



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y DEL MANEJO DE CULTIVO SOBRE
LA CALIDAD Y COMPOSICIÓN DEL ALCAUCIL
(*Cynara cardunculus var. scolymus* L.)**

Ing. Agr. (Esp.) Rosana Rotondo

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

DIRECTOR: Farm. Prof. (Dra.) Andrea M. Escalante

CO- DIRECTOR: Ing. Agr. (Dr.) Gustavo R. Rodríguez

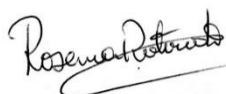
2021

**INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y DEL MANEJO DE CULTIVO SOBRE LA CALIDAD Y
COMPOSICIÓN DEL ALCAUCIL (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.)**

Rosana Rotondo

Ingeniera Agrónoma – Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, durante el período comprendido entre junio de 2013 y junio de 2019, bajo la dirección de la Farm. Prof. Dra. Andrea M. Escalante.



Ing. Agr. (Esp.) Rosana Rotondo

Nombre y firma del Doctorando



Farm. Prof. (Dra.) Andrea M. Escalante

Nombre y firma del Director



Ing. Agr. (Dr.) Gustavo R. Rodríguez

Nombre y firma del Co – Director

Defendida:de 2021

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente el trabajo en equipo de mis directores Andrea y Gustavo, que lo dieron todo, me animaron y guiaron constantemente. A Stella que me acompañó en la primera etapa de esta tesis y me transmitió el amor por el cultivo del alcaucil.

A mis compañeros de la Cátedra de Horticultura, con quienes tengo la bendición de compartir la pasión por la Horticultura, la docencia, el trabajo cotidiano, los proyectos, la vida; en las buenas y en las malas. Gracias de corazón a Teresita, Stella, Jorge, Marta, Rodolfo, Mauricio, Cristina, Paula, Eduardo, David, Gabriela, Elisa y Ornela. A todos y cada uno de los ayudantes de la Cátedra, entusiastas estudiantes llenos de sueños y energía, Daiana, Josué, Mariano, Diego, José, Agostina, Danisa, César, Alexis, Cristian, Victoria, Sebastián y Sofía, con quienes compartimos tantas charlas, prácticos, congresos, trabajo en el campo y laboratorio.

A Toni, Hernán, quienes cuidan y trabajan la Sección de Horticultura, siendo parte del camino recorrido en esta tesis. Mi recuerdo para Florida y Ramón.

A los investigadores de las Cátedras de Genética y Mejoramiento Vegetal, con quienes compartimos el trabajo en la querida Sección de Horticultura de Agrarias.

A todos los investigadores del Departamento de Química que trabajaban en el IIDEFAR (UNR-CONICET), Ricardo, Andrea, Carlos, Gastón, Pablo, Ayelén, Maia, Mario, Paula, quienes me recibieron siempre con una sonrisa y compartieron todo.

A Marianela y Milagros, por formar parte del equipo de trabajo y brindar todo lo mejor, con entusiasmo y dedicación, en el IBR y la Universidad del Litoral.

A Jaime, Ana y Elena, por abrirme generosamente las puertas del COMAV. A Alicia y Pere por brindarme su hogar, calidez y confianza en la hermosa Valencia, España.

A la querida Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, mi casa, mi lugar y a todas las personas que la componen, trabajando para su crecimiento.

A Beatriz, que vino desde México a preparar extractos de alcaucil. A Patricia y Alicia por sus aportes. A los investigadores de la Planta Piloto de Producción de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR. A la empresa Nunhems por proveer de las semillas. En fin a todos los proyectos, instituciones y personas que no llevo a nombrar y que hicieron posible esta tesis. Simplemente gracias por todo a todos.

DEDICATORIA

A mis padres que me inculcaron el amor a la vida, a la vocación profesional, me animaron a luchar por los sueños, con perseverancia, esfuerzo y alegría; a seguir caminando a pesar de las dificultades, a brindar todo lo mejor de sí mismo, con sencillez y responsabilidad. A Tomy y Luis, gracias y a toda la familia que Dios me regaló.

A mi esposo e hijos que me acompañaron en todo momento en este gran desafío, en la comprensión de la vida diaria, en el apoyo incondicional. A Daniel, Ezequiel y Denise, para ustedes también este fruto.

PUBLICACIONES

. García S.M.; Rotondo R.; López Anido F.; Cointry E.; Santa Cruz P.; Furlán R.; Escalante A.M. 2016. Influence of irrigation on the chemical compounds in leaves in vegetative and reproductive stage and bracts of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). Acta Horticulturae ISHS 1147:95 - 102. http://www.actahort.org/books/1147/1147_14.htm.

. García S.M.; Rotondo R.; López Anido F.; Cointry E.; Santa Cruz P.; Furlán R.; Escalante A.M. 2016. Effect of giberelic acid application on the content of active compounds in leaves and bracts of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). Acta Horticulturae ISHS 1147:103-112. http://www.actahort.org/books/1147/1147_15.htm.

. Divulgación científica. Aprovechamiento de la biomasa de residuos agroindustriales como fuente de compuestos químicos de interés. Catálogo INNOVAR 2016. Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación Productiva de la Nación.

. Rotondo R.; Santa Cruz P.; Masin M.; Burgi M.; Girardini J.; García S.M.; Rodríguez G.; Furlán R.; Escalante A.M. Artichoke extracts with potential application in chemoprevention and inflammatory processes. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. Manuscript ID BJPS-2019-0238.R1. En prensa.

. Rotondo R.; Romero, D.; Grasso, R.; Ortiz Mackinson, M.; Balaban, D.; Samardich, D.; Rodríguez, G.; Périgo, C.; Escalante, A. Caracterización de la biomasa residual de genotipos de alcaucil para su potencial aplicación en alimentos. Enviado a publicar en diciembre 2019 a Revista RIA. Investigaciones Agropecuarias. INTA. En evaluación.

PRESENTACIONES A CONGRESOS, PASANTIAS y PREMIOS

. **Trabajos presentados en reuniones científicas** con resultados del trabajo de tesis, desde 2015 a 2020: total 21 presentaciones en eventos nacionales e internacionales.

. **Estancia de investigación** en Instituto Universitario de Conservación y Mejora de Valencia (COMAV) Universidad Politécnica de Valencia, España; durante abril y mayo de 2019. Director Dr. Jaime Prohens. Programa AVE Docente 3° llamado 2018.

. **Premio mejor trabajo científico** en el área Biomédica. Rotondo, R.; Masin, M.; Bürgi, Milagros (ex aequo); Rodríguez, G.; Escalante, A. Genotipos de alcaucil con potenciales aplicaciones en procesos inflamatorios y patologías autoinmunes. XI Congreso Anual y XL Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario. Rosario, 2019.

INDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
HIPÓTESIS Y OBJETIVO GENERAL	15

CAPÍTULO I: Influencia del riego, la fertilización y aplicación de ácido giberélico en variables químicas, morfológicas y productivas en plantas de tres cultivares de alcaucil FCA

-Introducción.....	17
-Objetivo específico.....	19
-Materiales y métodos.....	20
-Resultados	
.Variables químicas y estructurales.....	42
.Variables morfológicas y color.....	54
.Variables productivas.....	64
.Análisis multivariado.....	75
-Discusión.....	84
-Conclusiones.....	96

CAPÍTULO II: Influencia de diferentes dosis de ácido giberélico en variables químicas, morfológicas y productivas, en plantas de un híbrido de alcaucil.

-Introducción.....	98
-Objetivo específico.....	101
-Materiales y métodos.....	101
-Resultados	
.Variables químicas y estructurales.....	112
.Variables morfológicas y color.....	117
.Variables productivas.....	121
-Discusión.....	126
-Conclusiones.....	133

CAPÍTULO III: Influencia de diferentes dosis de ácido giberélico en variables químicas, morfológicas y productivas, en plantas de cultivares e híbridos de alcaucil.

-Introducción.....	135
-Objetivo específico.....	137
-Materiales y métodos.....	137
-Resultados	
.Variables químicas y estructurales.....	159
.Variables morfológicas y color.....	169
.Variables productivas.....	175
.Análisis comparativo en Madrigal F1.....	186
-Discusión.....	190
-Conclusiones.....	201

CAPÍTULO IV: Influencia de los genotipos y manejos de cultivo en alcaucil, sobre la actividad química y biológica de los extractos.

-Introducción.....	203
-Objetivo específico.....	205
-Materiales y métodos.....	205
-Resultados	
.Ensayo de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH).....	214
.Ensayo de cultivo y proliferación de células tumorales.....	220
.Ensayo de activación del interferón alfa humano recombinante (rhIFN).....	223
-Discusión.....	227
-Conclusiones.....	232

CONSIDERACIONES FINALES..... 233

BIBLIOGRAFÍA..... 235

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AC: ácido clorogénico
AG₃: ácido giberélico
ALF: alto del fondo
ANAVA: análisis de la variancia
ANF: ancho del fondo
APIG: apigenina
BI: bráctea interna
BM: bráctea media
BE: bráctea externa
CCD: cromatografía capa delgada
CIN: cinarina
CP1: componente principal 1
CP2: componente principal 2
DAC: días a cosecha
DCQ: ácidos dicafeoilquínicos
DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo
DX: doxorubicina
EGFP: proteína reportera verde fluorescente
EGR: ensayo de gen reportero
EtOH: alcohol etílico o etanol
F: fondo
FCA: Facultad de Ciencias Agrarias
FI: fibra
FRA: cultivar Francés
GA: cultivar Gauchito
GU: cultivar Gurí
H: hoja
HI: hijuelo
HPLC: cromatografía líquida de alta presión
IC: índice de color
IFN: interferón
KAEM: kaempferol
LUT: luteonina
MA: híbrido Madrigal

MetOH: alcohol metílico o metanol
MIRIC: miricetina
NCAPL: número de capítulos por planta
OP: híbrido Opal
OV: cultivar Oro verde
P/P: peso en peso
P/V: peso en volumen
PAF: pardeamiento del fondo
PE: planta entera
PF: peso fresco
PS: peso seco
QUER: quercetina
RAA: relación alto/ancho
RAD: relación alto/diámetro
Rf: factor de retención
Rt: tiempo de retención
S: semilla
TA: programa Tomato Analyzer 3,0
UV: ultra violeta

RESUMEN

El alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*), es una hortaliza originaria de la cuenca mediterránea. En Argentina se producen alrededor de 111.000 toneladas, siendo la zona de La Plata (Provincia de Buenos Aires), el mayor núcleo productivo con el 64% de la superficie, seguido por el Cinturón Hortícola de Rosario (Provincia de Santa Fe), con el 14% y un valor similar en la zona de Cuyo (Provincias de Mendoza y San Juan. Su mayor destino es el consumo en fresco, pero también se procesa y tiene múltiples aplicaciones en la industria farmacéutica y alimenticia. Es una especie con abundante presencia de compuestos fitoquímicos o metabolitos bioactivos y es denominado “alimento funcional”, “farmacoalimento” y/o “nutracéutico”, ya que puede prevenir enfermedades. Para ampliar el espectro varietal y tener oferta de calidad la mayor parte del año, es necesario estudiar a los cultivares nacionales e híbridos extranjeros en su respuesta al manejo del cultivo en las condiciones regionales. La aplicación de ácido giberélico (AG₃) es una práctica difundida en los sistemas productivos para obtener precocidad, pero sin investigación sobre la dosis más adecuada a emplear y su influencia en caracteres químicos, morfológicos y productivos. La abundante biomasa que queda al concluir la cosecha de capítulos, no aprovechada actualmente en nuestro país, podría ser interesante como fuente de principios activos y fibra. El primer objetivo fue determinar la influencia del riego, la fertilización y aplicación de AG₃, en variables químicas, estructurales, morfológicas y productivas, de diferentes partes de la planta y dos rangos de cosecha, en cultivares obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Los extractos metanólicos preparados con material fresco se analizaron por cromatografía líquida de alta eficiencia. La mayor agrupación de variables y manejos de cultivo se dio por variabilidad genotípica. Se destacó Gauchito por un mayor contenido de ácidos cafeoilquínicos en brácteas y hojas, rendimiento productivo; menor pardeamiento y contenido de fibra en el fondo. Los manejos de cultivo influyeron diferencialmente en los cultivares, con mayor impacto en aspectos productivos. El segundo objetivo fue profundizar en el manejo del AG₃ aplicado a un híbrido importado, multiplicado por semilla y su efecto en las variables químicas, morfológicas y productivas. Los tratamientos de diferente número de aplicaciones de AG₃ en plantas del híbrido Madrigal tuvieron efecto en la mayoría de las variables evaluadas, especialmente las químicas y productivas. Con dos aplicaciones se incrementó el contenido de ácido clorogénico y ácidos dicafeoilquínicos en las partes comestibles, disminuyó el contenido de fibra y el pardeamiento del fondo. Las variables morfológicas y el color del capítulo no presentaron cambios importantes. En base a los resultados obtenidos se aplicaron los mismos tratamientos de AG₃ en cultivares e híbridos,

multiplicados por semillas e hijuelos. Se incorporó el estudio de flavonoides, preparación de extractos etanólicos de material fresco y seco y el estudio de la planta entera. Los genotipos se diferenciaron entre sí según la variable analizada y la parte de la planta evaluada, permitiendo destacar de cada uno sus componentes químicos, calidad comercial y productiva, como así también valorizar su biomasa en cultivos de doble propósito. Los genotipos influyen en el contenido de compuestos cafeoilquínicos y flavonoides en cultivares e híbridos. Dos y tres aplicaciones de AG₃ impactan positivamente en la mayoría de las variables productivas y con una aplicación aumenta el contenido de ácidos cafeoilquínicos en los híbridos. En los hijuelos del híbrido Madrigal, extraídos de plantas multiplicadas por semilla el año anterior; la multiplicación por semilla evaluada en dos años consecutivos y las dos formas de multiplicación en el mismo año conservan estables variables relevantes y otras mejoran, con diferencias dadas por las condiciones del año y el ciclo del cultivo. Finalmente se estudió la actividad química y biológica de extractos de diferentes partes del alcaucil, de distintos genotipos y manejos de cultivo. Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos se utilizó cromatografía en capa delgada y como revelador al compuesto 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH). Se aplicaron ensayos de cultivo y proliferación de células tumorales SH-SY5Y de neuroblastoma humano y de activación del interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α) utilizando un ensayo gen reportero (EGR) basado en células WISH. Los extractos de todas las partes de las plantas evaluadas muestran la capacidad de captar radicales del DPPH, independientemente del genotipo, del tratamiento y del año, siendo las brácteas las más activas. Los extractos de hojas de Gauchito y Gurí reducen significativamente la proliferación de células tumorales de neuroblastoma humano, mostrando potencial de inhibir la viabilidad de una línea de células cancerígenas con un efecto residual, sin afectar a las células normales. Los extractos de hojas de Gurí y Madrigal multiplicado por hijuelo, ambos de plantas no tratadas con AG₃, presentan el mayor efecto inhibitorio del IFN- α . Los resultados de esta tesis aportan valiosos conocimientos sobre los genotipos locales y extranjeros de alcaucil, su comportamiento agronómico ante diversos manejos en las condiciones regionales, la calidad de sus capítulos, la productividad en cultivo de doble propósito y las potenciales aplicaciones biológicas de sus extractos. Revalorizar el cultivo del alcaucil en Argentina para sus múltiples aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica, permitirá una mayor amplitud económica y ecológica en los sistemas productivos hortícolas.

INFLUENCE OF GENOTYPE AND CROP MANAGEMENT ON QUALITY AND COMPOSITION OF GLOBE ARTICHOKE (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.)

ABSTRACT

Globe artichoke in Argentina is mainly cultivated in Buenos Aires, Mendoza and Santa Fe provinces. Its main destination is fresh consumption or processed but has potential to multiple applications in the pharmaceutical and food industries. With this vision, the first aim of the thesis was to determine the influence of irrigation, fertilization and application of GA₃, in cultivars obtained in the Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Methanolic extracts prepared with fresh material were analyzed by high-performance liquid chromatography. The cultivar type had more impact on the variables than the crop. The crop management impacted differentially on the cultivars, being greater on productive aspects. The second aim was to deepen the GA₃ application on hybrid multiplied by seeds. The treatments with different number of GA₃ applications in plants of the Madrigal hybrid affected most of the evaluated variables, especially the chemical and productive ones. With two applications, the content of both chlorogenic and dicaffeoylquinic acids was increased in the edible parts, whereas the fiber content and the browning of the bottom decreased. When the same treatments of GA₃ were applied on cultivars and hybrids, multiplied by seeds and suckers, each genotype was distinguishable by its nutritional properties, commercial and productive quality, as well as to its biomass for dual-purpose crops. Genotypes influenced on the content of caffeoylquinic compounds and flavonoids in cultivars and hybrids. With two and three applications of GA₃, a positive impact on most of the productive variables was observed. Finally, the chemical and biological activity of the extracts of different parts of the artichoke, in different genotypes and cultivation practices, was studied. The extracts from all plant parts showed the ability to capture DPPH free radicals, and the bracts produced the highest activity. Gauchito and Gurí leaf extracts significantly reduced the proliferation of human neuroblastoma tumor cells. Gurí and Madrigal leaf extracts multiplied by suckling, both from plants not treated with GA₃, showed the best inhibitory effect on IFN- α . The results of this thesis provide valuable knowledge about the local and foreign genotypes of artichoke, its agronomic behavior under different handling in regional conditions, its quality as food and productivity for a dual-purpose cultivation by the potentiality of its extracts to pharmaceutical applications. Revalue the cultivation of artichoke in Argentina will allow a greater economic and ecological amplitude in the horticultural production systems as well as in food and pharmaceutical industries.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Generalidades del cultivo de alcaucil

La especie *Cynara cardunculus* está formada por tres subespecies principales pertenecientes a la familia de las Asteráceas o Compuestas: el cardo silvestre *Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori, el alcaucil *Cynara cardunculus* var. *scolymus* L. Fiori y el cardo cultivado *Cynara cardunculus* var. *altilis* DC (Rottenberg y Zohary, 2005; Sonnante et al., 2007). El progenitor común de las subespecies cultivadas, es decir, el alcaucil y el cardo cultivado, es el cardo silvestre. Tras la última glaciación esta especie se extendió desde el norte de África hacia la parte oriental y occidental de la cuenca mediterránea, cuya domesticación se produjo en el sur de Italia (Pignone y Sonnante, 2009).

Es probable que en los albores del cultivo de alcaucil (2000 o 2500 a.C.), se consumieran sólo los tallos florales y las nervaduras carnosas de las hojas, como ocurre con el cardo, debido a que las inflorescencias eran muy pequeñas, espinosas y de sabor desagradable (Bartual, 1985). Con el tiempo y la selección genética, el cultivo fue evolucionando hacia las formas actuales. La domesticación del alcaucil tuvo lugar en el siglo XV en los monasterios cristianos de Sicilia, los árabes lo extendieron a otras regiones mediterráneas, mientras que Italia fue una conexión importante para su propagación por el norte de Europa central y oriental (Pignone y Sonnante, 2004). En el siglo XVI llegó a Francia de la mano de Catalina de Médicis y luego los navegantes franceses la introdujeron en América del Norte. Los inmigrantes italianos, a principios del 1900, introdujeron en Argentina las primeras cultivares, adaptando las prácticas agronómicas que realizaban en Italia a las condiciones locales (García et al., 2005).

Morfología y Fisiología de la planta de alcaucil

El alcaucil, como hortaliza, es una planta herbácea perenne y erecta (Bianco, 2005; Pignone y Sonnante, 2009; Hurell et al., 2017). La planta posee un sistema radical extraordinariamente potente, que le permite adaptarse a una extensa gama de suelos. Se inserta en un rizoma muy desarrollado, en el que se acumulan las reservas alimenticias. En plantas originadas de semillas, es pivotante y en aquellas provenientes de la multiplicación asexual, es ramificado. En pocos meses el sistema radical se extiende hasta 40-50 cm de profundidad y 80-90 cm en forma horizontal (Maroto Borrego, 2002).

El tallo es breve en forma de roseta hasta el momento de floración, una vez recibida la inducción floral, se inicia el alargamiento de los entrenudos y puede alcanzar una altura de 1-2 m. En la parte hipogea se concentra la mayor parte de las yemas que darán origen a los brotes o hijuelos (Figura 1). El hijuelo es un retoño axilar enraizado, separado de la planta madre y utilizado como plantín en estado verde. La planta madre los produce tanto en otoño como en primavera, pudiéndose utilizar para efectuar una nueva plantación, caso contrario es necesario extraerlos de la planta efectuando lo que se denomina labor de desbrote.

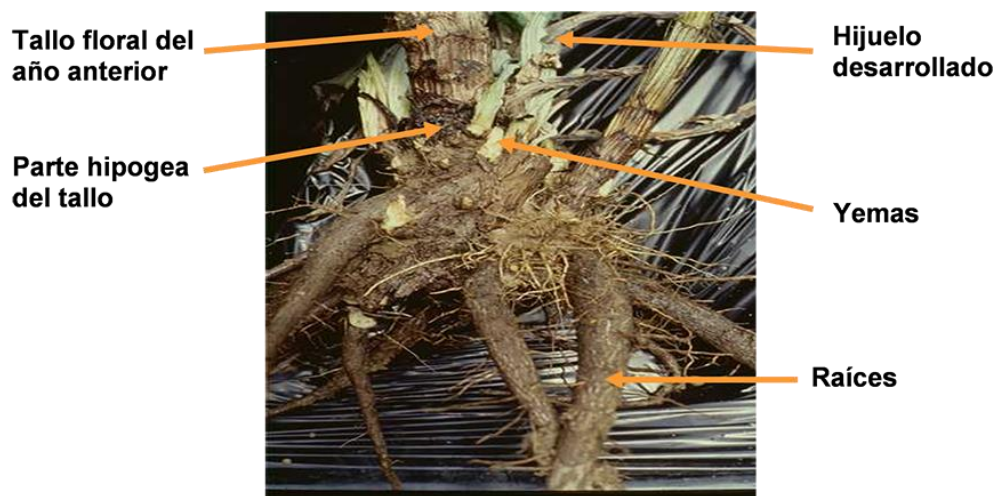


Figura 1: conjunto de tallo, hijuelos y sistema radical de una planta de alcaucil.

Las hojas son largas, pubescentes, grandes de 90 a 100 cm, de color verde claro en el haz y algodonosas en el envés (Figura 2). En las hojas basales el pecíolo puede medir hasta 20 cm. Los nervios centrales están muy marcados y el limbo dividido en lóbulos laterales, a veces muy profundos en las hojas basales y mucho menos hendidos en las hojas superiores (Hurell et al., 2017). La forma del limbo es un carácter varietal y un indicador de precocidad, dado que las plantas con predominio de hojas enteras son las más precoces. El total de hojas funcionales hasta la floración es de aproximadamente 15 a 25 por planta y la superficie que cubre cada planta está en el orden de 1,75 m². El desarrollo vegetativo depende de la variedad influyendo en el mismo las técnicas de cultivo y las condiciones ambientales. Los cultivares son por lo general de menor desarrollo vegetativo y los híbridos son más vigorosos.



Figura 2: planta de alcaucil en desarrollo vegetativo.

La temperatura óptima para el desarrollo de la planta de alcaucil depende de la etapa fisiológica en la que se encuentre el cultivo. Durante el desarrollo vegetativo, el rango de temperatura ideal para el crecimiento de la planta es de 12-14 °C en la noche y 20-22 °C en el día. Con temperaturas medias superiores a 20 °C, la formación de los capítulos se acelera, perdiendo calidad (Andújar et al., 2005) y también puede ralentizarse el crecimiento. El reposo vegetativo puede producirse por temperaturas demasiado bajas en invierno o muy altas en verano (Miguel et al., 2001). Con bajas temperaturas (5 °C) el crecimiento de la planta queda paralizado. La parte aérea de la planta, puede verse afectada con -2 a -4 °C, aunque para destruir la parte subterránea e impedir su rebrote es necesario que se produzcan temperaturas por debajo de -10 a -15 °C (Baixauli Soria, 2017a).

La planta de alcaucil necesita acumular horas de frío (vernalización) para pasar del estado vegetativo al reproductivo siendo las temperaturas menores a 8-9 °C las que se sumarían para el cambio de fase. Esta necesidad de horas de frío es variable según las características intrínsecas de los cultivares e híbridos (García et al., 2010).

Las inflorescencias reciben el nombre de capítulos. Este consta de un receptáculo carnoso o fondo, sobre el que se insertan las flores y las estructuras acompañantes, protegidas por brácteas u hojas modificadas (Figura 3). Las brácteas se disponen en varios niveles concéntricos solapándose entre ellas, siendo las externas más anchas y gruesas, volviéndose más finas en el interior. Estas brácteas son de diferentes formas y dimensiones, tanto en alto como en ancho, las cuales están relacionadas con la forma del capítulo entero.

Las medidas de las brácteas y capítulo son caracteres morfológicos de importancia para identificar un genotipo, y los valores de la relación altura/diámetro están directamente relacionados a la forma del capítulo. La misma puede ser cilíndrica, elipsoidal, ovoidal, cónica, esférica y sub-esférica, y presenta una considerable variabilidad entre genotipos.



Figura 3: inflorescencia inmadura o capítulo de alcaucil en un corte longitudinal, con todas sus partes.

Durante la formación de las inflorescencias, el rango de temperatura óptima se hace más estrecho (15-18 °C). Inicialmente la planta produce un capítulo central denominado de primer orden que es el de mayor tamaño (Figura 4 A). Luego de la cosecha de este primer capítulo y al romperse la dominancia apical, produce tandas de 2 o 3 capítulos denominados de segundo orden, de tercer y cuarto orden (Figura 4 B). La cosecha de los capítulos debe realizarse cuando han alcanzado el máximo desarrollo, pero con las brácteas aún cerradas y sin endurecer. Este estadio dura algunos días, de forma que el corte puede regularse en función a la demanda del mercado, mientras se mantienen compactos (Namesny, 1993). Al avanzar el período de cosecha, aumenta la temperatura y al ir coincidiendo la entrada en producción con temperaturas superiores a 25 °C, se produce un alto grado de estrés en la planta conduciendo a la formación de capítulos pequeños, apertura de las brácteas, desarrollo de las flores internas, ocasionando pérdida de la calidad comercial (Rojas, 2011). Respecto a esto, García et al. (2010) refieren que, si el clima es demasiado cálido y seco, con temperaturas por encima de los 25 °C, los capítulos son excesivamente fibrosos, de brácteas abiertas y se favorece la formación de espinas en el ápice de las mismas. Así mismo, con temperaturas próximas a 0°C, las brácteas que rodean al capítulo se vuelven blanquecinas causando lesiones por congelación que afectan a la apariencia del alcaucil.

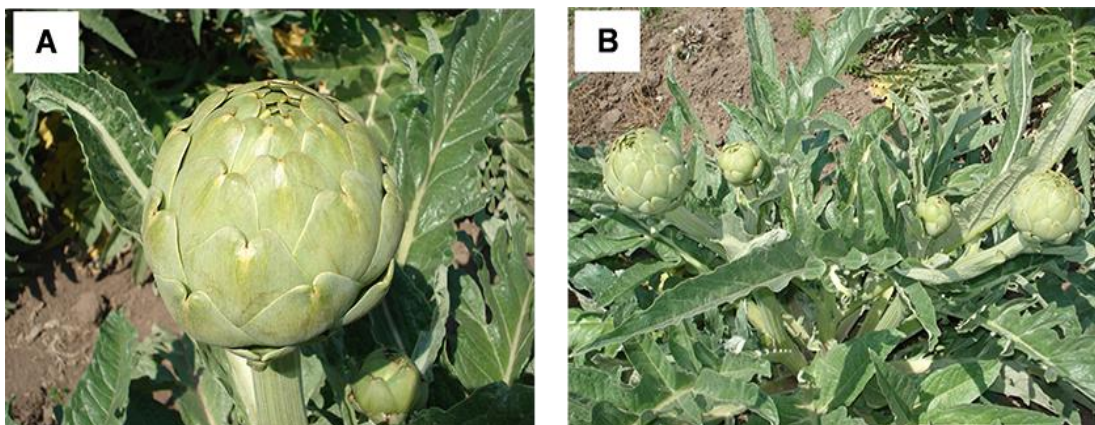


Figura 4: planta de alcaucil en estado reproductivo con producción del capítulo primario (A) y luego de cosechado el mismo, cuando desarrolla capítulos de segundo y tercer orden (B).

La coloración del capítulo está determinada por la ausencia o presencia de antocianos y los consumidores tienen mayor preferencia por las coloraciones verdes o violetas según los países. La diversidad dentro y entre los genotipos se expresa como variación en la forma del capítulo, el color de las brácteas, la presencia o ausencia de espinas, así como en el contenido de inulina, varios minerales y polifenoles (Lombardo et al., 2012, 2017; Pandino et al., 2012).

El peso medio del capítulo al momento de la cosecha dependerá del destino de la producción. Los capítulos destinados a industria deben pesar entre 100 y 120 g, mientras que los que se utilizan para consumo en fresco pueden presentar una gran variabilidad en su peso promedio, pudiendo ser de 250 g y llegar hasta 450-500 g, con cierta preferencia por estos últimos, en los mercados franceses (Baixauli Soria, 2017a). También el número de capítulos por planta depende del genotipo.

Cuando el capítulo es inmaduro, que corresponde a la fase comercial, las flores son muy rudimentarias y las capas de brácteas están fuertemente comprimidas unas con otras, parámetro muy importante para la determinación de la calidad. Cuando el capítulo continúa el proceso de floración, madura, se abre en forma centrípeta y las flores (púrpura, azules o blancas) se expanden hasta plena floración (Figura 5). Se produce la elongación de los estigmas que se deslizan por la parte media de un tubo formado por las anteras en dehiscencia. El polen germina inmediatamente pero el estigma no está receptivo hasta 5-7 días después, impidiendo de esta manera la autofertilización a nivel de una sola flor, pero la floración centrípeta permite la autopolinización a nivel de capítulo (gitonogamia). Es decir

que el polen de las flores centrales permanece viable por 4-5 días y puede de esta manera polinizar las flores periféricas, en tanto que la protandria y la polinización por insectos incrementan el porcentaje de alogamia.



Figura 5: capítulo de alcaucil desde comienzo a plena floración.

Al concluir la floración del capítulo (Figura 6 A), las numerosas flores de ovario ínfero que fueron fecundadas (Figura 6 B), originan sobre el receptáculo, frutos secos denominados aquenios y son considerados como la semilla de la planta. Son de forma oblonga y aplanada, de color oscuro o grisáceo a veces con manchas negras; variando el peso de cada aquenio entre 30 a 70 mg (Pesce y Mauromicale, 2019). Estos frutos están provistos de vilano o papus caedizo, con filas de pelos blancos inferiormente plumosos y ásperos en su parte distal, soldados en un anillo basal (Figura 6 C). Los aquenios tienen una capacidad germinativa de 6 a 7 años y una germinación entre 7 y 20 días (Maroto Borrego, 2002).

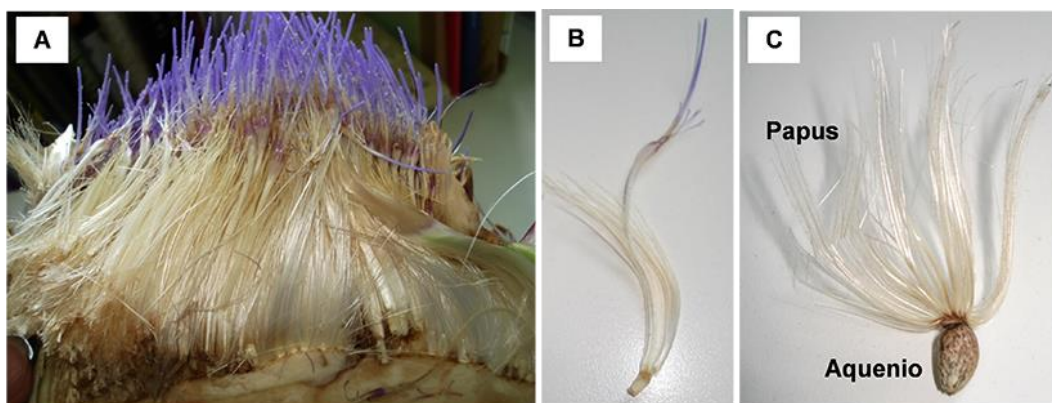


Figura 6: capítulo de alcaucil al concluir la floración (A); flor (B) y fruto (C).

Si el cultivo no está destinado para la producción de semillas, al concluir la cosecha de los capítulos, queda una voluminosa biomasa compuesta por hojas, tallos florales y capítulos pequeños, que puede ser aprovechada para la extracción de múltiples subproductos de alto valor.

Producción mundial y regional

La producción de este cultivo se encuentra concentrada en la zona del Mediterráneo, especialmente en Italia, España, Francia y Egipto, aunque también el cultivo tiene difusión en América y Asia. Los países de América del Sur fueron los primeros en comenzar a cultivar alcauciles y lo hacen en mayor proporción Argentina, Perú, Chile y en menor proporción Ecuador (Macua, 2007). La producción en Argentina en el 2018 fue de 110.657 toneladas con un rendimiento de 28 toneladas por hectárea (FAOSTAT 2020). En la zona de La Plata (Provincia de Buenos Aires), se concentra el mayor núcleo productivo con el 64% de la superficie total del país seguido por el Cinturón Hortícola de Rosario (Provincia de Santa Fe), con el 14% y un valor similar en la zona de Cuyo (Provincias de Mendoza y San Juan), con la característica que en la mayor parte de la superficie cultivada el destino es el consumo en fresco mientras que, en la zona de Cuyo, aproximadamente el 65% se destina a la industrialización. Tradicionalmente la multiplicación es vegetativa, utilizando vástagos enraizados en las zonas de La Plata y Rosario y estacas o tocones en la zona de Cuyo. Más recientemente se están utilizando híbridos y cultivares multiplicados por semillas (García et al., 2015). En el Cinturón Hortícola de Rosario el cultivo de alcaucil ocupa el lugar 16 con respecto al de otras hortalizas, considerando los ingresos brutos de su producción y comercialización (Grasso et al., 2013).

Alimento y Salud

La mayor porción de la inflorescencia de alcaucil que se consume como alimento se denomina “corazón”, constituido por el fondo y las brácteas internas, el cual presenta un bajo contenido energético y lipídico; es rico en proteínas, sales minerales, vitamina C, fibras solubles e insolubles. La composición por cada 100 g de corazón es la siguiente: agua 91,30 g; proteínas 2,70 g; lípidos 0,20 g; carbohidratos 2,50 g; fibra 3,30 g; energía 22 kcal; sodio 133 mg; potasio 376 mg; hierro 1 mg; calcio 86 mg; magnesio 45 mg; fósforo 67 mg; Tiamina 0,06 mg, Riboflavina 0,10 mg; Niacina 0,50 mg; vitamina C 12 mg y vitamina A 18 µg (Cannella, 2009). Además contiene polifenoles con actividad antioxidante (Latanzio et al., 2009), siendo el alcaucil una de las fuentes vegetales más ricas en este tipo de compuestos

(Brat et al., 2006). Entre los componentes bioquímicos fenólicos se encuentran la cinarina y el ácido clorogénico, derivados cafeoilquínicos considerados parte de los ingredientes activos responsables de la actividad antioxidante, junto a los flavonoides. En conjunto juegan un rol importante en el crecimiento, reproducción y protección ante factores de estrés biótico y abiótico en las plantas (Beckman, 2000), produciendo un amplio rango de efectos fisiológicos cuando son consumidos por los humanos (Manach et al., 2005; Azzini et al., 2007).

Es importante destacar que por ser el alcaucil una especie con abundante cantidad de compuestos o metabolitos bioactivos, es denominado “alimento funcional”, “farmacoalimento” y/o “nutracéutico”, ya que puede prevenir enfermedades (González Sarrías et al., 2017; Pulito et al., 2015; Mileo et al., 2012). Sus propiedades preventivas han sido relacionadas con la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos frente a patologías como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Williamson y Manach 2005), o frente a procesos degenerativos provocados por el Parkinson y el Alzheimer como ocurre con otras plantas con alto contenido de polifenoles (Caruana y Vasallo, 2015). Es sabido que el consumo de frutas y vegetales aporta antioxidantes naturales que producen efectos beneficiosos para la salud (Van Duyn y Pivonka, 2000), y en los últimos años se ha observado un creciente consumo de hortalizas a nivel global. Sin embargo, en Argentina la ingesta media diaria de ellas es de aproximadamente 140 g por persona, valor muy alejado de los 400 g que recomienda la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2012).

Por otro lado, en la industria alimenticia se han utilizado ampliamente antioxidantes sintéticos para extender el tiempo de vida útil comercial de los productos. Actualmente, los problemas de seguridad percibidos con estos antioxidantes han dado lugar a un creciente interés por recuperar y explotar antioxidantes naturales (Peschel et al., 2006). Los antioxidantes fenólicos naturales a menudo actúan como agentes reductores, terminan la reacción en cadena de los radicales libres al eliminarlos, absorben la luz en la región ultravioleta (100–400 nm) y actúan como agentes quelantes de metales de transición, pudiendo inhibir así las reacciones de oxidación y previniendo la producción de olores y sabores desagradables (Sindhi et al., 2013).

Como fue mencionado previamente el alcaucil es cultivado principalmente para el consumo de sus capítulos, los cuales se comercializan como producto fresco o procesado (Bianco, 1990). Es una hortaliza muy consumida cruda, hervida, al vapor o frita y utilizada en

muchas recetas, ya que es sabrosa y se percibe como un alimento saludable (Lombardo et al., 2018). A su vez, otras partes de la planta y restos de biomasa que la industria desecha son utilizados como fuente de inulina, de fibras o como materia prima para la extracción de metabolitos secundarios y enzimas. Las grandes hojas de la planta contienen compuestos organolépticos y terapéuticos usados en las industrias de destilaciones y farmacéutica principalmente. Las hojas de alcaucil se utilizan desde la antigüedad en la medicina tradicional por sus propiedades hepatoprotectoras y coleréticas (Blumenthal, 2000), y se encuentran descritas en farmacopeas oficiales a nivel mundial. Su uso en productos farmacéuticos es extendido en Alemania y China (Mulinacci et al., 2004).

Entre los componentes bioquímicos presentes en las hojas se encuentran descritos además del ácido clorogénico y la cinarina, los flavonoides apigenina, luteonina y quercetina, los cuales tienen la función de proteger a las hojas de la radiación solar (Jaakola et al., 2004). Al conjunto de componentes de las hojas se les ha atribuido más recientemente propiedades diuréticas, así como la capacidad para inhibir la biosíntesis de colesterol y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Gebhardt, 2001, 2002a, 2002b; Saénz Rodríguez et al., 2002; Lattanzio et al., 2009).

Atributos de calidad comercial

Además del valor nutricional, hay otros atributos importantes considerados por los consumidores al seleccionar alcauciles frescos. Ellos son el aspecto, la forma, el sabor, la textura y el color. El color original es un determinante crítico de aceptación en muchos de los productos alimenticios (Zheng et al., 2008) y el deterioro del color tiene un impacto visual negativo en la comercialización. Durante el procesamiento y almacenamiento de vegetales, las operaciones mecánicas producen daños en sus tejidos limitando su vida útil como alimento. Esto ocurre por reacciones que modifican su aspecto y calidad, constituyendo hoy en día un problema para la industria alimentaria. El proceso de aparición de zonas oscuras o pardeamiento en los tejidos vegetales también puede darse como consecuencia de daños o cortes durante el procesamiento. El pardeamiento enzimático es una de las principales reacciones de deterioro que se desarrolla en los alimentos frescos procesados. Se trata de una reacción de oxidación catalizada por una enzima endógena llamada polifenoloxidasas (PPO). Esta enzima cataliza la hidroxilación de monofenoles a o-difenoles y la oxidación de estos últimos a o-quinonas. Éstas son especies muy reactivas capaces de polimerizarse con azúcares y proteínas para formar compuestos de color oscuro (Oms Oliu et al., 2010). El alcaucil, tiene un elevado contenido de fenoles algunos de los cuales son compuestos que

actúan como sustratos en la reacción enzimática de pardeamiento. Tanto la cantidad y calidad de fenoles como así también las condiciones de la reacción de oxidación se consideran determinantes para el desarrollo del proceso oxidativo y la tonalidad e intensidad de los pigmentos formados (Nicolas et al., 1994).

La textura, palatabilidad y terneza en el alcaucil están dadas en gran medida por el contenido de fibra en brácteas y fondo. La fibra dietaria comprende a los glúcidos no digeribles y lignina intactos presentes en las plantas; la fibra funcional son hidratos de carbono no digeribles aislados que presentan efectos benéficos en la salud de los seres humanos y la fibra total es la suma de ambas (Olagnero et al., 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la ingestión diaria de 27 a 40 gramos de fibra dietética. El Código Alimentario Argentino considera que un alimento para ser considerado fuente de fibra deberá contener como mínimo 3% P/P (sólidos) o 1,5% P/V (líquidos) (Olagnero et al., 2007). El corazón de alcaucil es una buena fuente de fibra dietética insoluble (18%) y fibra dietética soluble (27%). Otro compuesto destacado en la planta de alcaucil es la inulina, fructano complejo que también juega un papel nutricional importante (Pagnotta, 2011). Según Di Venere et al. (2005), el contenido de esta fibra soluble es muy importante según el genotipo, el estado fisiológico de la planta y la época en que se efectúa la cosecha. Si bien el contenido de fibras en el alimento es indispensable para la salud, en el caso del alcaucil un elevado porcentaje de fibra en los capítulos podría disminuir su palatabilidad y en poscosecha podría incrementar su contenido debido a su alta tasa respiratoria y en consecuencia presentar menor calidad. El alcaucil es un producto altamente perecedero que requiere de determinadas condiciones de conservación para prolongar su vida comercial (Kader, 2007), y si no se almacena correctamente puede desarrollar una textura indeseable por el rápido endurecimiento de sus tejidos. La pérdida de terneza es consecuencia de la acumulación de fibra que comprende paredes celulares lignificadas como ocurre también en los turiones de espárrago (Firpo et al., 2004). El alcaucil es una hortaliza con elevada actividad metabólica y en consecuencia altamente perecedero, que no permite su conservación refrigerada por períodos superiores a un mes. Si se lo comercializa sin frío, el consumo debe realizarse en los próximos tres a cinco días desde su cosecha (Namesny, 1993). La disminución de la temperatura minimiza los procesos metabólicos del vegetal, frenando la respiración, biosíntesis de etileno, transpiración, pardeamiento y el riesgo de infecciones microbianas, ralentizando la degradación (Artés Calero, 2006).

Manejo del cultivo

Un cultivo de alcaucil puede iniciarse a partir de hijuelos y otras formas de multiplicación agámica (estaca, óvulo, cultivo *in vitro* de meristemas) o por semillas (contenidas en el aquenio). Las ventajas de implantar un cultivo agámicamente son la homogeneidad en la producción (forma, color y tamaño de capítulos), ya que los hijuelos son clones de las plantas madres y menor costo si el productor dispone de lotes de donde obtener sus propios hijuelos. Las desventajas son baja tasa de multiplicación (cada planta puede producir de 3 a 5 hijuelos aptos para efectuar la plantación, dos veces al año); dificultades en la implantación por problemas de enraizamiento; heterogeneidad en el vigor; diseminación de enfermedades y menor producción por unidad de superficie. Durante muchos años fue la forma más generalizada de implantar un cultivo en Argentina. A su vez en las provincias de San Juan y Mendoza se utilizan las estacas para la multiplicación de la cultivar "Blanco de San Juan". Este órgano de multiplicación está constituido por una estaca con parte de tocón o raíz con yemas bien visibles y que se obtienen después que la planta madre ha sufrido la detención de la vegetación.

Una parte importante de los problemas fisiológicos, patológicos y económicos, pueden solucionarse con la tecnología de multiplicación de alcauciles a partir de semilla (Baixauli y Maroto, 2011). Esta permite la implantación de un cultivo de alcaucil con mayor rapidez y sencillez, planificando de manera eficiente la producción (época, superficie, elección de cultivares). Se puede manejar como cultivo anual lo que permite entrar en planes de rotación y mejora la sanidad del mismo ya que no se transmiten enfermedades (Mondino et al., 2017). El desarrollo de las plantas es más homogéneo, mayor producción por unidad de superficie, se pueden aplicar tecnologías como son el uso de plantines con cepellón, mulching y riego por goteo. Al mismo tiempo es elevado el costo de la semilla y la obtención de plantines con cepellón puede elevar los costos de implantación. A pesar de ser manejado como un cultivo anual y de que sus costos de plantación suelen ser elevados debido al alto costo de la semilla, Alcón et al., (2011) demostraron una mayor rentabilidad económica respecto a la de los cultivares procedentes de reproducción vegetativa.

En general es un cultivo que puede quedar establecido para una producción de varios años. Para ello es necesario efectuar una buena preparación del suelo, con labores que aseguren su permeabilidad y aireación en profundidad. La plantación puede realizarse en otoño o primavera y las distancias de la misma, dependerá del desarrollo del genotipo utilizado. Generalmente se plantan a 1,4 m entre lomos y 0,7-0,8 m entre plantas a simple

hilera, obteniéndose una densidad de 0,8 a 1 pl m⁻², aproximadamente. También puede sistematizarse en lomos a 2,1 m, con doble hilera de plantas, con una densidad similar a la citada anteriormente o inferior (0,7 pl m⁻²).

