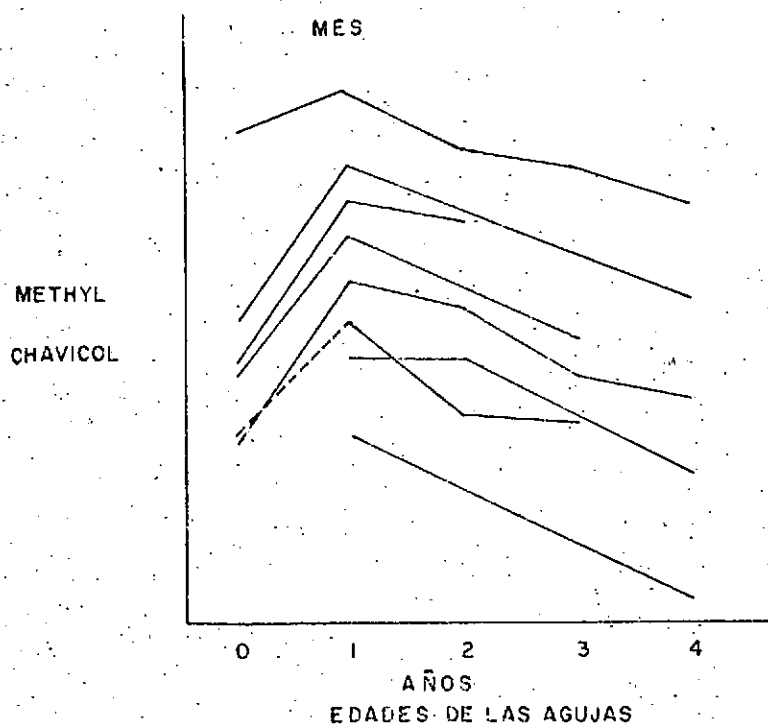
CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

Los mecanismos biosintéticos generales que generan los componentes del aceite de hojas del *Pinus Ponderosa* pueden ser considerados como probados. Por lo tanto se puede aceptar que la formación de los monoterpenoides pasa una etapa merlonato pirofosfato de nerilo, seguido por la de diferenciación de compuestos individuales. Sin embargo, el metil chavicol que posee una cadena lateral de n-propilo unido a un núcleo benzeno en posición para un metoxil, probablemente se origina a través de la etapa ácido-shikimic. Esto se demostró por medio de la marcación radiactiva para el anetol que es el isómero de doble unión del metil chavicol. Debido a la gran diferencia entre la biogénesis del metil chavicol y la de los monoterpenos, hemos decidido separar los resultados analíticos expresando los contenidos del metil chavicol y los del monoterpeno total separadamente, y la concentración de los monoterpenos individuales se expresa en porcentaje respecto al total. Los estudios de variabilidad se basaron sobre cinco juegos separados de muestras de agujas obtenidas de cinco árboles de *P. Ponderosa*; el muestreo se realizó mensualmente desde mayo a octubre y de diciembre a marzo, manteniendo y analizando separadamente las agujas crecidas en varios años.

Para analizar las diferencias entre las agujas crecidas en distintos años, los resultados analíticos fueron estandarizados separadamente para cada árbol y la recolección mensual estableciendo los valores para las agujas de maduración más jóvenes (por ejemplo, brotes de agujas terminales en marzo y mayo, y los brotes cercanos a la juventud para otros meses) en = 1,0; de esta forma se minimizó la variabilidad entre los árboles.

Los valores medios para los cinco árboles estudiados en cada mes se muestran las figuras L-3. Con las agujas maduras los resultados indican un descenso altamente significativo en el metil chavicol a medida que las agujas envejecen (Fig. 1).

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES



El contenido de metil chavicol de las agujas jóvenes, en crecimiento es, sin embargo mucho más bajo que las agujas maduras vecinas. Esta diferencia aparece inclusive en octubre, mucho más allá del tiempo en que las agujas alcanzan su extensión máxima (Agosto). Los resultados son cualitativamente similares en el caso de contenido total de terpeno de las agujas, aunque las diferencias son menores y menos definidas. Tal como ocurre con el metil chavicol, las agujas más viejas y las que están en crecimiento poseen el contenido total de terpeno más bajo (Fig. 2). Sin embargo, la característica del nivel del terpeno en las agujas maduras se alcanza más temprano, probablemente antes de que las agujas alcancen a su máxima longitud. Desde el punto de vista biosintético el metil chavicol está más estrechamente vinculado con la formación del lignino que los terpenoides y la diferencia que se encontró se puede atribuir al insumo de los precursores comunes, necesarios para la formación de la pared celular de la planta.