Tiene altos requerimientos de nutrientes para satisfacer su exuberante crecimiento vegetativo. Para una producción adecuada el cultivo necesita ser fertilizado durante su ciclo anual con 250 unidades ha⁻¹ de Nitrógeno, 125 de Fósforo, 350 de Potasio, 150 de Calcio y 40 de Magnesio. Para poder sostener el crecimiento vegetativo y un buen nivel productivo, tanto cuantitativo como cualitativo, es necesario una adecuada fertilización, suministrada oportunamente con el riego.

El manejo de cultivo con riego complementario es fundamental a fin de evitar que la falta de agua provoque la detención del crecimiento. El alcaucil es una especie capaz de completar el ciclo de cultivo solo con el aporte de agua de lluvia, en la mayoría de las zonas donde se cultiva, sin embargo, para proporcionar producciones de alta calidad, de acuerdo con un programa de cosecha bien planificado, necesita suministros de agua adicionales, ya que la lluvia no siempre es suficiente para satisfacer las necesidades de agua del cultivo (Cantore y Boari, 2009). Se debe realizar un riego en la plantación para asegurar un buen establecimiento tanto de los hijuelos como de los plantines y luego mantener una frecuencia semanal de riego, con mayor oferta en los momentos de producción que es cuando el cultivo tiene más demanda de agua.

La frecuencia de las intervenciones de riego y los volúmenes de riego deben ser tales que garanticen un crecimiento regular del cultivo, evitando la aparición de fenómenos de estrés hídrico que afecten negativamente la precocidad y el tamaño de los primeros capítulos. Además, el estrés hídrico durante el ciclo de crecimiento también podría tener efectos negativos en la formación de brotes de rizoma, con repercusiones perjudiciales para la cosecha del año siguiente. El consumo total de agua, por lo tanto, varía considerablemente en relación con el medio ambiente y el modo de cultivo, con valores incluidos entre 400 y 900 mm (Cantore y Boari, 2009). Con el riego complementario se alarga el período de cosecha y los capítulos se mantienen tiernos. Puede utilizarse riego por infiltración conduciendo el agua por surcos, por microaspersión, aspersión o goteo.

En relación al complejo mecanismo de estímulos y respuestas durante el desarrollo vegetativo y reproductivo del cultivo de alcaucil, en los sistemas productivos hortícolas se

aplican hormonas vegetales involucradas en la regulación del crecimiento. Las giberelinas, que intervienen en la inducción a la floración, son utilizadas ampliamente en el manejo del cultivo de alcaucil para obtener precocidad en la producción (García, 2006; García et al., 2015). Como lo demuestran varios estudios, el uso de ácido giberélico (AG₃), genera entre varias ventajas, el aumento en el tamaño y número de capítulos y la ampliación del período de cosecha al ser más precoz la aparición de las primeras inflorescencias (Miguel et al., 2001; García, 2006; García et al., 2010).

Los factores precosecha (condiciones de la zona y manejo del cultivo) que influyen sobre la calidad química de los alimentos y otras características, son muy diversos y guardan una gran interrelación entre sí. Unos dependen intrínsecamente de la propia planta y están constituidos por integración del flujo de energía, agua y nutrientes, mientras que otros responden a la variedad o son de tipo tecnológico como el manejo del cultivo. Si bien se conoce que el comportamiento poscosecha y el contenido de antioxidantes están determinados en cierto grado por características genéticas (Di Venere et al., 2005), y que el manejo apropiado durante la poscosecha resulta beneficioso para retrasar su degradación y el deterioro de los productos, es igualmente aceptado en buen grado que la composición y calidad se determinan durante el cultivo de una hortaliza.

Recursos genéticos

En el Cinturón Hortícola de Rosario, en la década del 80, el material genético utilizado estaba restringido prácticamente a un solo cultivar denominado Ñato, de producción tardía y cuya cosecha comenzaba a mediados de septiembre. En el año 2000 se demostró que dicho cultivar fue reemplazado por otro de producción más temprana llamado Francés, cultivado por la mayoría de los productores durante muchos años (Cointry et al., 2005). Con el fin de incrementar el espectro varietal del alcaucil, se inició en 1993 el Programa de mejoramiento de especies hortícolas en el Campo Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Se partió de una población variable de 43 familias de medios hermanos proveniente de la polinización libre de diferentes clones e híbridos experimentales. La utilización de estos materiales, tanto locales como introducidos desde diferentes países tenía el objeto de lograr materiales adaptados a las condiciones agroecológicas de la región, para lo cual, durante los años 1994 y 1995 se evaluaron poblaciones segregantes provenientes de la cruce de clones altamente heterocigóticos, para seleccionar los materiales más promisorios (Cravero et al., 2011).

En una primera etapa se obtuvieron los cultivares de alcaucil denominados “Oro verde FCA” y “Esmeralda FCA” (López Anido et al., 2005). Se evaluaron características productivas (rendimiento, peso del capítulo primario, número de capítulos, precocidad, etc) y morfológicas (altura y ancho de capítulo primario y receptáculo, etc.), de gran importancia para esta especie, logrando ampliar el período de cosecha y la oferta al consumidor. Según Cointry et al. (2005), el desarrollo de cultivares es un proceso continuo para seguir ampliando la disponibilidad de genotipos con rendimientos superiores, calidad del capítulo, adaptados a las condiciones locales y competitivos en el mercado. Por lo tanto, en una segunda etapa se obtuvieron dos cultivares de rendimiento superior, inscriptos bajo la denominación de “Gauchito FCA” y “Gurí FCA”, comparados con los testigos comerciales tradicionales y los cultivares de reciente introducción Oro verde y Esmeralda. Desde su selección y hasta la actualidad, estos genotipos mejorados, obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, han sido distribuidos a numerosas instituciones educativas, a Estaciones Experimentales del INTA y a productores de la zona. A su vez en numerosas oportunidades fue solicitado material, especialmente hojas, por parte de farmacias, para la preparación de tinturas y fórmulas magistrales. Siguiendo con el estudio de los genotipos seleccionados, se evaluaron otras características relacionadas a la calidad de los capítulos como el contenido de fibra, fenoles totales, materia seca, etc. (Rotondo et al., 2011).

Las estrategias de conservación de la riqueza genética del alcaucil incluyen la protección de las especies silvestres, la plantación de poblaciones cultivadas y variedades de cultivos tradicionales donde han evolucionado. Para ello, es esencial tener el material adecuadamente caracterizado por su morfología, composición bioquímica y rasgos moleculares a fin de identificar el alcance y la distribución de la variación genética presente (Pagnotta, 2011). En consecuencia, es importante estudiar el perfil químico y variables relacionadas a la calidad de las diferentes partes de plantas provenientes de genotipos locales de alcaucil, creados por el grupo de investigación en la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNR. Caracterizar adecuadamente a cada material genético respecto a variables de calidad, podría permitir nuevos planes de mejoramiento de la especie.

Por otro lado, en Argentina, se han introducido en los últimos años, híbridos de origen extranjero, multiplicados por semilla, con creciente aceptación en los sistemas productivos y comerciales. Los mismos deben evaluarse en las condiciones locales para su óptimo manejo. Así mismo es relevante determinar cómo influyen los factores de manejo del

cultivo que se aplican durante la precosecha en los múltiples parámetros de productividad, calidad, acción biológica, etc., tanto en los genotipos FCA como en los materiales genéticos extranjeros. Este conocimiento podría contribuir en la práctica, al aprovechamiento integral del cultivo de alcauil, a un manejo sustentable de los recursos y a enriquecer toda la cadena de valor, desde la producción al consumo.

HIPÓTESIS GENERAL

El genotipo de alcauil y los manejos de cultivo influyen en el contenido de compuestos fenólicos y en su actividad biológica, así como en variables morfológicas y productivas, en las diferentes partes de la planta.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia del genotipo de alcauil y el manejo del cultivo en variables químicas, morfológicas y productivas, en las diferentes partes de la planta, como también la actividad biológica de sus extractos.

Para verificar o refutar la hipótesis de trabajo y cumplir con el objetivo general propuesto, la tesis se organizó en IV capítulos, cada uno con su marco teórico, antecedentes sobre el tema, objetivos específicos, materiales y métodos, resultados, discusión y conclusiones.

Capítulo I

**INFLUENCIA DEL RIEGO, LA FERTILIZACIÓN Y APLICACIÓN DE ÁCIDO
GIBERÉLICO EN VARIABLES QUÍMICAS, MORFOLÓGICAS Y PRODUCTIVAS
EN PLANTAS DE TRES CULTIVARES DE ALCAUCIL FCA.**

INTRODUCCIÓN

La diversidad ambiental en la que puede desarrollarse un cultivo y el complejo manejo agronómico que implica la producción de hortalizas, influyen en muchos aspectos de la calidad del alimento. Algunas características son visuales y otras, quizás de mayor importancia aún, se refieren a su composición, beneficios nutricionales, actividad biológica y también el valor de los subproductos. En los genotipos argentinos y extranjeros de alcaucil no existen actualmente suficientes estudios realizados en las condiciones de cultivo locales, es decir del cordón o cinturón hortícola del Gran Rosario, donde se demuestre si el manejo del cultivo impacta en la composición química y otras características de interés productivo.

Es sabido que la calidad química de los alimentos vegetales, como por ejemplo las frutas, se define principalmente por factores de precosecha (Fallahi et al., 1997). Sin embargo, se hace necesario estudiar los factores que inciden tanto en el contenido de fitoquímicos de los alimentos vegetales como en su estabilidad y que pueden influenciar en la salud de los consumidores demandantes de calidad, no solo extrínseca sino también intrínseca (Hewett, 2006). El contenido de compuestos bioactivos está influenciado por numerosos factores, incluidos los genéticos (Lombardo et al., 2012; García et al., 2016 a y b), ambientales (luz, temperatura, nutrición mineral) y prácticas culturales como el riego y la aplicación de hormonas (Helyes y Lugasi, 2006; García et al., 2016 a). El contenido de fenoles y su actividad en el alcaucil puede variar entre las partes de la planta y los cultivares (Curadi et al., 2005; Romani et al., 2006; Wang et al., 2003), así como puede depender también del estado de madurez, almacenamiento y procesamiento de los capítulos (Gil Izquierdo et al., 2001; Halvorsen et al., 2006; Llorach et al., 2002; Wang et al., 2003).

El cultivo de alcaucil responde al riego complementario, aumentando su productividad y calidad. En Italia se realizó un experimento con lisímetro con el cual se determinó que un cultivo propagado por semilla tuvo una evapotranspiración máxima de 900 mm en una temporada (Boari et al., 2000). En España, Macua et al., (2005) evaluaron cinco dosis de riego en el cultivar "Blanco de Tudela", de reproducción por hijuelos, observando un aumento en rendimiento y número de capítulos al aumentar el riego hasta 630 mm durante el ciclo total del cultivo. Sin embargo, otro estudio realizado en el mismo país, con riego por goteo en el genotipo "Imperial Star", no detectó diferencias en el rendimiento cuando se irrigó con 547 mm o 726 mm (Pomares et al., 2004). El rendimiento del alcaucil también responde positivamente a la aplicación de enmiendas y fertilizantes, pero la selección de

una dosis adecuada de N, suele ser más compleja que la dosis de riego complementario, dependiendo de las condiciones edáficas existentes, calidad del agua de riego, genotipo utilizado, etc. Rincón et al. (2007), analizaron la biomasa en plena producción del cultivar "Blanca de Tudela", en España, y determinaron que el cultivo había absorbido 400 kg ha⁻¹ de N del suelo. Estudios similares en genotipos multiplicados por semilla del grupo de Pomares et al. (2004), observaron que la absorción de N varía de 388 a 625 ha⁻¹.

La aplicación de AG₃ durante el cultivo de alcaucil es una práctica utilizada por los productores a fin de lograr que la producción coincida con los momentos de mejores precios, pero los resultados que se logran con este manejo del cultivo son bastante dispares ya que en la respuesta de la planta juegan muchos factores tales como la edad de la misma al momento de aplicación, el genotipo, el clima, la dosis utilizada, el número de aplicaciones, etc. por lo que se recomienda realizar ensayos para cada región (Maroto Borrego, 2002). En otras especies como la caléndula (*Calendula officinalis*), se encontró un incremento en el contenido fenólico total y la actividad antioxidante al aumentar la concentración de la solución aplicada de AG₃ de 0 a 250 mg l⁻¹, cuando las mismas eran aplicadas en tres etapas fenológicas del cultivo (Sardoei et al., 2014). En alcaucil, Sharaf Eldin et al. (2007) encontraron variaciones en el contenido de ácido clorogénico y cinarina, en hojas y capítulos, con aplicación de AG₃ en distintos momentos del ciclo del cultivo.

Por otro lado, varios autores difieren al establecer en qué parte de la planta se encuentra la mayor proporción de compuestos activos. Fratianni et al. (2007) y Latanzio et al. (2005), cuantificaron los polifenoles totales en las hojas y capítulos, demostrando que siempre están presentes en mayor cantidad en estos últimos, contrariamente a lo que establece Moglia (2005), quien sostiene que el mayor contenido se encuentra en las hojas. Según Fritsche et al. (2002), las hojas, los tallos y la raíz, excluyendo a los capítulos, contienen ácidos fenólicos, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas que son los constituyentes que le confieren actividad sobre el colesterol, mientras que para Nicoletti et al. (2005), los compuestos de la parte comestible siguen siendo poco conocidos y Lombardo et al. (2009), sostienen que la fracción fenólica presente en diferentes partes de la planta varía en relación a factores bióticos y abióticos.

Actualmente se conoce que existen diferencias en la composición química de diversas partes de la planta dadas por los diferentes genotipos o variedades (Curadi et al., 2005; Sonnante et al., 2006; Moglia et al., 2008; Lombardo et al., 2010; Pagnota et al.,

2012). Pandino et al. (2011a), investigaron el perfil fenólico y la capacidad antioxidante en hojas y tallos florales de seis genotipos de alcaucil y también hallaron diferencias entre ellos. Por ejemplo el contenido total de ácidos cafeoilquínicos en las hojas de “Altilis” fue de 0,3 g Kg⁻¹ de material seco y en “Violeta de Sicilia” de 2,4 g Kg⁻¹ de material seco. Hoy en día el mejoramiento de este importante cultivo debería estar basado en los aspectos cualitativos y cuantitativos del producto, el valor nutricional y elevado contenido de antioxidantes naturales para promoción de la salud con eficacia y seguridad. En los países de mayor producción de alcaucil, como por ejemplo Italia, la tradicional difusión de cultivares locales por la propagación vegetativa ha permitido el mantenimiento de una gran variedad de germoplasma de alto valor cualitativo, previniendo la pérdida de biodiversidad (Pagnota et al., 2012).

Los antecedentes sobre los múltiples aspectos del cultivo de alcaucil que se han estudiado en el mundo, ponen en evidencia que se han realizado escasos estudios que evalúen el impacto de los manejos de cultivo en la calidad nutricional, morfología y productividad de los genotipos de alcaucil creados en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la influencia del riego, la fertilización y la aplicación de ácido giberélico, en variables químicas, estructurales, morfológicas y productivas, de diferentes partes de la planta y dos rangos de cosecha, en cultivares FCA-UNR.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de trabajo

Los experimentos a campo se realizaron en la Sección de Horticultura de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental J. Villarino (Figura 7), ubicado en la localidad de Zavalla, Santa Fe, Argentina ($33^{\circ}01'S$; $60^{\circ}53'O$), durante el año 2013.



Figura 7: imagen satelital del Campo Experimental J. Villarino, en el cual se ubica la Sección de Horticultura y el Edificio Central de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Localidad de Zavalla, Santa Fe, Argentina.

2. Características del suelo, agua de riego y condiciones climáticas

El cultivo se realizó en un suelo Argiudol Vértico, serie Roldán. Las características principales del suelo en la capa superficial de 0-20 cm y 20-40 cm fueron determinadas en el servicio de Análisis de Suelos de la cátedra de Edafología, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR (Tabla 1)

Tabla 1: Características edáficas medidas a 0-20 cm y 20-40 cm en el lote de cultivo y su valoración agronómica

Propiedad edáfica	Método empleado	0-20 cm		20-40 cm	
		Resultado	Valoración Agronómica	Resultado	Valoración Agronómica
% Carbono	Walkley-Black ⁽¹⁾	1,71	medio	1,21	escaso
% Materia Orgánica	Walkley-Black ⁽¹⁾	2,95	medio	2,09	escaso
ppm Nitratos	Harper ⁽²⁾	49,89	medio	54,17	medio
ppm Fósforo asimilable	Bray-Kurtz ⁽³⁾	63,96	muy alto	40,01	muy alto
pH en agua (1:2,5)	Electrométrico ⁽⁴⁾	7,51	subalcalino	7,28	neutro
pH potencial (1:2,5 KCl)	Electrométrico ⁽⁴⁾	n/d	-	n/d	-
Conductividad eléctrica (1:2,5) (mmhos/cm)		0,15	no salino	0,140	no salino
CIC (me 100 g ⁻¹)	Acetato de amonio ⁽⁵⁾	22,7		23,5	
Calcio (me 100 g ⁻¹)		11,6		13,8	
Magnesio (me 100 g ⁻¹)		1		1,8	
Sodio (me 100 g ⁻¹)		0,9		0,2	
Potasio (me 100 g ⁻¹)		2,5		2,1	
% de saturación de Calcio		51		59	
% de saturación de Magnesio		4		8	
% de saturación de Sodio		4		1	
% de saturación de Potasio		11		9	
% Humedad	Gravimétrico ⁽²⁾	11,6		10,8	

⁽¹⁾Walkley & Black (1934); ⁽²⁾SAMLA (2004) SAGPyA, Dirección de Agricultura; ⁽³⁾Norma IRAM-SAGPyA 29570-1 (2010); ⁽⁴⁾Norma IRAM-SAGPyA 29574 (2009); ⁽⁵⁾Norma IRAM 21322:2006.

Para el riego complementario se utilizó agua de pozo, cuyo análisis físico, químico y bacteriológico fue realizado en el Centro de Ingeniería Sanitaria, Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura de la Universidad Nacional de Rosario (Tablas 2 y 3).

Tabla 2: Análisis físico y químico del agua de pozo de la Sección de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR

Parámetro analizado	Método empleado ⁽¹⁾	Resultado
Color (UC)	Platino-Cobalto	< 2
Turbiedad (UNT)	Nefelométrico	0,8
pH	Electrométrico	8,3 ^(19°C)
Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Conductimétrico a 25 °C	1200
Sólido Totales (mg L^{-1})	Secado a 180 °C	770
Alcalinidad Total ($\text{CaCO}_3 \text{ mg L}^{-1}$)	Titulométrico $\text{°/H}_2\text{SO}_4$	630
Dureza Total ($\text{CaCO}_3 \text{ mg L}^{-1}$)	Titulométrico °/EDTA	80
Calcio ($\text{Ca}^{2+} \text{ mg L}^{-1}$)	Titulométrico °/EDTA	17
Magnesio ($\text{Mg}^{2+} \text{ mg L}^{-1}$)	Cálculo Dif. Dureza y Calcio	9
Cloruro ($\text{Cl}^- \text{ mg/L}$)	Argentométrico	<10
Sulfato ($\text{SO}_4^{2-} \text{ mg L}^{-1}$)	Nefelométrico	40
Nitrato ($\text{NO}_3^- \text{ mg L}^{-1}$)	Espectrofotometría UV	17
Nitrito ($\text{NO}_2^- \text{ mg L}^{-1}$)	Espectrofotométrico	<0,02
Amoníaco ($\text{NH}_4^+ \text{ mg L}^{-1}$)	Nessler	<0,05
Fluoruro ($\text{F}^- \text{ mg L}^{-1}$)	Electrométrico	2,0
Arsénico Total ($\text{As } \mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometría de Absorción Atómica Electro-Térmica	70
Hierro Total (Fe mg L^{-1})	Ferroína	<0,01
Manganeso Total (Mn mg L^{-1})	PAN	<0,05
Sodio ($\text{Na}^+ \text{ mg L}^{-1}$)	Espectrofotometría de Emisión Atómica	320
Potasio ($\text{K}^+ \text{ mg L}^{-1}$)	Espectrofotometría de Emisión Atómica	15

⁽¹⁾ APHA, AWWA, WEF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 22nd Ed. 2012.

Tabla 3: Análisis bacteriológico del agua de pozo de la Sección de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR

Parámetro analizado	Método empleado ⁽¹⁾	Resultado
Bacterias Heterótrofas Totales 35°C – 48 hs. (UFC mL ⁻¹)	Recuento en placa. SM 9215 B.	200
Bacterias Coliformes Totales 35°C – 48 hs. (NMP 100 mL ⁻¹)	Tubos Múltiples. SM 9221 B.	<2,0
Bacterias Coliformes Fecales 44,5°C – 24 hs. (NMP 100 mL ⁻¹)	Tubos Múltiples. SM 9221 E.	<2.0
Pseudomonas aeruginosa Presencia ó Ausencia por 100 mL	Asparagina/Acetamida SM 9213F	Ausencia

⁽¹⁾ Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 22nd Ed. 2012. APHA. AWWA

Las condiciones meteorológicas en el período de cultivo y cosecha se muestran en la Figura 8. Fuente: Estación Agrometeorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de Zavalla-UNR/Cátedra de Climatología Agrícola.

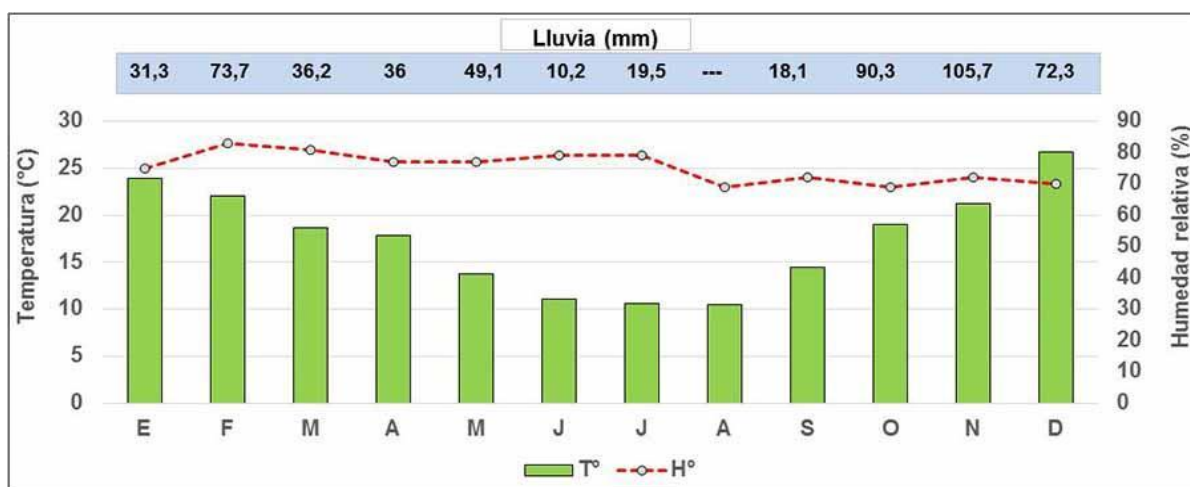


Figura 8: condiciones climáticas durante el año 2013; temperatura (°C) y humedad relativa (%) del aire en valores promedio para cada mes y lluvia mensual acumulada (mm)

Durante los meses de menor temperatura media mensual, se registraron algunos días de heladas (temperaturas por debajo de 0 °C); en el mes de mayo ocurrió una, en junio cuatro, en julio cinco y en agosto ocho. Las temperaturas bajas más extremas fueron registradas en julio y agosto.

3. Material Vegetal

Los genotipos utilizados fueron el cultivar Gauchito FCA (GA), Gurí FCA (GU) y Oro verde FCA (OV), (Figura 9), creados por Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, e inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares. La descripción morfológica y genética de estas plantas fue reportada por López Anido et al. (2005) y Cointry et al. (2005), cuyas características se mencionan a continuación:

- "Gauchito FCA" N° 9330. Cabeza globular, compacta, brillante de color verde claro con un peso aproximado de 223 g; la cosecha comienza en la segunda quincena de septiembre; alto rendimiento (17 t ha⁻¹).

- "Gurí FCA" N° 9331. Globular, compacto, abigarrado (verde púrpura), follaje verde glauco, la cabeza pesa aproximadamente 220 g; la cosecha comienza durante la primera quincena de octubre; alto rendimiento (15 t ha⁻¹).

- "Oro Verde FCA" N° 6814. Alcachofa globular, compacta, de color verde claro con ligera pigmentación púrpura en la base de brácteas, con un peso aproximado de 195 g, la cosecha comienza en la segunda quincena de septiembre; alto rendimiento (13 t ha⁻¹).



Figura 9: capítulos de los genotipos utilizados de la Facultad de Ciencias Agrarias (reproducción por hijuelo)

Rotondo, Rosana y Escalante, Andrea M., depositaron el *voucher specimen* de cada uno de los cultivares en el herbario de la FCA-UNR, siendo etiquetados como GA001-UNR10450, GU002-UNR10451 y OV003-UNR10452 (diciembre 2016).

Los experimentos se realizaron sobre un lote de 160 plantas de cada cultivar, implantado a partir de hijuelos en 2012 con una densidad de 0,9 plantas por m² (1,4 m entre hileras y 0,8 m dentro de la hilera). El cultivo fue mochado a fines de dicho año, luego de

efectuarse la primera cosecha. A principios de 2013 las plantas emitieron numerosos hijuelos, de los cuales se eligió uno y los demás se extrajeron. El cultivo se condujo para lograr un adecuado crecimiento, realizando en forma convencional las labores culturales de control de plagas y enfermedades. El manejo de las malezas se efectuó mecánicamente por medio de implementos manuales y maquinaria para el descortezado, carpida, aporcado y desmalezado. Durante su segundo ciclo de producción (2013), se aplicaron los tratamientos y realizaron las evaluaciones de las diversas variables.

4. Tratamientos (manejos de cultivo)

Las plantas de los diferentes genotipos recibieron los siguientes tratamientos:

T₁ -Fertilización: según los análisis de suelo a 20 y 40 cm de profundidad y en función de los requerimientos del cultivo, se aplicaron 45 g por planta de fertilizante nitrogenado (úrea; 46% de N), suministrado en tres momentos con 15 g el 10/06, 03/07 y 13/08/2013 respectivamente.

A partir del análisis del suelo donde se realizó el experimento (Tabla 1), se calculó el aporte de cada elemento presente en el terreno (Tablas 4 y 5).

Tabla 4: Kg disponibles de Nitrógeno y Fósforo en el suelo del experimento a los 20 y 40 cm de profundidad

Mineral	ppm	Kg ha ⁻¹	Total 0-40 cm	Disponibilidad Kg ha ⁻¹	Requerimiento Kg ha ⁻¹
Nitrógeno 0-20 cm	49,9 de nitratos	124,75 de nitratos	260,17 de Nitratos	58,79 de Nitrógeno	250
Nitrógeno 20-40	54,17 de nitratos	135,42 de nitratos			
Fósforo 0-20 cm	63,96 de Fósforo asimilable	160 de Fósforo	260 de Fósforo	260 de Fósforo	54,5
Fósforo 20-40 cm	40,01 de Fósforo asimilable	100 de Fósforo			

Tabla 5: Kg disponibles de Calcio, Magnesio, Sodio y Potasio en el suelo del experimento a los 20 y 40 cm de profundidad.

Mineral	me 100 g ⁻¹	mg Kg ⁻¹	Total 0-40 cm mg Kg ⁻¹	Disponibilidad Kg ha ⁻¹	Requerimiento Kg ha ⁻¹
Calcio 0-20 cm	11,6	464	1016	2540	150
Calcio 20-40	13,8	552			
Magnesio 0-20 cm	1	24,3	68,04	170,1	40
Magnesio 20-40 cm	1,8	43,74			
Sodio 0-20 cm	0,9	20,7	25,3	63,25	sin dato
Sodio 20-40 cm	0,2	4,6			
Potasio 0-20	2,5	97,5	179,4	448,5	350
Potasio 20-40 cm	2,1	81,9			

De acuerdo a los requerimientos del cultivo y la cantidad presente en el suelo, se determinó que el fertilizante necesario para cubrir dicha demanda era solamente el Nitrógeno (N). La diferencia entre los requerimientos y la disponibilidad fueron 191 Kg de N ha⁻¹ (414 Kg de urea), de los cuales le correspondería 45 g a cada planta aproximadamente. Para los cálculos de fertilizante se consideró una densidad aparente de 1,25 g por cm³. El fertilizante sólido granulado se colocó en la base de la planta (Figura 10) y luego se incorporó al suelo. Durante el crecimiento vegetativo y la etapa reproductiva (marzo a noviembre) las plantas recibieron 543 mm de agua de lluvia y 210 mm de riego complementario por goteo, para cubrir las necesidades en los períodos de menores precipitaciones.



Figura 10: aplicación de urea en cada planta.

T₂ –Riego complementario: aplicación de 210 mm de riego por goteo, de marzo a noviembre 2013, en los períodos de menores precipitaciones, a fin de complementar la demanda del cultivo. Se utilizaron cintas de polipropileno con laberinto incorporado a una distancia de 33 cm entre cada uno. Se hicieron las pruebas correspondientes en el lote a regar, calculando los m², el número y largo de las líneas de cintas con goteros, manteniendo un Kg de presión constante en el cabezal de riego. Se realizaron repetidas mediciones del agua caída en cada gotero en frecuencias de tiempo de cinco minutos. Una vez estabilizado, el sistema de riego localizado entregaba 3 mm de agua por m² en cada hora de riego. En los períodos que el cultivo no recibió agua de lluvia, se regó durante una hora, tres veces por semana. Las plantas recibieron 543 mm de agua de lluvia.

T₃ –Ácido giberélico (AG₃): aplicaciones de 30 ml por planta de solución acuosa de AG₃ (concentración 60 ppm), el 09/05 y el 17/06/2013. La solución aplicada fue preparada en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, con ácido giberélico (AG₃) 3,90% (Research Organics Inc.), adquirido en Sigma Aldrich. La primera aplicación de AG₃ se realizó cuando las plantas tenían al menos entre 6 y 8 hojas expandidas totalmente, mediante una mochila manual, asperjando sobre el ápice de la planta y la base de las hojas (Figura 11). La dosis se estableció en base a estudios de García et al. (2010) para dos genotipos FCA cuando fueron comparados con el cultivar Francés.



Figura 11: aplicación de ácido giberélico en el cultivo de alcaucil, el 09/05/2013

Cada diez plantas se controló la presión de la mochila y se ajustó la misma para realizar la aplicación en forma uniforme. Las plantas recibieron 543 mm de agua de lluvia y el mismo riego complementario que T₁ y T₂.

T₄ –Sin aplicación de riego, fertilización ni AG₃: no se aplicó ninguno de los manejos mencionados anteriormente.

En tres lotes de 160 plantas de cada cultivar, se aleatorizaron los tratamientos con algunas restricciones debidas al sistema de riego localizado que se utilizó. La red de cañerías “madre” y “submadre”, donde se conectan las cintas de riego no permiten lotes aislados o entrecortados para el suministro de agua.

La cosecha manual de capítulos fue desde el 23/09 al 28/10/2013 para el cultivar GA; desde 08/10 al 28/10/2013 para GU y desde el 30/09 al 30/10/2013 para OV.

5. Conformación de las muestras

De cada cultivar y manejo de cultivo (tratamiento), se cosecharon la totalidad de capítulos de calidad comercial, producidos por planta. Se tomaron al azar 12 capítulos del primer orden de cosecha o primarios y se conformaron las muestras para la medición de las diferentes variables. De igual manera se procedió con los capítulos del segundo orden de cosecha o secundarios. A cada uno se le extrajeron las brácteas de manera centrípeta (Figura 12 A). Las diez primeras conformaron el grupo que representa una muestra de las brácteas externas (BE), desde la 21 a la 30 el de brácteas medias (BM) y de la 41 a la 50 brácteas internas (BI). El fondo (F) es el receptáculo carnoso (Figura 12 B).

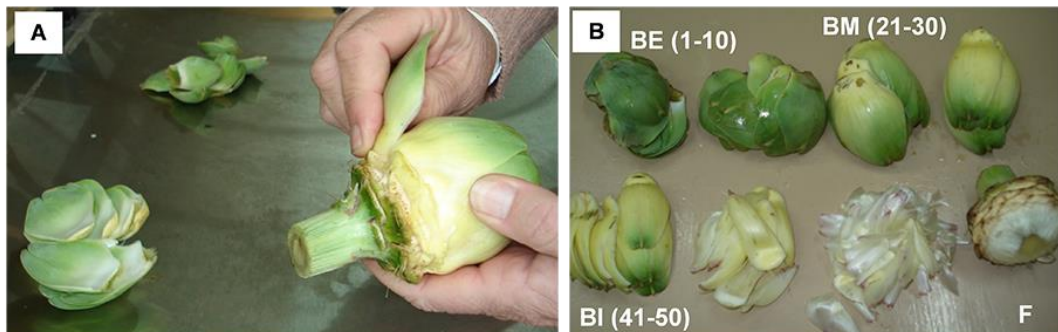


Figura 12: conformación de las muestras de brácteas externas, medias, internas y fondo, en capítulos de alcaucil primarios y secundarios.

Por otro lado se extrajo una hoja del estrato medio de diez plantas de cada cultivar y tratamiento, tomando la sección media del limbo para obtener una muestra compuesta, es decir se cortó la sección basal y apical de las hojas (Figura 13). Este procedimiento se realizó en plantas en período reproductivo, luego de haber cosechado todos los capítulos con calidad comercial.



Figura 13: conformación de las muestras de hojas de alcaucil en estado reproductivo.

La preparación de las muestras y la medición de la mayoría de las variables se realizó en el Laboratorio Central de la FCA-UNR (33° LS y 61° LO).

6. Variables medidas

6.1. Variables químicas y estructurales

6.1.1. Contenido de ácidos clorogénico y dicafeoilquínicos

Para medir el contenido de ácido clorogénico (AC) y de ácidos dicafeoilquínicos (DCQ) se prepararon extractos metanólicos. Se seleccionó del freezer el material vegetal almacenado a -80°C. En el caso de las brácteas se separó la base carnosa (Figura 14 A), el receptáculo carnoso se cortó en trozos pequeños retirando el tejido pardeado (Figura 14 B) y finalmente las hojas (limbo y nervaduras) se cortaron en trozos pequeños (Figura 14 C).



Figura 14: acondicionamiento del material vegetal para preparación de los extractos, brácteas (A), fondo (F) y hojas (C).

Se pesaron diez g de material vegetal fresco trozado usando balanza Scaltec SBA (MAX. 4200 g; d=0,1 g). Cada material se maceró durante 30 minutos con 100 ml de metanol calidad analítica (Cicarelli), con agitación magnética a 200 rpm (agitador Decalab Fbr), a 25°C y con protección de la luz con papel aluminio (Figura 15 A). Posteriormente se filtró y se colocó el extracto filtrado en frasco color ambar de 250 ml (Figura 15 B). El residuo de filtración fue extraído siguiendo el mismo procedimiento y el extracto resultante fue reunido con el anterior. De esta manera se procedió para cada muestra y los frascos se guardaron en heladera a 4°C hasta su análisis.

Durante la preparación de los extractos se siguieron las indicaciones del Manual de Higiene y Seguridad del Laboratorio de la FCA (Manual de procedimientos, Resolución CD

N° 455/2014) y el Reglamento general para el funcionamiento del laboratorio central FCA (Resolución CD N° 148/88).

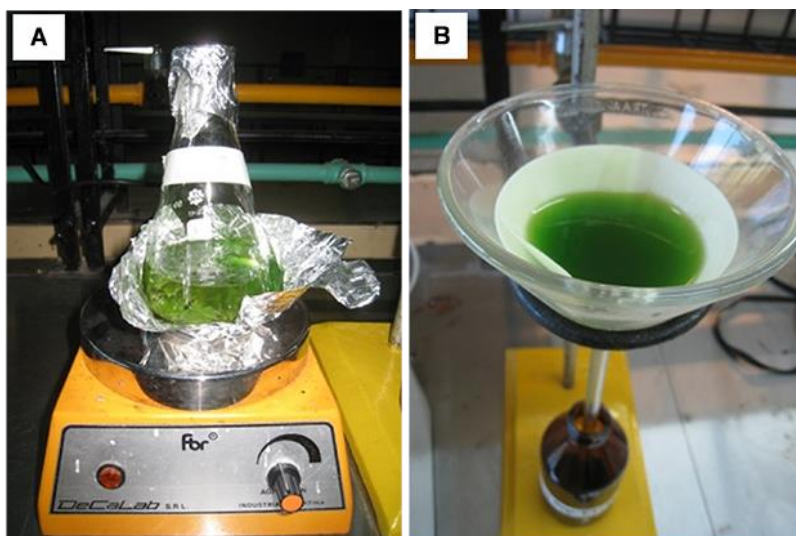


Figura 15: proceso de obtención de extractos de alcaucil; macerado en metanol (A); filtrado y envasado (B).

El análisis químico se realizó en el Instituto de Investigaciones para el Descubrimiento de Fármacos de Rosario (IIDEFAR-UNR-CONICET), bajo la dirección del Area de Química del Dr. Ricardo Furlán y en el laboratorio de Espectrometría de Masa del Centro Científico Tecnológico de Rosario, Argentina.

Se colocó un ml de extracto por vial (Figura 16 A), correspondiente a la muestra de cada cultivar y tratamiento. Todas las muestras se ordenaron en el autosampler del equipo (Figura 16 B), y se analizaron mediante HPLC-UV o por HPLC-HRMS Agilent 1200 acoplado a un detector UV / Vis y a un espectrómetro de masa MicroTOF-Q II (Bruker Daltonics, MA, EE. UU.) (Figura 16 C), equipado con una fuente de iones por electrospray (ESI), o usando un cromatógrafo de líquidos Agilent 1260 acoplado a un detector UV / Vis (Figura 16 D). Los extractos fueron analizados a longitud de onda $\lambda=330$ nm, con volúmenes de inyección de cinco μl en columna C_{18} . La elución en gradiente para LC, dada como tiempo (min) / canal B (%), fue: 0/8, 21/25, 22/100, 25/100, 27/8, 30/8, fue utilizada para extractos de brácteas (LC método I); y se utilizó como gradiente 0/8, 16/25, 21/25, 23/100, 26/100, 27/8, 30/8, para extractos de hojas (método II de LC). Las mediciones de HRMS se registraron en modo de ionización negativa con gas de nebulización a 0,6 bar, gas de secado $4,0 \text{ l min}^{-1}$ y 180° C , capilar 2800 V y compensación de placa final a -500 V. Se usó el software Data Analysis 4.0

SP1 (Bruker Daltonics GmbH, Alemania), para el análisis de cromatogramas y espectros de masa.

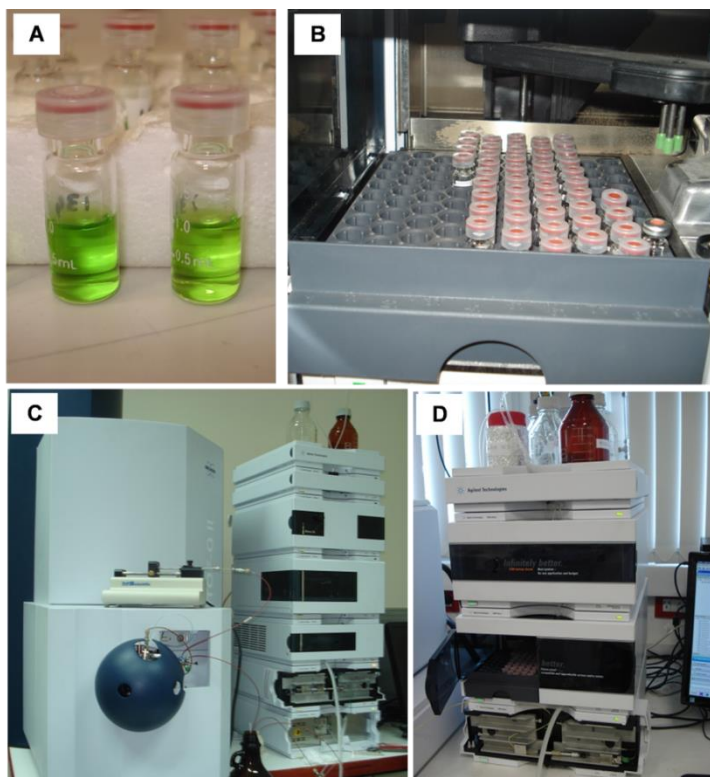


Figura 16: extractos en viales (A); bandeja del autosampler (B); cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia acoplado al detector UV / Vis (Agilent 1200) y al espectrómetro MicroTOF-Q II (Bruker Daltonics) (C) y cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia acoplado a detector UV / Vis (Agilent 1260).

El ácido clorogénico (AC) o monocateoilquínico se cuantificó en relación con el estándar analítico (1) y los ácidos dicafeoilquínicos (DCQ) se cuantificaron en relación con el estándar analítico (2), cuya estructura química se puede observar en la Figura 17. El contenido de estos compuestos en los extractos fue determinado por extrapolación del área bajo sus curvas cromatográficas en los extractos respecto a la concentración resultante de sus curvas de calibración obtenidas con los patrones de cada uno.

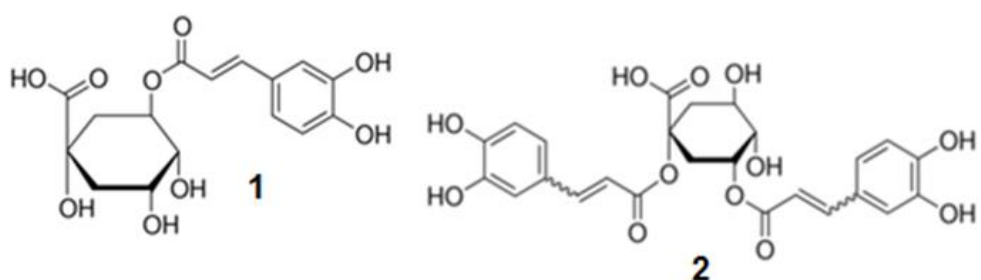


Figura 17: estructura del ácido clorogénico (AC) (1) y ácido dicafeoilquínicos (DCQ) (2)

Los experimentos se realizaron por triplicado a partir de extractos de muestras compuestas por 15 BE, BM y BI; dos F, extraídos de diferentes capítulos, tanto primarios como secundarios; y en el caso de las H, la unidad experimental estaba compuesta de 10 hojas del estrato medio de plantas diferentes, como se mencionó previamente. En todos los casos las repeticiones fueron de cada cultivar y tratamiento aplicado y los resultados se expresaron en mg kg^{-1} , correspondientes a los mg de AC o mg de DCQ contenidos en un kg de material vegetal fresco.

6.1.2. Pardeamiento del fondo

Para medir el pardeamiento en el fondo, éste se cortó en su eje longitudinal con cuchillo de cerámica (Figura 18 A). En una mitad del capítulo se midió la luminosidad (L^*) utilizando la escala CIELab (Westland, 2001), mediante un colorímetro Chromameter CR300 Minolta (Figura 18 B). Se realizaron tres mediciones sobre el receptáculo, en los dos extremos y en el centro, en el momento inicial (M_0) inmediatamente después de realizado el corte (Figura 18 C) y a los 10 minutos del mismo (M_1) (Figura 18 D). El valor de L^* en cada momento es un promedio de los tres disparos que realiza el colorímetro en cada muestra. El parámetro L^* representa el porcentaje de reflectancia y sus valores van desde cero (negro) a 100 (blanco), por lo tanto, el delta L^* (L^* en $M_1 - L^*$ en M_0) tiene valores negativos conforme a que el tejido se va oscureciendo luego del corte.

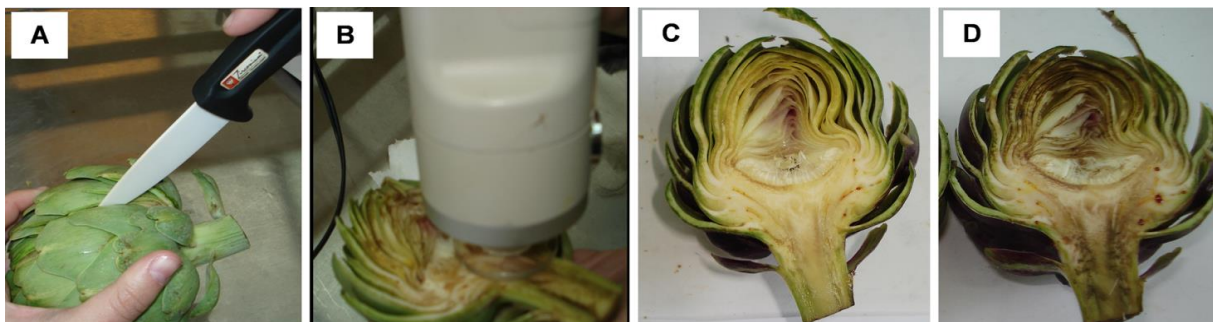


Figura 18: pardeamiento del fondo, corte longitudinal (A); medición de L* con colorímetro (B); momento del corte (M_0); a los 10 minutos del corte (M_1).