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

Se sabe que algunos procesos de crecimiento (por ejemplo acumulación de lignino) y los de fotosíntesis continúan bastante más allá de la longitud máxima de la aguja.

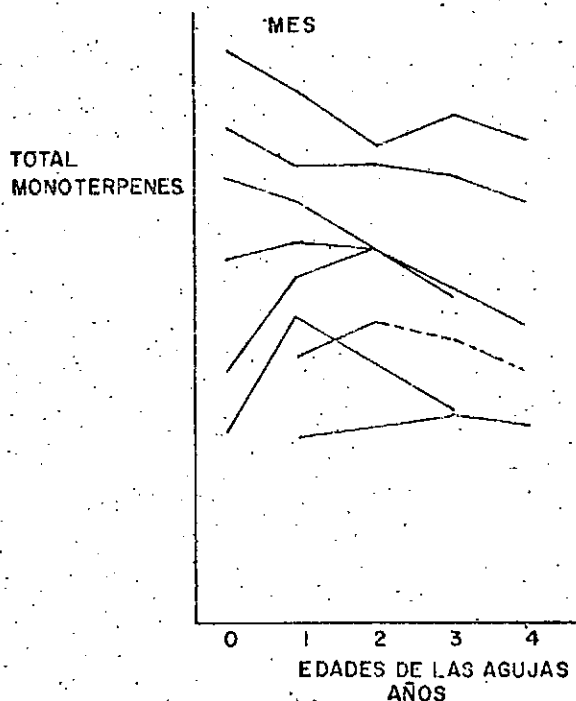


FIG. 2: CAMBIOS ANUALES EN EL CONTENIDO DE MONOTERPENOS TOTALES REFERIDOS A LA INFORMACION DE AGUJAS DE UN AÑO DE EDAD, CONSIDERADAS COMO = 1,0; DIVISIONES ORDENADAS = 0,1.

Se observa una regularidad menor en los cambios de la composición de monoterpenoides. El 3-careno era significativamente más alto (Fig. 3) y el β -pineno más bajo (0,83 en junio y 0,91 en julio) en las agujas en desarrollo en los meses de verano, que no se asocia la regularidad de los cambios en el α -pineno, los resultados también indicaron un contenido más elevado de mirceno, limoneno, β -felandreno, y terpinoleno en las agujas nóvenes en verano, si bien los bajos porcentajes y la inexactitud analítica correspondiente produce

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

resultados estadísticamente significativos sólo raramente a un nivel 0,5% (t-test). Sin embargo, combinando los resultados no estandarizados obtenidos en junio, julio y agosto produjeron diferencias significativas entre las agujas jóvenes y las maduras cercanas para los cuatro terpenos (Tabla 2), prácticamente no existía diferencia entre las muestras derivadas de las agujas maduras de distintas edades recolectadas en estos u otros meses.

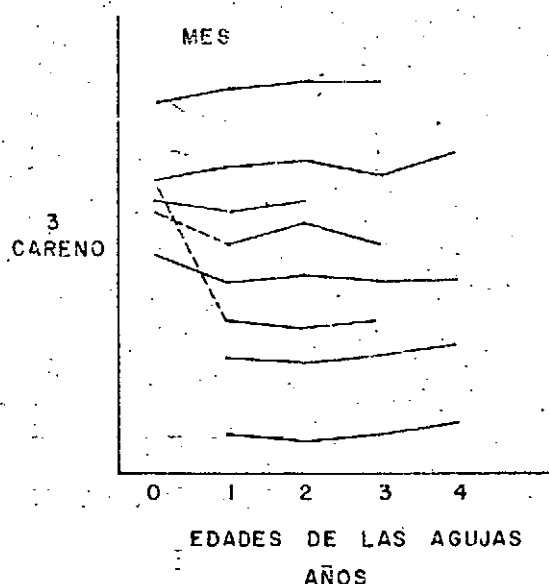


FIG. 3: CAMBIOS ANUALES EN EL CONTENIDO DE 3-CARENO DE LOS MONOTERPENOS, REFERIDOS A LA INFORMACION DE AGUJAS DE UN AÑO DE EDAD, CONSIDERADAS COMO - 1,0; DIVISIONES ORDENADAS - 1,0.

Se analizaron los cambios en la dispersión de los valores de todos los componentes de aceite volátil de las agujas crecidas en varios años teniendo en cuenta de nuevo los resultados de junio, julio y agosto (Tabla 2). En la mayoría de los casos estadísticamente significativos las mejores desviaciones

VARIACION DEL ACEITE EN LAS AGUJAS DEL PINUS PONDEROSA RESPECTO A LAS ESTACIONES Y LA EDAD DE LAS AGUJAS.