Se realizaron seis repeticiones por cultivar y tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el fondo de un capítulo.

6.1.3. Fibra insoluble total

Para determinar la fibra insoluble total en BI, BM, BE y F, se utilizó el método de separación mecánica de elementos fibrosos de Kramer y Twig (1973). Las muestras congeladas (Figura 19 A) se hirvieron 15 min en vasos de precipitado de 250 ml con 200 ml de agua (Figura 19 B) y se trituraron con procesadora Minipimer (Philips) durante 15 segundos en 100 ml de agua. Luego se pasó toda la muestra por tamices de malla de 0,055 mm y se lavó hasta obtener la porción insoluble retenida en la malla (Figura 19 C). Las muestras se colocaron en bandejas de papel aluminio (Figura 19 D) y se secaron en estufa a 60°C hasta peso constante (Figura 18 E), se pesaron y se refirieron al peso total de la muestra fresca antes de ser congelada, en %.

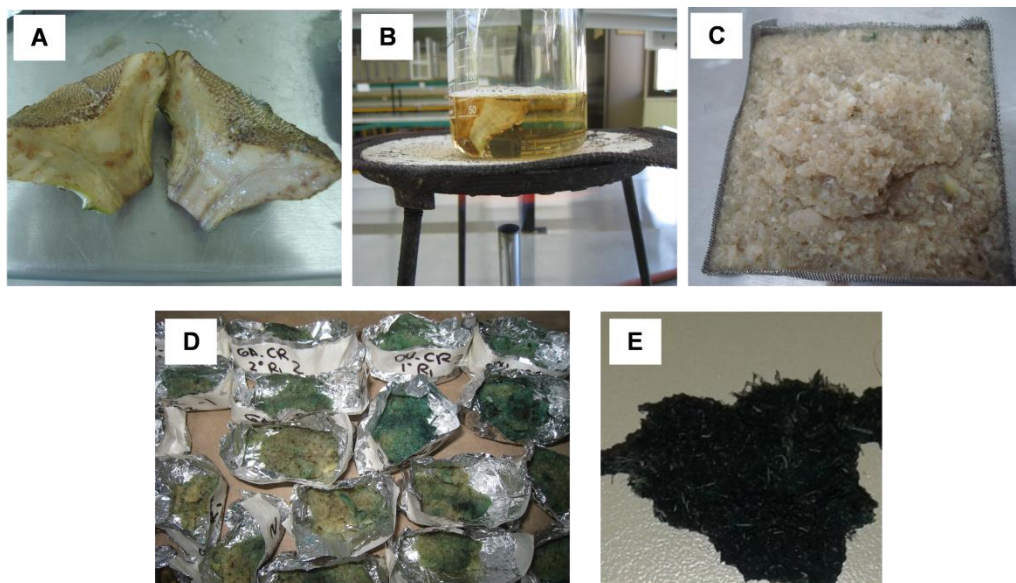


Figura 19: procedimiento para medición de fibra insoluble total. Muestra de fondos (A); tratamiento con calor (B); procesado y lavado (C); muestras para colocar en estufa (D); material seco (E).

Se realizaron seis repeticiones de cada cultivar y tratamiento, siendo la unidad experimental, las muestras compuestas por diez BE, BM y BI y dos mitades de fondos, extraídos de dos capítulos distintos. Se evaluaron tanto capítulos primarios como secundarios.

6.2. Variables morfológicas y color

6.2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

En los capítulos cosechados se efectuaron las mediciones de alto máximo, desde la base de las brácteas externas hasta el ápice y su ancho máximo en su eje ecuatorial, en cm. Se utilizó un calibre y se ajustó suavemente para uniformar la compacidad de las brácteas exteriores (Figura 20). Luego se hizo el cociente de ambas medidas, obteniendo la relación alto/diámetro (RAD).



Figura 20: medición del diámetro ecuatorial del capítulo entero.

Se realizaron seis repeticiones por cultivar y tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el capítulo entero.

Para determinar las medidas de cada estrato de brácteas, se extrajeron de cada capítulo las muestras de BE, BM y BI como se mencionó anteriormente y se seleccionaron 3 de cada nivel a las que se le midieron el alto y el ancho máximo, en cm (Figura 21 A). Se utilizó una regla y se presionó suavemente para extender la curvatura de las brácteas (Figura 21 B). Luego se hizo el cociente de ambas medidas, obteniendo la relación alto/ancho (RAA). Si esta relación es similar a uno, las brácteas tienen forma esférica, mientras que cuando la misma es superior a uno, las brácteas son más alargadas.

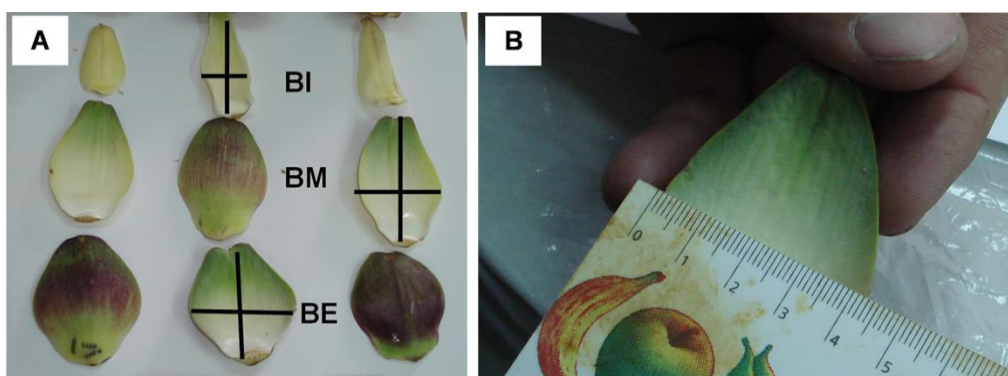


Figura 21: alto y ancho máximos en brácteas internas (BI), medias y externas (A); medición de ancho en bráctea (B).

Se realizaron seis repeticiones cuya unidad experimental fueron las medidas promedio de tres BE, BM y BI de cada capítulo evaluado.

6.2.2. Ancho y alto del fondo

Para determinar las medidas del fondo, se cortó el capítulo en su eje longitudinal con cuchillo de cerámica y en una mitad del mismo se midió con una regla el ancho y alto del receptáculo, en cm. Se consideró el ancho máximo entre la inserción de las brácteas externas y el alto desde la inserción de las flores y hasta un cm de tallo floral (Figura 22).



Figura 22: ancho y alto máximos del fondo

Se realizaron seis repeticiones por cultivar y tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el fondo de cada capítulo.

6.2.3. Color de brácteas

Para determinar el color en BE, BM y BI se midió el parámetro L^* que representa la luminosidad del color con valores que van del 0 (blanco) al 100 (negro); el parámetro a^* es la variación entre rojo (+60) y verde (-60), mientras que b^* entre amarillo (+60) y azul (-60), representados en la Figura 23.

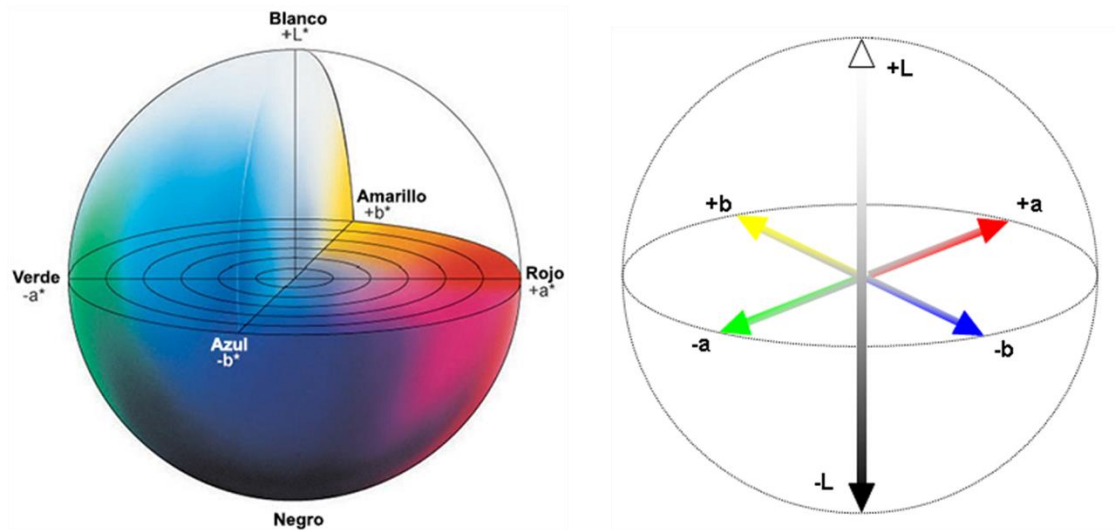


Figura 23: representación de los parámetros L* (luminosidad), a* (variación de colores del rojo al verde) y b* (variación de colores del amarillo al azul).

Fuente: <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>

Se utilizó la escala CIELab (Westland, 2001), mediante un colorímetro Chromameter CR300 (Minolta), obteniendo el valor promedio de tres disparos, dos en la base y uno en el ápice, realizados en el haz de las brácteas (Figura 24).



Figura 24: medición de color en brácteas con colorímetro Chromameter CR300 (Minolta)

Luego se aplicó la siguiente fórmula, utilizando L* a* y b*, para obtener el Índice de color (IC):

$$IC = \frac{a^* \times 1000}{L^* \times b^*}$$

La interpretación de los valores del Índice de color puede realizarse con los siguientes rangos:

- Entre -40 a -20, su valor relaciona los colores que van desde el azul-violeta al verde profundo.
- Entre -20 a -2, los colores que van del verde profundo al verde amarillento.
- Entre -2 a +2, representa el amarillo verdoso.
- Entre +2 a +20, los colores que van desde el amarillo pálido al naranja intenso.
- Entre +20 a +40, los colores que van desde el naranja intenso al rojo profundo.

Se realizaron seis repeticiones cuya unidad experimental fueron las medidas promedio de tres BE, BM y BI de cada capítulo primario y secundario evaluados.

6.3. Variables productivas

6.3.1. Rendimiento en peso fresco del cultivo

Durante la etapa productiva del cultivo se comenzó con la cosecha de los capítulos primarios, una vez que los mismos alcanzaron su máximo tamaño, formando una cabeza compacta. Luego se prosiguió cosechando los sucesivos capítulos hasta que los mismos pesaron 100 g. La totalidad de Kg cosechados en el lote evaluado se dividió por la densidad de plantas por m² y se obtuvo el rendimiento por unidad de superficie, para cada tratamiento y genotipo (kg m⁻²).

6.3.2. Peso fresco del capítulo

Los capítulos cosechados para medir la RAD se pesaron en una balanza Scaltec SBA (MAX. 4200 g; d=0,1 g), para obtener el peso del capítulo entero, en g.

Se realizaron seis repeticiones por cultivar y tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el capítulo entero.

6.3.3. Peso fresco del fondo y brácteas

Luego de determinar el peso fresco de los capítulos enteros, los mismos se sometieron al proceso de conformación de las muestras de los diferentes estratos de brácteas para medir las variables, como fue explicado previamente en la Figura 12. Se pesaron el conjunto de las diez BE, diez BM, diez BI y el fondo, en g, como se describió en la sección 3.5. Conformación de las muestras y variables medidas. Antes de pesar el fondo, se quitaron las estructuras florales rudimentarias que se asientan sobre el receptáculo carnoso. La muestra representativa de cada conjunto de brácteas, complementa a la variable de peso medio total de capítulo primario y secundario, brindando una idea de la proporción de cada estrato de las mismas.

Se realizaron seis repeticiones de cada cultivar y tratamiento, siendo la unidad experimental el conjunto de diez brácteas dentro de cada estrato y el fondo de un mismo capítulo, tanto primario como secundario.

6.3.4. Peso seco del fondo y brácteas

Para determinar peso seco, el material seleccionado se pesó y se colocó en estufa en bandejas de papel aluminio, hasta peso constante (Figura 25). El peso seco obtenido se refirió al peso fresco, expresado en %. Se realizaron seis repeticiones de cada cultivar y tratamiento, siendo la unidad experimental, muestras compuestas por cinco BE, BM y BI; dos mitades de fondos, extraídos de dos capítulos distintos, tanto primarios como secundarios.

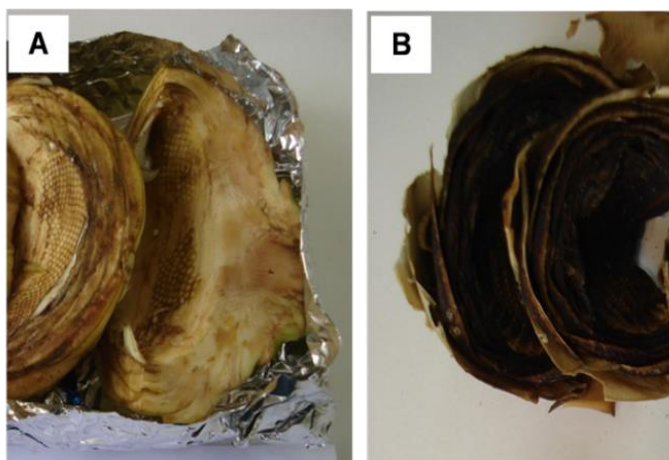


Figura 25: material fresco de fondos (A) y seco (B) en estufa 60 °C hasta peso constante

6.3.5. Número de capítulos por planta

La cosecha se realizó identificando los capítulos de cada planta, logrando así el dato del número total de capítulos. Se consideraron las plantas que habían producido como mínimo cinco capítulos.

6.3.6. Precocidad

La precocidad se midió contando los días desde la primera aplicación de AG₃ hasta la cosecha del capítulo primario de cada planta (días a cosecha).

7. Análisis estadístico

En un lote implantado de 160 plantas de cada uno de los tres genotipos (segundo año de cultivo) y con los tratamientos aplicados con restricciones debido al riego localizado, se analizó el efecto de los tratamientos dentro de cada genotipo.

El modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor observado en la unidad experimental

μ = media general del ensayo

T_i = efecto del tratamiento

e_{ij} = término del error

Se analizó la normalidad con la prueba de Shapiro Wilks y la homogeneidad con la prueba de Levene para cada variable y se aplicó un ANAVA y la prueba de Duncan para aquellas de distribución normal, mientras que Kruskal Wallis fue aplicado para las variables de distribución no normal. El programa estadístico utilizado es INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2016).

Puesto que el diseño experimental a campo no presentó la aleatorización de los genotipos, se decidió utilizar una aproximación de análisis descriptiva por un método multivariado para visualizar el efecto de los genotipos y el manejo sobre todas las variables estudiadas. Se realizó un análisis multivariado de componentes principales, estableciendo relaciones entre todas las variables, los genotipos y los tratamientos, utilizando los valores promedios de cada variable para poder visualizar mejor en el gráfico la relación de cada una con los genotipos, tratamientos y vectores, en capítulos primarios y secundarios. El programa estadístico utilizado para el análisis fue INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2016).

Para todas las variables, los gráficos fueron realizados utilizando los valores medios de cada tratamiento, con su correspondiente error experimental.

RESULTADOS

Es preciso enfatizar que los resultados obtenidos en los experimentos realizados en esta primera etapa, corresponden solamente a un año de aplicación de los tratamientos o manejos de cultivo (2013), sobre los tres cultivares obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR (Gauchito, Gurí y Oro verde).

1. Variables químicas y estructurales

1.1. Contenido de ácidos clorogénico y dicafeoilquínicos

En el genotipo GA no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos o manejos de cultivo aplicados, tanto en el contenido de AC como de DCQ (Figura 26).

Dentro del capítulo, el contenido de principios activos sumando AC y DCQ y promediando los tratamientos fue de 1194 mg kg⁻¹ de peso fresco en el F; 9799 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BI; 5057 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BM y 1540 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BE, mientras que en las H fue de 1004 mg kg⁻¹ de peso fresco (Figura 26).

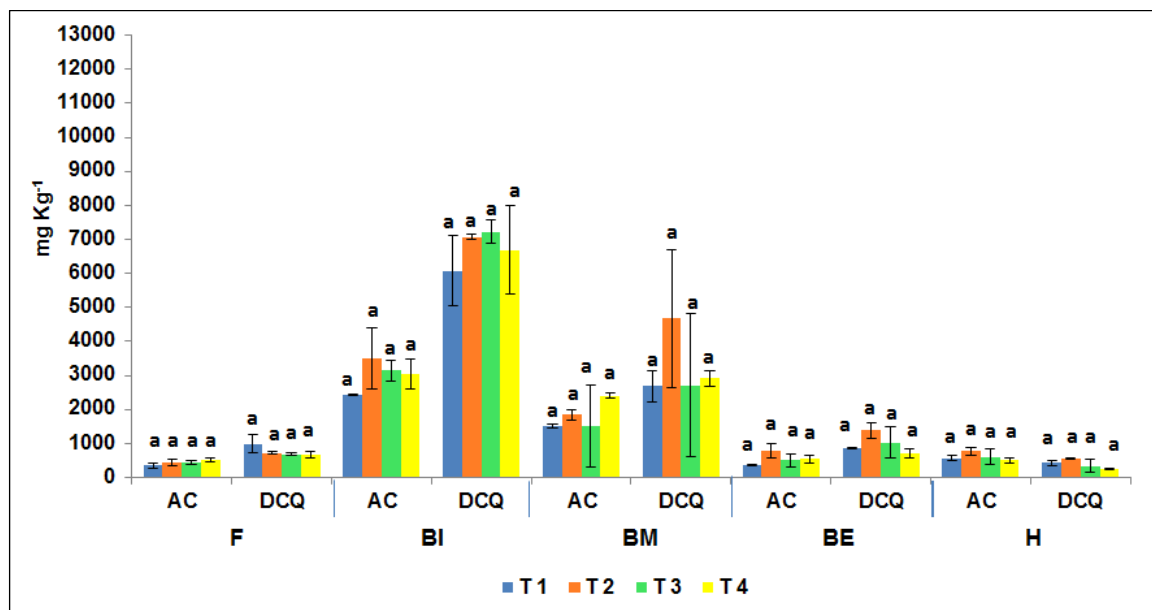


Figura 26: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeoilquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM), brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** y en hojas (H) de plantas del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Letras iguales dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos al 5 %, según prueba de Kruskal Wallis.

A diferencia de lo encontrado en capítulos primarios, en los capítulos secundarios de GA, se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de AC de las BI. Las plantas con T₄ o control presentaron el mayor contenido (8215 mg kg⁻¹ de peso fresco) respecto a las plantas con T₂ (2539 mg kg⁻¹ de peso fresco). El contenido de DCQ es mayor que el de AC en todas las partes del capítulo y notoriamente mayor en BI (Figura 27).

Se detectaron valores superiores de AC en BI de capítulos secundarios respecto a los primarios ($p < 0,05$), con valores medios de 4937 y 3032 mg kg⁻¹ de peso fresco respectivamente. Se observaron también diferencias entre órdenes de cosecha para DCQ ($p < 0,01$), cuyo contenido medio en secundarios fue de 11719 mg kg⁻¹ de peso fresco y en primarios de 6767 mg kg⁻¹ de peso fresco (Figura 27 respecto a Figura 26). Este resultado es muy interesante ya que la calidad química en cuanto al contenido de ácidos cafeoilquinicos en el cultivar GA se mantiene o es superior en capítulos secundarios y se podría esperar que se conserve este comportamiento en los sucesivos órdenes de cosecha.

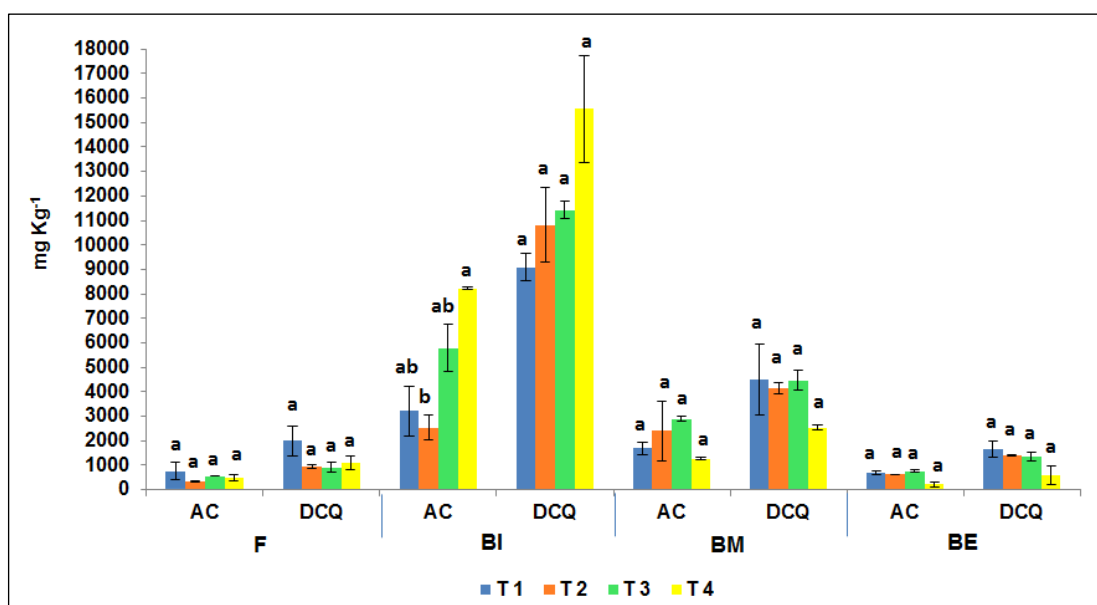


Figura 27: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeolquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos secundarios** de plantas del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5 %, según prueba de Kruskal Wallis.

En el genotipo GU no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos o manejos de cultivo aplicados, tanto en el contenido de AC como de DCQ en F, BE de capítulos primarios y H en estado reproductivo (Figura 28). En las BI se evidencia efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de AC ($p < 0,01$), con valores mayores en los capítulos de plantas con T₄ (5378 mg kg⁻¹ de peso fresco) respecto a las plantas fertilizadas (2248 mg kg⁻¹ de peso fresco). En el caso de las BM el contenido de DCQ fue mayor en las plantas control respecto a las que recibieron riego complementario ($p < 0,05$) con valores de 3979 y 1770 mg kg⁻¹ respectivamente (Figura 28).

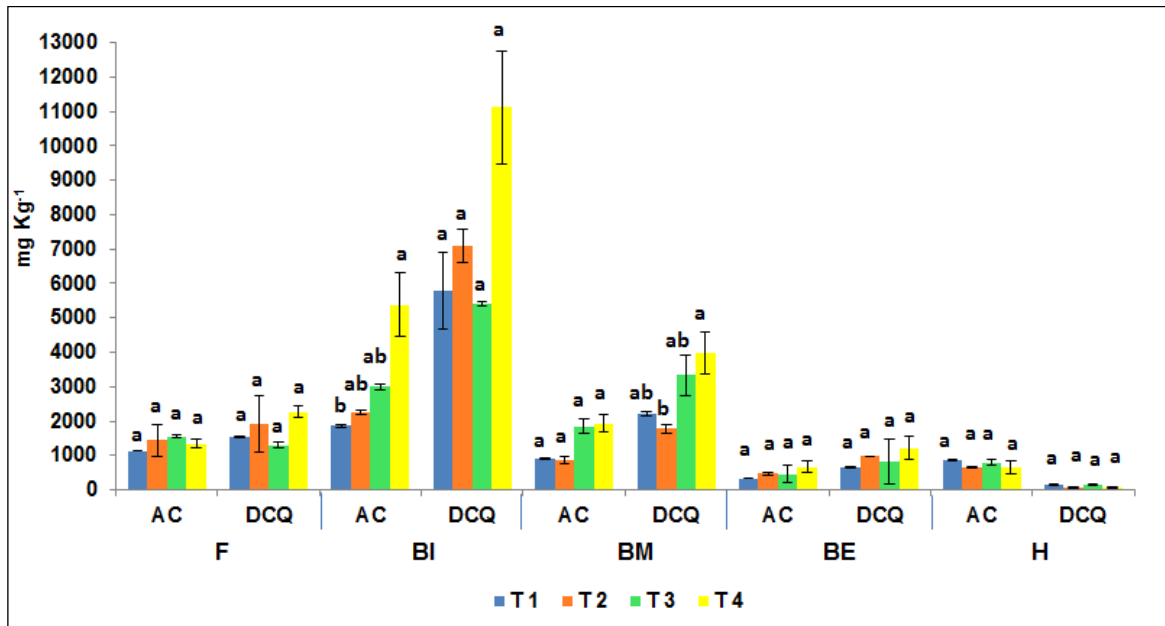


Figura 28: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeolquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM), brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** y en hojas (H) de plantas del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Kruskal Wallis.

En los capítulos secundarios de GU no se observaron diferencias en el contenido de principios activos en ninguna de las partes evaluadas. Aunque no significativa, existe la tendencia a tener valores superiores en ambos compuestos para T₃ en F y de DCQ en BI. El contenido de DCQ es mayor que el de AC en todas partes del capítulo y notoriamente mayor en BI (Figura 29).

No se observaron diferencias estadísticas en los principios activos de las BI, entre los dos órdenes de cosecha.

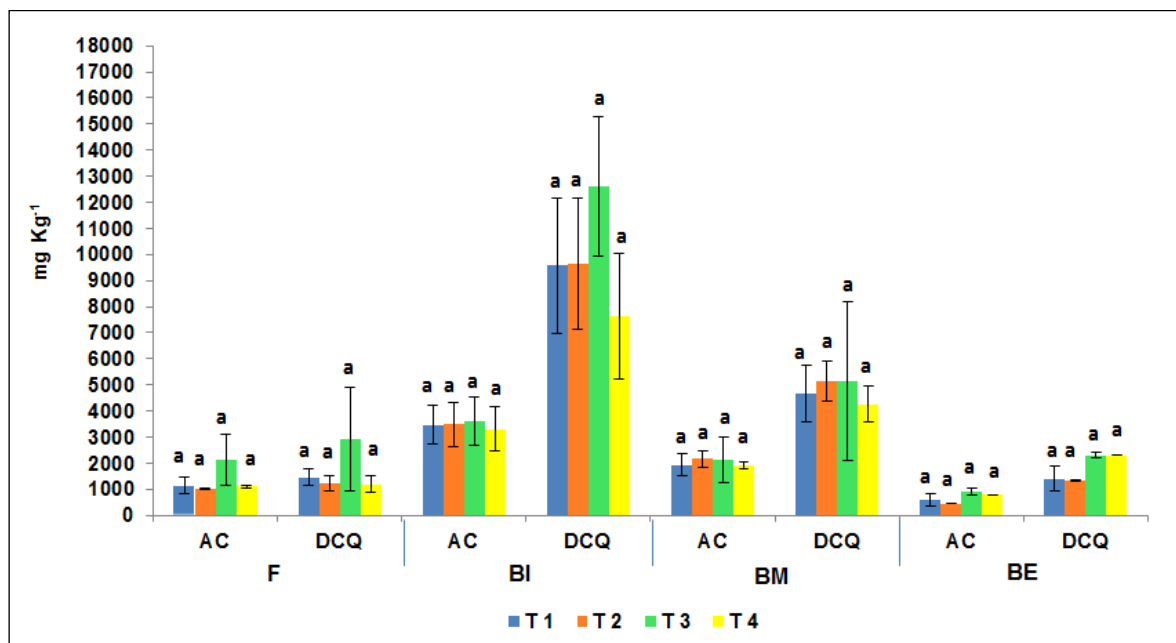


Figura 29: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeolquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos secundarios** de plantas del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Letras iguales dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos al 5 %, según prueba de Kruskal Wallis.

En el genotipo OV no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos aplicados, tanto en el contenido de AC como de DCQ en F, brácteas de capítulos primarios y H en estado reproductivo (Figura 30). Dentro del capítulo, el contenido de principios activos sumando AC y DCQ y promediando los tratamientos fue de 1188 mg kg⁻¹ de peso fresco en el F; 7888 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BI; 4970 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BM y 1373 mg kg⁻¹ de peso fresco en las BE, mientras que en las H fue de 971 mg kg⁻¹ de peso fresco (Figura 30).

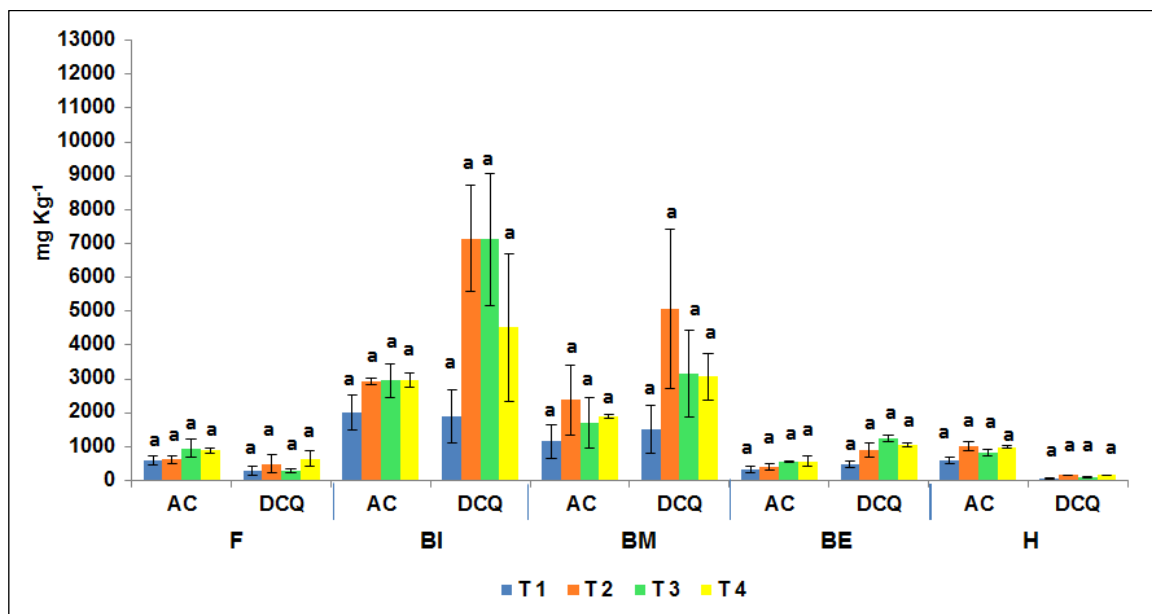


Figura 30: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeolquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM), brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** y en hojas (H) de plantas del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Letras iguales dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos al 5 %, según prueba de Kruskal Wallis.

Se observaron diferencias entre órdenes de cosecha para DCQ en las BI ($p < 0,09$), cuyo contenido medio en secundarios fue de 7631 mg kg⁻¹ de peso fresco y en primarios de 5170 mg kg⁻¹ de peso fresco (Figura 31 respecto a Figura 30). En los capítulos secundarios se observó el mismo comportamiento que en los primarios, sin haber diferencias estadísticas entre tratamientos para ambos compuestos químicos y en todas las partes del capítulo (Figura 31).

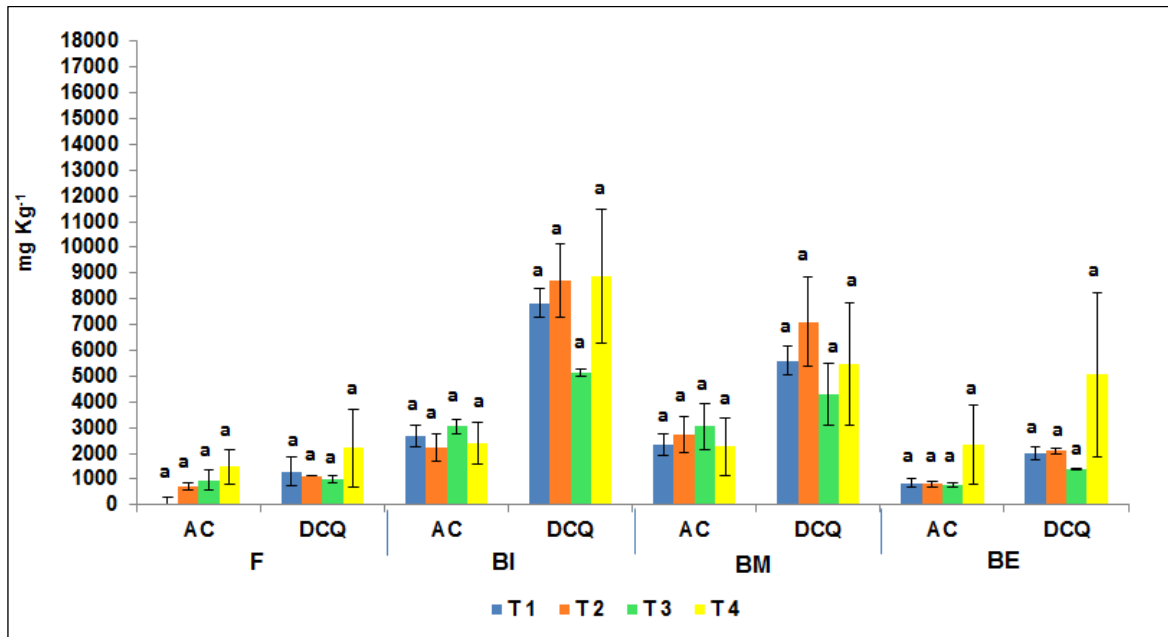


Figura 31: contenido de ácido clorogénico (AC) y dicafeolquinicos (DCQ) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco que fueron detectados en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos secundarios** de plantas del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Letras iguales dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos al 5 %, según prueba de Kruskal Wallis

1.2. Pardeamiento del fondo

En las mediciones de diferencia de luminosidad en el F respecto al momento del corte, se observó que la aplicación de T₁ y T₂, con valores de -2,7 en promedio, disminuyó el pardeamiento respecto a T₄ (-4,9), (Figura 32 A) en capítulos primarios del genotipo GA (p<0,05). En cambio, en los capítulos secundarios no se observó diferencias entre tratamientos (Figura 32 B).

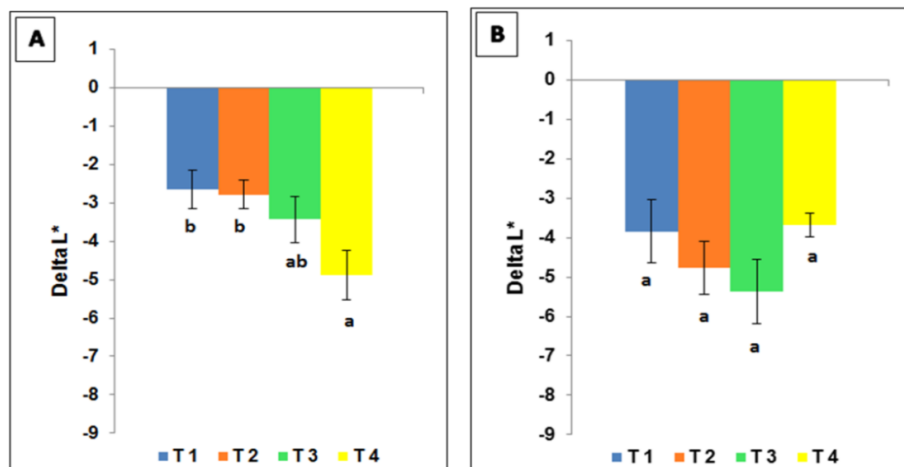


Figura 32: pardeamiento del fondo (delta L* entre diez minutos del corte y el momento inicial) de **capítulos primarios** (A) y **secundarios** (B) de plantas del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En capítulos de GU el comportamiento fue diferente, no existiendo diferencias estadísticas entre tratamientos, para ambos rangos de cosecha (Figura 33 A y B). En promedio los valores de pardeamiento son mayores a los encontrados para GA.

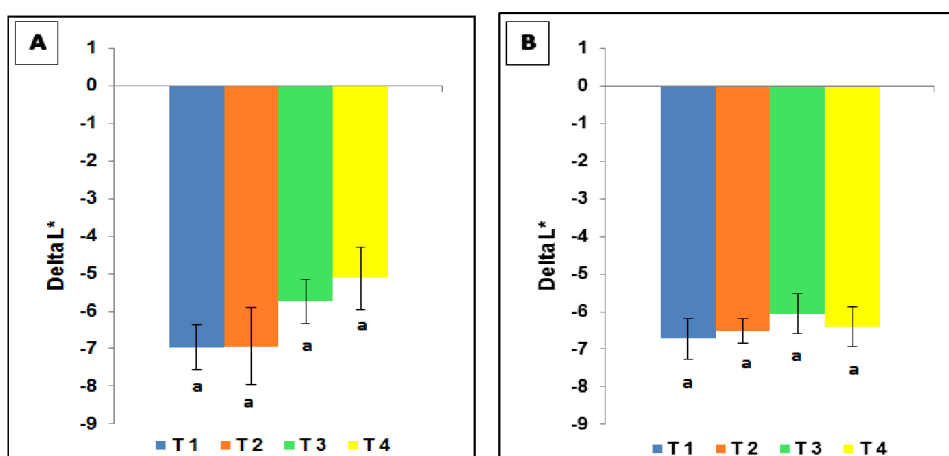


Figura 33: pardeamiento del fondo (delta L* entre diez minutos del corte y el momento inicial) de **capítulos primarios** (A) y **secundarios** (B) de plantas del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En capítulos primarios y secundarios de OV no se observó diferencias entre tratamientos en la variable de pardeamiento del F (Figura 34 A y B). Los valores en promedio son muy similares a GU, alrededor de -6,0.

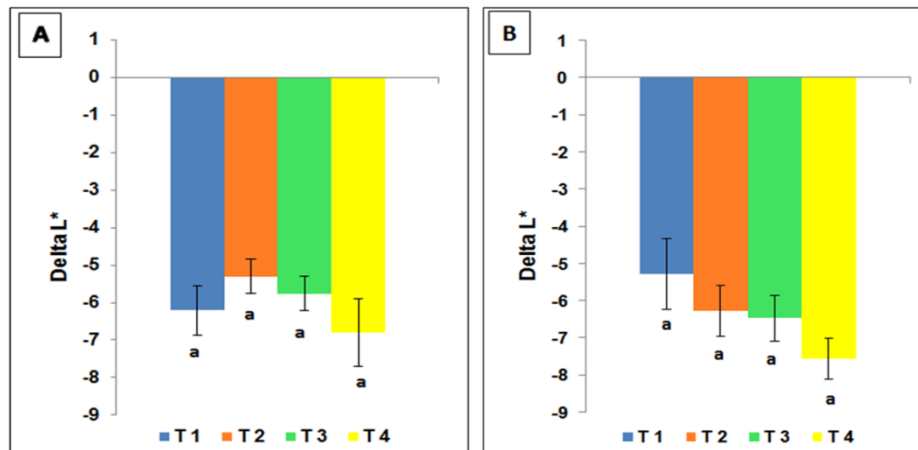


Figura 34: pardeamiento del fondo (delta L* entre 10 minutos del corte y el momento inicial) de capítulos primarios (A) y secundarios (B) de plantas del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Letras iguales indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan

1.3. Fibra insoluble total

Respecto al contenido de fibra insoluble, los manejos de cultivo produjeron efecto solamente en el F de capítulos primarios del genotipo GA, los cuales presentaron menor valor de fibra con T₁ (1,8%) y el mayor con T₂ (3,0%), mientras que los demás tratamientos impactaron con valores intermedios ($p < 0,05$). En los diferentes estratos de brácteas no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos (Figura 35 A).

En los capítulos secundarios de GA, el % de fibra se modificó al aplicar cualquiera de los manejos agronómicos, en BM y BE ($p < 0,01$). El comportamiento en ambos estratos de brácteas es similar; en BM los menores valores se observaron para T₁ (4,4%) y T₃ (3,7%), mientras que en BE el menor contenido de fibra se observó con T₁ (7,7%) y el mayor con T₄ (10,6%), como puede observarse en la Figura 35 B.

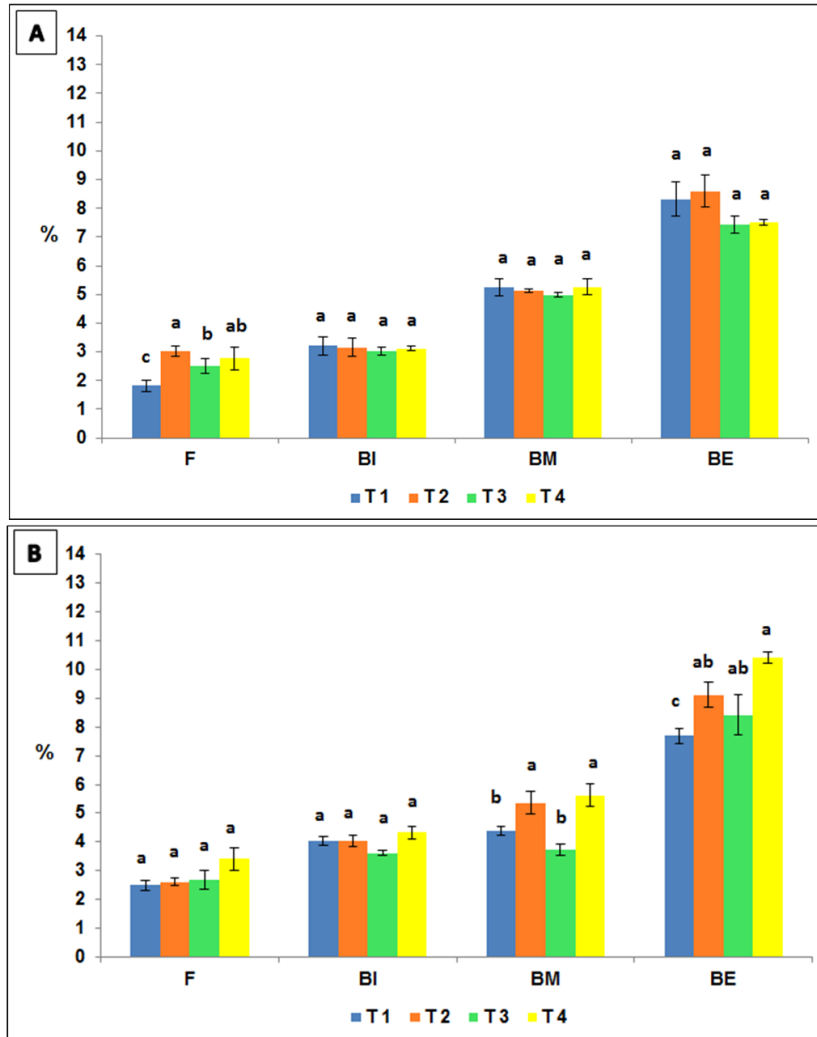


Figura 35: contenido de fibra insoluble total (%) en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** (A) **secundarios** (B) de plantas del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁- Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el genotipo GU, tanto en capítulos primarios como secundarios, los tratamientos tuvieron efecto en todos los estratos de brácteas. El contenido de fibra insoluble en BI y BM de capítulos primarios fue menor con T₃ (3,2% y 5,9% respectivamente) y T₄ (3,0% y 6,0% respectivamente) ($p < 0,01$) y en BE con T₃ ($p < 0,05$), con valores de 10,0% (Figura 36 A). En los capítulos secundarios se observó igual comportamiento, salvo que las BM presentaron menor % de fibra solamente con T₃ ($p < 0,01$) (Figura 36 B).

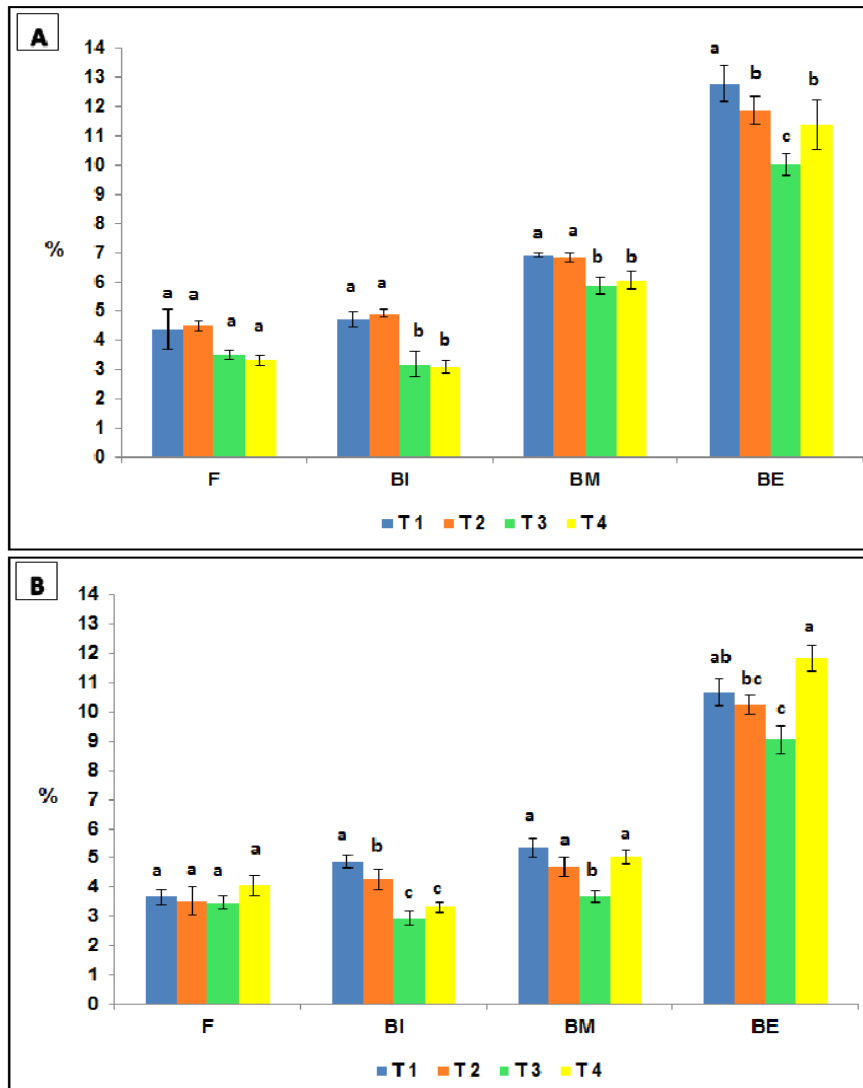


Figura 36: contenido de fibra insoluble total (%) en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios (A) secundarios (B)** de plantas del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido geberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el genotipo OV, los tratamientos tuvieron efecto en BM y BE, tanto en capítulos primarios como secundarios. Las BM de capítulos primarios provenientes de plantas con aplicación de T₁ y T₃, disminuyeron el % de fibra (5,9% y 4,4% respectivamente) respecto a aquellos que recibieron T₂ (6,7%) (Figura 37 A).

En el caso de los capítulos secundarios, el comportamiento fue similar, presentando las BM con T₃ un valor de 3,9% y T₂ 4,9% (Figura 37 B). En las BE de los capítulos primarios cuyas plantas fueron tratadas con T₃, se determinó el menor contenido de fibra (8,0%), respecto a los otros manejos de cultivo (11,5% en promedio) y en los secundarios 9,0% y 11,0% respectivamente.

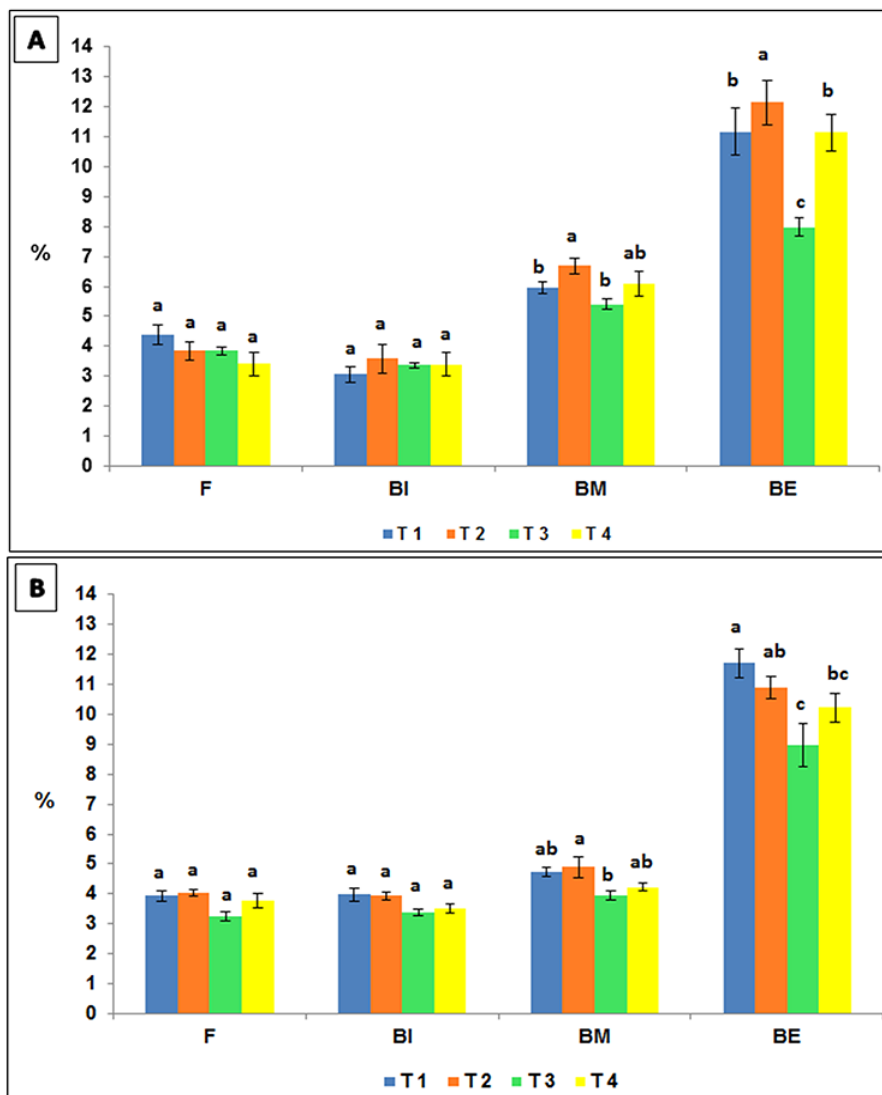


Figura 37: contenido de fibra insoluble total (%) en fondo (F), brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** (A) **secundarios** (B) de plantas del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

2. Variables morfológicas y color

2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

En la Figura 38 A y B, se puede observar que los tratamientos aplicados no modificaron la forma de capítulos primarios y secundarios del genotipo GA, expresada en la relación alto/diámetro (RAD) del capítulo, con valores de 0,9 en promedio. Tampoco se modificó la forma de las BE, medida en la relación alto/ancho (RAA) de las mismas, siendo 1,1 en promedio.

Respecto a la RAA de las BI, se observó que con T₁ las mismas tuvieron forma menos alargada en capítulos primarios ($p < 0,01$) y en los secundarios no se observaron diferencias. En cambio en las BM con T₂ la forma fue más alargada que con el resto de los tratamientos, en capítulos primarios. En los secundarios la forma de las BM fue más achatada con T₃ ($p < 0,01$), resultado distinto al esperado cuando se aplica fertilizante o AG₃ (Figura 38 A y B). Las BI y BM, generalmente fueron más alargadas que las BE y no modifican la forma del capítulo entero.

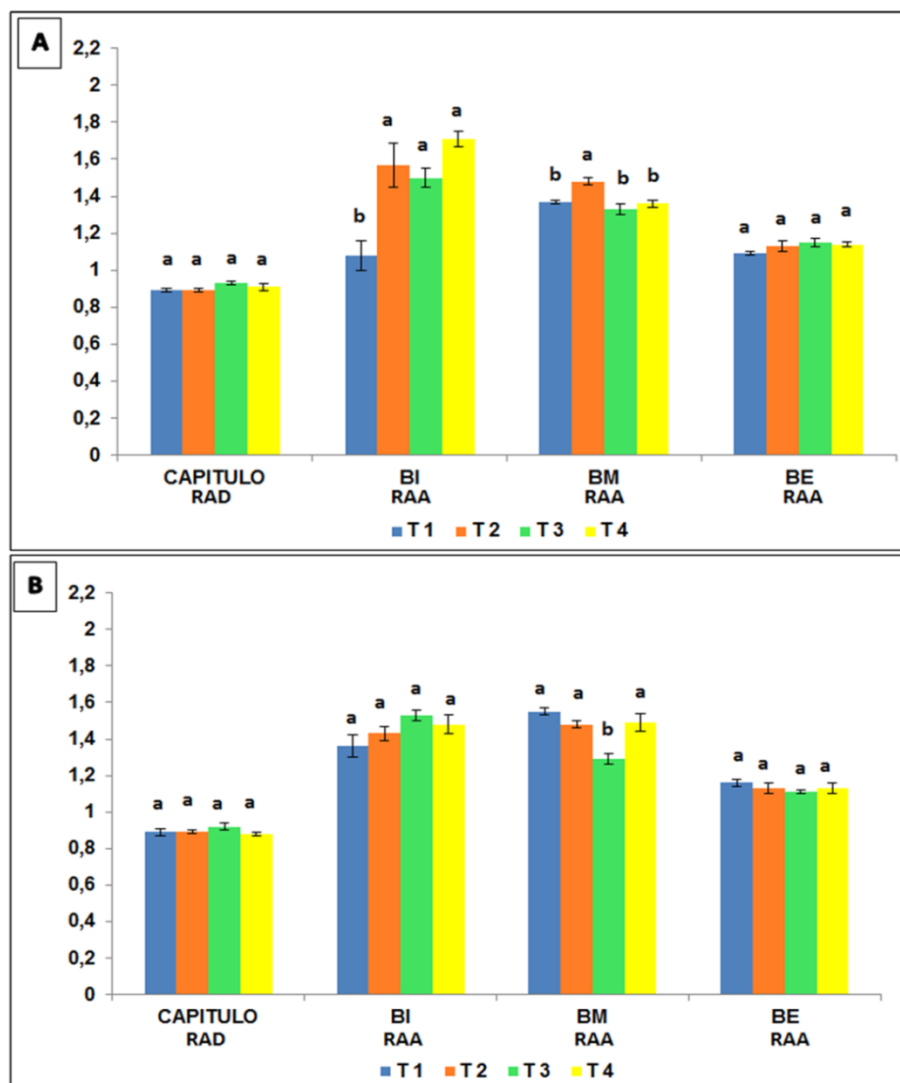


Figura 38: relación alto/diámetro de capítulo (RAD) y relación alto/ancho de brácteas internas (RAA BI), brácteas medias (RAA BM) y brácteas externas (RAA BE), en **capítulos primarios** (A) y **secundarios** (B) de plantas del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el genotipo GU tampoco hubo efecto de los tratamientos en la RAD del capítulo y se observan valores promedios de uno, ya que la forma regular de este genotipo es más alargada que GA y OV. Por otro lado, los tratamientos tuvieron influencia en la RAA de BI en ambos rangos de cosecha ($p < 0,01$), pero con resultados opuestos; los capítulos primarios con T₃ presentaron el mayor valor y los secundarios, el menor. En las BM de primarios y BE

de secundarios, no se observaron diferencias entre los manejos de cultivo. En cambio en las BE de capítulos primarios y BM de los secundarios, la RAA fue menor con T₃ (Figura 39 A y B).

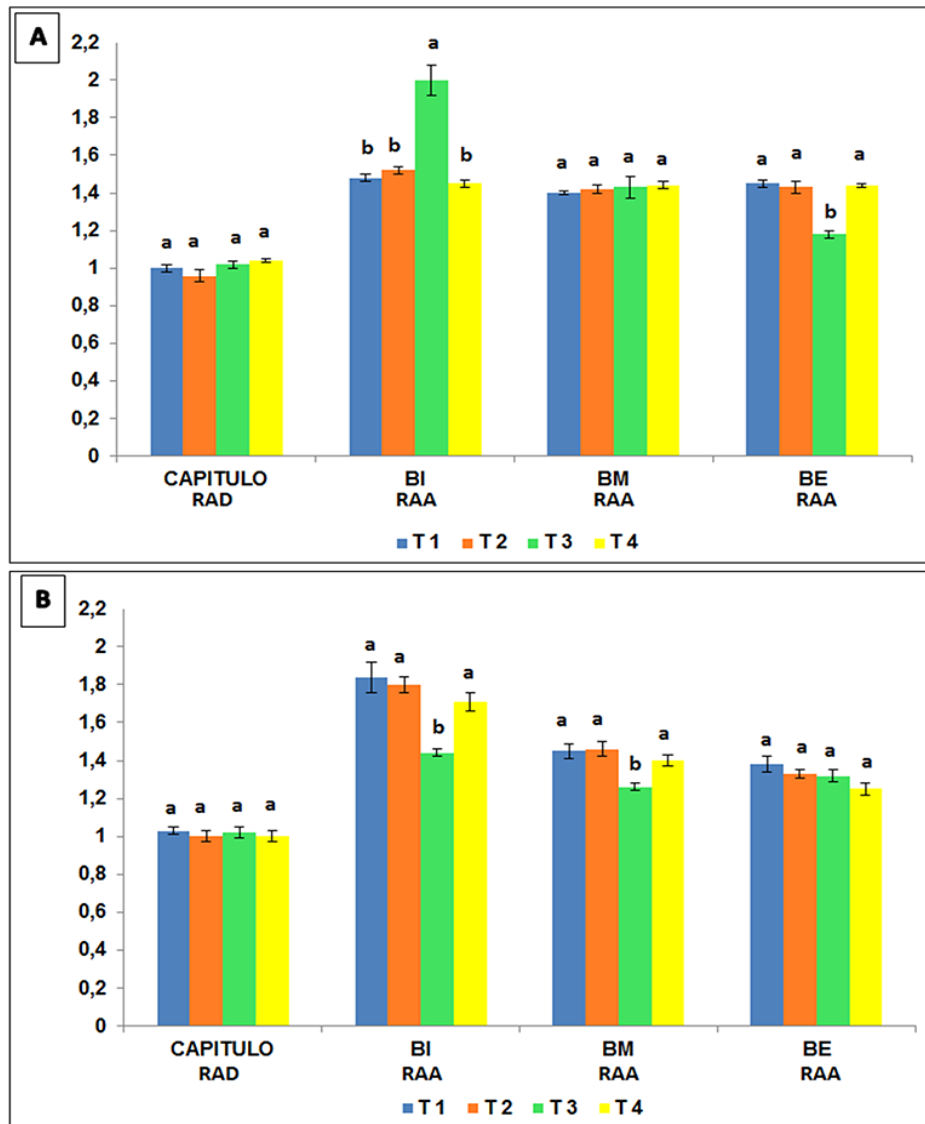


Figura 39: relación alto/diámetro de capítulo (RAD) y relación alto/ancho de brácteas internas (RAA BI), brácteas medias (RAA BM) y brácteas externas (RAA BE), en capítulos primarios (A) y secundarios (B) de plantas del genotipo Gurí, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En OV, al igual que en los otros genotipos, no hubo efecto de los tratamientos en la RAD del capítulo y se observan valores promedios menores a uno, como también ocurre en GA ya que la forma regular de estos genotipos es más achatada que GU. En la RAA de BI de capítulos primarios se observó un mayor valor con T₂ y T₄ (p<0,01), en cambio en los secundarios fue con T₁ (p<0,05). En las BM de ambos rangos de cosecha no se encontraron diferencias en la RAA, con valores promedios de 1,2. En cambio, las BE presentaron forma más achatada con T₁ (p<0,01) en capítulos primarios y secundarios (Figura 40 A y B).

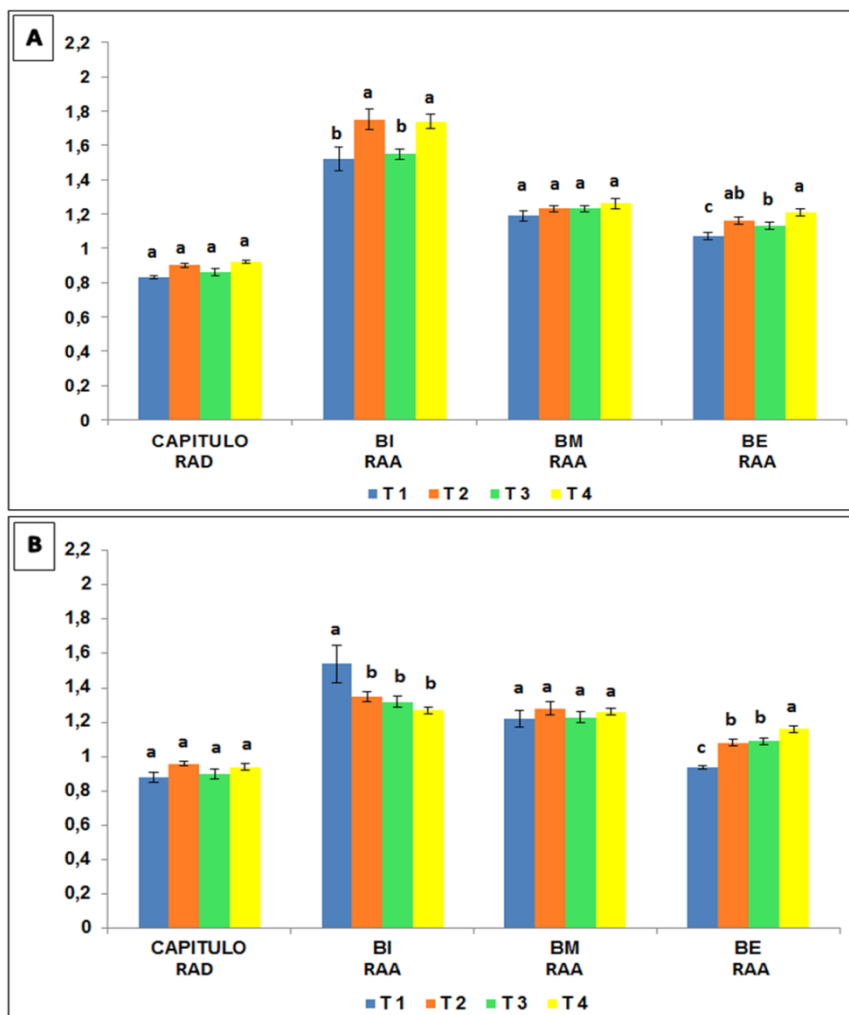


Figura 40: relación alto/diámetro de capítulo (RAD) y relación alto/ancho de brácteas internas (RAA BI), brácteas medias (RAA BM) y brácteas externas (RAA BE), en capítulos primarios (A) y secundarios (B) de plantas del genotipo Oro verde, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

2.2. Ancho y alto del fondo

Con respecto a la variable ancho del F en capítulos primarios del genotipo GA, no se observó diferencia entre manejos de cultivo y en los secundarios, presentaron valores más elevados con T₁ y T₂ ($p < 0,01$), como se muestra en la Figura 41 A y B. Respecto al alto del F, se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos, presentando mayores valores con T₁ y T₂, en ambos órdenes de cosecha. El tamaño del F, en promedio de todos los tratamientos, fue similar en ambos rangos de cosecha, con valores de 6,2 cm de ancho; dos cm de alto en primarios y 5,7 cm de ancho; 2,3 cm de alto, en secundarios (Figura 41 A y B).

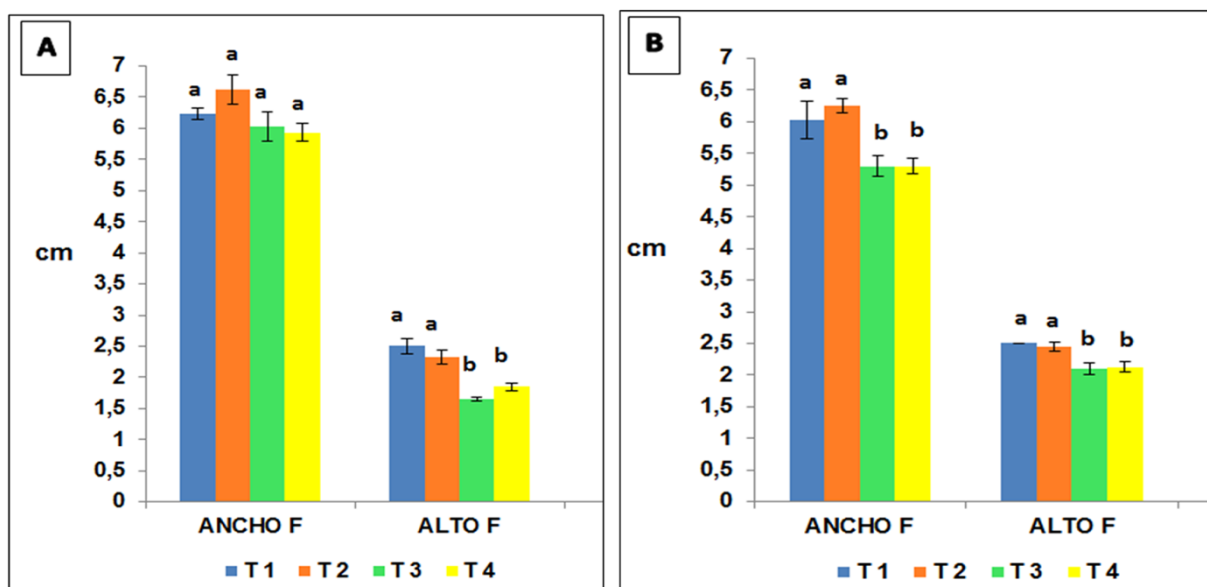


Figura 41: ancho y alto del fondo (F) (g) en **capítulos primarios (A)** y **secundarios (B)** del genotipo **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

El ancho del F en capítulos primarios de GU fue mayor con T₂ ($p < 0,01$), y en capítulos secundarios, se observó igual resultado con T₁ y T₂ ($p < 0,01$), como se muestra en la Figura 42 A y B. Respecto al alto del F, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, con menor valor en capítulos primarios con T₃ ($p < 0,05$) y no hubo diferencias en el ancho del F en secundarios (Figura 42 A y B). El tamaño del F, en promedio de todos los tratamientos, fue similar tanto en primarios como secundarios, con valores de 5,1 cm de

ancho; 2,4 cm de alto en primarios y 4,6 cm de ancho; 2,3 cm de alto, en secundarios (Figura 42 A y B).

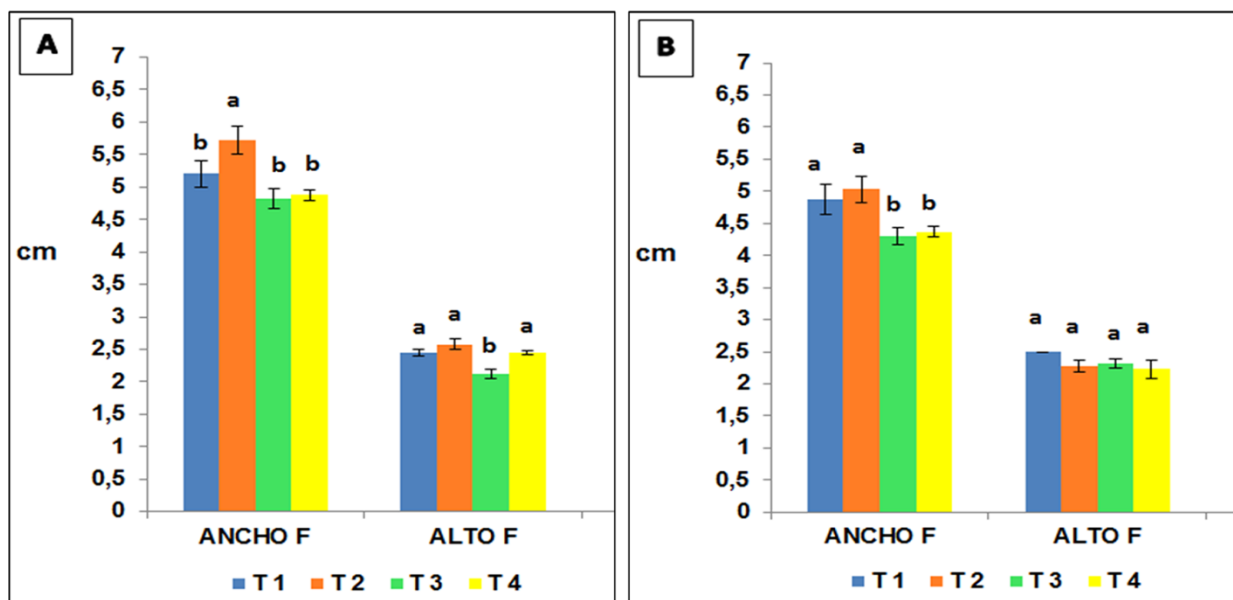


Figura 42: ancho y alto del fondo (F) (g) en capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el genotipo OV no se encontraron diferencias estadísticas en el ancho del F con la aplicación de los diferentes manejos de cultivo. Se observó un cm de diferencia entre primarios (5,4 cm) y los secundarios (4,4 cm). En cambio, en el alto del F hubo diferencias significativas, siendo los fondos con T₃ de menor valor en capítulos primarios y de mayor valor en los secundarios ($p < 0,01$); (Figura 43 A y B). El alto del F, en promedio de todos los tratamientos, fue similar tanto en primarios como secundarios, con valores de 2,0 y 2,2 cm respectivamente.

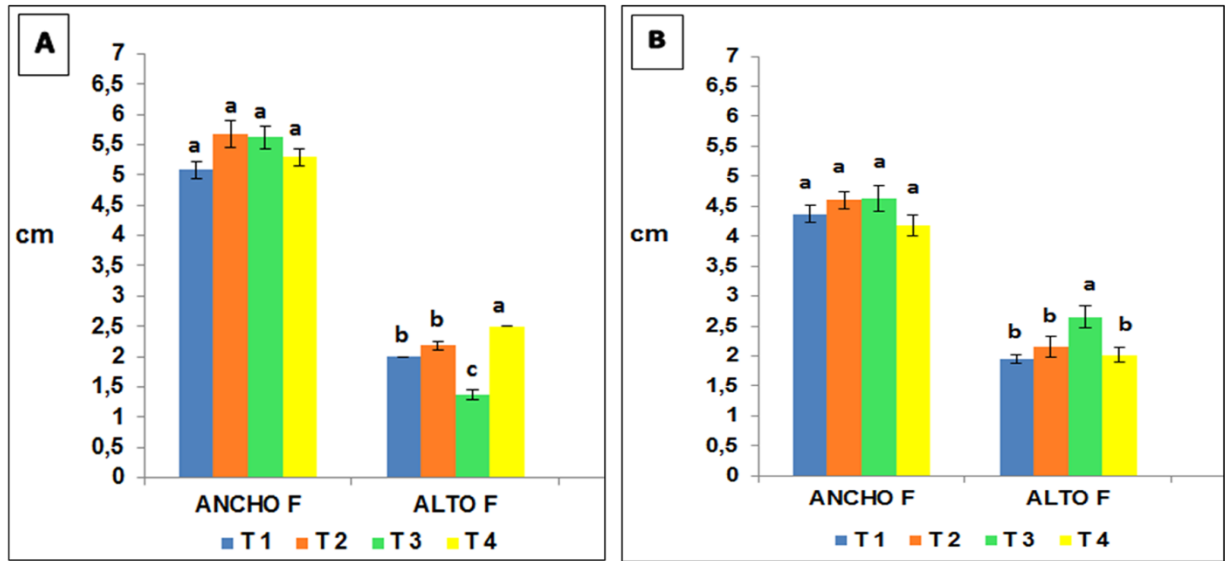


Figura 43: ancho y alto del fondo (F) (g) en **capítulos primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

2.3. Color de brácteas

En el índice de color (IC) de las BI del genotipo GA, se encontraron diferencias entre los tratamientos o manejos de cultivo. Con T₃ se observó un valor más cercano a -4, es decir un verde menos amarillento que los demás, tanto en capítulos primarios como secundarios. En cambio, en las BM y BE no se observaron diferencias entre tratamientos para ambos órdenes o rangos de cosecha. Los valores promedios de los tres estratos de brácteas se mantienen en los capítulos primarios (Figura 44 A) como secundarios (Figura 44 B).

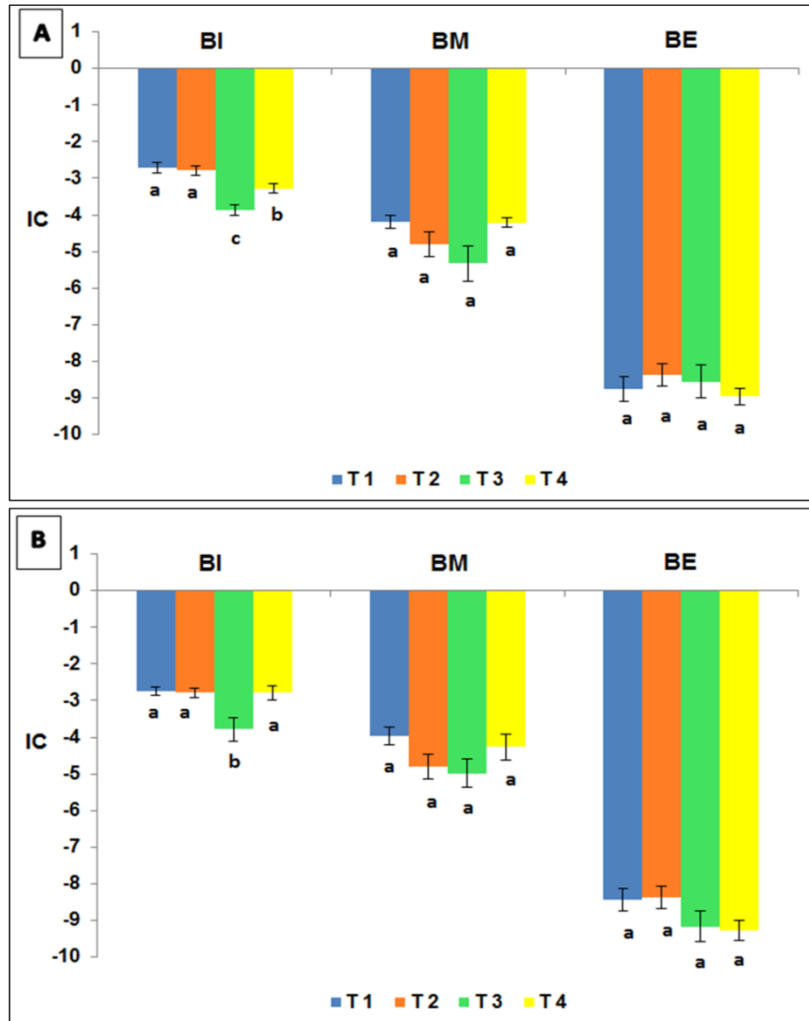


Figura 44: Índice de color (IC) en brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios** (A) **secundarios** (B) de plantas del cultivar **Gauchito**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada estrato de brácteas, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

El color en el genotipo GU presenta valores muy distintos ya que su color característico es variegado con tonos verdes y violáceos, especialmente en sus BE. El IC de las BI es verde amarillento con un valor promedio entre tratamientos de -2,6. En los capítulos primarios no se encontraron diferencias significativas de IC con los tratamientos aplicados. En los secundarios, se observaron diferencias entre los tratamientos, presentando un valor más cercano a -2,5 con T₁ - T₂ (verde amarillento claro) y de -1,5 con T₃ - T₄ (amarillo verdoso) en BI. En las BM y BE no se observaron diferencias entre

tratamientos, para ambos órdenes de cosecha. Los valores promedio de los estratos de BI y BM, se mantienen en los capítulos secundarios, en cambio en las BE se observaron valores mucho menores (6,0), respecto a los encontrados en capítulos primarios (41) (Figura 45 A y B).

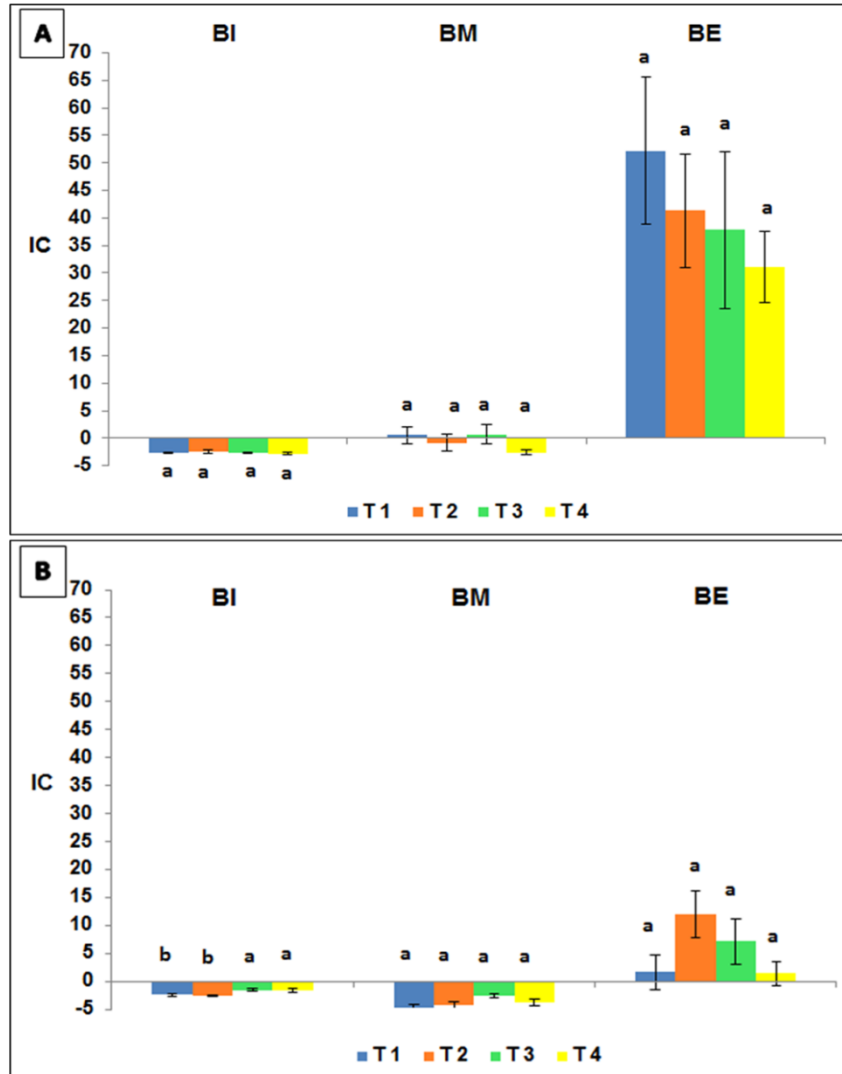


Figura 45: Índice de color (IC) en brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios (A)** y **secundarios (B)** del genotipo **Gurí**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada estrato de brácteas, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el IC de las BI de capítulos primarios del genotipo OV, se observaron diferencias entre los tratamientos ($p < 0,01$), con un valor de -4,1 correspondiente a un verde más oscuro

o menos amarillento que los obtenidos a partir de los demás tratamientos (en promedio -2,6 con BI más amarillentas). En los secundarios no se encontraron diferencias significativas. En las BM se observaron diferencias entre tratamientos para ambos rangos de cosecha. En los primarios el menor valor absoluto se observó con T₁ (más amarillento) y el mayor se observó con T₃ (más verdoso); en cambio en los secundarios, los tonos más verdosos se presentaron en T₄ (p<0,05), para ambos órdenes o rangos de cosecha. Los valores promedios de los tres estratos de brácteas, se mantienen en los capítulos secundario respecto a los primarios (Figura 46 A y B).

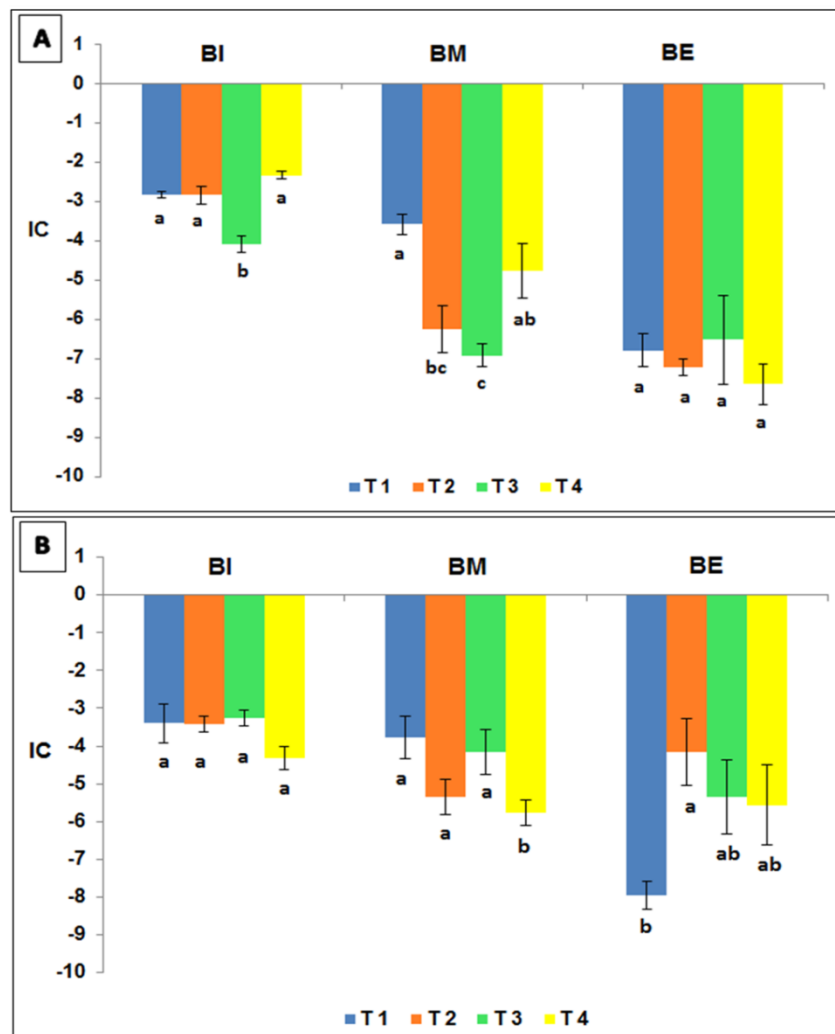


Figura 46: Índice de color (IC) en brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de **capítulos primarios (A) secundarios (B)** del genotipo **Oro verde**, con la aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada estrato de brácteas, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan

3. Variables productivas

3.1. Rendimiento en peso fresco del cultivo

El rendimiento del genotipo GA fue superior con la aplicación de T₁ y T₂ ($p < 0,01$), alcanzando una producción de 2,1 kg m⁻², en promedio, respecto a los demás tratamientos que llegan a 1,6 kg m⁻² (Figura 47 A). En cambio, en el genotipo GU las diferencias se observaron entre T₃ con 1,1 kg m⁻² y T₂ con 0,9 kg m⁻² ($p < 0,01$), con valores intermedios para los demás tratamientos (Figura 47 B). Los rendimientos en GU disminuyen a la mitad respecto a GA. Por último, en OV los tratamientos tuvieron un efecto diferente a lo observado en las otras cultivares, con rendimientos aún más bajos. Con T₁ se pudo alcanzar un rendimiento de 1,0 kg m⁻² respecto al más bajo con 0,6 kg m⁻² que corresponde al tratamiento control ($p < 0,01$), con valores intermedios en los demás manejos de cultivo (Figura 47 C).

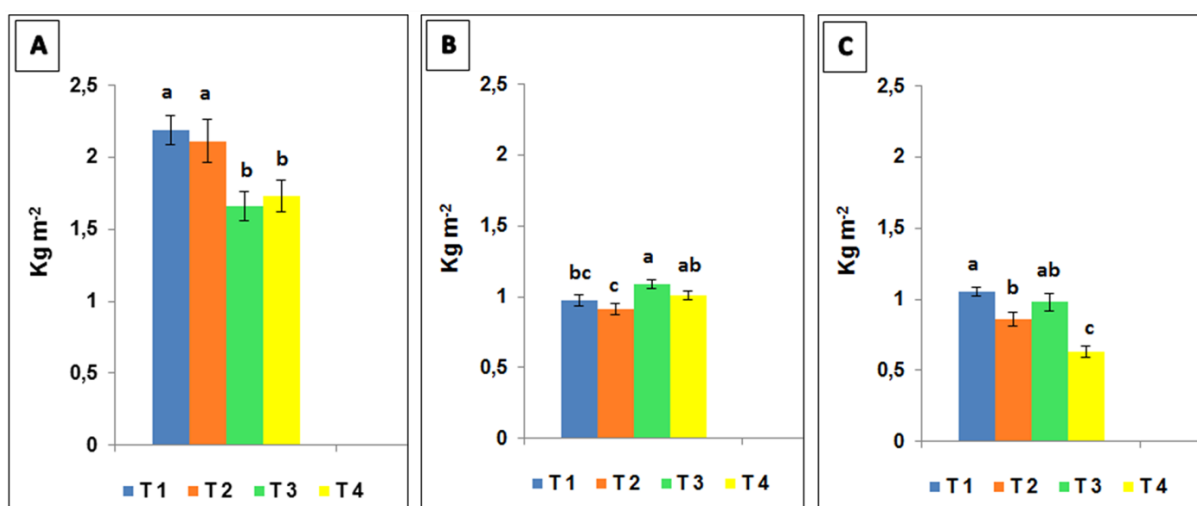


Figura 47: rendimiento en peso fresco del cultivo (kg.m⁻²) en los genotipos **Gauchito** (A); **Gurí** (B) y **Oro verde** (C), con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.2. Peso fresco del capítulo

El peso del capítulo primario en el genotipo GA fue superior con la aplicación de T₁ y T₂ ($p < 0,01$), llegando a pesar 312 g en promedio, respecto a los demás tratamientos que llegan a 245 g (Figura 48 A). Los capítulos secundarios son de menor peso, presentando el mayor valor el T₂ con 250 g (Figura 48 B).

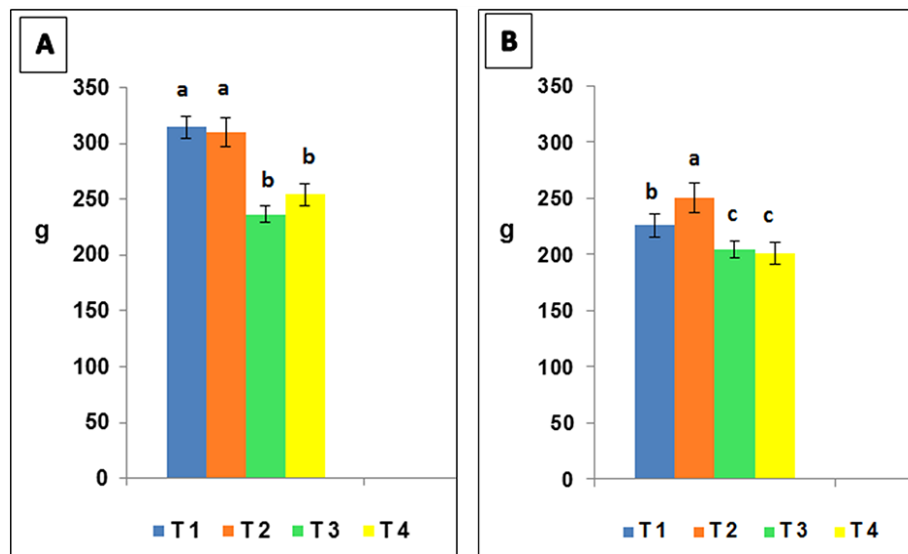


Figura 48: peso fresco del capítulo (g) **primario** (A) y **secundario** (B) en el genotipo **Gauchito** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En cambio, en el genotipo GU las diferencias se observaron entre T₄ con 246 g y el resto de los tratamientos ($p < 0,01$), los cuales presentaron valores intermedios para esta variable, en promedio 204 g (Figura 49 A). En los secundarios no se observaron diferencias (Figura 49 B).

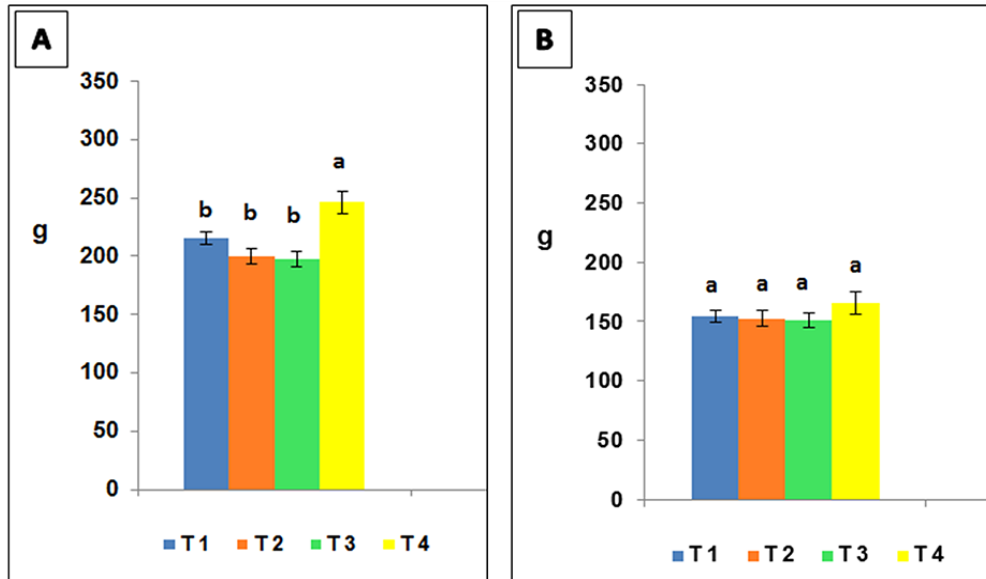


Figura 49: peso fresco del capítulo (g) **primario** (A) y **secundario** (B) en el genotipo **Gurí** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

Por otro lado, en OV el resultado fue contrario al anterior genotipo, es decir que con la aplicación de T₁ a T₃ se logró el mayor peso del capítulo primario (248 g en promedio), respecto al tratamiento control con 206 g (Figura 50 A). En los capítulos secundarios el promedio de T₁ a T₃ fue de 175 g, diferenciados de T₄ que pesó 139 g (Figura 50 B).