TABLA 2. CAMBIOS EN EL CONTENIDO Y COMPOSICION DEL ACEITE EN AGUJAS DE EDADES DIVERSAS+

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

COMPONENTE†	EDAD DE LAS AGUJAS (AÑO)	CONTENIDO MEDIO	DEVIACION ESTANDAR	COEFICIENTE DE VARIACION
Metil-Chavicol	0	0.5***	0.7**	1.33*
	1	2.2	1.7	0.79
	2	2.1	2.1	1.00
	3	1.4	1.2	0.83
	0	7.8***	4.5	0.58**
	1	14.5	4.7	0.32
Total de monoterpenos	1	13.7	4.8	0.35
	2	11.4	4.5	0.39
	3	12.2	1.6	0.13
	0	12.3	1.3	0.10
	1	12.8	2.3	0.17
	2	12.6	1.6	1.12
-Pinoeno	0	69.4***	7.4**	0.11**
	1	76.9	4.2	0.055
	2	76.0	5.6	0.074
	3	76.8	3.9	0.050
	0	11.0**	5.7**	0.52
	1	5.7	3.9	0.67
3-Careno	1	6.1	3.6	0.58
	2	5.6	2.9	0.50
	3	3.4*	1.3	0.39-
	0	2.3	1.1	0.47
	1	2.5	0.8	0.30
	2	2.8	0.6	0.23
Mirceno	3	1.8*	0.8**	0.44*
	0	1.3	0.3	0.25
	1	1.2	0.4	0.31
	2	1.0**	0.4	0.35
	3	2.0**	0.5	0.27**
	0	1.4	0.5	0.39
Limoneno	1	1.3	0.6	0.47
	2	1.3	0.6	0.46
	3	1.1**	0.9**	0.81
	0	0.2	0.3	-
	1	0.1	0.2	-
	2	0.1	0.2	-
-Felandreno	3	0.1	0.2	-
	1	0.1	0.2	-
	2	0.1	0.2	-
Terpinoleno	3	0.1	0.2	-
	1	0.1	0.2	-
	2	0.1	0.2	-

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

TABLA 2 - Continuación

- + Muestras combinadas de los meses de junio, julio y agosto. Los símbolos de la significación de niveles para las diferencias entre el valor indicado y el que le sigue: (*) -0,05%, (**) -0,01%, (***) 0,001%. Para las medias se utilizó el t-test y para la desviación estándar y el coeficiente de variación el F-test. Las diferencias en las medias entre las agujas de un año y de tres fueron significativas en el caso de los monoterpenos totales y del limoneno.
- + El metil chavicol y los monoterpenos totales en porcentajes en 100% del peso de las agujas frescas; los monoterpenos en porcentuales del total.

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

standard o coeficientes de variación se encontraron en relación a las agujas en desarrollo; esto se puede explicar en términos de mayor actividad metabólica del follaje joven.

Los cambios mes a mes, del rendimiento y la composición del aceite fueron demasiado variables para mostrar cualquier tendencia estadísticamente exacta. Por esta razón la información para los dos verticilos florales terminales (no se consideraron los análisis de las agujas jóvenes de junio-octubre) se acumularon y luego se analizaron estadísticamente en forma de cuatro grupos: invierno (diciembre a marzo), primavera (mayo a junio), verano (julio a agosto) y otoño (septiembre a octubre). (Tabla 3). Estas diferencias entre las estaciones respecto a las desviaciones media y standard, parecen ser considerables y se asocian principalmente con los meses de verano. Esto indica que el aumento de la actividad metabólica durante el crecimiento afecta tanto a las agujas maduras como a las jóvenes. Fueron especialmente llamativos los valores máximos estivales del metilchavicol y los rendimientos del terpeno total y los mínimos para el metil chavicol en primavera y los terpeno totales en otoño. En términos de la composición del monoterpeno lo característico fue un máximo de 3-careno en verano y el correspondiente mínimo de α -pineno e igualó lo que había descubierto en las agujas jóvenes.

Se puede considerar que las variaciones totales asociadas con los cambios en los componentes individuales del aceite debidos a la estación y ala edad de la aguja está integrada por dos componentes: un componente sistemático, que comprende los mismos cambios en el aceite del follaje de los árboles analizados y un componente fortuito. Ambos componentes pueden afectar adversamente cualquier estudio correlativo basado en estos aceites (por ejemplo: las correlaciones con la susceptibilidad del P.Ponderosa y los hongos, insectos o a la contaminación ambiental, estudios genéticos o químico-taxómicos)