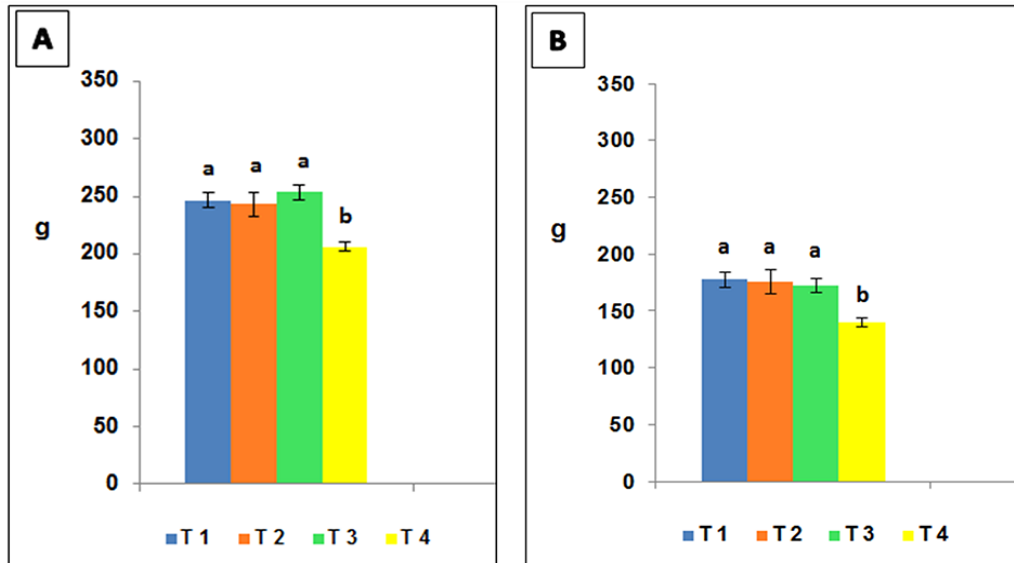


Figura 50: peso fresco del capítulo (g) **primario** (A) y **secundario** (B) en el genotipo **Oro verde** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.3. Peso fresco del fondo y brácteas

En los capítulos primarios del genotipo GA, los manejos de cultivo tuvieron influencia en el peso fresco del F, BM y BE. Con la aplicación de T₁, se obtuvieron los mayores valores de peso fresco de F (91,0 g) y de BM (41,3 g), respecto a los demás tratamientos ($p < 0,01$) que en promedio dieron 68,0 y 28,8 g respectivamente. En el caso de las BE el peso fresco fue superior con la aplicación de T₁ y T₂ ($p < 0,01$), con 45,0 gr en promedio (Figura 51 A).

En los capítulos secundarios también los tratamientos tuvieron efecto en el peso fresco de F, pero el mayor valor se observó con T₂ (78,2 g) y en BE el comportamiento y los valores son similares a los determinados en los capítulos primarios (Figura 51 B).

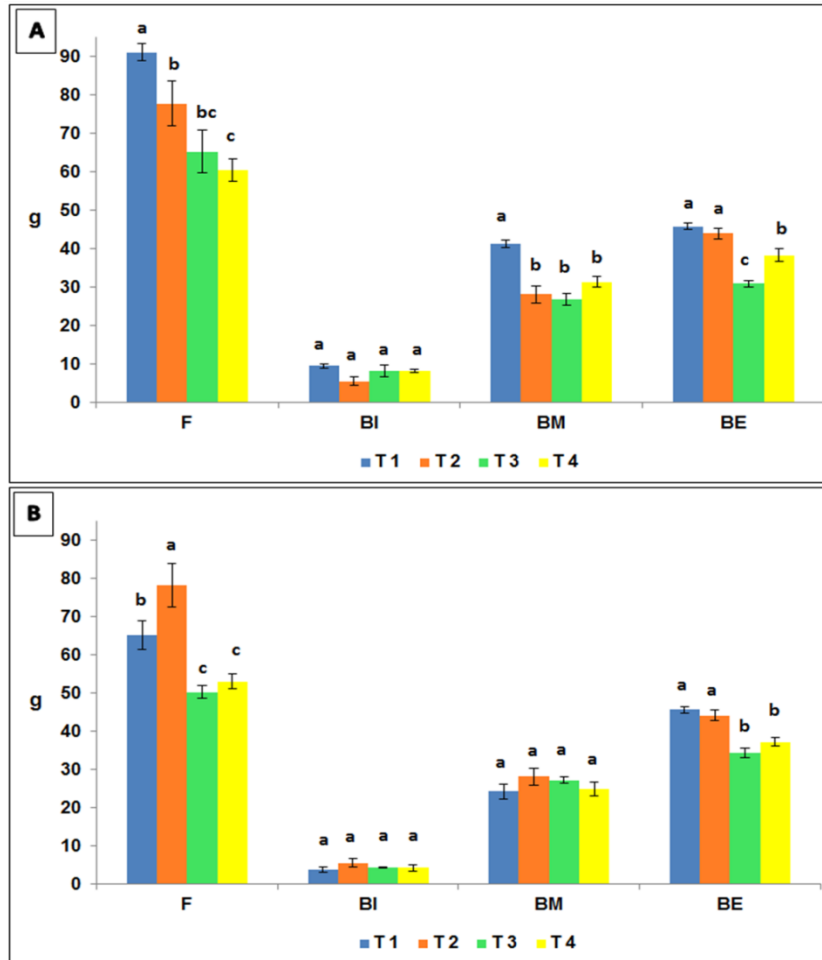


Figura 51: peso fresco (g) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de **capítulos primarios** (A) y **secundarios** (B) en el genotipo **Gauchito** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En el genotipo GU se observaron valores menores en peso fresco de F y brácteas que en GA en términos absolutos y sin compararlos estadísticamente. Es un resultado consistente con los rendimientos del cultivo, el peso medio de capítulo y el número de los mismos que produjo cada planta. En los capítulos primarios de GU, los tratamientos se diferenciaron en el peso fresco de algunas partes del capítulo. Con la aplicación de T₂, se obtuvieron los mayores valores de peso fresco de F (62,1 g) respecto a T₃ y T₄ (p<0,05), que en promedio pesaron 47,5 g. En el caso de las BI el peso fresco fue superior con la aplicación de T₁ (p<0,01), respecto a T₃ y T₄. En cambio las BE presentaron mayor peso

fresco con T₃ y T₄ respecto a los otros dos tratamientos (Figura 52 A). E los capítulos secundarios también los tratamientos tuvieron efecto en el peso fresco de F, pero el mayor valor se observó con T₁ y T₂ (44,9 g) respecto al menor valor encontrado con T₃ (34,9 g). En las BE se observó el mayor valor de peso con T₃ (32 g), comparado con los demás tratamientos (Figura 52 B).

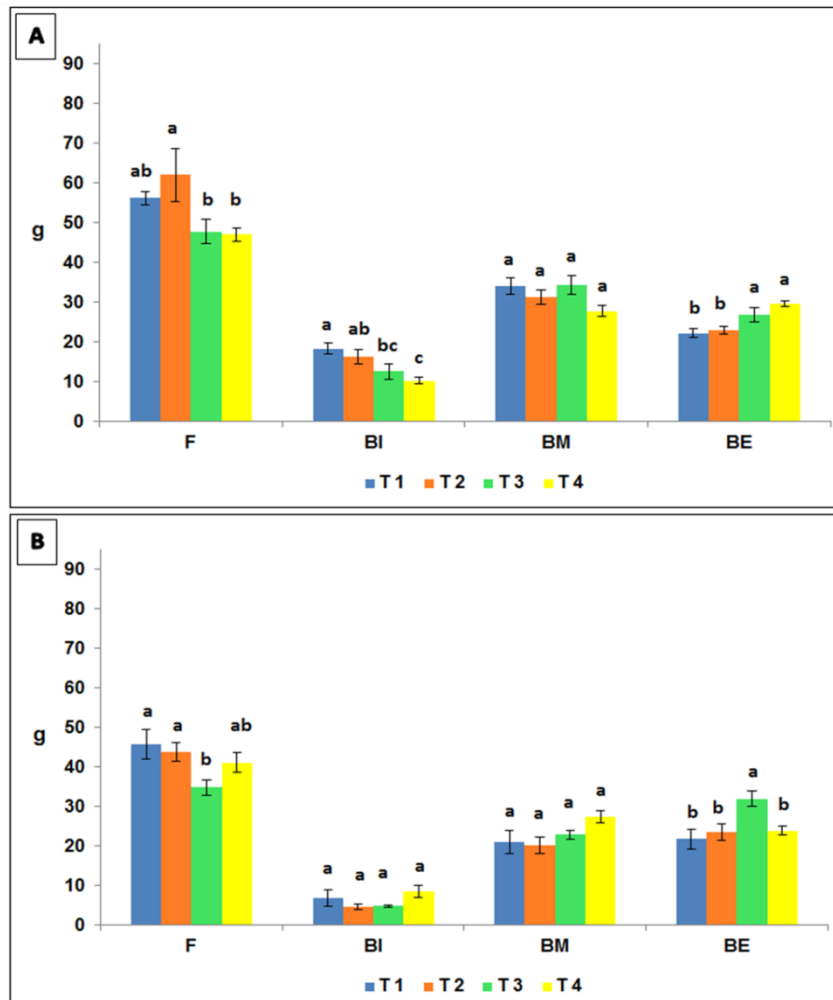


Figura 52: peso fresco (g) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos primarios (A) y secundarios (B) en el genotipo Gurí con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

El genotipo OV al igual que GU, presenta en general capítulos más pequeños que los de GA, y también presentan menor peso. En los capítulos primarios de OV, varias partes del capítulo se diferenciaron en el peso fresco por los tratamientos aplicados. Con la aplicación de T₂, se obtuvieron los mayores valores de peso fresco de F (67,5 g) respecto al resto de tratamientos ($p < 0,01$), que en promedio pesaron 51,1 g. En el caso de las BI el peso fresco fue superior con la aplicación de T₂ ($p < 0,01$), respecto a T₁ y T₄. En cambio, en las BE presentaron mayor peso fresco T₁ respecto a los otros tratamientos (Figura 53 A). En los capítulos secundarios el peso de los F se diferenció significativamente por los tratamientos aplicados, con mayor peso fresco con T₁ a T₃ respecto a T₄ o control ($p < 0,05$) (Figura 53 B).

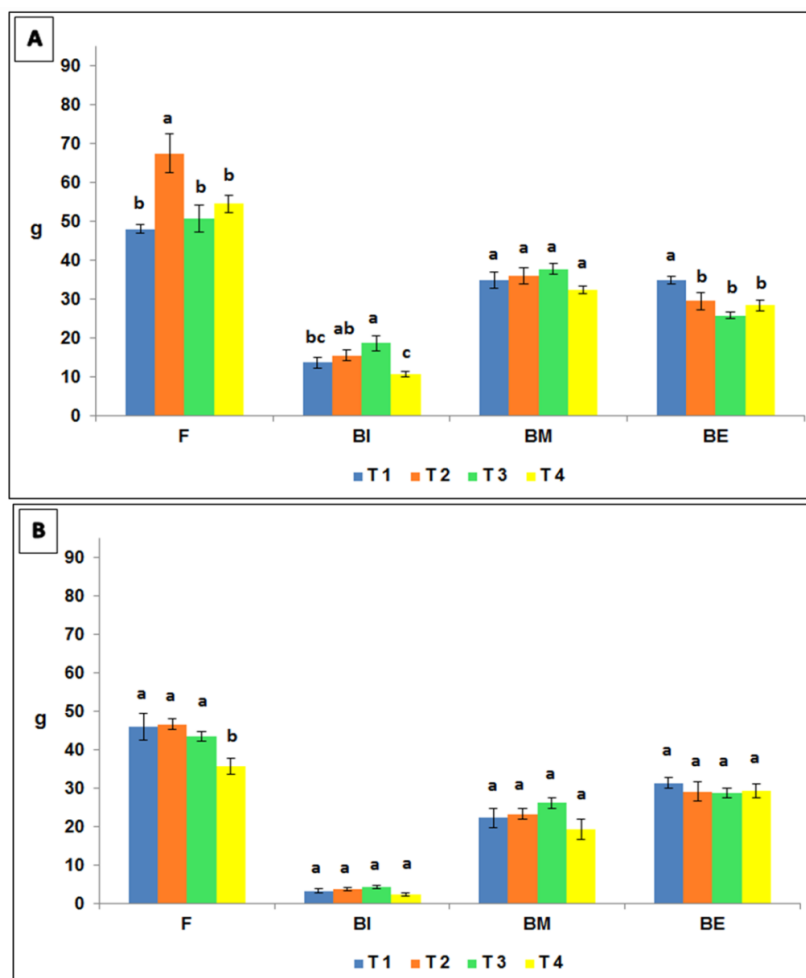


Figura 53: peso fresco (g) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) en el genotipo **Oro verde** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.4. Peso seco del fondo y brácteas

Los valores de peso seco en las diferentes partes del capítulo fueron en general similares, pero el efecto de los tratamientos varió en cada una. En el genotipo GA, solamente hubo diferencias entre tratamientos en las BE ($p < 0,01$), presentando los mayores valores de peso seco las BE con T₁ y T₄ (18,0% en promedio) respecto a T₃ (15,7%). En el F, BI y BM, el promedio de peso seco para todos los tratamientos fue de 17,0%, 11,0% y 14,0% respectivamente (Figura 54 A). En cambio, en los capítulos secundarios se diferenciaron T₁ y T₃ con mayor materia seca en el F y T₄ en BM, respecto a los otros tratamientos, con valores cercanos a 16,0% en todos los casos (Figura 54 B).

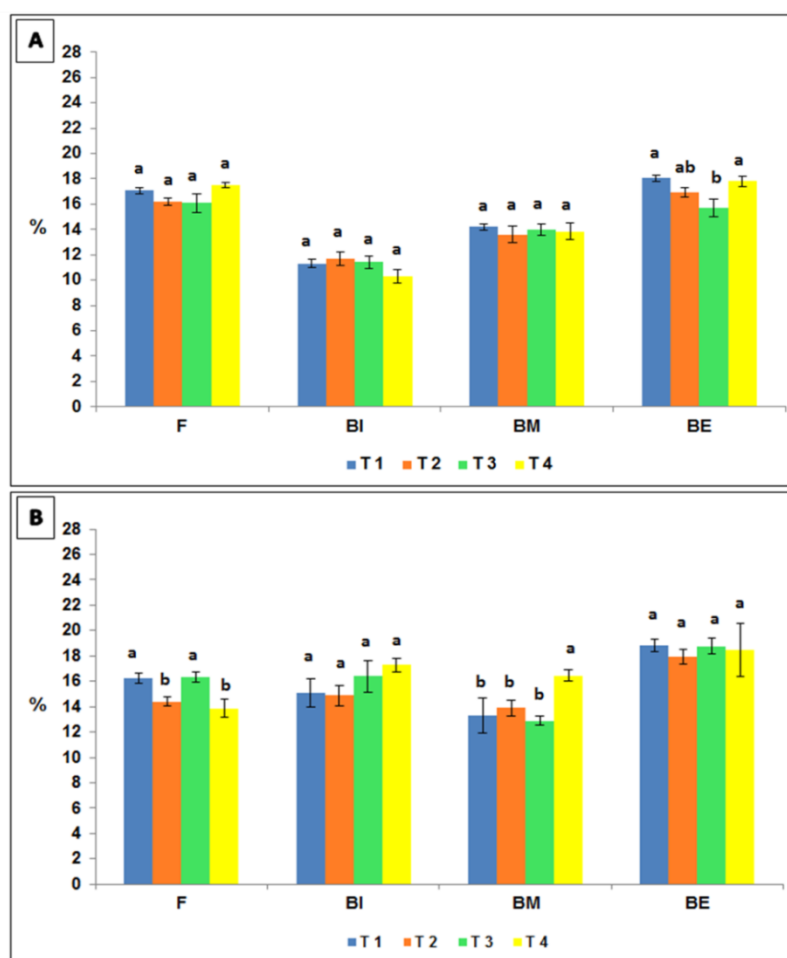


Figura 54: peso seco (%) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) en el genotipo **Gauchito** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En las diferentes partes del capítulo primario de GU hubo diferencias entre tratamientos, salvo en el F. Las BI presentaron los mayores valores de % de peso seco con todos los tratamientos aplicados (14,0% en promedio) respecto a T₄ (10,8%) ($p < 0,01$). Las BM con aplicación de T₁ y T₂ y las BE con T₁ y T₃ tuvieron mayor % de peso seco respecto a los demás tratamientos (Figura 55 A). En cambio, en los capítulos secundarios no se observó efecto de los tratamientos (Figura 55 B).

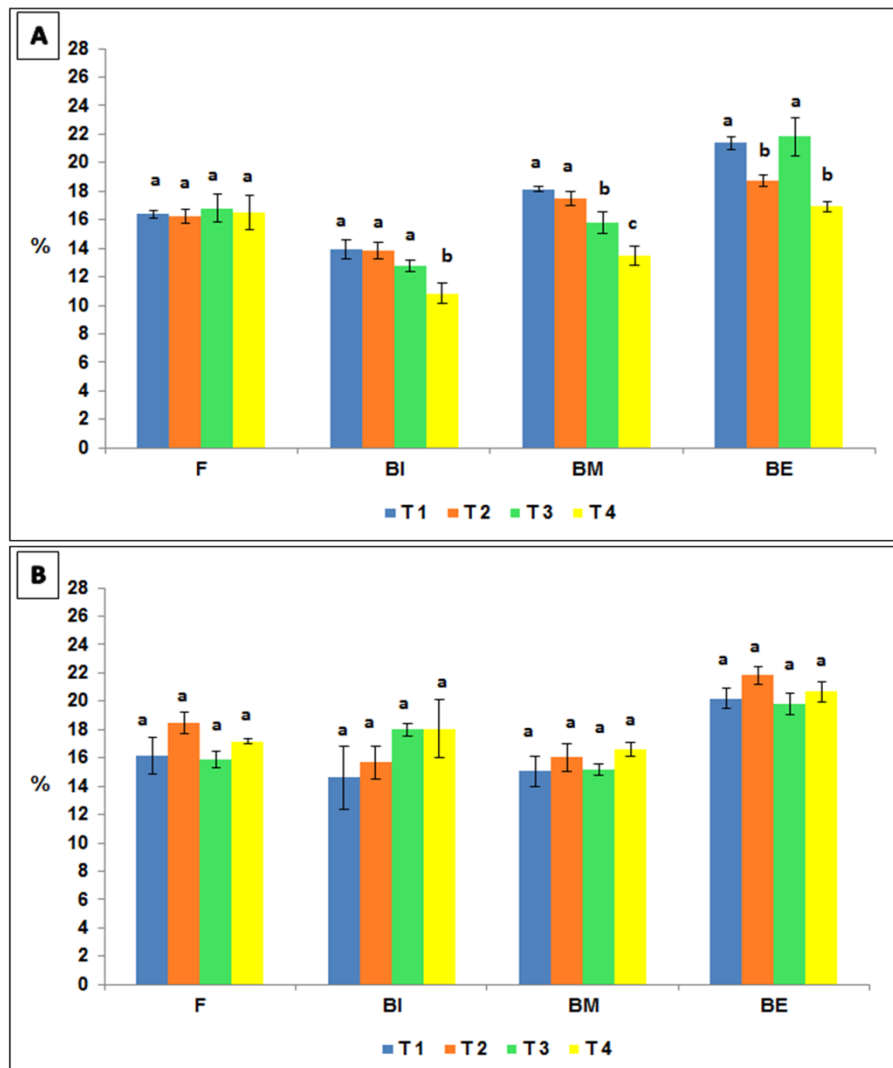


Figura 55: peso seco (%) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) en el genotipo **Gurí** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

El efecto de los tratamientos fue particular ya que los capítulos primarios con T₂ a T₄ presentaron mayor peso seco (promedios de 14,5% en BI y 17,8% en BM) respecto a T₁ ($p < 0,01$). En el F y BE no se hallaron diferencias (Figura 56 A). En cambio, en los capítulos secundarios se diferenció T₃ con mayor peso seco en F que T₁ y T₂ ($p < 0,01$), y en BI T₂ superó a T₃ y T₄ (Figura 56 B).

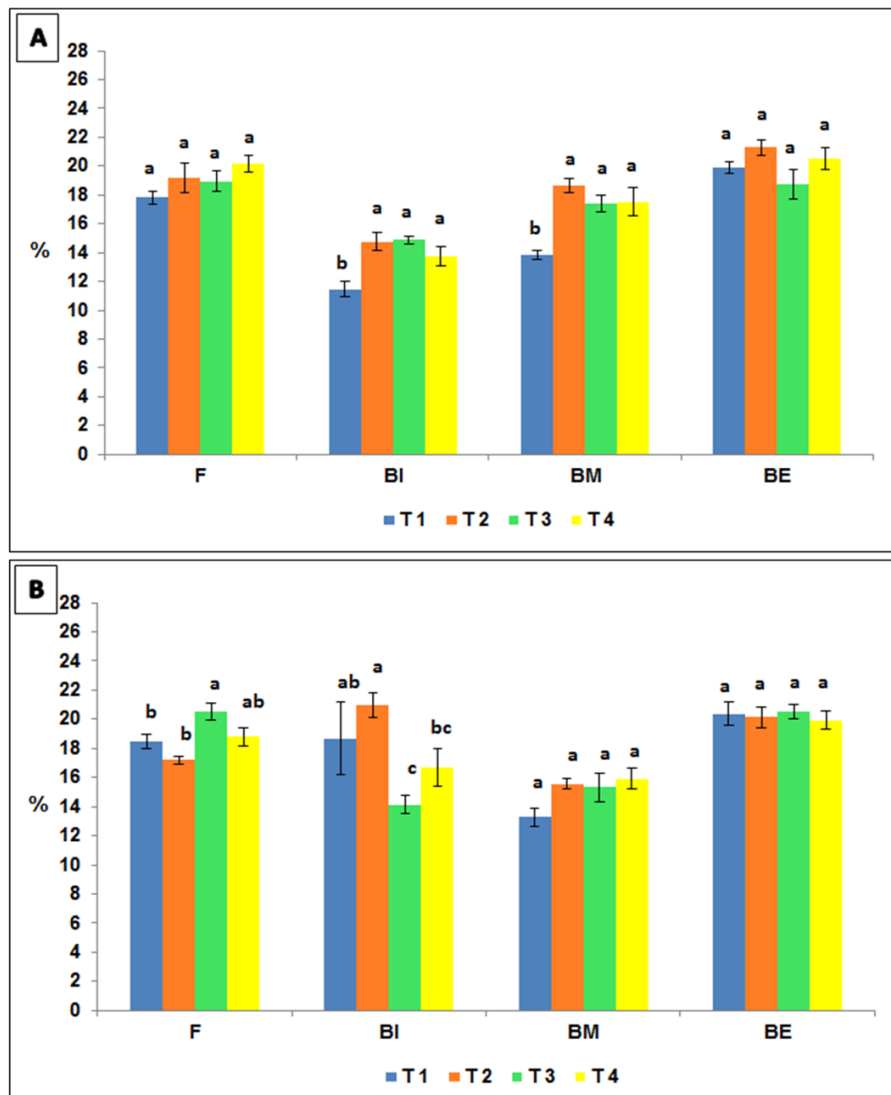


Figura 56: peso seco (%) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) en el genotipo **Oro verde** con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras dentro de cada parte del capítulo, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.5. Número de capítulos por planta

La cantidad de capítulos cosechados por planta en el genotipo GA fue superior con la aplicación de T₁ ($p < 0,05$), llegando a una producción de 12 capítulos, respecto a 9,6 en promedio con T₃ (Figura 57 A). En cambio, en el genotipo GU las diferencias se observaron entre T₃ con 7,6 capítulos y el resto de los tratamientos, con un promedio de cosecha de 6,5 capítulos ($p < 0,01$) (Figura 57 B). Por último, en OV los tratamientos tuvieron un efecto diferente a lo observado en las otras cultivares, con rendimientos aún más bajos. Con T₁ se cosecharon 6,3 capítulos por planta respecto al más bajo con 4,8 que corresponde al tratamiento control ($p < 0,01$), con valores intermedios en los demás manejos de cultivo (Figura 57 C).

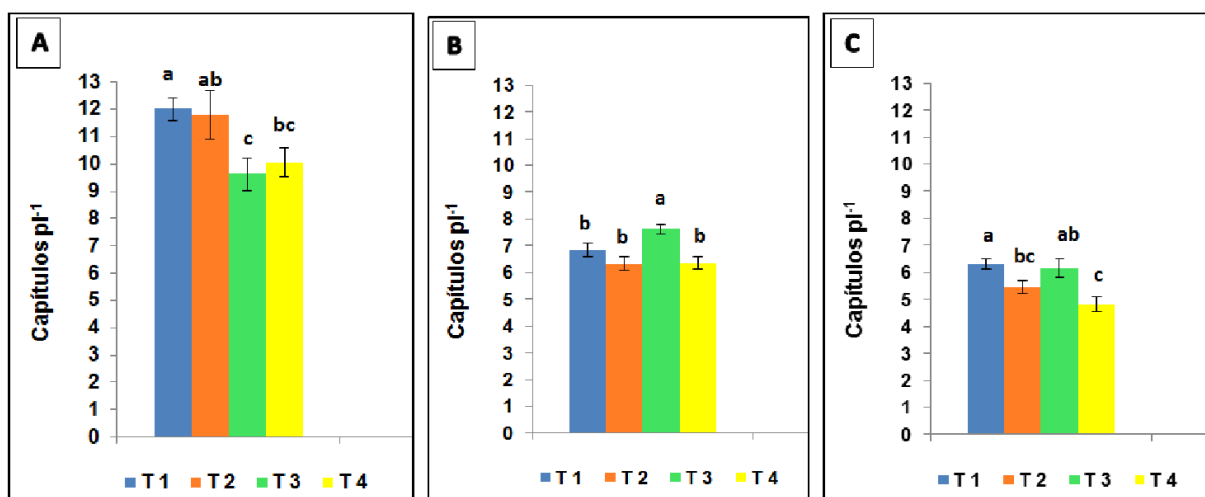


Figura 57: número total de capítulos producidos por planta en el cultivar **Gauchito** (A); **Gurí** (B) y **Oro verde** (C), con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂ -Riego complementario; T₃ -Ácido giberélico; T₄ -Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.6. Precocidad

Con la aplicación de T₃ (AG₃) disminuyó el número de días a cosecha en los tres cultivares FCA ($p < 0,01$), es decir fueron más precoces (Figura 58 A, B y C). Los demás tratamientos no afectaron este carácter.

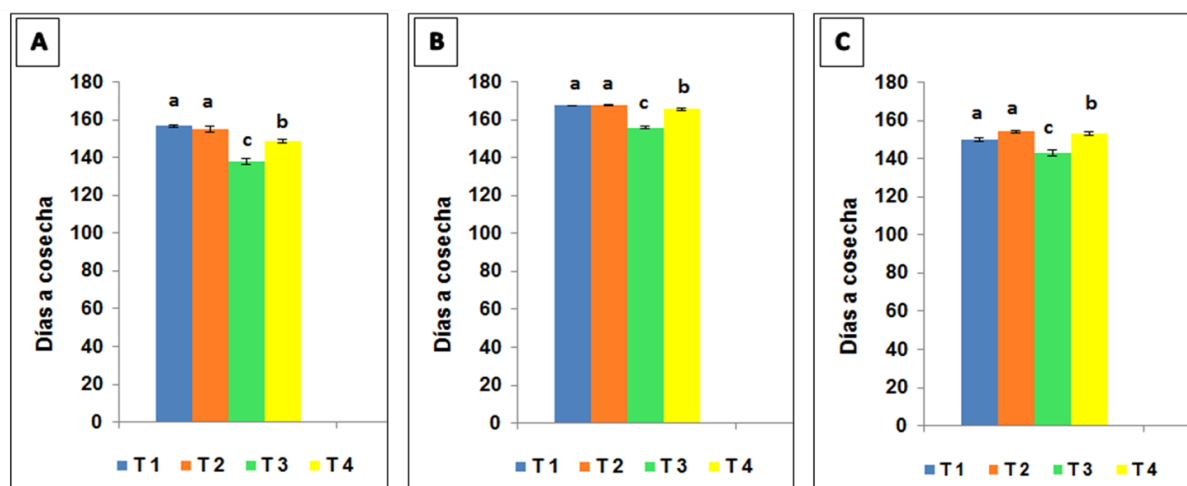


Figura 58: precocidad, días desde la primera aplicación de AG₃ a la cosecha del capítulo primario, en el cultivar **Gauchito** (A); **Gurí** (B) y **Oro verde** (C), con aplicación de manejos de cultivo. T₁-Fertilización; T₂-Riego complementario; T₃-Ácido giberélico; T₄-Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

4. Análisis multivariado

Por medio del análisis multivariado de componentes principales, se pudieron establecer relaciones entre las múltiples variables medidas, diferenciar entre los tratamientos aplicados y los genotipos seleccionados. En términos generales podemos inferir que la mayor diferenciación de todos los elementos incluidos en la clasificación (genotipos, tratamientos y variables medidas), se observó entre genotipos.

La Figura 59 es el biplot resultante de la aplicación de Análisis de Componentes Principales a los datos de los capítulos primarios. El eje uno (Componente Principal 1 o CP1) explicó el 39% de la variabilidad de los datos y el eje dos (CP2) el 20%, alcanzando entre los dos el 59% de la variabilidad. Complementando esta información, en la Tabla 6 se presentan los autovalores junto con la proporción de variancia explicada por cada uno de ellos, correspondiente a la información que brinda cada componente principal.

En el biplot se ordenan las muestras y las variables simultáneamente. Su interpretación se basó en la dirección de las flechas, las cuales indicaron hacia dónde la variable aumentó y la longitud de las flechas significó la importancia de la misma. También se pudieron observar en la Figura 59 las correlaciones entre las variables, donde las flechas

contiguas indican correlación alta positiva, flechas a 90° correlación nula y a 180° correlación alta negativa.

El genotipo GA con los cuatro tratamientos se ubicó en los valores positivos de la CP1, siendo las variables más asociadas el rendimiento, número de capítulos por planta, contenido de DCQ en BM, peso fresco del F y menor pardeamiento del F, especialmente cuando se aplicó T₂. También GA se relaciona con los mayores valores de peso fresco tanto del capítulo como de las BE y mayor ancho del F, especialmente cuando se aplicaron T₁, T₃ y T₄. Si bien hay vectores más alejados en el mismo cuadrante, se podrían considerar asociados de igual modo al genotipo GA, como es el caso del contenido de AC en BM; AC y DCQ en BI y BE.

En los valores negativos de la CP1 se ubicaron los otros dos genotipos estudiados y a su vez la CP2 los dividió en el cuadrante superior a GU y en el inferior a OV. Se pudo observar en el genotipo GU una mayor dispersión por los tratamientos aplicados respecto al control, es decir que los manejos de cultivos tuvieron mayor efecto en este genotipo. Los vectores asociados en mayor medida con T₁ a T₃ son el contenido de AC en el F y contenido de fibra en los tres estratos de brácteas. Otros vectores asociados al genotipo GU fueron el contenido de DCQ en el F, RAD del capítulo, días a cosecha, RAA de las BE, alto del F y el IC de los tres estratos de brácteas.

En el cuadrante inferior negativo se ubicó el genotipo OV relacionado a los vectores PSF y PFBM, especialmente cuando se aplicó T₂; a su vez un mayor peso seco de los tres estratos de brácteas, mayor contenido de AC en las H y RAA de las BI asociados a T₄. Otros vectores también se observaron en ese sector como ser peso fresco de las BI y fibra del F (Figura 59).

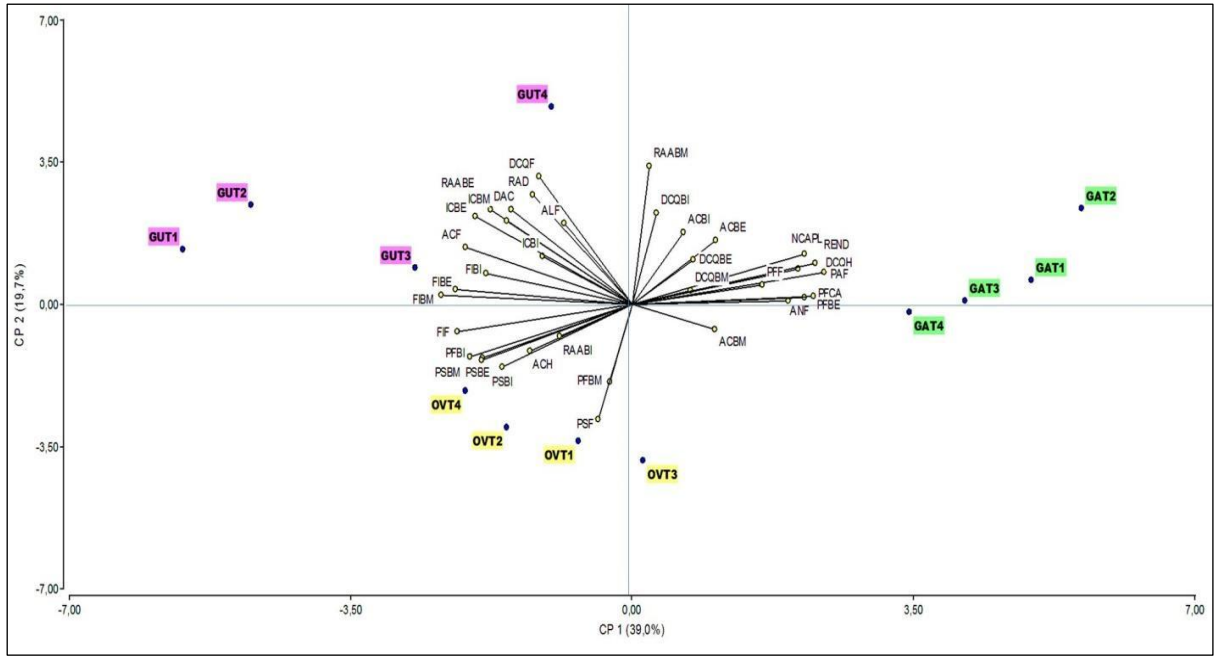


Figura 59: análisis multivariado de las dos componentes principales para los capítulos primarios de los genotipos Gauchito (GA), Gurí (GU) y Oro verde (OV), con aplicación de los tratamientos: Fertilización (T1); Riego complementario (T2); Ácido giberélico (T3) y Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico (T4). Variables medidas: contenido de ácido clorogénico (mg Kg^{-1}) en el fondo (ACF), en brácteas internas (ACBI), en brácteas medias (ACBM), brácteas externas (ACBE) y en hojas (ACH). Contenido de ácidos dicafeolquinicos (mg Kg^{-1}) en el fondo (DCQF), en brácteas internas (DCQBI), en brácteas medias (DCQBM), brácteas externas (DCQBE) y en hojas (DCQH). Contenido de fibra insoluble (%) en el fondo (FIF) en brácteas internas (FIBI), en brácteas medias (FIBM), brácteas externas (FIBE). Pardeamiento del fondo (delta L^*), (PAF). Relación alto/diámetro del capítulo (RAA); Relación alto/ancho de brácteas internas (RAABI), brácteas medias (RAABM) y brácteas externas (RAABE). Ancho del fondo (cm) (ANF) y Alto del fondo (ALF). Color (IC) de brácteas internas (ICBI), brácteas medias (ICBM) y externas (ICBE). Rendimiento en peso fresco del cultivo (kg m^{-2}) (REND); Peso fresco del capítulo (g) (PFC); Peso fresco (g) del fondo (PFF), de brácteas internas (PFBI), brácteas medias (PFBM) y brácteas externas (PFBE). Peso seco (%) del fondo (PSF), de brácteas internas (PSBI), brácteas medias (PSBM) y brácteas externas (PSBE). N° de capítulos por planta (NCAPL) y precocidad (DAC).

Tabla 6: Autovalores (lambda), valor, proporción y proporción acumulada de variancia explicada por cada componente principal para los capítulos primarios de los genotipos Gauchito (GA), Gurí (GU) y Oro verde (OV), con aplicación de los tratamientos: Fertilización (T1); Riego complementario (T2); Ácido giberélico (T3) y Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico (T4).

Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	14,02	0,39	0,39
2	7,11	0,20	0,59
3	4,63	0,13	0,72
4	3,26	0,09	0,81
5	2,31	0,06	0,87
6	1,47	0,04	0,91
7	1,25	0,03	0,95
8	0,69	0,02	0,97
9	0,60	0,02	0,98
10	0,46	0,01	0,99
11	0,19	0,01	1,00
12	0,00	0,00	1,00
13	0,00	0,00	1,00
14	0,00	0,00	1,00
15	0,00	0,00	1,00
16	0,00	0,00	1,00
17	0,00	0,00	1,00
18	0,00	0,00	1,00
19	0,00	0,00	1,00
20	0,00	0,00	1,00
21	0,00	0,00	1,00
22	0,00	0,00	1,00
23	0,00	0,00	1,00
24	0,00	0,00	1,00
25	0,00	0,00	1,00
26	0,00	0,00	1,00
27	0,00	0,00	1,00
28	0,00	0,00	1,00
29	0,00	0,00	1,00
30	0,00	0,00	1,00
31	0,00	0,00	1,00
32	0,00	0,00	1,00
33	0,00	0,00	1,00
34	0,00	0,00	1,00
35	0,00	0,00	1,00
36	0,00	0,00	1,00

En la Tabla 7 se presentan los autovectores, correspondientes a cada uno de los autovalores, los cuales expresan la importancia que tienen cada una de las variables originales en las componentes principales.

Tabla 7: Autovectores correspondientes a las dos primeras componentes principales de los datos de los capítulos primarios. Valores altos como los señalados en negritas corresponden a variables más importantes para describir los datos y se expresan en la Figura 59, junto a sus signos positivos y negativos.

Variables	e1	e2
ACF	-0,21	0,14
ACBI	0,07	0,18
ACBM	0,11	-0,06
ACBE	0,11	0,16
ACH	-0,13	-0,12
DCQF	-0,12	0,32
DCQBI	0,03	0,23
DCQBM	0,07	0,03
DCQBE	0,08	0,11
DCQH	0,21	0,09
FIF	-0,22	-0,07
FIBI	-0,19	0,08
FIBM	-0,24	0,02
FIBE	-0,23	0,04
PAF	0,25	0,08
RAD	-0,13	0,28
RAABI	-0,09	-0,08
RAABM	0,02	0,35
RAABE	-0,18	0,24
ANF	0,20	0,01
ALF	-0,09	0,21
ICBI	-0,11	0,12
ICBM	-0,16	0,21
ICBE	-0,20	0,22
REND	0,23	0,10
DAC	-0,15	0,24
NCAPL	0,22	0,13
PFA	0,22	0,02
PEF	0,17	0,05
PEBI	-0,21	-0,13
PEBM	-0,03	-0,20
PEBE	0,23	0,02
PSF	-0,04	-0,29
PSBI	-0,17	-0,16
PSBM	-0,19	-0,14
PSBE	-0,19	-0,14

En la Figura 60 se presentó el biplot resultante de la aplicación de Análisis de Componentes Principales a los datos de los capítulos secundarios, en el cual se observó que el eje uno (CP1) explicó el 33,8 % de la variabilidad de los datos y el eje dos (CP2) el 19,9 %, sumando entre ambos un valor cercano a 54% (Tabla 8). Complementando esta información, en la Tabla 8 se pueden observar los autovalores junto con la proporción de variancia explicada por cada uno de ellos, correspondiente a la información que brinda cada

componente principal. También se pudieron observar en la Figura 58 las correlaciones entre las variables de acuerdo al ángulo de sus vectores.

De la misma manera que ocurrió en los capítulos primarios, en los secundarios, el genotipo GA se ubicó a la derecha de la CP1 y los tratamientos se encontraron más dispersos. Las variables más relacionadas a GA son el peso fresco del capítulo, del F, de las BM y BE, especialmente cuando se aplicó T₁ a T₃. Si bien no se observaron vectores en la dirección exacta de T₄ dentro del cuadrante positivo están muchas variables que de alguna manera están relacionadas al tratamiento control, como ser un mayor contenido de AC y DCQ en BI, menor pardeamiento del F, medidas del F mayores y peso seco de las BI.

A la izquierda de la CP1 se ubicaron los otros dos genotipos estudiados y a su vez la CP2 los dividió en el cuadrante superior a GU y en el inferior a OV. Se pudo observar un comportamiento invertido respecto a la dispersión de los tratamientos aplicados respecto al control. En los capítulos secundarios los manejos de cultivos tuvieron mayor efecto en OV y muy poco en GU, ya que todos los tratamientos están agrupados. En este último genotipo, los vectores asociados en mayor medida con todos los tratamientos son el contenido de fibra del F y BE, RAD del capítulo, RAA de las BE, IC de las BE y peso seco de BM y BE. Otros vectores asociados al genotipo GU fueron el contenido de AC y DCQ en el F, RAA de BI, el IC de BI y BM.

En el cuadrante inferior se ubicó el genotipo OV relacionado a los vectores de mayor contenido de DCQ en BM y BE, especialmente con la aplicación de T₄ y T₂. El mayor contenido de AC en BM y BE está más cercano a los otros tratamientos. En los secundarios de OV parece haber un incremento de los compuestos químicos respecto a los primarios (Figura 60).

Tabla 8: Autovalores (lambda), valor, proporción y proporción acumulada de variancia explicada por cada componente principal para los capítulos secundarios de los genotipos Gauchito (GA), Gurí (GU) y Oro verde (OV), con aplicación de los tratamientos: Fertilización (T1); Riego complementario (T2); Ácido giberélico (T3) y Sin aplicación de riego, fertilización ni ácido giberélico (T4).

Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	10,48	0,34	0,34
2	6,18	0,20	0,54
3	3,59	0,12	0,65
4	3,31	0,11	0,76
5	2,26	0,07	0,83
6	1,43	0,05	0,88
7	1,33	0,04	0,92
8	1,05	0,03	0,96
9	0,67	0,02	0,98
10	0,44	0,01	0,99
11	0,27	0,01	1,00
12	0,00	0,00	1,00
13	0,00	0,00	1,00
14	0,00	0,00	1,00
15	0,00	0,00	1,00
16	0,00	0,00	1,00
17	0,00	0,00	1,00
18	0,00	0,00	1,00
19	0,00	0,00	1,00
20	0,00	0,00	1,00
21	0,00	0,00	1,00
22	0,00	0,00	1,00
23	0,00	0,00	1,00
24	0,00	0,00	1,00
25	0,00	0,00	1,00
26	0,00	0,00	1,00
27	0,00	0,00	1,00
28	0,00	0,00	1,00
29	0,00	0,00	1,00
30	0,00	0,00	1,00
31	0,00	0,00	1,00

En la Tabla 9 se presentan los autovectores, correspondientes a cada uno de los autovalores, los cuales expresan la importancia que tienen cada una de las variables originales en las componentes principales.

Tabla 9: Autovectores correspondientes a las dos primeras componentes principales de los datos de los capítulos secundarios. Valores altos como los señalados en negritas corresponden a variables más importantes para describir los datos y se expresan en la Figura 60, junto a sus signos positivos y negativos.

Variables	e1	e2
ACE	-0,24	0,03
ACBI	0,15	0,13
ACBM	-0,08	-0,24
ACBE	-0,17	-0,24
DCQF	-0,12	-0,01
DCQBI	0,14	0,14
DCQBM	-0,18	-0,15
DCQBE	-0,19	-0,19
EIF	-0,24	0,07
FIBI	0,10	0,15
FIBM	0,10	0,20
FIBE	-0,15	0,12
PAF	0,28	0,02
RAD	-0,20	0,24
RAABI	-0,05	0,32
RAABM	0,18	0,24
RAABE	-0,09	0,30
ANF	0,28	0,03
ALF	0,06	0,11
ICBI	-0,01	0,33
ICBM	-0,01	0,17
ICBE	-0,19	0,25
PECA	0,29	-0,06
PEF	0,27	-0,02
PEBI	1,4E-04	0,30
PEBM	0,19	-0,02
PEBE	0,25	-0,14
PSE	-0,21	-0,17
PSBI	0,11	2,1E-03
PSBM	-0,14	0,19
PSBE	-0,26	0,09

Los resultados obtenidos en este primer capítulo de la tesis permiten caracterizar por componentes químicos, morfológicos y productivos a los genotipos obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR y la respuesta a algunos de los manejos de cultivo más relevantes que se practican en el cinturón hortícola de Rosario y en el país.

DISCUSIÓN

Es difícil segmentar las respuestas biológicas de un sistema integrado y complejo, donde cada fenómeno está relacionado a un todo. Sin embargo, en esta tesis se caracteriza con una metodología simple, pero rigurosa, la respuesta de los genotipos a diferentes manejos de cultivo siguiendo el orden previamente propuesto. Las evaluaciones realizadas durante un año de cultivo fueron muy valiosas para conocer la respuesta de los cultivares FCA con la aplicación de algunos manejos agronómicos y orientar la profundización del estudio.

En base a la clasificación entre los múltiples elementos, genotipos, tratamientos y variables, podemos inferir que los capítulos primarios de GA se destacan por las variables asociadas al mismo en las condiciones experimentales de esta tesis. Las características más relevantes de GA son el mayor contenido de AC y DCQ en los tres estratos de brácteas, presentando a su vez el menor pardeamiento y menor contenido de fibra en el F. Al mismo tiempo, se observó mayor ancho del F, rendimiento por unidad de superficie, número de capítulos por planta, peso fresco del capítulo, del F y de las BE. GA es un genotipo muy recomendable desde el punto de vista nutricional y productivo para el mercado en fresco, mínimamente procesados y también para diversos procesos industriales, ya que tiene alto contenido de principios activos, menor pardeamiento y mayor palatabilidad por su textura menos fibrosa respecto a los demás genotipos. Complementariamente, de la biomasa restante de GA cuando termina la cosecha de los capítulos, podrían extraerse los AC y DCQ de sus hojas.

El genotipo GU se podría recomendar para el mercado en fresco por su contenido de principios activos en el F del capítulo, por el color de sus brácteas y contenido de fibra del F. Durante la poscosecha podría tener mayores pérdidas de peso y calidad por su alto contenido de fibra en brácteas, asociado a su menor peso seco, si no se almacena adecuadamente. Las características morfológicas y productivas responden a su genotipo, ya que son capítulos más alargados, de color variegado y además es de cosecha más tardía. Este último aspecto puede ser una ventaja para ampliar el período de oferta de alcauciles de calidad en el mercado en fresco.

El genotipo OV se destaca por su mayor peso seco en todas las partes del capítulo, lo cual podría contribuir a una menor pérdida de calidad por deshidratación durante la

comercialización, sumado a que posee mayor contenido de fibra en el F. Se adapta al consumo en fresco y también podría ser industrializado, pero no se destaca mucho en su productividad y calidad química. En cuanto a la utilización de su biomasa restante podría ser interesante para la obtención de AC a partir de las H.

A pesar de las diferencias encontradas podemos considerar que el comportamiento de los genotipos en los capítulos secundarios fue similar a los primarios en el conjunto de las variables asociadas y por lo tanto la recomendación del destino de ellos puede ser similar.

Luego de las consideraciones generales, analizando la influencia de los tratamientos o manejos de cultivo evaluados sobre el contenido de compuestos químicos en los cultivares FCA, los mismos no tuvieron, en general, efecto notorio. En los casos donde si hubo efectos detectados, la respuesta fue diferente según los genotipos, partes de la planta y orden de cosecha. En los capítulos secundarios de GA y primarios de GU, los mayores valores de fenoles encontrados en T₄ o control, podría deberse al estrés hídrico y nutricional que sufrieron las plantas en el mes de septiembre, con escasas lluvias y sin riego complementario. De hecho, se ha propuesto que el estrés ambiental de la planta como frío, calor, déficit hídrico y/o inundaciones ejercen una considerable influencia en el contenido de metabolitos secundarios como los polifenoles y fenilpropanoides (Oh y Rajashekar, 2009). Sin embargo, en los experimentos desarrollados en esta tesis se observó que en algunos casos el contenido de principios activos aumenta con la aplicación de los manejos de cultivo, aunque no siempre siguiendo un mismo patrón. En las BM de los capítulos primarios hubo un incremento del 38% de DCQ en GA y 39% en OV aplicando T₂, respecto a T₄. Este comportamiento diferente de los genotipos frente a T₂ comparado a situaciones de estrés (T₄), se había observado también en trabajos previos (García et al., 2016a), donde las brácteas centrales de GA incrementaron en un 29% el contenido de cinarina y las de OV el 27%.

La aplicación de AG₃ también podría generar un estrés en la planta y que la misma produzca mayor cantidad de fenoles como un mecanismo de defensa, pero esta respuesta depende a su vez del genotipo y de la parte de la planta. Si bien no se realizó un análisis estadístico entre partes, en valores absolutos se observó una tendencia a incrementar el contenido de DCQ en F y BI de capítulos secundarios de GU (56% y 29% respectivamente), aplicando T₃, respecto a los demás tratamientos. En cambio, en capítulos secundarios de

OV el contenido de DCQ en BI disminuyó un 39% y en BM 29%. Estos resultados concuerdan con lo observado por García et al. (2016b), quienes encontraron un aumento pronunciado de fenoles en las brácteas centrales de GU y una disminución en GA y OV. La aplicación de AG₃ no influyó demasiado en la precocidad de GU (genotipo tardío), pero parece tener impacto en la producción de principios activos. Resulta así muy interesante profundizar la investigación en este aspecto para determinar la relación entre la aplicación de AG₃, realizada para adelantar la cosecha de capítulos, y la respuesta sobre el aumento de ácidos cafeoilquínicos en los diferentes genotipos.

Como mencionamos anteriormente, el contenido de los compuestos químicos investigados varió en las distintas partes de las plantas de GA, GU y OV, dado fundamentalmente por su origen. El AC estuvo presente entre 219 mg kg⁻¹ de peso fresco (hojas de GA secundario) y 8215 mg kg⁻¹, (BI de GA secundario) y el ácido DCQ en rangos de 54 mg kg⁻¹ (hojas de OV primario) hasta 15550 mg kg⁻¹ de peso fresco (BI de GA secundario). Considerando la principal porción comestible del capítulo primario (BI y F), y lo cuantificado en ácidos cafeoilquínicos, se detectaron 10993 mg kg⁻¹ de peso fresco en GA, 13591 mg kg⁻¹ de peso fresco en GU y 9076 mg kg⁻¹ de peso fresco en OV. En estudios previos de los cultivares obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR (Rotondo et al., 2011), se encontró diferente contenido de fenoles totales en el receptáculo de capítulos primarios de GA (56 mg kg⁻¹ de peso fresco), GU (49 mg kg⁻¹ de peso fresco) y OV (25 mg kg⁻¹ de peso fresco). En referencia a esa variabilidad, Lombardo et al. (2010) cuantificando los mismos compuestos en las BI y F, encontraron valores desde 19676 mg kg⁻¹ de peso seco en "Violetto di Sicilia" a 334 mg kg⁻¹ de peso seco en "Tempo". Otros autores que midieron ácido clorogénico en capítulos, detectaron amplias diferencias entre genotipos desde 433 en "Blanc Hyérois" a 2738 mg Kg⁻¹ de peso fresco en "Violetto di Provenza" (Melilli et al., 2013). Estos ejemplos sugieren que la diversidad genética del alcaucil es muy amplia, especialmente en su centro de origen (Pagnota et al., 2017) y resulta muy importante caracterizar los genotipos locales para plantear planes de mejoramiento y manejos de cultivo en función de variables de calidad química además de otras variables que contribuyen a la calidad como alimento. Cuantificar y determinar los principios activos en el cultivo local y regional permite mejorar el conocimiento de la diversidad genética en pos de su conservación y búsqueda de alternativas productivas con valor agregado.

Por otro lado, en los capítulos secundarios se observó mayor contenido de principios activos en BI respecto a los primarios, tanto en GA como en OV. Considerando el contenido

de cafeoilquínicos en los capítulos secundarios, en GA se determinó un incremento del 40% respecto a los primarios. En GU hubo incremento de 34%, y en OV se observó un 60% de aumento, respectivamente. En trabajos previos donde se cuantificaron los fenoles totales en el receptáculo, se había observado que algunos genotipos, como por ejemplo “Esmeralda FCA” presentaba 59 mg kg^{-1} de peso fresco respecto a 25 mg kg^{-1} de material fresco en los primarios y “Francés” 57 y 31 mg kg^{-1} de peso fresco respectivamente (Rotondo et al., 2011). Esta respuesta podría explicarse en parte por la dependencia que posee el cultivo de alcaucil de las condiciones ambientales, en cuanto al efecto de las temperaturas durante la etapa reproductiva. En un estudio de Shinohara et al., (2011) en Texas, durante tres campañas, se observó un aumento en los fenoles totales y el contenido de ácido clorogénico en particular, más pronunciado al avanzar el período de cosecha, con temperaturas en aumento. También Wang et al. (2003), observaron mayor cantidad de fenoles en capítulos de “Imperial Star” y “Green Globe” cosechados en octubre en comparación con los de septiembre. Al avanzar la cosecha, la planta está en un estado fenológico de mayor madurez pero a su vez los capítulos que suceden al primario son más livianos y pequeños, se forman en menor tiempo y se los puede considerar tejidos más jóvenes, al igual que ocurre con las BI respecto a las demás partes de la inflorescencia.

Con respecto a la proporción de cada compuesto químico medido en las diferentes partes de la planta, se observaron variaciones según el genotipo, pero con algunos patrones en común. El contenido de DCQ fue mayor en todas las partes del capítulo respecto al de AC, y en las hojas pasó exactamente lo contrario. En GA todas las partes del capítulo presentan en promedio 65% de DCQ en los primarios y 70% en los secundarios dentro del total de ácidos cafeoilquínicos detectados, en cambio en las H el 61% corresponde a AC dentro del total de ácidos cafeoilquínicos detectados. A su vez en las hojas de GU el contenido de AC fue de 86% y en OV de 88% dentro del total de ácidos cafeoilquínicos detectados.

Otro aspecto muy importante es conocer la dinámica de acumulación de principios activos en las diferentes partes de la planta de alcaucil. En general se observó un mayor contenido de principios activos en las BI respecto al F, BE y presentaron valores intermedios las BM, en los tres genotipos evaluados, tanto primarios como secundarios. En este sentido, numerosos autores han encontrado mayores cantidades de compuestos fenólicos en las brácteas internas y el receptáculo, que en las brácteas externas y las hojas de la planta (Gil Izquierdo et al., 2001; Wittemer et al., 2005; Fratianni et al., 2007; Cabezas Serrano et al.,

2009; Lombardo et al., 2010; Salata y Gruszecki, 2010; Ricci et al., 2013). Compuestos fenólicos específicos se acumulan en partes diferentes de la planta y este comportamiento, posiblemente esté relacionado a los diferentes roles que cumplen los tejidos en un vegetal (Lombardo et al, 2010; Pandino et al., 2011a). El alto nivel de ácidos mono y dicafeoilquínicos presentes en mayor medida en la porción comestible del capítulo de alcaucil, podría explicarse por su papel central como sustrato para muchas reacciones bioquímicas. En la inflorescencia de esta especie, la abundancia de este tipo de compuestos unidos a polímeros y polisacáridos, están implicados en proporcionar soporte estructural para la pared celular de las plantas. En cambio, en las hojas están presentes en mayor proporción los flavonoides, los cuales pueden proteger a las células de daños fotooxidativos por excesos de luz ultravioleta (Pandino et al., 2011a). En esta etapa de la tesis no se pudieron medir flavonoides en las hojas de los genotipos FCA, pero los extractos en su conjunto podrían tener gran valor químico y biológico. En GA, GU y OV el contenido de AC más DCQ fue de 1004, 862 y 971 mg kg⁻¹ de peso fresco respectivamente.

En definitiva, las plantas de alcaucil estudiadas resultan una atractiva fuente de antioxidantes naturales por su riqueza en polifenoles, tanto en la parte comestible como en hojas, las cuales constituyen residuos agrícolas e industriales en nuestra región. De esta manera la biomasa restante compuesta principalmente por hojas (Pandino et al., 2020), tallos florales y brácteas, o los desechos de la industria conservera, podrían utilizarse para la obtención de compuestos químicos de alto valor agregado. Ciancolini et al. (2013) también caracterizaron la biomasa restante luego de la cosecha del capítulo primario de 17 genotipos italianos, buscando cultivos de alcaucil con doble propósito y nuevas alternativas productivas. Encontraron diferencias entre genotipos respecto al contenido de ácidos mono y dicafeoilquínicos, teniendo la posibilidad de seleccionar los más adecuados para la producción a gran escala de biomasa y de compuestos farmacéuticos. Los resultados de numerosas investigaciones en los países de mayor producción de alcaucil, como los obtenidos en esta tesis, indican que los capítulos de los genotipos estudiados representan una fuente importante de polifenoles con actividad terapéutica (Llorach et al., 2002; García et al, 2016a), y que además las hojas resultan de interés para aplicación fitofarmacéutica. Debería alentarse la utilización de las cultivares locales tanto para el mercado fresco como para la industria alimentaria, valorizando su elevado contenido de biomoléculas nutraceuticas.

Los tratamientos también influyeron en otras características importantes del capítulo de alcaucil, como es el contenido de fibra; ya que la textura, palatabilidad y ternura en este alimento están dadas en gran medida por el contenido de la misma. Un exceso en el contenido de fibra insoluble al momento de cosechar los capítulos o un aumento del mismo durante la poscosecha, disminuyen drásticamente su calidad. En las mediciones realizadas en esta tesis, se observó que la respuesta a los manejos del cultivo, fue diferente en los genotipos y se puede generalizar que la aplicación de AG₃ fue el manejo que más intervino en la reducción de la fibra, especialmente en las brácteas. En el genotipo GA con T₃ y T₁ se redujo el % de fibra en BM de capítulos secundarios. En GU, con T₃ y T₄ las BI presentaron menor contenido de fibra insoluble (3,1% en promedio) respecto a los otros tratamientos (4,7%), tanto en capítulos primarios como secundarios y disminuyeron el % de fibra en BM en primarios. A su vez, con T₃ hubo menor contenido de fibra en las BE de capítulos primarios, como en BM y BE de los secundarios. En OV, disminuyó la fibra con T₃ respecto a T₂ en las BM y respecto a los demás tratamientos en las BE, en ambos órdenes de cosecha. Se podría destacar al genotipo GA por su menor contenido de fibra en todas las partes del capítulo primario (19,0% promedio de tratamientos y suma de partes), respecto a GU (26,0%) y OV (24,0%). En los secundarios, el contenido de fibra fue 21,0%, 23,0% y 22,0% respectivamente. En el segundo orden de cosecha, los menores valores de fibra se dieron en los estratos de brácteas externas, posiblemente porque el tiempo de maduración de la inflorescencia es menor. A su vez se puede generalizar que en el F y BI, el contenido de fibra total es similar en los tres genotipos y en ambos órdenes de cosecha, con valores del 3,0% al 4,0%. En cambio, el mayor contenido de fibra insoluble total se presenta en las BE, en algunos casos triplicando el porcentaje respecto al F y BI, ya que tienen la función de protección de la inflorescencia y son tejidos menos jóvenes donde se acumularon elementos fibrosos más complejos. Es importante encontrar genotipos y manejos de cultivo que presenten menor contenido de fibra en los capítulos para que resulten más tiernos para el consumo en fresco y puedan llegar con calidad a la mesa del consumidor, como así también para los productos mínimamente procesados y en conserva. El estudio de la fibra dietética y los resultados obtenidos en esta tesis pueden ser la base para futuras investigaciones aplicadas a organismos animal y humano.

El pardeamiento del fondo es una característica muy importante en el alcaucil, tanto para su procesamiento en fresco como para su destino industrial y resulta interesante evaluar genotipos y manejos de cultivo que presenten menor oscurecimiento en el F del capítulo en un tiempo determinado. El pardeamiento enzimático ocurre por la oxidación de

compuestos fenólicos a quinonas, las cuales son muy reactivas; originan polímeros de color pardo, rojizo o negro, degradando la calidad visual y nutricional de las hortalizas (Tomás Barberán y Espín, 2001; Cabezas Serrano et al., 2009). El alcaucil es muy susceptible al pardeamiento enzimático debido, principalmente, a su alto contenido de compuestos fenólicos y a la elevada actividad enzimática de sus tejidos por ser una inflorescencia en activo crecimiento. Es durante el procesado de esta hortaliza cuando se alcanza la mayor oxidación enzimática, produciéndose el oscurecimiento indeseable de la superficie (Lattancio et al., 1994). En los experimentos realizados, solamente en los capítulos primarios de GA se evidenció el efecto de los tratamientos de fertilización y riego, los cuales disminuyeron el pardeamiento. Además, GA se destacó al presentar, en ambos rangos de cosecha, menor pardeamiento (-3,0 y -4,0 respectivamente), respecto a los otros cultivares que superaron valores de -6 como diferencia de luminosidad en el F a los diez minutos de haber sido cortado. Este proceso de oscurecimiento indeseable de las hortalizas está influenciado por numerosas variables como la actividad enzimática, cantidad y naturaleza de compuestos fenólicos, genotipo, estado fisiológico, actividad de agua, pH, temperatura y la disponibilidad del oxígeno entorno al tejido vegetal (Ahvenainen, 1996). Algunas de estas variables no fueron medidas en estos experimentos, pero pueden explicar en parte, las diferencias encontradas. A su vez, algunos autores han demostrado que existe una proporcionalidad directa entre el contenido polifenólico y la susceptibilidad de pardeamiento en el alcaucil (Cabezas Serrano et al., 2009; Todaro et al., 2010). Esto coincide con lo evaluado en el cultivar GA, que posee en promedio, menor contenido de AC y DCQ, pardeándose menos y en el cultivar GU sucedió lo contrario. El genotipo OV que presentó contenido bajo de fenoles similar a GA, sin embargo se pardeó más; es decir que la relación entre el contenido de fenoles y el oscurecimiento del F, no siempre es directa en todos los genotipos. Otros compuestos o mecanismos más allá del contenido de fenoles explicarían el fenómeno de pardeamiento diferencial del F en alcaucil, como por ejemplo la presencia de sustancias que inhiban a las enzimas encargadas de la oxidación de los fenoles, estudios que exceden a esta tesis pero que podrían abrir nuevas investigaciones.

Otro aspecto que caracteriza a cada genotipo es la forma del capítulo y es importante que la misma se conserve aunque las condiciones de crecimiento sean diferentes, de esta manera serán aceptados en buen grado por el consumidor. En los cultivares FCA no se observaron cambios en la forma del capítulo en su conjunto, con los tratamientos aplicados, tanto en primarios como secundarios. En cuanto a la forma de los capítulos en los tres genotipos, los resultados indican que los manejos de cultivo no afectan la forma

característica que debe poseer el genotipo y que es apreciada por el consumidor. En GA y OV los valores fueron en promedio de 0,9 y en GU de 1,0. Otros autores italianos, caracterizaron la forma del capítulo de genotipos tradicionales locales y los resultados indican que la relación entre la longitud y el diámetro de los mismos, es un rasgo relativamente constante entre los ecotipos estudiados, variando de 1,4 en “Spinoso di Sciara” a 1,6 en “De Pasquale 1” (Lombardo et al., 2020).

Por otro lado, en general las BI y BM suelen ser más alargadas y además son las que responden, en algunos casos, a los tratamientos. Esta respuesta es diferente en cada genotipo y en cada rango de cosecha, pero lo importante es que los cambios en la RAA de las brácteas no modifican la forma general del capítulo. Si bien podría esperarse que la aplicación de giberelinas, fertilizante y riego acelerara el crecimiento del capítulo modificando indeseablemente su forma, esto no ocurrió en los genotipos evaluados. Adicionalmente, todas las mediciones efectuadas en GU presentan valores superiores por su forma típica más alargada respecto a OV y GA. Además, no hay deformaciones en el segundo rango de cosecha, lo cual nos puede indicar que en los sucesivos rangos de cosecha se mantendrá la forma típica del genotipo, aunque las temperaturas vayan aumentando y el período de maduración de la inflorescencia sea cada vez menor.

El tamaño del receptáculo, que como se mencionó anteriormente representa un indicador de gran valor por caracterizar la mayor porción comestible del capítulo de alcaucil, es también una característica buscada en el mejoramiento genético de esta especie. Las medidas del ancho y alto del F podrían variar con el manejo del cultivo. En los experimentos realizados en los genotipos evaluados se pudo determinar que con T₁ (fertilización) y T₂ (riego) en GA y GU, el ancho del F fue mayor en ambos rangos de cosecha. El ancho del F fue levemente menor en los secundarios respecto de primarios, como es de esperarse, con diferencias de 0,5 cm en GA y GU y de 1,0 cm en OV. Respecto a esta variable, en GA se observaron los receptáculos más anchos. El alto del F fue muy similar en los tres genotipos y en ambos rangos de cosecha, con influencia variable en cada manejo de cultivo aplicado.

El color es un atributo fundamental en la caracterización de un producto, ya que es un indicador directo de la calidad, junto con las propiedades sensoriales (sabor y aroma) y la composición química del alimento. En las frutas y hortalizas pueden ocurrir cambios en el color durante los procesos de maduración, degradación de clorofila, etc. En el caso del alcaucil, además de ser un carácter identificador de los genotipos, el color externo de las

brácteas es un parámetro asociado por el consumidor al estado de frescura de los capítulos. También se determina para definir la idoneidad de un cultivar para el procesado en forma de corazones, donde sólo se utilizan las brácteas internas. En esta tesis, se encontró que en el genotipo GA tuvo efecto la aplicación de AG₃ con coloración más verde en sus BI, mientras que en BM y BE no hubo efecto de los manejos de cultivo. Las BE presentan un color verde más profundo. El comportamiento en cuanto a valores promedios y el efecto de los tratamientos, es similar en ambos órdenes de cosecha, con lo cual podría inferirse que, en los sucesivos, también se conservará la calidad visual de los capítulos. En GU tuvieron escasa influencia los tratamientos, pero en las BE de los capítulos secundarios se observaron valores de IC menores respecto a los primarios, es decir que no presentan color violeta tan intenso, quizás por el menor tiempo de desarrollo de la inflorescencia.

Realizando una revisión general de los manejos de cultivo y las variables medidas, se pudo observar que en las productivas es donde los tratamientos tuvieron mayor impacto. La variable rendimiento por unidad de superficie es una de las más significativas para valorar y los genotipos FCA respondieron diferencialmente a la fertilización (T₁), el riego complementario (T₂) y la aplicación de AG₃ (T₃). En GA con T₁ y T₂ se incrementó el rendimiento un 27% en promedio, respecto a T₃ y T₄, mientras que en OV los tres primeros tratamientos produjeron un aumento del 52% respecto a T₄ o control. En el caso del genotipo GU el cultivo rindió un 11% menos con la aplicación de T₂. Estos resultados se podrían relacionar con un estudio de Macua et al. (2005), en España, en el cual se aplicaron cinco tasas de riego con sistema de rociadores en el cultivar “Blanca de Tudela” y observaron que el rendimiento se incrementaba de 11 a 19 tn ha⁻¹ al aumentar el riego desde 40 hasta 630 mm, respectivamente. Sin embargo, otro estudio realizado con riego por goteo en “Imperial Star”, en España también, no reportó diferencias en el rendimiento con 547 mm y 726 mm de agua total aplicada (Pomares et al., 2004). En trabajos posteriores de Shinohara et al. (2011), de dos años consecutivos, determinaron un rendimiento máximo de 1,31 y 1,57 Kg m⁻² regando al 100% de la demanda de evapotranspiración del cultivo. Respecto a esos rendimientos encontraron una reducción del 35% y 20% respectivamente, cuando regaron al 50% de la demanda del cultivo. Con riegos deficitarios se redujeron significativamente la tasa fotosintética neta, la transpiración y la conductancia estomática. Por el contrario, el aumento de los fertilizantes nitrogenados no mostró ninguna mejora en el rendimiento. Elia y Conversa (2007) también estudiaron en cultivos de alcaucil, el efecto del N en el rendimiento y sus componentes y destacaron que estas respuestas no siguieron una tendencia lineal de dosis de N, lo que indica que las respuestas eran dependientes de la

fertilidad del suelo, la variedad, las prácticas culturales y las condiciones climáticas. Las respuestas de los cultivos a la aplicación adecuada de nutrientes y agua, es en general positiva para el rendimiento y sus componentes ya que un mayor crecimiento vegetativo se podrá transformar en mayor cantidad y calidad de los órganos reproductivos. En estos experimentos se pudo observar que, en las condiciones ambientales del año, los genotipos presentaron rendimiento diferente, destacándose GA con $1,9 \text{ Kg m}^{-2}$, luego GU ($0,9 \text{ Kg m}^{-2}$) y OV ($0,8 \text{ Kg m}^{-2}$), en valores promedio. En GA, además de un rendimiento superior, se observó respuesta a la fertilización nitrogenada y al riego localizado, manejos que deberían seguir siendo estudiados en varios niveles de cada uno en los genotipos FCA, para ajustar las dosis óptimas en las condiciones de cultivo locales.

Un componente importante de ese rendimiento total del cultivo, es el peso medio de los capítulos y los tratamientos influyeron en el mismo, según los genotipos. En Argentina, la preferencia del consumidor es elegir capítulos o alcauciles de gran tamaño, compactos y carnosos. Se puede destacar al genotipo GA por capítulos primarios de 312 g en promedio con T_1 y T_2 , que significa un 27% de aumento respecto a los otros dos tratamientos (245 g). En los capítulos secundarios con T_2 (250 g), presentaron un incremento de peso del 23 % respecto a T_3 y T_4 (203 g en promedio). En cambio, en GU el peso de los capítulos primarios disminuye un 17% con $T_1 - T_3$, (204 g en promedio) respecto a T_4 (246 g), y en los secundarios no hubo diferencia entre manejos de cultivo (156 g en promedio). En OV se observó el mismo comportamiento que GA, aunque en forma menos pronunciada y con valores inferiores de peso medio promedio, en ambos rangos de cosecha. En relación a esto, un estudio en Italia demostró que cuando se aplicó 200 kg ha^{-1} de N, el peso de la cabeza de alcaucil fue mayor que los testigos no fertilizados (Paradiso et al., 2007). Y en varios trabajos donde se demostró un incremento de rendimiento por aplicación de riego también observaron un efecto positivo sobre el peso de los capítulos (Garnica et al., 2004; Shinohara et al., 2011; Lerkovar y Xu, 2013). El riego deficitario también redujo las respuestas fisiológicas de las plantas. Además, con T_1 y T_2 se obtuvieron los mayores valores en el F, BM y BE de capítulos primarios y en F y BE de secundarios en el genotipo GA. En GU tuvieron menos efecto, con valores superiores en F y BI de primarios y en F de secundarios. En OV con T_2 pesaron más los F y BE de primarios y en secundarios todos los tratamientos superaron a T_4 . El peso fresco del F de GA en ambos órdenes de cosecha fue de 74 y 62 g, en GU 53 y 41 g y en OV 55 y 43 g, respectivamente. En general el peso de los estratos de BM y BE fue superior al de BI, tanto en primarios como secundarios, presentando una proporción similar respecto al peso total, en los tres genotipos.

Se analizó el peso seco de las BE y BM porque es el parámetro responsable del aspecto fresco y de la textura del conjunto del capítulo, así como de las BI y F, que se relaciona con la terneza de la parte comestible (corazones). Algunos autores indicaron en sus investigaciones que a medida que se redujeron las altas tasas de riego, la calidad de la cabeza (base de materia seca), el residuo y la fibra aumentaron (Macua et al., 2005; Garnica et al., 2004). En el caso de los tres genotipos FCA, generalmente no aumentó el peso seco con la restricción del riego complementario (control). Solamente se observaron valores superiores en las BM de GA secundario con T₄ respecto a los demás tratamientos y en BI de OV secundario con T₄ respecto a T₂, posiblemente por un menor tiempo de desarrollo de la inflorescencia. En todos los demás casos no hubo diferencias o no siguieron un comportamiento regular sino aislado; por ejemplo en las BE de GA primario, el peso seco disminuyó con T₃ respecto a T₁ y T₄. Si se realiza un promedio de peso seco de todas las partes del capítulo de ambos órdenes de cosecha, se puede observar que en secundarios solamente aumenta en 1%; así en GA fue de 15 a 16%, en GU de 16 a 17% y en OV de 17 a 18%. El peso seco de una hortaliza es indicador del rendimiento e indirectamente indica la capacidad de una planta o de determinados genotipos de transformar los fotoasimilados en estructuras vegetales (Barrientos Llanos et al., 2015). Este aspecto puede ser importante en la poscosecha, especialmente en los órganos que se comercializan por peso y también puede ser importante si el destino es la industria, donde es importante el contenido de agua. Si bien el alcaucil se vende por unidad y no por peso, es un aspecto que interviene más en su calidad visual y textural, aspecto que podría seguir siendo investigado.

Los resultados obtenidos respecto al número de capítulos producidos por planta, están relacionados estrechamente con el rendimiento y el peso de los capítulos. Los tratamientos tuvieron influencia en los genotipos FCA, por ejemplo, GA con T₁ se diferenció de T₃ y T₄, con valores intermedios para T₂; OV fue similar resultando con T₁ mayor a T₄ y con valores intermedios para los demás manejos. En cambio, en GU con T₃ se observó mayor número de alcauciles por planta respecto a los demás tratamientos. Los resultados más relevantes estarían de acuerdo con los trabajos ya citados de Pomares et al. (2004); Garnica et al. (2004) y Macua et al. (2005) en los cuales el riego incrementó la productividad del cultivo de alcaucil tanto por el aumento del número de cabezas por planta como por el peso de las mismas. A su vez Paradiso et al. (2007), demostró que cuando se aplicaba fertilizante nitrogenado el número de capítulos por planta fue mayor que los controles no fertilizados. También en trabajos con ambos manejos de cultivo, otros autores determinaron

aumento en la cantidad de capítulos y los otros factores del rendimiento (Shinohara et al., 2011; Lerkovar y Xu, 2013). En los genotipos locales es de destacar a GA con un promedio de 11 capítulos por planta, seguido por GU con 7 y OV con 6.

Por último, la respuesta de las especies hortícolas para lograr producciones más precoces, es de fundamental importancia en los sistemas productivos intensivos. En este sector de producción de alimentos frescos y altamente perecederos, adelantar la cosecha unos días significa muchas veces una gran diferencia en el precio y oportunidad de venta. Según García et al., (2010) el logro de una mayor rentabilidad en el cultivo de alcaucil, está determinada por el rendimiento *per se* de cada cultivar y la fecha de entrada del producto a los mercados. En los genotipos evaluados, observamos que los tres responden a la aplicación de AG₃, adelantando la cosecha en 19 días en el caso de GA y 11 días en promedio para GU y OV. Otros autores que evaluaron sistemas y dosis de riego (Macua et al., 2005; Garnica et al., 2004), encontraron gran influencia en el rendimiento total y calidad, pero no en la precocidad. En este trabajo de tesis, en las condiciones de los experimentos, se destaca el comportamiento de GA al resultar ser el más precoz de los genotipos evaluados, en respuesta a la aplicación de AG₃. La efectividad en la aplicación de AG₃ depende en gran medida de la precocidad propia del material genético utilizado, las dosis empleadas y las condiciones climáticas (García et al., 2010).

La fertilización y el riego incrementaron el rendimiento en peso fresco por m² llegando en promedio a 2,1 Kg m⁻² en GA y 0,9 Kg m⁻² en OV, aumentaron el peso medio y nº de capítulos por planta. La aplicación de AG₃ permitió generalmente disminuir el % de fibra en las BM y BE. Con AG₃ aumenta el rendimiento y cantidad de capítulos en el genotipo GU y en los tres genotipos aumentó la precocidad en 19 días para GA y 11 días para OV y GU. Los tratamientos aplicados no cambiaron la forma del capítulo característico de cada genotipo FCA y no hubo deformaciones en el segundo rango de cosecha. En general las BI y BM suelen ser más alargadas y además son las que responden, en algunos casos, a los tratamientos. Se destaca GA por sus mayores medidas de F (seis cm). El color de los diferentes estratos de brácteas no se vio afectado en forma relevante con los manejos de cultivo. La influencia del manejo de cultivo respecto a su contenido de materia seca, en capítulos primarios y secundarios, fue puntual en algunas cultivares. El tratamiento control permitió puntualmente los mayores valores de AC en BI de capítulos secundarios de GA y primarios de GU y mayor contenido de DCQ en BM de secundarios de GU. A su vez, redujo el

pardeamiento del F de -3,0 a -5,0 en capítulos primarios de GA, siendo el genotipo con valores promedio menores (-3,0) respecto a GU y OV (-6,0).

A modo de consideraciones finales del Capítulo I, se puede distinguir que la mayor agrupación de variables evaluadas estuvo dada por la diferenciación de los cultivares y en menor medida por la aplicación de los manejos de cultivo, en los dos órdenes de cosecha. Además, los tratamientos aplicados en los tres cultivares evaluados, tuvieron efecto diferente en cada uno. Los resultados obtenidos pueden seguir analizándose según los objetivos del sistema productivo y el destino de la producción. En forma general y también detallada se considera que se pudo alcanzar el objetivo de estimar el efecto de los manejos de cultivo en diferentes partes de la planta de tres genotipos obtenidos en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Y a su vez sirve de base para continuar el desarrollo de la tesis y futuras investigaciones.

CONCLUSIONES

. La aplicación de fertilización, riego y AG_3 , durante un año de cultivo, influyeron diferencialmente en caracteres que se evaluaron en los cultivares, con mayor impacto en aspectos productivos.

. Los genotipos tuvieron mayor influencia en las variables analizadas que los manejos aplicados, sin embargo alguno de ellos, como GU en los capítulos de primer orden, estuvieron más influenciados por las prácticas de manejo.

. Se destacó el cultivar Gauchito FCA por un mayor contenido de principios activos en brácteas, ácidos dicafeoilquínicos en las hojas, ancho del fondo, rendimiento por unidad de superficie, número de capítulos por planta y peso fresco del capítulo. A su vez presentó menor pardeamiento y contenido de fibra en el fondo.

Capítulo II

**IMPACTO DEL USO DE DIFERENTES DOSIS DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN
PLANTAS DE UN HÍBRIDO DE ALCAUCIL.**

INTRODUCCIÓN

De los manejos de cultivo evaluados sobre cultivares FCA en el primer capítulo, se seleccionó la aplicación de ácido giberélico (AG_3) como aquella práctica o labor cultural más significativa para seguir investigando. Varios factores influyeron en esta elección enfocada a esclarecer criterios de uso. La fertilización y el riego son dos labores consideradas generales en los cultivos hortícolas, ya que se aplican en la mayoría de las especies. Además, se consideró que para la determinación de la respuesta a diferentes dosis de riego o fertilizantes en las plantas debería realizarse en condiciones controladas como ser cultivo en macetas con sustrato, protección para no recibir agua de lluvia, agua de riego con menor conductividad debido a las sales sódicas, etc. De esta manera es más difícil extrapolar los resultados a un cultivo de alcaucil a campo, con la realidad productiva de la zona. En cambio, el uso de AG_3 es una práctica específica aplicada al cultivo de alcaucil, utilizada por los productores para lograr precocidad en su producción y comercializar lo producido en momentos de precios más altos, pero el efecto de diferente número de aplicaciones sobre los genotipos, no está claramente definido en el cinturón hortícola del Gran Rosario. Tampoco está evaluada la influencia sobre otras variables más allá de las productivas.

Los reguladores del crecimiento son sustancias tanto de origen natural, como sintetizadas en laboratorio, que determinan respuestas a nivel de desarrollo, crecimiento o metabolismo. Entre las primeras hormonas vegetales o fitohormonas descubiertas encontramos el ácido giberélico (AG_3). El mismo actúa en muy bajas concentraciones, es sintetizado en los primordios apicales de las hojas, en puntas de las raíces y en semillas en desarrollo. Se transportan por difusión a través del floema y xilema, lo que evidencia una translocación bidireccional a lo largo de la planta (Baixauli Soria y Maroto, 2011; Salisbury y Ross, 2012).

Las funciones principales de las giberelinas, entre ellas AG_3 , son incrementar la tasa de división celular (mitosis) y el crecimiento en los tallos, interrumpir el período de latencia de las semillas, inducir la brotación de yemas, promover el desarrollo de los frutos y estimular la síntesis de ARN mensajero (Condés Rodríguez et al., 2008). Conjuntamente con la división celular, el AG_3 activa una o más señales de transducción para la transcripción de la respuesta primaria de los genes y una respuesta secundaria que se traduce en la elongación celular (Taiz y Zeiger, 2004). Las giberelinas tienen un papel particularmente interesante en la agricultura comercial, ya que conducen al alargamiento y desarrollo de las

plantas y retrasan la abscisión de las hojas. En la literatura se describen tratamientos con AG₃ previos a cosecha donde se observó control de la descomposición de frutas (Kinay et al., 2005). En poscosecha tiene como efecto retardar la senescencia y retrasar la maduración (Ludford, 2003) así como intervenir en muchos otros procesos (Rodrigues et al., 2011).

La aplicación de AG₃ durante el cultivo de alcaucil es una práctica frecuentemente utilizada por los productores a fin de lograr que la producción coincida con los momentos de mejores precios. Sin embargo, los resultados que se logran son dispares ya que la respuesta parece estar influenciada por factores como la edad de la planta al momento de aplicación, el genotipo, el clima, la dosis utilizada, por lo que se recomienda realizar ensayos para cada región (Maroto Borrego, 2002).

Respecto al material genético y la forma de multiplicación en los países de mayor producción a nivel mundial, como es Italia, Pesce y Maurominale (2019), afirman que se cultivan genotipos de difusión local y multiplicación vegetativa, los cuales son clones con una base genética muy amplia y también con un alto grado de heterocigosis. A pesar de la disponibilidad de una biodiversidad tan amplia, el cultivo de alcauciles en estas áreas todavía se basa en unos pocos cultivares. Resulta interesante valorizar el germoplasma existente, mejorarlo y buscar nuevos genotipos que puedan ser utilizados en todo el mundo. En las últimas décadas, sin embargo, está teniendo lugar una fuerte innovación en germoplasma gracias a la introducción, en algunas áreas, de nuevos materiales propagados por semillas (Ierna y Maurimicale, 2004; Condés Rodríguez et al., 2008; Pesce y Maurominale, 2019). Los mismos se cultivan en el mundo, tanto para consumo en fresco como para el procesamiento industrial y han ganado importancia económica debido a varias ventajas, ya que permiten cultivarse con ciclo anual y de este modo, reducir el costo de plantación, el uso de pesticidas, uso de fertilizantes y necesidades de riego, entre otras (Zapata et al., 2019). A su vez pueden lograrse mejores rendimientos y reducir los inconvenientes sanitarios que conlleva la multiplicación vegetativa o agámica (López Anido et al., 2010; Saccardo et al., 2013; Rey et al., 2016; Pagnotta et al., 2016). En general, implantar un cultivo de alcaucil a partir de semilla, permite cumplir con los requisitos del mercado, proveer mejor a las cadenas productivas (consumo fresco e industria), dar continuidad temporal con calidad del producto y mejorar el ingreso económico de los agricultores (Pesce y Maurominale, 2019). En numerosas experiencias, realizadas en el Centro de Experiencias de Cajamar (España), se ha constatado que existe material vegetal

multiplicado por semilla que puede ser alternativa o complementar al de multiplicación vegetativa, existiendo algunos de muy buena calidad tanto en capítulos verdes como violetas (Baixauli Soria, 2014).

Respecto a la multiplicación por semilla, Baixauli (2017a) describe que se pueden establecer dos grupos de genotipos, los procedentes de polinización abierta (tempranos), originarios de EEUU, de capítulos esféricos o subesféricos y los híbridos F_1 . Entre los del primer grupo, el primero en aparecer fue 'Green Globe' y el más importante en el mundo, el 'Imperial Star', con menos pigmentos antocianicos que el anterior. Este último se cultiva con otros nombres como 'A-106', 'Lorca' o 'PS 25000'. También están los de producción tardía, desarrollados principalmente en Francia e Israel, de los cuales el más importante es el 'Talpiot'. Entre los de color violeta se encuentra también 'Colorado Red' y 'Red Day'. La variedad Imperial Star en España es la más utilizada por ser la más precoz, de semilla más barata y productiva, aunque sus capítulos son globosos y el mercado español busca cultivares con capítulos más alargados, similares a 'Blanca de Tudela'. El segundo grupo de genotipos corresponde a los cultivares híbridos F_1 . Últimamente está aumentando el interés de firmas comerciales de semillas por desarrollar nuevos híbridos, destacando Nunhems de Bayer CropScience que ha puesto en marcha una línea de trabajo para la obtención de nuevos cultivares híbridos de alcachofa de semilla, entre los que destacan algunos como: 'Harmony', 'Symphony', 'Nun 4011', 'Madrigal', 'Concerto', 'Ópera' y 'Opal', siendo estos tres últimos violetas.

En Argentina, ocurrió un proceso similar en cuanto a la adopción de cultivares propagados por semilla. La implantación del cultivo se ha realizado generalmente utilizando hijuelos (en forma vegetativa) como órganos de propagación, ocasionando un deficiente densidad poblacional de plantas por pérdidas ya sea durante el trasplante de los hijuelos o por muerte de plantas durante el cultivo, degeneración de plantas y la diseminación de enfermedades (Mondino et al, 2017; Zapata et al., 2019). La multiplicación en forma sexual por medio de semillas está en crecimiento debido a los beneficios que otorga esta tecnología al producir incremento en los rendimientos y ocasionar una mayor practicidad en el manejo agronómico, posibilidad de planes de rotación, disminución de labores y mano de obra (García et al, 2015).

En los nuevos genotipos de alcaucil multiplicados por semilla, la aplicación de giberelinas puede sustituir parcial o totalmente las necesidades de frío y es conocido que

distintos genotipos tienen diferentes necesidades de ácido giberélico para la entrada en producción (Elia et al., 1994). Trabajos de Andujar et al. (2005), han demostrado que el genotipo Madrigal pertenecería al grupo de altas necesidades de AG₃ y que podría requerir dosis mayores a las normalmente empleadas en la zona de Murcia, España, para la producción de Blanca de Tudela (López et al., 2006) o las aplicadas en cultivares producidos en Argentina (García et al., 2010). Además de la dosis y tamaño de la planta adecuado, la efectividad de las aplicaciones depende de varios factores. Si bien la absorción por la membrana cuticular es importante, también parece ser que por vía estomática se produce una absorción considerable. Condés Rodríguez et al., (2008) señalan que la unión de los tres factores, humedad, temperatura e iluminación, en sus parámetros adecuados contribuyen a que, si permanecen abiertos los estomas de la planta en el momento de la aplicación y durante un tiempo inmediatamente después, la absorción del AG₃ por parte de la planta sea la adecuada.

Por todos los motivos mencionados, incluimos en las investigaciones a los híbridos de alcaucil de reciente difusión, multiplicados por semillas, aceptados rápidamente por los productores y cuyo cultivo se ha revitalizado en nuestro país. Asimismo, encontramos necesario evaluar la respuesta de esos híbridos importados a la aplicación de AG₃ analizando aspectos de composición química, morfología y producción, en las condiciones locales.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la influencia del uso de diferentes dosis de ácido giberélico en un híbrido de alcaucil.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de trabajo

Los experimentos a campo se realizaron en la Sección de Horticultura de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental J.

Villarino, Zavalla, Santa Fe, Argentina (33°01´S; 60°53´O), comenzando el ciclo del cultivo a fines del año 2014 y concluyendo a fines del 2015.

2. Características del suelo, agua de riego y condiciones climáticas

El cultivo se realizó en un suelo Argiudol Vértico, serie Roldán con las características presentadas en la Tabla 1 de la sección 2 de Materiales y métodos, del Capítulo I.

Para el riego complementario se utilizó agua de pozo, cuyo análisis físico, químico y bacteriológico fue presentado también en el Capítulo I (Tablas 2 y 3, en la sección 2 de Materiales y métodos).

Las condiciones meteorológicas a partir del trasplante, es decir los meses de noviembre y diciembre del 2014 fueron 21 °C y 23°C de temperatura media mensual; 71% y 75% de humedad relativa del aire, respectivamente. Las precipitaciones registradas fueron de 146,5 mm en noviembre y 97 mm en diciembre. Durante el año 2015 y hasta finalizar la cosecha, las condiciones se pueden observar en la Figura 61.

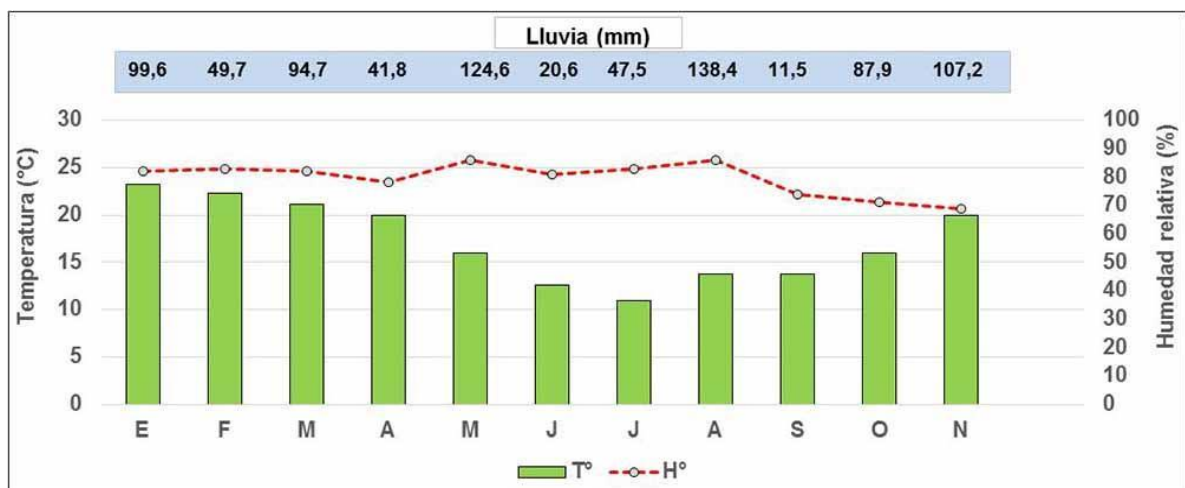


Figura 61: condiciones climáticas durante el año 2015; temperatura (°C) y humedad relativa (%) del aire en valores promedio para cada mes y lluvia mensual acumulada (mm). Fuente: Estación Agrometeorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de Zavalla-UNR/Cátedra de Climatología Agrícola.