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

al confundir cualquier correlación existente agregando variaciones extrañas (cambios fortuitos) e introduciendo correlaciones no existentes a través de la incorporación de covariaciones extrañas (cambios sistemáticos). De esta manera se indica alguna estandarización del muestreo que incluyen la estación y la edad de la aguja. La evaluación de la eficacia de los diversos métodos de recolección de muestras se realizó por cálculo de las variaciones fortuitas y sistemáticas en forma separada para distintos métodos de recolección de muestra. La Tabla 4 muestra los resultados con cada componente de variación, expresado como porcentaje de la correspondiente variación árbol a árbol (básicamente genética). Los cambios sistemáticos y fortuitos más grandes que se acercan o inclusive sobrepasan las variaciones de árbol a árbol, se relacionaron con el mental chavicol y con las muestras de junio, julio y agosto. En concordancia, la mayor supresión del componente de los dos tipos de variación se obtuvo descartando estas muestras. El descarte de las agujas jóvenes mejoró los resultados. Por extraño que parezca, no se lograron mejoras con la mayor estandarización del muestreo en términos de edad de las agujas.

TABLA 3. VARIACION ESTACIONAL EN EL RENDIMIENTO Y LA COMPOSICION DEL ACEITE VOLATIL

Componente	Estación	Rendimiento medio	Significación estadística del cambio en el rendimiento	Desviación estándar	Significación estadística del cambio en la desviación estándar
Metil-chavicol	Invierno	1.5	ns	1.0	ns
	Primavera	0.9	0.001	1.1	0.02
	Verano	2.7	0.005	1.9	0.01
	Otoño	1.5	ns	1.0	ns
	Invierno	10.5	ns	3.8	ns
	Primavera	11.1	0.025	4.5	ns
Total de monoterpénoides	Verano	14.5	0.001	4.7	ns
	Otoño	8.7	ns	4.1	ns
	Invierno	11.8	ns	0.8	ns
	Primavera	11.8	0.01	1.0	0.002
	Verano	12.9	ns	1.9	0.05
	Otoño	12.4	ns	1.2	0.05
-Pino	Invierno	78.5	0.005	3.0	ns
	Primavera	81.4	0.001	3.1	0.05
	Verano	75.0	0.005	4.8	ns
	Otoño	79.0	ns	3.5	ns
	Invierno	4.4	0.01	2.0	ns
	Primavera	2.9	0.001	1.5	0.001
3-Careno	Verano	6.9	0.001	3.7	0.02
	Otoño	3.7	ns	2.1	ns
	Invierno	2.8	ns	0.7	ns
	Primavera	2.5	ns	1.0	ns
	Verano	2.3	ns	0.7	ns
	Otoño	2.4	ns	0.5	ns
Mirreno	Invierno	1.3	0.05	0.4	ns
	Primavera	1.0	ns	0.5	ns
	Verano	1.2	0.025	0.4	ns
	Otoño	1.6	0.05	0.4	ns
	Invierno	1.8	0.001	0.4	ns
	Primavera	1.1	ns	0.4	ns
Felandreno	Verano	1.4	0.01	0.6	0.02
	Otoño	1.9	ns	0.3	ns

CONSEJO FEDERAL DE INVERSIONES

TABLA 3 - Continuación

- * La significancia se comprobó utilizando el t.test para las medias y el F.test para la desviación estandar, los valores responden a las diferencias entre la estación dada y la inmediata siguiente.
- + Las cifras indican grado de probabilidad; ns = no significativo.

TABLA 4. EFICACIA DE LOS METODOS DE RECOLECCION DE MUESTRAS DEL FOLLAJE

Grupo de muestras	Metil Chavicol		Total de Monoterpenos		-Pineno		-Pineno		A ³ -Careno	
	V _r *	V _s	V _r	V _s	V _r	V _s	V _r	V _s	V _r	V _s
Todas las muestras	214	104	53	25	64	6.5	38	24	85	77
Todas las muestras, agujas jóvenes sin considerar las de junio-octubre	225	82	52	26	60	11	24	12	37	33
Locales florales, sólo los que siguen a las agujas terminales	248	120	49	25	57	15	19	13	41	35
Agujas maduras, sólo las desarrolladas en el mismo año	237	138	52	30	56	18	22	14	39	42
Todas las muestras con excepción de las de junio-julio	133	17	40	8	34	1.5	17	6.5	27	7
Todas las muestras con excepción de las de junio-julio-agosto	92	24	33	3	29	1.5	14	8.5	16	5.5
Muestras de junio-julio-agosto solamente	277	261	74	58	112	17	60	22	160	86

V_rV_s: Componentes de variación fortuita y de variación sistemática, expresados en porcentajes de la variación árbol a árbol, V_s (Metil chavicol -0,49, monoterpenos totales -17,56, -pineno -2,25, -pineno -47,6 y 3-careno -7,8), éste último calculado en base a los datos de 25 árboles de la Tabla 1.