Durante los meses de menor temperatura media mensual, se registraron algunos días de heladas (temperaturas por debajo de 0°C); en el mes de junio ocurrieron cinco y en julio fueron seis.

3. Material vegetal e implantación del cultivo

Se utilizó un material genético multiplicado por semillas, el híbrido de alcaucil Madrigal F1, de la empresa Nunhems (Bayer), cuyas características se mencionan en el catálogo correspondiente (Figura 62).



Figura 62: Descripción del híbrido Madrigal F1. Fuente: catálogo de la empresa Nunhems (Bayer)

Las semillas se sembraron el 7/10/2014 en multimacetas de polietileno negro de 128 celdas (con un volumen de 23 cm³ cada una) con sustrato mezcla y cuidado en el invernadero del plantinero comercial Flhoragro (localidad de Soldini). Luego de 44 días, cuando los plantines tenían 2 a 3 hojas verdaderas y se podían extraer con facilidad, manteniendo armado el pan con cepellón, fueron llevados al lote de la Facultad donde se implantaron (Figura 63).



Figura 63: multimaceta con plantines de 44 días (A) y plantín con pan de cepellón (B), previo a la plantación.

El cultivo fue sistematizado en lomos con una densidad de 0,9 plantas por m² (1,4 m entre hileras y 0,8 m dentro de la hilera), a simple hilera sobre el lomo. El trasplante se realizó el 20/11/2014 y se colocaron cintas de polipropileno con laberinto incorporado a una distancia de 33 cm entre cada uno, para una correcta implantación y los sucesivos riegos complementarios por goteo (Figura 64).



Figura 64: trasplante de plantines de Madrigal en el lote de la Sección de Horticultura y colocación de las cintas de riego localizado.

4. Tratamientos y labores culturales

Las plantas recibieron los siguientes tratamientos (Número de aplicaciones de AG₃):

T₀) Testigo sin aplicación

T₁) Una aplicación de 30 ml de solución acuosa de AG₃ (50 ppm) por planta, el 13/04/2015. La solución aplicada fue preparada en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, con ácido giberélico (AG₃) 90% (Research Organics Inc.), adquirido en Sigma Aldrich. La aplicación de AG₃ se realizó mediante una mochila manual, asperjando sobre el ápice de la planta y la base de las hojas (Figura 65).

T₂) Dos aplicaciones de 30 ml de solución acuosa de AG₃ (50 ppm), el 13/04 y el 28/04/2015.

T₃) Tres aplicaciones de 30 ml de solución acuosa de AG₃ por planta, realizadas las dos primeras con soluciones de concentración (50 ppm) el 13/04 y 28/04, y la tercera de concentración (60 ppm) el 12/05/2015.

La dosis total aplicada se estableció en base a recomendaciones de la empresa proveedora de las semillas.



Figura 65: aplicación de solución de AG₃ en plantas de alcaucil el día 13/04/2015.

Las aplicaciones se realizaron con mochila cumpliendo la Norma "Protocolo de aplicaciones fitosanitarios Campo Experimental Villarino" (Resolución CD N° 233/15).

De acuerdo a los requerimientos del cultivo y la cantidad presente en el suelo, se determinó que el fertilizante necesario para cubrir dicha demanda era solamente el Nitrógeno (N). Se aportó a cada planta un total de 45 g de urea, dividido en tres aplicaciones el 31/03, 04/05 y 01/06/2015. El fertilizante sólido granulado se colocó en la base de la planta y luego se incorporó al suelo. Desde el trasplante al final de la cosecha, las plantas recibieron 1067 mm de agua de lluvia y 279 mm de riego complementario por goteo, para cubrir las necesidades en los períodos de menores precipitaciones. En esos casos se regó durante una hora, tres veces por semana y en los meses de mayor temperatura, una hora y media, dependiendo de las necesidades. El sistema de riego localizado entregaba 3 mm de agua por m² en cada hora de riego.

La cosecha se desarrolló desde el 04/08 al 22/11/2015, en forma manual y escalonada, siguiendo las recomendaciones de calidad definidas por Trevor y Cantwell (1997). Las inflorescencias inmaduras deben ser compactas y bien formadas, de un color verde típico, un corte de tallo liso y uniforme, libres de daños por insectos o por manejo, y de defectos. Las yemas de alcachofa deben parecer pesadas en relación a su tamaño. El tallo debe cortarse de 2,5 a 4 cm a partir de la base.

5. Conformación de las muestras

De cada tratamiento, se cosecharon la totalidad de capítulos de calidad comercial, producidos por planta. Se tomaron al azar 12 capítulos del primer orden de cosecha o primarios y se conformaron las muestras para la medición de las diferentes variables. De igual manera se procedió con los capítulos del segundo orden de cosecha o secundarios. A cada uno se le extrajeron las brácteas de manera centrípeta como se indicó en la sección 5 del Capítulo I. De este modo quedaron conformados los grupos que representan a los tres estratos de brácteas, externas (BE), medias (BM) e internas (BI). El fondo (F) es el receptáculo carnoso (Figura 66).

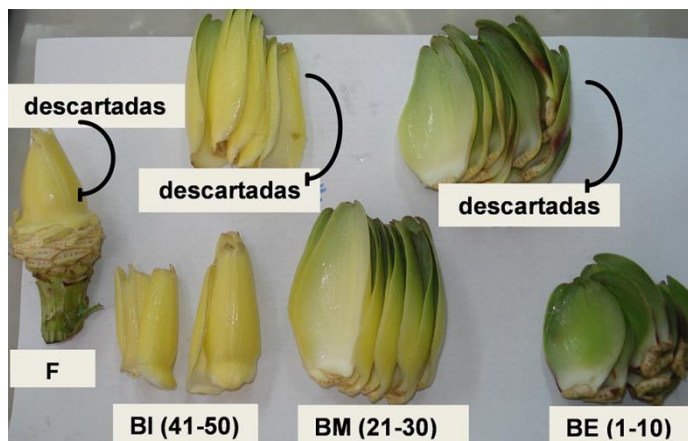


Figura 66: conformación de las muestras de brácteas externas, medias, internas y fondo, en capítulos de alcaucil primarios y secundarios.

Por otro lado, luego de haber cosechado todos los capítulos con calidad comercial, se extrajo una hoja del estrato medio de diez plantas de cada tratamiento, tomando la sección media del limbo para obtener una muestra compuesta. La preparación de las muestras y la medición de las variables se realizó en el Laboratorio Central de la FCA-UNR (33° LS y 61° LO).

6. Variables medidas

6.1. Variables químicas y estructurales

6.1.1. Contenido de ácidos clorogénico y dicafeoilquínicos

Para medir el contenido de ácido clorogénico (AC) y de ácidos dicafeoilquínicos (DCQ) se prepararon extractos metanólicos con el mismo procedimiento descrito e ilustrado en las Figuras 14 a 17, de la sección 6.1.1 de Materiales y métodos del Capítulo I. Durante dicha tarea se siguieron las indicaciones del Manual de Higiene y Seguridad del Laboratorio de la FCA (Manual de procedimientos, Resolución CD N° 455/2014) y el Reglamento general para el funcionamiento del laboratorio central FCA (Resolución CD N° 148/88).

El análisis químico se realizó en el Instituto de Investigaciones para el Descubrimiento de Fármacos de Rosario (IIDEFAR-UNR-CONICET), y en el laboratorio de Espectrometría de Masa del Centro Científico Tecnológico de Rosario, Argentina.

Los experimentos se realizaron por triplicado a partir de extractos de muestras compuestas por diez BI y dos mitades de F, extraídos de diferentes capítulos, tanto primarios como secundarios; y en el caso de las H, la unidad experimental estaba compuesta de diez hojas del estrato medio de plantas diferentes. En todos los casos las repeticiones fueron de cada tratamiento aplicado y se expresaron como mg de AC o DCQ por kg de material vegetal fresco (mg kg^{-1}).

6.1.2. Pardeamiento del fondo

Para medir el pardeamiento en el fondo se cortó el capítulo en su eje longitudinal con cuchillo de cerámica. En una mitad del capítulo se midió la luminosidad (L^*) utilizando la escala CIELab siguiendo el protocolo descrito en la sección 6.1.3 de Materiales y métodos, del Capítulo I. Se tomaron fotografías de cada tratamiento que sirven de registro. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el fondo de un capítulo.

6.1.3. Fibra insoluble total

Para determinar la fibra insoluble total en BI, BM, BE y F (en %), se utilizó el método de separación mecánica de elementos fibrosos de Kramer y Twig (1973), el cual fue detallado en la sección 6.1.2 de Materiales y métodos, del Capítulo I e ilustrado con las imágenes de la Figura 19 de la misma sección.

Se realizaron seis repeticiones de cada tratamiento, siendo la unidad experimental muestras compuestas por diez BE, BM y BI y dos mitades de fondos, extraídos de dos capítulos distintos. Se evaluaron tanto capítulos primarios como secundarios.

6.2. Variables morfológicas y color

6.2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

Se efectuaron las mediciones del capítulo, el alto máximo desde la base de las brácteas externas hasta el ápice y el ancho máximo en su eje ecuatorial, en cm. El cociente de ambas medidas fue la relación alto/diámetro (RAD).

Para determinar las medidas de cada estrato de brácteas, se siguió la metodología descrita en la sección 6.2.1 de Materiales y métodos, del Capítulo I. El cociente entre el

alto y ancho de las brácteas fue la relación alto/ancho (RAA). Se realizaron seis repeticiones por tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el capítulo entero en RAD y las medidas promedio de tres BE, BM y BI de cada capítulo evaluado para RAA.

6.2.2. Ancho y alto del fondo

Para determinar las medidas del fondo (cm), se cortó el capítulo en su eje longitudinal y se midió el ancho y alto del receptáculo. Se consideró el ancho máximo entre la inserción de las brácteas externas y el alto desde la inserción de las flores y hasta un cm de tallo floral. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el fondo de cada capítulo.

6.2.3. Color de brácteas

Para medir el color en BE, BM y BI se midió el parámetro L^* que representa la luminosidad del color con valores que van del cero (blanco) al 100 (negro); el parámetro a^* es la variación entre rojo (+60) y verde (-60), mientras que b^* entre amarillo (+60) y azul (-60). Se utilizó la escala CIELab (Westland, 2001). Para obtener el valor del Índice de color (IC), se aplicó la siguiente fórmula:

$$IC = \frac{a^* \times 1000}{L^* \times b^*}$$

La interpretación de los rangos de IC, se siguió el mismo criterio expuesto en la sección 6.2.3 de Materiales y métodos, del Capítulo I. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento, cuya unidad experimental fueron las medidas promedio de tres BE, BM y BI de cada capítulo primario y secundario evaluados.

6.3. Variables productivas

6.3.1. Rendimiento en peso fresco del cultivo

Durante la etapa productiva del cultivo se comenzó con la cosecha de los capítulos primarios, una vez que los mismos alcanzaron su máximo tamaño, formando una cabeza

compacta. Se prosiguió cosechando los sucesivos capítulos. Los capítulos de orden posterior dejaron de cosecharse cuando pesaron menos de 100 g. La totalidad de Kg cosechados en el lote evaluado se dividió por la densidad de plantas por m² (Kg m⁻²) y se obtuvo el rendimiento por unidad de superficie, para cada tratamiento y genotipo.

6.3.2. Peso fresco del capítulo

Se pesaron los capítulos cosechados primarios y secundarios enteros, en g. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento y la unidad experimental fue el capítulo entero.

6.3.3. Peso fresco de brácteas

Luego de determinar el peso fresco de los capítulos enteros, los mismos se sometieron al proceso de conformación de las muestras de los diferentes estratos de brácteas. Se pesaron el conjunto de las diez BE, BM y BI, en g. La muestra representativa de cada conjunto de brácteas, complementa a la variable de peso medio total de capítulo primario y secundario, brindando una idea de la proporción de cada estrato de las mismas. Se realizaron seis repeticiones de cada tratamiento, siendo la unidad experimental el conjunto de diez brácteas dentro de cada estrato.

6.3.4. Peso seco del fondo y brácteas

El material fresco, se pesó y se colocó en estufa en bandejas de papel aluminio, hasta peso constante. El peso seco obtenido se refirió al peso fresco en %. Se realizaron seis repeticiones de cada tratamiento, siendo la unidad experimental, muestras compuestas por cinco BE, BM y BI; dos mitades de fondos, extraídos de dos capítulos distintos, tanto primarios como secundarios.

6.3.5. Número de capítulos por planta

La cosecha se realizó identificando los capítulos de cada planta, logrando así el dato del número total de capítulos. Se consideraron las plantas que habían producido como mínimo ocho capítulos.

6.3.6. Precocidad

La precocidad se midió contando los días desde la primera aplicación de AG₃ hasta la cosecha del capítulo primario de cada planta (días a cosecha).

7. Análisis estadístico

En un lote implantado de 480 plantas del genotipo Madrigal se aplicaron los cuatro tratamientos, en un diseño en bloques al azar con seis repeticiones. Cada parcela tenía 20 plantas.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \alpha_j + e_{ijk}$$

Donde

Y_{ijk} = valor observado en la unidad experimental

μ = media general del ensayo

T_i = efecto del tratamiento

α_j = efecto del bloque

e_{ijk} = término del error

Se analizó la normalidad con la prueba de Shapiro Wilks y la homogeneidad con la prueba de Levene para cada variable y se aplicó análisis de variancia (ANAVA) y la prueba de Duncan para aquellas de distribución normal, mientras que Kruskal Wallis fue aplicada para las variables de distribución no normal. Se estimaron las correlaciones de Pearson entre pardeamiento del F y contenido de principios activos en BI, F y H. El programa estadístico utilizado es INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2016). Para todas las variables, los gráficos fueron realizados utilizando los valores medios de cada tratamiento con su correspondiente error experimental.

RESULTADOS

La respuesta a la aplicación de AG₃ es visible a los pocos días de realizada. Se aprecia un mayor crecimiento vegetativo con un desarrollo más erecto de las plantas (Baixauli Soria, 2017b). Las plantas presentaron un crecimiento acelerado, las hojas erguidas y de un color verde más claro (Figura 67), debido a los procesos fisiológicos que ocurren en el vegetal, como se explicó en la introducción del presente capítulo .



Figura 67: plantas de alcaucil con dos aplicaciones de AG₃ (izquierda), previo a la tercera aplicación del 12/05/2015 y plantas sin ninguna aplicación de AG₃ (derecha).

1. Variables químicas y estructurales

1.1. Contenido de ácidos clorogénico y dicafeoilquínicos

Se observaron diferencias en el contenido de AC en F y BI ($p < 0,05$) de capítulos primarios. En el F el mayor valor se midió en T₂ (2229 mg kg⁻¹ de peso fresco) si se compara con el promedio de T₀ y T₁ (1057 mg kg⁻¹ de peso fresco). En las BI se observó un contenido de 2755 mg kg⁻¹ de peso fresco en T₂, que fue mayor respecto a T₀ (1506 mg kg⁻¹ de peso fresco) y T₁ (1373 mg kg⁻¹ de peso fresco). En cambio, en H no se observaron diferencias entre los tratamientos de AG₃ aplicados (Figura 68 A).

Respecto al contenido de DCQ, hubo diferencias en el F ($p < 0,05$) presentando T₂ el mayor valor (1257 mg kg⁻¹ de peso fresco), respecto a los demás tratamientos en capítulos primarios. En cambio, en las BI y H no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados (Figura 68 B).

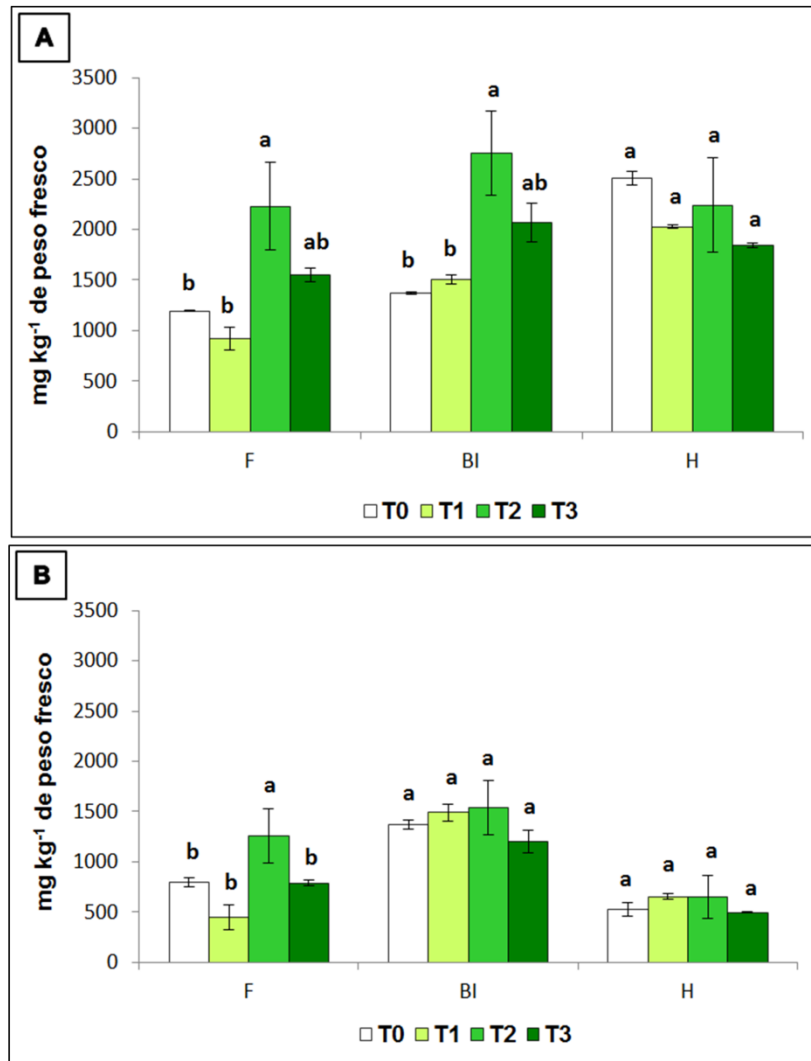


Figura 68: contenido de ácido clorogénico (A) y dicafeolquinicos (B) expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco en fondo (F), brácteas internas (BI) de capítulos **primarios** y en hojas (H) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀- Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En capítulos secundarios solamente se pudo determinar el contenido de AC en F y BI, no observándose diferencias entre los tratamientos aplicados (Figura 69).

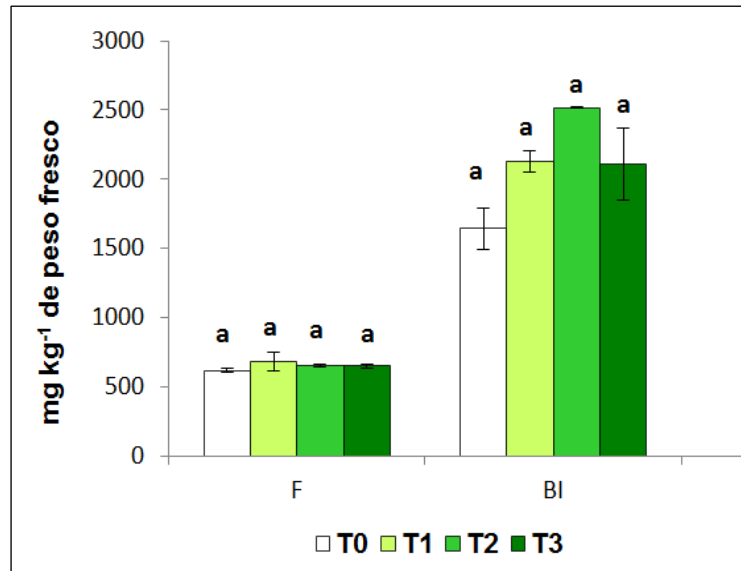


Figura 69: contenido de ácido clorogénico expresado en mg Kg^{-1} que fue detectado en fondo (F), brácteas internas (BI) de **capítulos secundarios** del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T₀- Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

1.2. Pardeamiento del fondo

En las mediciones del pardeamiento del F se observaron con T₀ y T₂ valores absolutos mayores (-11,0 y -9,8 respectivamente) que respecto a T₃ (-7,9) ($p < 0,05$) en capítulos primarios (Figura 10 A). En los capítulos secundarios se observó diferencia ($p < 0,05$) entre T₀ (-13,0%) y T₃ (-6,9%), presentando valores intermedios los otros tratamientos (Figura 10 B).

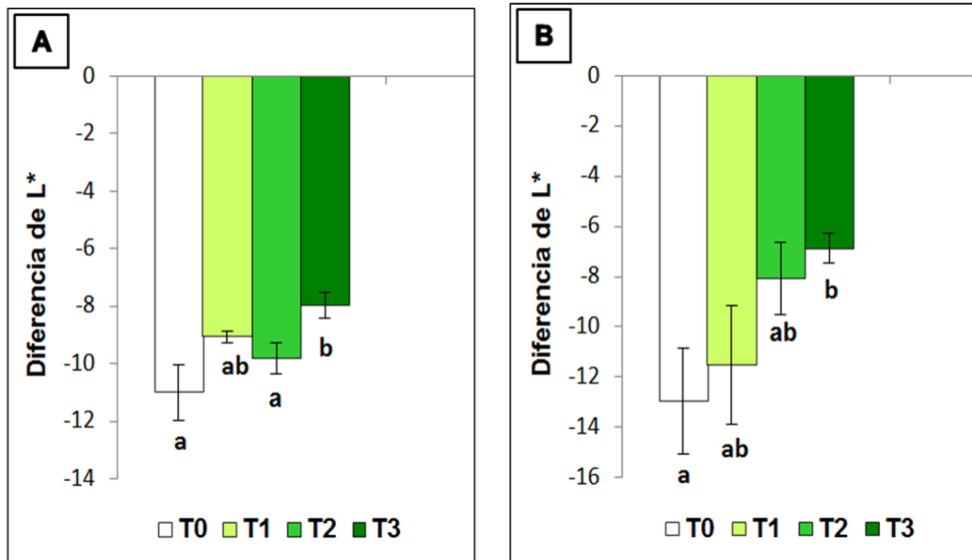


Figura 70: pardeamiento del fondo (delta L* entre 10 minutos del corte y el momento inicial) de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀- Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

En la Figura 71 se muestran fotos de un capítulo primario con T₀ al momento del corte (M₀) y a los diez minutos del mismo (M₁), en los cuales fue medida la luminosidad en el F y la diferencia de ambas mediciones determina el pardeamiento del mismo.

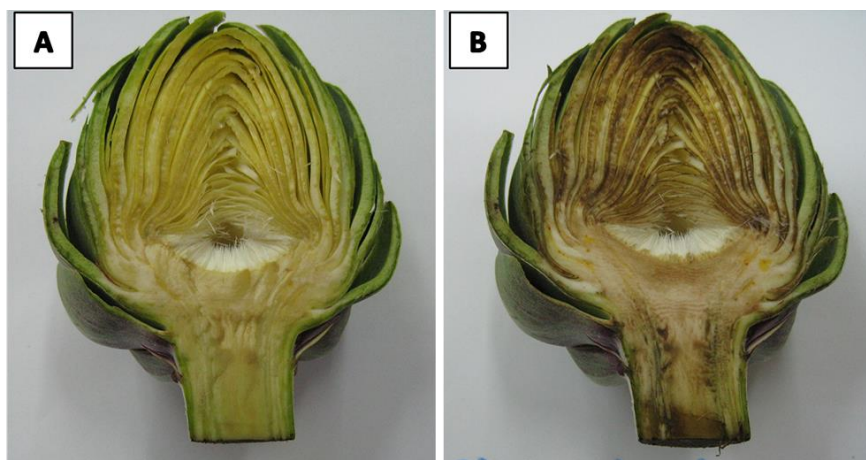


Figura 71: capítulo primario de Madrigal al momento del corte en su eje longitudinal (A) y el mismo capítulo a los diez minutos (B), de una planta sin ninguna aplicación de AG₃ (T₀).

Para ilustrar los datos obtenidos, en la Figura 72 se muestran fotos de un capítulo primario con T_3 al momento del corte (M_0) y a los diez minutos del mismo (M_1), en los cuales se determinó el pardeamiento del F.

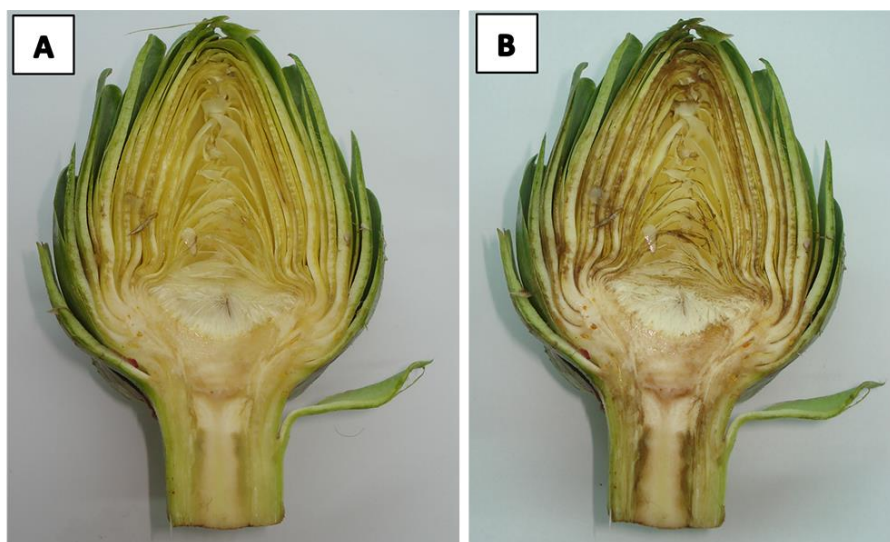


Figura 72: capítulo primario de Madrigal al momento del corte en su eje longitudinal (A) y el mismo capítulo a los diez minutos (B), de una planta con tres aplicaciones de AG_3 (T_3).

Respecto a los análisis de correlación entre variables medidas, no se encontró correlación entre pardeamiento y las variables químicas ($p > 0,05$). Sin embargo, se encontraron algunas relaciones entre los compuestos químicos evaluados y las distintas partes de la planta. El contenido en AC en BI estuvo correlacionado positivamente con el contenido de AC y DCQ en el F ($r > 0,83$; $p < 0,0001$). El AC en el F estuvo correlacionado positivamente con el contenido de DCQ, tanto en el F ($r = 0,95$; $p < 0,0001$) como en las H ($r = 0,73$; $p < 0,01$).

1.3. Fibra insoluble total

El contenido de fibra insoluble total no varió significativamente en los F de capítulos primarios, por efecto de los tratamientos. En cambio, en las BI todos los tratamientos de aplicación de AG_3 a las plantas, disminuyeron la proporción de fibra ($p < 0,01$), con valores de 4,2%, 2,9% y 3,3%, respecto a T_0 (5,8%), como puede observarse en la Figura 73 A. En los capítulos secundarios se observó menor % de fibra en F con T_2 y T_3 ($p < 0,05$) con valores de 3,5% en promedio respecto a los demás tratamientos (5,4% en T_0 y T_1). En las BI se

observaron diferencias significativas de T₀ con 5,4% de fibra respecto a T₂ (2,3%) y T₃ (2,9%), (Figura 73 B).

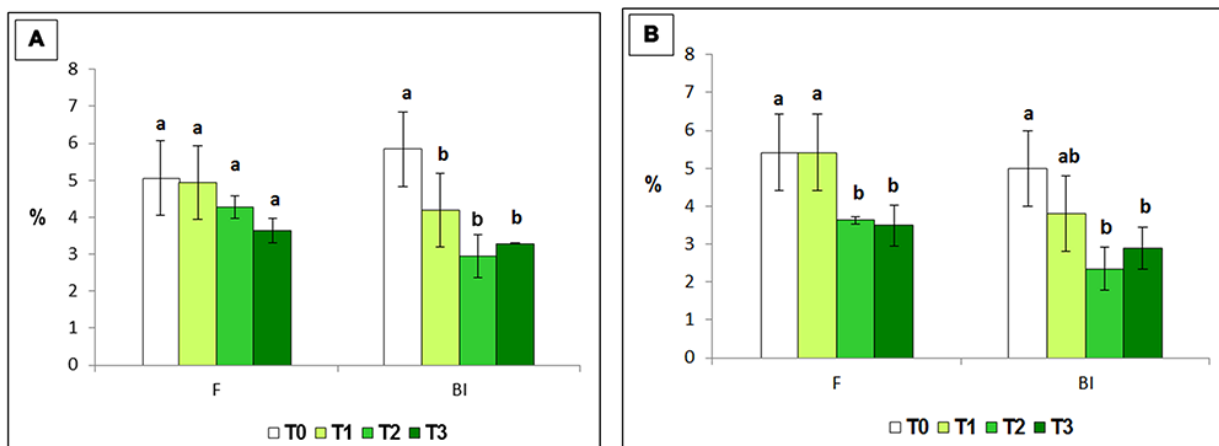


Figura 73: contenido de fibra insoluble total (%) en fondo (F) y brácteas internas (BI) de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

2. Variables morfológicas y color

2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

Los tratamientos aplicados modificaron la forma de capítulos primarios expresada en la relación alto/diámetro (RAD) de los mismos como se muestra en la Figura 74 A. Hubo valores de 1,1 en promedio para T₀ - T₁ y 1,4 para T₂ - T₃ (p<0,01), es decir que éstos últimos fueron más alargados por las aplicaciones de AG₃. El mismo efecto se halló en las BM y BE, medido en la relación alto/ancho (RAA) de las mismas (p<0,01), mientras que en las BI no se observaron diferencias entre tratamientos. En cambio, en los capítulos secundarios no hubo efecto entre el número de aplicaciones de AG₃ sobre la forma del capítulo y los estratos de brácteas (Figura 74 B).

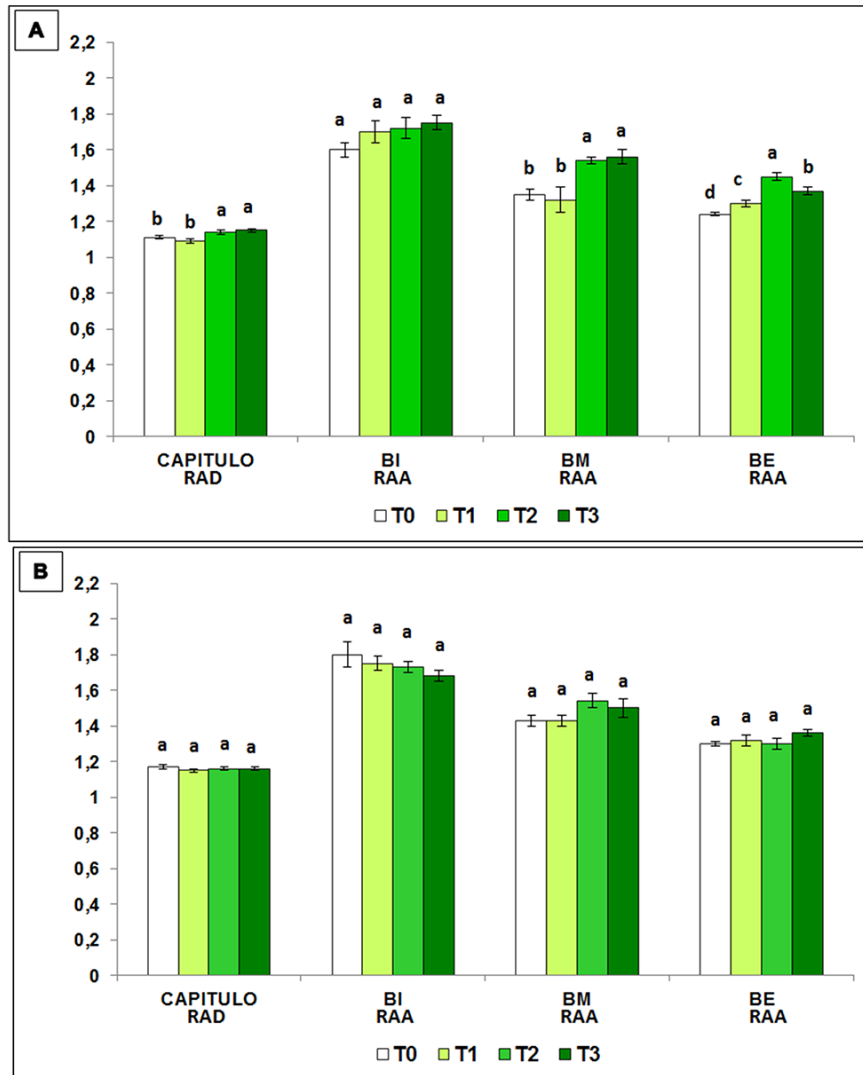


Figura 74: relación alto/diámetro de capítulo (RAD) y relación alto/ancho de brácteas internas (RAA BI), brácteas medias (RAA BM) y brácteas externas (RAA BE), en capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀- Ninguna aplicación; T₁- Una aplicación; T₂- Dos aplicaciones; T₃- Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según el test de Duncan.

2.2. Ancho y alto del fondo (cm)

Con respecto a la variable ancho del F en capítulos primarios de Madrigal, se diferenció T₂ con el mayor valor (5,6 cm) comparado con los demás tratamientos (p<0,05). En el caso del alto del F, con T₀ y T₂ se observó mayor valor promedio (3,1 cm) que respecto a T₃ (2,7 cm) (p<0,05), como puede visualizarse en la Figura 75 A. En los capítulos

secundarios, no se observaron diferencias entre los tratamientos en el ancho del F, pero sí en el alto del F ($p < 0,01$), siendo mayores con T₀ y T₁ (2,8 cm en promedio), respecto a los demás tratamientos (2,3 cm en promedio) (Figura 75 B).

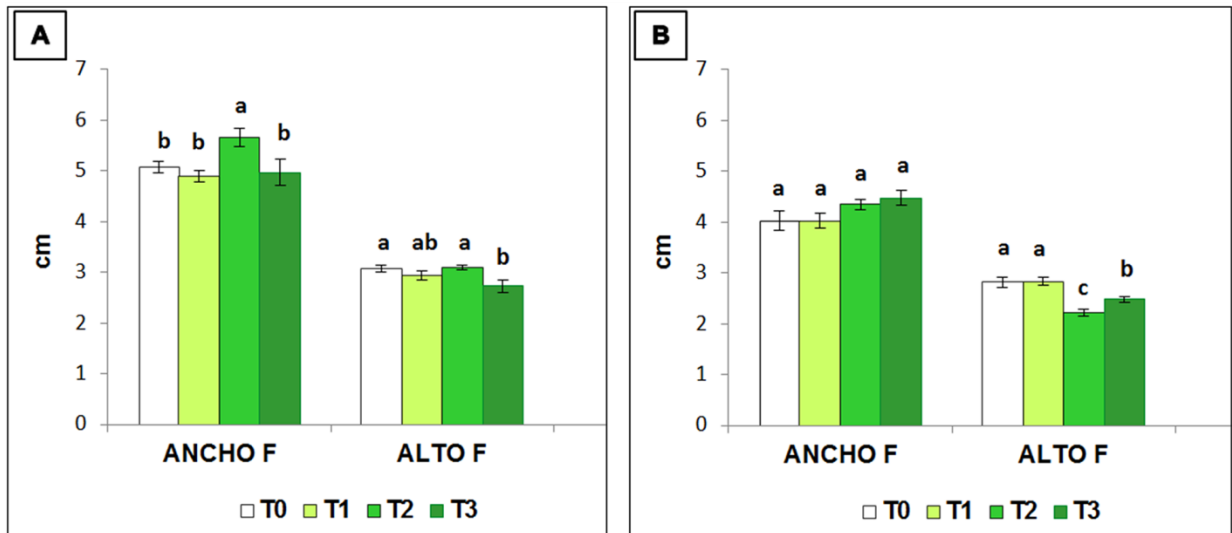


Figura 75: ancho y alto del fondo (F) (g) en capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

2.3. Color de brácteas

El color de los diferentes estratos de brácteas, en general no tuvo notoria influencia de los tratamientos. En los dos órdenes de cosecha, solamente se observaron diferencias entre tratamientos en las BI. En los capítulos primarios todas las mediciones están cercanas al valor de los verdes amarillentos más claros, diferenciándose T₃ con el mayor valor absoluto (-2,9) respecto a los demás tratamientos (-2,4 en promedio) ($p < 0,01$), como puede visualizarse en la Figura 76 A. En los capítulos secundarios con T₀ - T₁ se presenta un IC amarillo verdoso (-1,9 en promedio) mientras que con T₂ - T₃ (-2,5 en promedio) es verde amarillento ($p < 0,01$) (Figura 76 B).

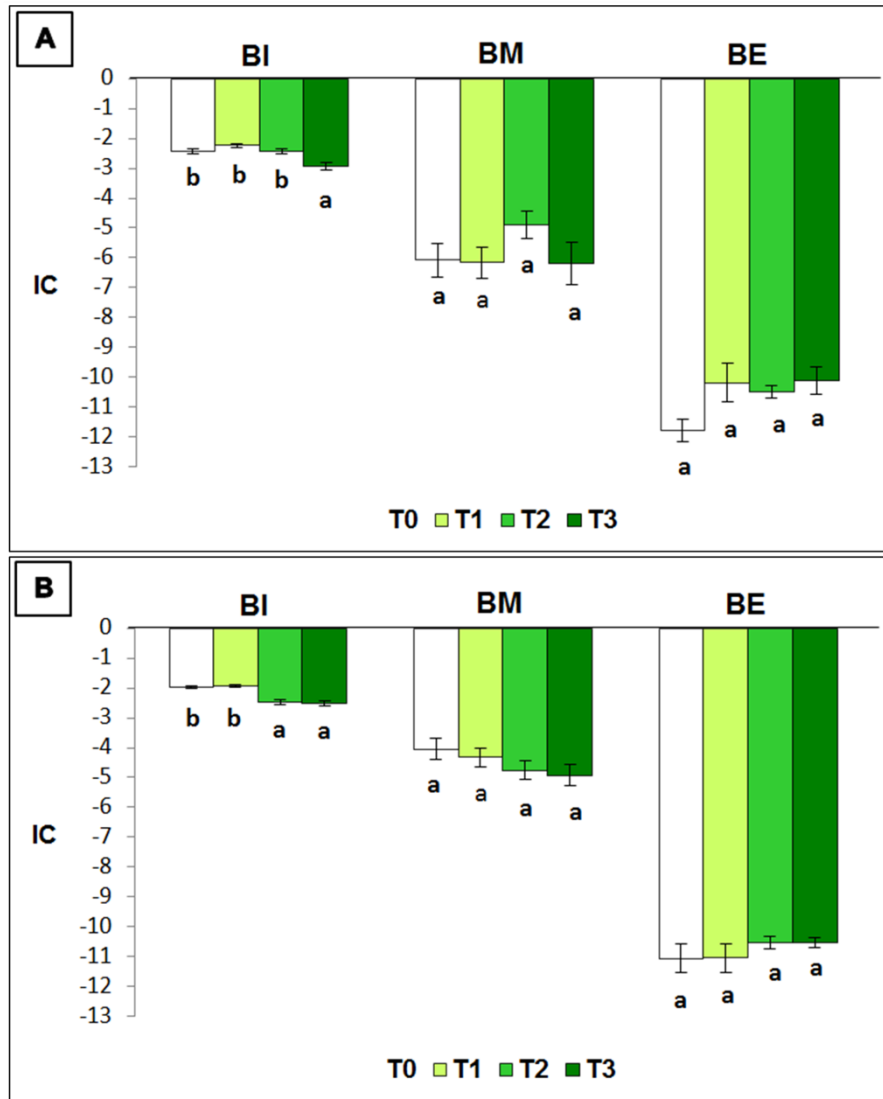


Figura 76: Índice de color (IC) en brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

Para visualizar mejor el color que presentaron los distintos estratos de brácteas, se presentan en la Figura 77 brácteas de capítulos primarios con el tratamiento control (A) y con tres aplicaciones de AG₃ (B).

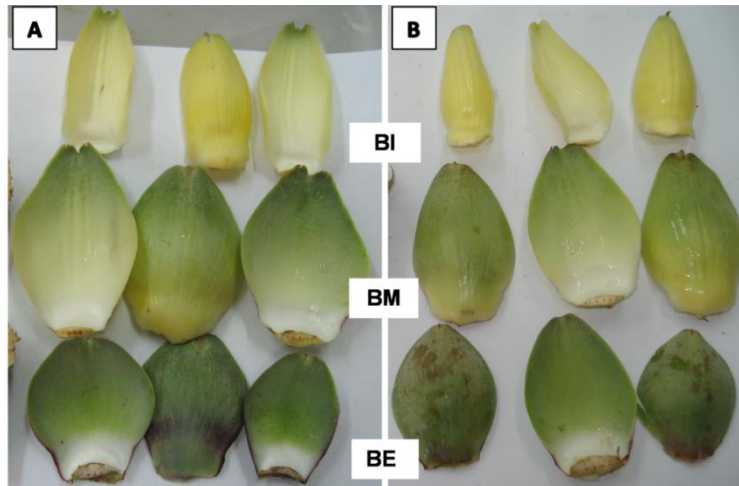


Figura 77: estrato de brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de un capítulo primario de Madrigal, cosechado de una planta sin ninguna aplicación de AG_3 (T_0), (A) y de una planta con tres aplicaciones de AG_3 (T_3), (B).

3. Variables productivas

3.1. Rendimiento en peso fresco del cultivo

El rendimiento del genotipo Madrigal fue superior con T_3 ($p < 0,01$), alcanzando una producción de $1,7 \text{ kg m}^{-2}$, respecto a T_0 y T_1 ($1,4 \text{ kg m}^{-2}$ en promedio) (Figura 78).

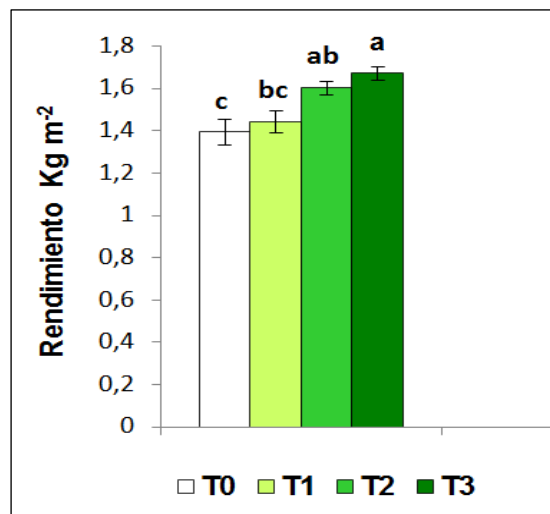


Figura 78: rendimiento en peso fresco del cultivo (kg m^{-2}) en el genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T_0 - Ninguna aplicación; T_1 - Una aplicación; T_2 - Dos aplicaciones; T_3 - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.2. Peso fresco del capítulo

El peso del capítulo primario fue superior con T₂ y T₃ ($p < 0,01$), llegando a pesar 273 g en promedio, respecto al encontrado frente a los demás tratamientos que pesaron en promedio 249 g (Figura 79 A). Los capítulos secundarios presentaron valores menores y la influencia de los tratamientos en esta variable de peso medio fue igual a la observada en los de primer orden de cosecha. Los mayores valores se hallaron con T₂ y T₃ ($p < 0,01$) con 181 g en promedio para ambos tratamientos, mientras que con T₀ y T₁ resultó en 135 g (Figura 79 B).

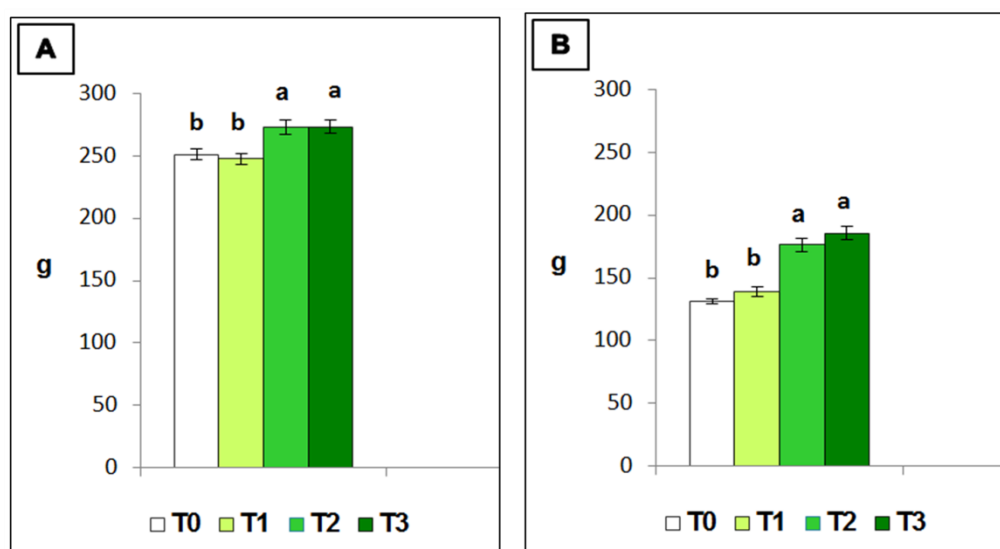


Figura 79: peso fresco (g) del capítulo **primario** (A) y **secundario** (B) en el genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀- Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.3. Peso fresco de brácteas

Respecto al peso de los diferentes estratos de brácteas y su participación en el peso total del capítulo, se pudo observar que las BM lo hacen en mayor medida, en ambos rangos de cosecha. En capítulos primarios, la influencia de los tratamientos fue notoria en BI y BE ($p < 0,05$); en las primeras, con T₀, T₁ y T₃ se obtuvo mayor valor respecto a T₂ (17,7 g). En cambio en las BE se observó prácticamente lo contrario ya que T₂ presentó el mayor peso

(32,5 g) comparado con T₀ y T₁ (24,9 g en promedio) (Figura 80 A). En los capítulos secundarios el efecto de los tratamientos se observó en BI y BM ($p < 0,01$), en las cuales T₂ y T₃ tuvieron el mayor peso de brácteas respecto a T₀ y T₁ (Figura 80 B).

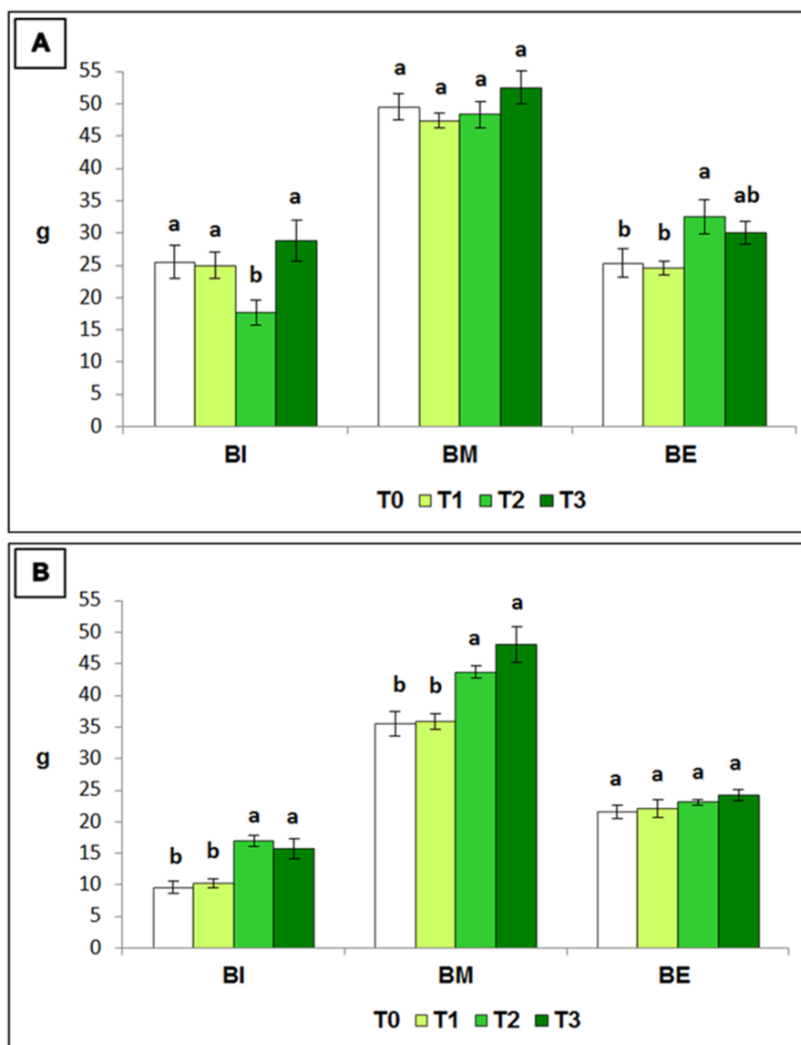


Figura 80: peso fresco (g) de 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE), de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.4. Peso seco del fondo y brácteas

El peso seco de algunas partes del capítulo, fueron diferentes según el tratamiento aplicado. En el caso de los capítulos primarios, esto se evidenció en las BI ($p < 0,01$), en las cuales se presentaron los mayores porcentajes con $T_0 - T_1$ (14,3% en promedio), comparado con $T_2 - T_3$ (10,4%) (Figura 81 A). En los capítulos secundarios, con valores y comportamiento muy similares a lo mencionado anteriormente, se observaron en BI diferencias altamente significativas entre $T_0 - T_1$ y los otros tratamientos (Figura 81 B).

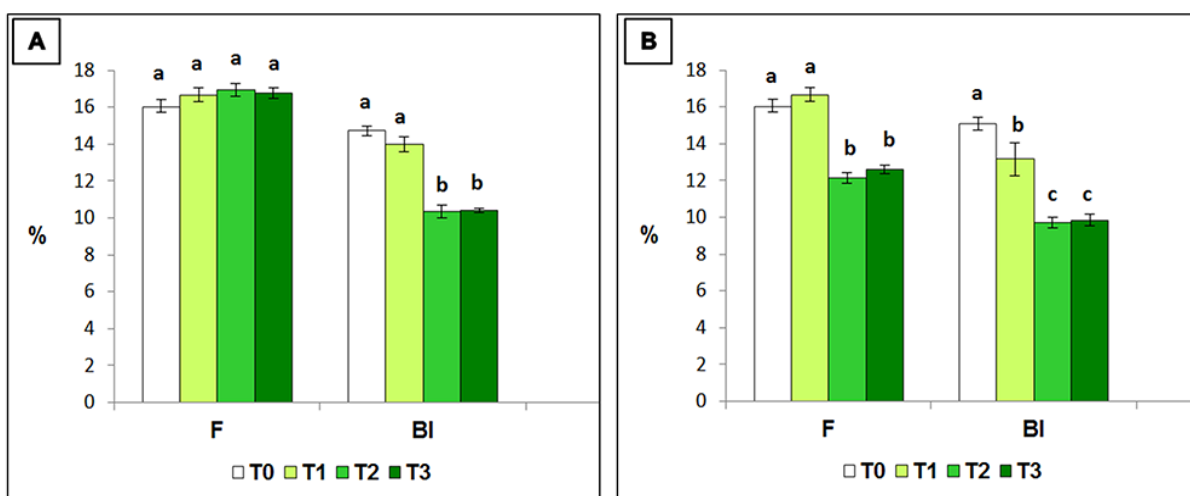


Figura 81: peso seco (%) del fondo (F) y 10 brácteas internas (BI) de capítulos **primarios** (A) y **secundarios** (B) del genotipo **Madrigal**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀- Ninguna aplicación; T₁- Una aplicación; T₂- Dos aplicaciones; T₃- Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

3.5. Número de capítulos por planta

El número de capítulos por planta, junto al peso medio de los mismos, son factores importantes que influyen en el rendimiento. En la Figura 82 se puede ver que los tratamientos con mayor número de aplicaciones de AG₃, presentan mayor cantidad de capítulos por planta (11,8 y 11,6) respecto a T₁ (10,5) y T₀ (9,7).

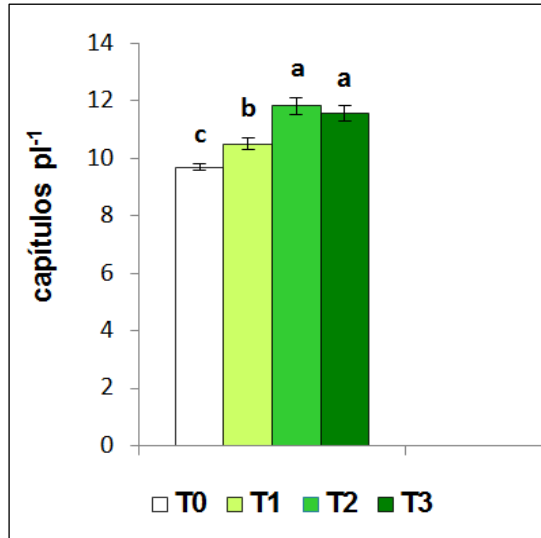


Figura 82: número total de capítulos producidos por planta del genotipo Madrigal, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T₀- Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Kruskal Wallis.

3.6. Precocidad

Respecto al tiempo transcurrido entre la primera aplicación de AG_3 y la cosecha del primer capítulo, T₃ presentó el menor valor, es decir fueron las plantas más precoces (126 días), luego le sigue T₂ con 135 días y por último T₁ y T₀ que no se diferencian entre sí y presentan el mayor número de días para entrar en producción (173 y 177 días respectivamente) (Figura 83).

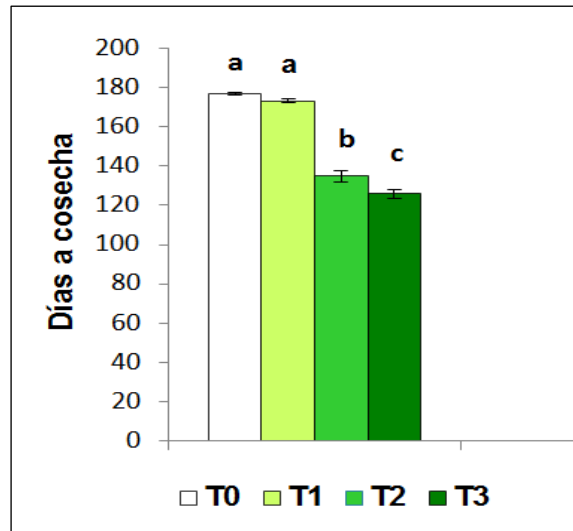


Figura 83: precocidad, días desde la primera aplicación de AG₃ a la cosecha del capítulo primario del genotipo Madrigal, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y variable medida, indican diferencias estadísticas entre tratamientos al 5%, según prueba de Duncan.

DISCUSIÓN

Los cambios observados en el crecimiento de las plantas tratadas con varias aplicaciones de AG₃ y su impacto en todo su ciclo, fueron observados en los resultados obtenidos. La serie de señales que desencadena la aplicación de esta hormona vegetal y las respuestas de las plantas, se evidencia en el incremento de la longitud en las células y el número de las mismas, lo cual es directamente proporcional al número de aplicaciones. Cabe mencionar así mismo, que la mayor acumulación de AG₃ ocurre en los tejidos jóvenes y es allí donde se produce la mayor biosíntesis de esta hormona (Bari y Jones 2009), lo que podría explicar también un crecimiento más acelerado en las plantas tratadas.

Los diferentes tratamientos de AG₃ a las plantas del híbrido de alcaucil Madrigal tuvieron mayor o menor influencia sobre las variables evaluadas. Esto permitirá ajustar el manejo respecto a la aplicación de AG₃, optimizando los objetivos productivos en función de las propiedades químicas y características morfológicas que hacen a la calidad de esta

hortaliza. En cuanto al contenido de AC en capítulos primarios, se observó en F un 87% de incremento con T₂, llegando a un valor de 2229 mg kg⁻¹ de peso fresco, respecto al promedio de T₀ y T₁. En las BI el aumento con T₂ (2755 mg kg⁻¹ de peso fresco) fue del 91% respecto al promedio de los tratamientos con una y ninguna aplicación de AG₃ (1439 mg kg⁻¹ de peso fresco). En cambio, en las H no se observaron diferencias estadísticas.

Respecto al contenido de DCQ, hubo diferencias entre el número de aplicaciones de AG₃ solamente en el F ($p < 0,05$), presentando con T₂ el mayor valor (1257 mg kg⁻¹ de peso fresco), que representa un incremento del 85% respecto al promedio de los demás tratamientos. En los capítulos secundarios no se hallaron diferencias entre tratamientos. En el extenso campo de investigación y el conocimiento del cultivo de alcaucil, no está dilucidado aún la respuesta de las plantas a las aplicaciones exógenas de AG₃, en relación al contenido intrínseco en los tejidos vegetales en cada etapa fenológica del cultivo.

Por otro lado, la síntesis de ácidos fenólicos en general se desarrolla por la vía más importante que es la ruta del ácido shikímico y por lo que sabemos es independiente de la ruta del ácido giberélico. El metabolismo del ácido giberélico en plantas tiene lugar a partir de una serie de reacciones en cadena, reguladas por diversas enzimas y algunas de ellas están codificadas por pequeñas familias multigénicas (Sponsel y Hedden, 2004), muy estudiado en algunas especies como el tomate. En la biosíntesis del ácido giberélico, la mayoría de los genes que codifican las enzimas involucradas han sido aislados y caracterizados (Bomke y Tudzynski, 2009). Sin embargo, algunos componentes de señalización adicionales, eventos celulares y bioquímicos posteriores necesitan ser aún investigados para comprender mejor la naturaleza molecular de la respuesta. El aspecto que sí se conoce es que la síntesis de fenoles se incrementa en los vegetales ante situaciones de estrés, como una forma de defensa que tienen las plantas (Rodrigues et al., 2011). En el caso de aplicaciones de AG₃ se produce una cascata de reacciones, crecimiento acelerado, multiplicación y alargamiento celular, entre otras, las cuales pueden producir un estrés en la planta. Sumado a estos procesos, muchas veces las plantas soportan períodos de muy bajas temperaturas, pudiendo estimular también la producción de metabolitos secundarios de protección. En las condiciones experimentales de esta tesis, dos aplicaciones de AG₃ (T₂) impactan en el contenido de AC en las partes comestibles y de DCQ solo en el F de capítulos primarios. Con la dosis mayor de tres aplicaciones (T₃) no se observa un aumento en el contenido de principios activos como ocurre con T₂.

Por otro lado, otra variable que hace a la calidad integral del alcaucil como alimento es el pardeamiento de los tejidos durante el procesamiento de los capítulos. El alcaucil, como lo afirma Lattancio et al. (1994), es muy susceptible al pardeamiento enzimático debido, principalmente, a su alto contenido de compuestos fenólicos y a la elevada actividad enzimática presente en sus tejidos. Durante el procesado de esta hortaliza se alcanza la mayor oxidación enzimática, produciéndose el oscurecimiento indeseable de la superficie. Como ya se ha mencionado respecto a la comercialización, una gran proporción de los capítulos de alcaucil se destinan a consumo en fresco o se procesan industrialmente como productos congelados o en conserva. Sin embargo, como lo expresa Zapata et al. (2019), en la actualidad las necesidades de los consumidores van encaminadas a productos frescos con valor agregado en términos de calidad, conveniencia, valor nutricional y facilidad de preparación, y en este sentido han aumentado la producción industrial de productos frescos recién cortados o cuarta gama. En este sentido, numerosas empresas productoras y comercializadoras, auguran un gran cambio en el futuro del consumo de alcaucil, motivado por una mayor facilidad en el consumo. Y es que, estamos ante una singular hortaliza, en la que su preparación culinaria lleva consigo la generación de un residuo que contrasta con el actual modo de vida. La sociedad, especialmente en los países más desarrollados, consume cada vez más comida procesada o lista para comer, la oferta aumenta de forma paralela al crecimiento del consumo de este tipo de producto, y sin duda el futuro del alcaucil pasa por hacerla disponible a los consumidores en diferentes formatos, entre los que podría destacar la cuarta gama (Zapata et al., 2019).

En estos productos frescos de alcaucil donde es muy importante utilizar genotipos y manejos del cultivo que impidan el oscurecimiento durante el procesado y comercialización. En las mediciones de pardeamiento del F realizadas en la parte experimental de esta tesis, se observó que con T_0 y T_2 son mayores los valores que los encontrados con T_3 en capítulos primarios. En los capítulos secundarios se observó mayor pardeamiento en el control respecto a T_3 , presentando valores intermedios los otros tratamientos. En referencia a esta característica, diversos autores han demostrado que existe una proporcionalidad directa entre el contenido polifenólico y la susceptibilidad de pardeamiento en el alcaucil (Cabezas Serrano et al., 2009; Todaro et al., 2010). Estos autores también citan que el tipo de fenoles presentes en el vegetal influye sobre la reacción de oxidación, siendo el ácido clorogénico el mejor sustrato para la enzima polifenoloxidasasa (PPO) del alcaucil.

En los resultados obtenidos en Madrigal hay una correspondencia entre T_2 , el mayor contenido de AC y DCQ en el F y pardeamiento significativo, siempre en capítulos primarios; sin embargo, con el tratamiento control hubo mayor pardeamiento con un menor contenido de principios activos. Y en capítulos secundarios el contenido de AC fue similar en el F en todos los tratamientos y sin embargo el pardeamiento del mismo fue 100% mayor con T_0 respecto a T_3 . Debido a esto, no se puede establecer claramente una correlación positiva entre el contenido de los compuestos químicos medidos en el F y el pardeamiento del mismo. El pardeamiento enzimático depende de la variedad de alcaucil, al igual que ocurre con el contenido fenólico y la actividad enzimática. Si bien en esta etapa de los experimentos se evaluó solamente el genotipo Madrigal, los diferentes tratamientos de AG_3 permiten cosechar los capítulos de diferente orden cuando las condiciones climáticas son diferentes, es decir el control es más tardío y los capítulos se desarrollan con temperaturas más elevadas. Varios autores han demostrado que las variedades recolectadas durante los meses fríos suelen presentar menor susceptibilidad al pardeamiento que las cosechadas en los meses más cálidos (Di Venere et al., 2005; Massignan et al., 2005; Ricci et al., 2013). Estos resultados, junto a los del Capítulo I, deberían seguir estudiándose para continuar la búsqueda de genotipos y tratamientos que propicien un menor pardeamiento de los tejidos al ser cortados.

Otro aspecto importante a considerar relacionado a la calidad y a las características organolépticas de un alimento al momento de su consumo, es la fibrosidad. Esta característica interviene en gran medida en la textura y palatabilidad. En el capítulo I de esta tesis observamos que los genotipos presentaban diferente contenido de fibra en las partes comestibles y que los manejos de cultivo influyeron en menor medida en el F y las BI. Con la aplicación de AG_3 , el porcentaje de fibra disminuyó en el F del genotipo GA (Gauchito), en las BI de GU (Gurí) y en ambas partes en OV (Oro verde). Analizando ahora el efecto del número de aplicaciones de AG_3 sobre un mismo genotipo, en este caso en el híbrido Madrigal, se observó que con T_1 disminuye la fibra 6%, con T_2 el 29% y con T_3 el 48%, respecto al control que tenía 6% de fibra insoluble total en BI de capítulos primarios. En los secundarios sí hubo efecto de los tratamientos en el F, disminuyendo 34% el contenido de fibra con T_2 y T_3 , respecto a los demás tratamientos (5% en promedio). En las BI se observó 46% menos de fibra con T_2 y 39% menos con T_3 . El alcaucil es un alimento considerado como fuente de fibra dietaria, pero como se mencionó en el capítulo I, un exceso de la misma puede disminuir la palatabilidad de la mayor porción comestible compuesta por el receptáculo carnoso y las brácteas internas.

Otra consecuencia de la acción del AG₃, acelerando el ciclo de la planta en su transformación a la fase reproductiva, puede ser el alargamiento del capítulo, cambiando su forma. Los procesos celulares involucrados en el alargamiento de la planta resultan de una combinación de división celular y alargamiento celular y estos dos eventos son estimulados por giberelinas, según Taiz y Zeiger (2010). En capítulos primarios de Madrigal los tratamientos con mayor número de aplicaciones de AG₃ aumentaron levemente la relación entre la altura y el diámetro, respecto a T₁ y T₀; pero este cambio es muy difícil de percibir ya que de 1,1 en los primeros, pasa a 1,14 en los segundos. Este pequeño cambio puede estar dado por el aumento en la relación entre el alto y ancho de las BM y BE, pero no se considera un cambio apreciable en la forma del capítulo. En los secundarios no se observaron diferencias entre tratamientos. Además de la forma del capítulo, otro parámetro importante es el tamaño del receptáculo carnoso y en este experimento se puede destacar que con la aplicación de T₂ en capítulos primarios de Madrigal se logró mayor ancho del F (5,6 cm) comparado con los demás tratamientos. En el caso del alto del F, con T₀ y T₂ también se presentó un mayor valor (3,1 cm en promedio) respecto a T₃ (2,7 cm). Estas variables de tamaño estuvieron relacionadas con las variables productivas determinantes del rendimiento, siendo importante destacar que con algunos de los tratamientos con AG₃ se observaron incrementos de valor en estas variables, mientras que, en otros países como España, en cosechas de otoño e invierno utilizando el híbrido de Madrigal, observaron disminución en el tamaño de capítulos y por lo tanto del receptáculo (Baixauli Soria, 2017b). En los capítulos secundarios, no se observaron diferencias entre los tratamientos en el ancho del F, pero sí en el alto del F, siendo mayores con T₀ y T₁ (2,8 cm en promedio), respecto a los demás tratamientos (2,3 cm en promedio).

Relacionado a las variables morfológicas, al efecto del AG₃ en el crecimiento de los tejidos y su consecuencia en la calidad visual del alcaucil en los distintos estratos de brácteas, se observó que no hubo diferencias en el IC de las BM y BE, siendo un resultado positivo al no variar el color del capítulo en su conjunto. En las BI los valores absolutos de IC fueron muy similares pero se observó una diferencia estadística entre T₃ (verde amarillento) y el resto de los tratamientos (amarillo verdoso), en los primarios y entre T₂ - T₃ respecto a los demás, en los secundarios.

Analizando los resultados de las variables productivas, se puede observar que, en general, el manejo del cultivo impacta en mayor medida en las variables productivas. Este

mismo comportamiento se había observado en el capítulo I con la aplicación de otros tratamientos o manejos sobre los cultivares FCA. En este caso, donde se aplicaron distintas dosis de AG₃ con el objetivo principal de producir primicias y tener oferta en el mercado la mayor parte del año, se lograron además ventajas en otros aspectos como calidad y productividad. En las condiciones de los presentes experimentos el rendimiento de Madrigal fue superior con T₃ (1,7 kg m⁻²), respecto a T₀ y T₁ (1,4 kg m⁻²), es decir un incremento del 22%. Así mismo las demás variables que afectan directamente al rendimiento también respondieron positivamente a las aplicaciones de AG₃, como ocurrió con el aumento del peso medio de los capítulos primarios con T₂ y T₃ (273 g en promedio), respecto a los demás tratamientos (249 g), es decir un incremento del 10%. En los secundarios el incremento fue del 34%. En general, la utilización de reguladores de crecimiento vegetal en la agricultura, ha sido un medio para promover aumentos cuantitativos y cualitativos de la producción, ya que cuando estas sustancias se aplican directamente a las plantas, promueven cambios en los procesos vitales y estructurales, aumentando el contenido de sacarosa, además de los rendimientos de los cultivos (Caputo et al. 2007).

Otro componente del rendimiento, junto al peso medio, es el número de capítulos por planta, que en el caso de Madrigal, observamos que los tratamientos con mayor número de aplicaciones de AG₃ a las plantas (T₂ - T₃), permitieron producir mayor cantidad de capítulos por planta (11,7 en promedio) respecto a T₁ (10,5) y T₀ (9,7). En el primer caso se produjo un aumento del 11% y respecto al testigo un incremento del 21% en la cantidad de capítulos cosechados. El impacto en la fisiología del crecimiento y consecuentemente en el rendimiento por la aplicación de AG₃, se ha estudiado en diferentes cultivos. Por ejemplo, en frutilla, su aplicación aumentó el crecimiento vegetativo, aunque el tamaño, peso y rendimiento de fruta se redujeron (Qureshi et al., 2013), mientras que en la piña aumentó el peso de la fruta (Li et al., 2011).

Finalmente, resulta muy importante destacar el efecto de la aplicación de AG₃ sobre la precocidad del cultivo de alcaucil, en los experimentos realizados sobre el híbrido Madrigal. El tiempo transcurrido entre la primera aplicación de AG₃ y la cosecha del primer capítulo, fue menor con T₃ (126 días), significando una diferencia de 51 días respecto a T₀, es decir las plantas fueron las más precoces; luego le siguió T₂ con 135 días, con un adelanto en la producción de 42 días y por último T₁ y T₀ que tardaron 173 y 177 días respectivamente para comenzar la cosecha, no habiendo diferencias estadísticas entre

ellos. Estos resultados son de fundamental importancia por las implicancias económicas de lograr adelantar la entrada en producción.

Realizando una evaluación general de la respuesta del híbrido Madrigal a los tratamientos aplicados de AG₃, en las condiciones experimentales detalladas en esta tesis, se puede decir que los tratamientos T₂ y T₃, son los que más impactaron en la mayoría de las variables medidas, especialmente en su composición química. Con dos aplicaciones de AG₃, se incrementó un 87% el contenido de AC en el F y 91% en BI de capítulos primarios, respecto a una y ninguna aplicación. A su vez se incrementó un 85% el contenido de ácidos DCQ en el F, respecto al promedio de los demás tratamientos. Con T₃ además se observó un menor pardeamiento del F luego del corte del capítulo y una importante disminución del contenido de fibra en BI y F, en ambos ordenes de cosecha.

Más aún, si se analizan las variables productivas en particular que son las que en definitiva determinan las decisiones en el manejo agronómico de un cultivo, se observa que entre dos y tres aplicaciones de AG₃ no hay diferencias estadísticas, es decir que se podrían practicar dos aplicaciones de 30 mL de solución acuosa de AG₃ (de concentración 50 ppm) y la rentabilidad sería la misma al igual que la calidad. De esta manera podrían optimizarse los costos de producción. De todas maneras, hay que tener en cuenta que la acción de las hormonas vegetales depende de la etapa de desarrollo y de la actividad de la planta, de estímulos externos, de la parte de la planta que está recibiendo el estímulo y el tiempo de este impacto (Larcher, 2006), siendo necesario realizar otros experimentos. Por todo lo expuesto, sería necesario estudiar estos mismos tratamientos de AG₃ en una mayor diversidad de genotipos para poder extrapolar con mayor evidencia científica ésta práctica de manejo.

CONCLUSIONES

- . Los tratamientos con diferente número de aplicaciones de AG₃ en plantas del híbrido Madrigal, tuvieron efecto en la mayoría de las variables evaluadas, especialmente las químicas y productivas.
- . Con dos aplicaciones de AG₃, se incrementó el contenido de principios activos en el fondo y brácteas internas.
- . Los tratamientos de AG₃ no afectaron las variables morfológicas del capítulo y el color de las brácteas.
- . Con dos y tres aplicaciones de AG₃ disminuyó el contenido de fibra en el fondo y brácteas internas y el pardeamiento del fondo. Así mismo aumentaron el rendimiento por unidad de superficie, el peso medio del capítulo, el número de capítulos por planta y la precocidad.

Capítulo III

INFLUENCIA DE DIFERENTES DOSIS DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN VARIABLES QUÍMICAS, MORFOLÓGICAS Y PRODUCTIVAS, EN PLANTAS DE CULTIVARES E HÍBRIDOS DE ALCAUCIL.

INTRODUCCIÓN

En base a los resultados obtenidos en el capítulo anterior y habiendo observado que el número de aplicaciones de AG₃, tiene implicancias en muchas variables evaluadas, se proyectó importante estudiar dicha respuesta en diversos genotipos. Por otro lado, en el caso de los híbridos, sería interesante evaluar las variables consideradas anteriormente, para las distintas formas de multiplicación que se cuentan para comenzar un cultivo. Actualmente en nuestro país, debido al costo elevado de las semillas, los productores frecuentemente inician un lote con hijuelos de las plantas provenientes de semilla o manejan el mismo lote de plantas durante dos o tres años. Este mismo proceso también lo señala Bauxauli Soria (2017b), en la producción de alcaucil en España donde el precio de la semilla y la necesidad de un plantinero, encarece el material vegetal y el costo del cultivo. De la misma manera resultaría importante evaluar el efecto del número de aplicaciones de AG₃ en algunos cultivares creados en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, junto al genotipo cultivado durante muchos años en Argentina (cultivar Francés). Como lo expresan Bekheet y Sota (2019), el estudio y la conservación de los recursos genéticos del alcaucil es un tema importante, ya que las principales amenazas son el bajo número de variedades cultivadas, siendo un índice de erosión genética en comparación con la gran diversidad original.

En el capítulo II de esta tesis, se concluyó que sería suficiente realizar dos aplicaciones de AG₃ al cultivo de Madrigal. Sin embargo, se seguirán probando los mismos tratamientos aplicados previamente a fin de evaluar la respuesta en otros genotipos y condiciones.

En el presente capítulo, se ampliará el estudio de compuestos químicos en algunas partes de la planta, en colaboración con un grupo de investigación de Valencia, España. Por otro lado, además de extractos metanólicos se prepararon extractos etanólicos a partir de material fresco y seco, a fin de evaluar si la metodología extractiva impacta en el contenido de los ácidos cafeoilquínicos estudiados en este trabajo de tesis. Respecto a las partes de la planta evaluadas, algunas variables se midieron sobre las partes comestibles más importantes y se consideró interesante estudiar otras partes de la planta.

El alcaucil ha sido utilizado en la medicina tradicional por sus reconocidos efectos terapéuticos tales como hepatoprotector, anticancerígeno, antioxidante, antibacterial,

diurético, anticolesterol, hipoglicemiante (Coinu et al., 2007; Rondanelli et al., 2011; Fantini et al., 2011; Garbetta et al., 2014; D'Antuono et al., 2015), promotor de las funciones de las células endoteliales y linfáticas (D'Antuono et al., 2018). A su vez se ha demostrado su efecto de mejorar la función de la vesícula biliar, regenerar las células del hígado (Sidrach et al., 2005), propiedades antivirales, antibacterianas y antifúngicas (Llorach et al. 2002; Zhu et al., 2005). Todos efectos vinculados principalmente al elevado contenido de compuestos polifenólicos, que incluyen no solamente a los ácidos cafeoilquínicos sino también a los flavonoides. En particular, el ácido clorogénico (ácido 3-O-cafeoilquínico) es el componente más abundante dentro de los derivados cafeicos y representa el 39% aproximadamente del contenido total de ácidos cafeoilquínicos (Lattanzio et al. 2009). Otros derivados importantes del mismo, que se encuentran en la parte comestible y hojas, son los isómeros ácido 1,5-O-dicafeoilquínico (21% del total de ácidos cafeoilquínicos); ácido 3,4-O-dicaffeoilquinico (11%) y cinarina o ácido 1,3-O-dicafeoilquínico (1,5%). Los flavonoides apigenina y luteonina con sus glucósidos también han sido ampliamente descritos en alcaucil (Fратиanni et al., 2007; Lattanzio et al., 2009; Lombardo et al., 2010; Pandino et al., 2010, 2011b, 2012, 2013; Negro et al., 2012; D'Antuono et al., 2015). Todos estos compuestos poseen propiedades antioxidantes y protegen a las lipoproteínas de baja densidad de daños oxidativos (Lattanzio et al., 2009). Es importante mencionar que el contenido fenólico en el alcaucil está muy relacionado con las etapas fisiológicas, el genotipo, las partes de la planta, las condiciones ambientales, el manejo agrícola y las condiciones posteriores a la cosecha (Lombardo et al. 2010, Negro et al. 2011, Pandino et al. 2011a, 2011b, 2011c, 2012).

Por otro lado, de las múltiples aplicaciones de la planta de alcaucil y los subproductos que se pueden obtener de la biomasa restante del cultivo, la fibra es muy interesante como potencial refuerzo en compuestos poliméricos (Fiore et al., 2011). En Argentina, la producción del cultivo de alcaucil está dirigida al consumo humano y la mayor parte de su biomasa (80-85% del total) es desechada como residuo. Esta masa total que a nivel país puede alcanzar aproximadamente las 400.000 tn, podría utilizarse para la obtención de fibras y productos químicos de alto valor agregado. La industria alimenticia, con estos desechos en estado fresco o seco, podría elaborar alimento balanceado para animales y algunas fracciones de las fibras solubles e insolubles podrían ser incorporadas en diversas modalidades de alimentos (Rodríguez López, 2009). Los alimentos preparados no suelen disponer de cantidades suficientes de fibra ya que suelen estar refinados al convertirse en harinas, eliminando buena parte de las fibras naturales que disponían originalmente. La FAO estima que el consumo diario de fibra debe rondar los 30 g, no

obstante, esta cantidad no suele consumirse diariamente (se estima que el promedio de fibra consumida en la dieta en Europa es de 22 g por día), por lo que se hace necesario enriquecer con fibras los alimentos procesados. Adicionalmente, como señalan Ciancolini et al. (2013), la selección del material genético podría representar una base importante para el desarrollo de nuevas variedades orientadas específicamente a la producción tanto de capítulos como de biomasa, hasta ahora nunca considerado. Se deberían realizar esfuerzos para incrementar el interés de las industrias frente a estos genotipos capaces de optimizar la producción de compuestos fenólicos y fibra.

Por todo lo expresado anteriormente, se profundizará el estudio realizado en el capítulo II ampliando otros aspectos que permitan responder a los siguientes objetivos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la influencia del genotipo y diferentes dosis de ácido giberélico, en variables químicas, estructurales, morfológicas y productivas de diferentes partes de la planta, en tres cultivares y dos híbridos de alcaucil; éstos últimos multiplicados por semilla e hijuelos.

Evaluar la influencia del año de cultivo, formas de multiplicación y tratamientos, en el híbrido Madrigal F₁.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de trabajo

Los experimentos a campo se realizaron en la Sección de Horticultura de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario, Campo Experimental J. Villarino Zavalla, Santa Fe, Argentina (33°01'S; 60°53'O), durante el año 2016.

2. Características del suelo, agua de riego y condiciones climáticas

El cultivo se realizó en un suelo Argiudol Vértico, serie Roldán. Las características principales del suelo en la capa superficial de 0-20 cm y 20-40 cm fueron determinadas en el servicio de Análisis de Suelos de la cátedra de Edafología, Facultad de Ciencias Agrarias, UNR y las mismas que figuran en la Tabla 10.

Tabla 10: Características edáficas medidas a 0-20 cm y 20-40 cm en el lote de cultivo y su valoración agronómica.

Propiedad edáfica	Método empleado	0-20 cm		20-40 cm	
		Resultado obtenido	Valoración Agronómica	Resultado obtenido	Valoración Agronómica
% Carbono	Walkley-Black	1,37	medio	0,95	escaso
% Materia Orgánica	Walkley-Black	2,37	medio	1,65	escaso
ppm Nitratos	Harper	58,85	medio	77,55	medio
Ppm Fósforo asimilable	Bray-Kurtz ¹	78	muy alto	40	muy alto
pH en agua (1:2,5)	Electrométrico	7,86	subalcalino	7,09	neutro
pH potencial (1:2,5 KCl)	Electrométrico	n/d	-	n/d	-
Conductividad eléctrica (1:2,5) (mmhos/cm)		0,19	no salino	0,14	no salino
CIC (me/100g)	Acetato de amonio	23		20	
Calcio (me/100g)		10,8		11,04	
Magnesio (me/100g)		3,39		7,14	
Sodio (me/100g)		0,9		0,2	
Potasio (me/100g)		1,97		1,69	
% de saturación de Calcio		51		59	
% de saturación de Magnesio		4		8	
% de saturación de Sodio		4		1	
% de saturación de Potasio		11		9	
% Humedad	Gravimétrico	11,1		10,3	

(¹) Walkley & Black (1934); (²)SAMPLA (2004) SAGPyA, Dirección de Agricultura; (³)Norma IRAM-SAGPyA 29570-1 (2010); (⁴)Norma IRAM-SAGPyA 29574 (2009); (⁵)Norma IRAM 21322:2006.

Para el riego complementario se utilizó agua de pozo, cuyo análisis físico, químico y bacteriológico fue realizado en el Centro de Ingeniería Sanitaria, Facultad de Ciencias

Exactas, Ingeniería y Agrimensura de la Universidad Nacional de Rosario (Tablas 2 y 3, presentadas en la sección 2 de Materiales y métodos del Capítulo I). Las condiciones meteorológicas durante el ciclo del cultivo se pueden observar en la Figura 84.

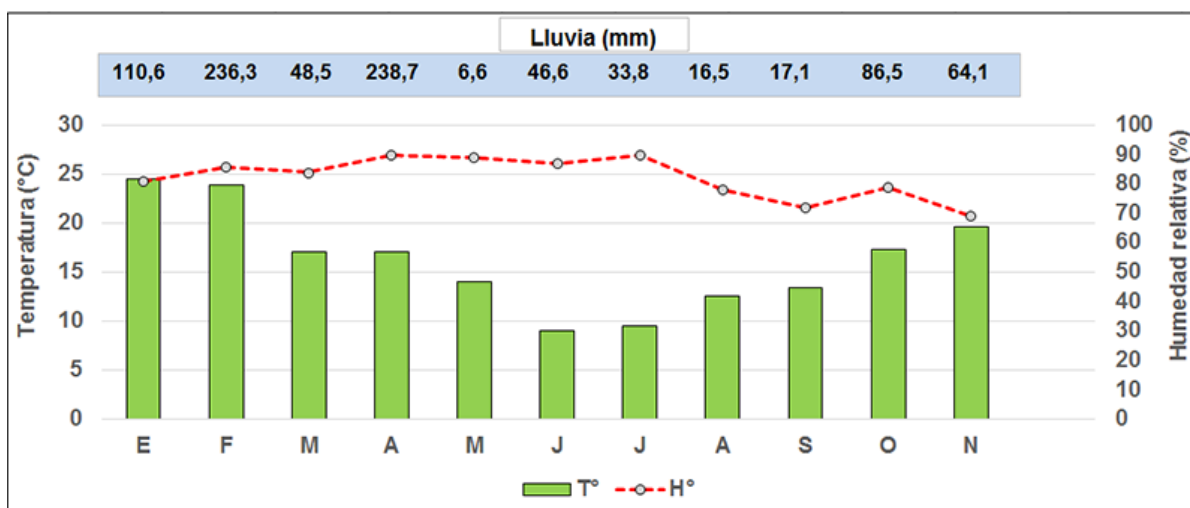


Figura 84: condiciones climáticas durante el año 2016; temperatura (°C) y humedad relativa (%) del aire en valores promedio para cada mes y lluvia mensual acumulada (mm). Fuente: Estación Agrometeorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de Zavalla-UNR/Cátedra de Climatología Agrícola.

Durante los meses de menor temperatura media mensual, se registraron algunos días de heladas (temperaturas por debajo de 0°C); en el mes de mayo este fenómeno meteorológico se presentó un día, en junio ocurrieron cinco, en julio fueron dos; agosto y septiembre, uno en cada mes.

3. Material vegetal e implantación del cultivo

En esta tercera etapa se evaluaron diversos genotipos, entre los cuales se encuentra un cultivar tradicional, utilizado en la zona por muchos años, dos cultivares FCA y dos híbridos comerciales.

El genotipo cultivado tradicionalmente en el cinturón hortícola de Rosario, denominado Francés (FRA), tiene una coloración variegada, es decir violeta y verde (Figura 85). Es un material introducido por los inmigrantes italianos, derivado de la región del Lacio,

Italia, en su origen denominado “Romanesco” y también llamado “Francés precoz” o “Ñato Francés” (García et al., 2015).

De los genotipos creados por Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario, se seleccionaron el cultivar Gauchito FCA (GA), Gurí FCA (GU), en base a los resultados de la primera etapa, cuyas características se mencionaron en la sección 3 de Materiales y métodos, del Capítulo I (Figura 85).



Figura 85: capítulos de los genotipos utilizados, Francés cultivado tradicionalmente en el cinturón Hortícola de Rosario; Gauchito y Gurí, inscriptos por la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR.

Estos tres genotipos son de multiplicación vegetativa por hijuelos (Figura 86). En el caso de GA y GU, los hijuelos fueron extraídos de plantas cultivadas en la sección de Horticultura de la Facultad (evaluados en el cultivo 2013, Capítulo I) y los hijuelos de FRA fueron traídos de un lote de producción de un establecimiento de San Pedro, Buenos Aires.



Figura 86: hijuelos extraídos de un lote de producción, preparados para su plantación.

Los dos genotipos comerciales seleccionados para el experimento fueron los híbridos de alcaucil Madrigal F1 (verde) y Opal F1 (variegado) (Figura 87), de la empresa Nunhems (Bayer), los cuales fueron multiplicados tanto por semilla (MAS: Madrigal Semilla y OPS: Opal Semilla respectivamente), como por hijuelos (MAHI: Madrigal Hijuelo y OPHI: Opal Hijuelo respectivamente). En el caso de MAHI, los hijuelos fueron extraídos de las plantas de Madrigal evaluadas en el cultivo 2015, Capítulo II. En cambio, los hijuelos de OPHI fueron traídos de un lote de producción de la zona de Soldini, Santa Fe. En los dos casos los hijuelos provenían de un cultivo de un año.

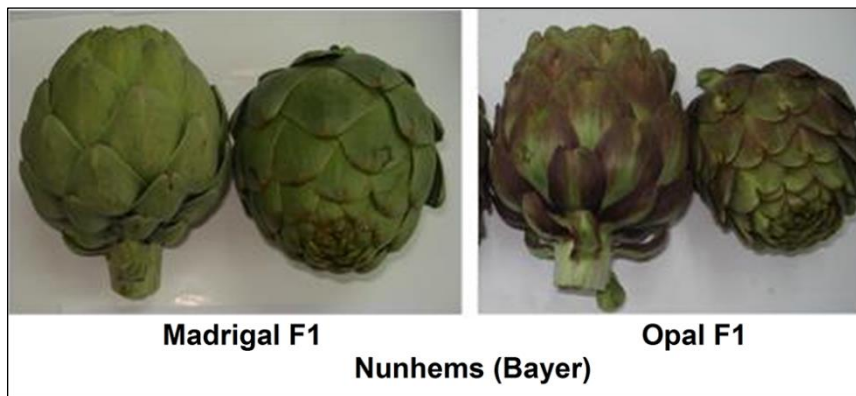


Figura 87: capítulos de los genotipos utilizados, híbridos de Nunhems (Bayer).

Las características del híbrido Madrigal F1 se mostraron en la sección 3 de Materiales y métodos del Capítulo II y las de Opal F1 se pueden ver en la Figura 88, ambas descripciones obtenidas del catálogo correspondiente.



Figura 88: Descripción del híbrido Opal F1. Fuente: catálogo de la empresa Nunhems (Bayer)

Las semillas de los híbridos se sembraron el 07/02/2016 en multimacetas de polietileno negro de 128 celdas (con un volumen de 23 cm³ cada una) con sustrato mezcla y cuidado en el invernadero del plantinero comercial Fhloragro (localidad de Soldini, Santa Fe). Cuando los plantines tenían dos a tres hojas verdaderas y se podían extraer con facilidad, manteniendo armado el pan con cepellón, fueron llevados al lote de la Facultad para su implantación (Figura 89).

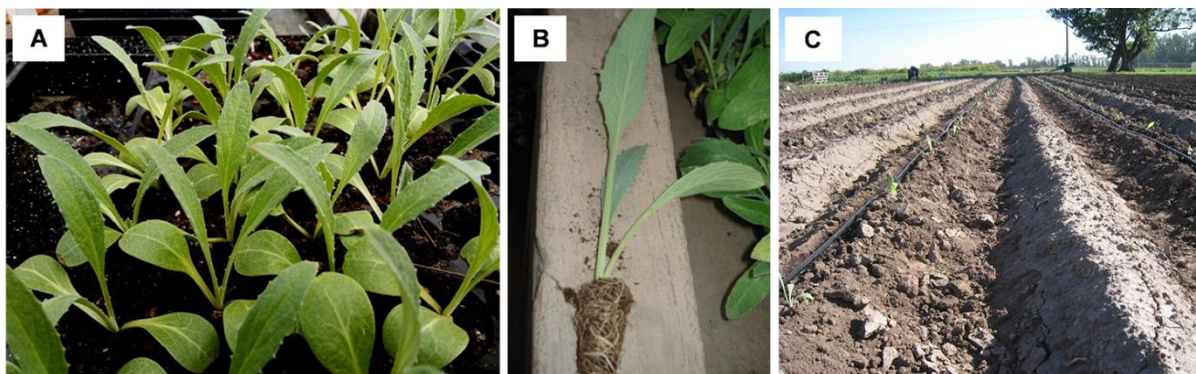


Figura 89: multimaceta con plantines de 49 días (A), plantín con pan de cepellón (B) e implantación en el lote de cultivo (C).

El cultivo fue sistematizado en lomos con una densidad de 0,9 plantas por m² (1,4 m entre hileras y 0,8 m dentro de la hilera), a simple hilera sobre el lomo. El trasplante se realizó del 28 al 31/03/2016 de los genotipos GA, GU, OPS, FRA y debido a las abundantes lluvias de principios de abril tuvo que posponerse la implantación del resto de los materiales. El trasplante de MAHI, MAS y OPHI se realizó del 25 al 28/04/2016. En todos los casos de multiplicación por hijuelo, los mismos fueron trasplantados el mismo día o al día siguiente de haber sido extraídos de la planta madre. A continuación de la plantación se colocaron cintas de polipropileno con laberinto incorporado a una distancia de 33 cm entre cada uno, para una correcta implantación y los sucesivos riegos complementarios por goteo (Figura 90).



Figura 90: trasplante de hijuelos en el lote de la Sección de Horticultura y colocación de las cintas de riego localizado.

Luego del trasplante en ambas formas de multiplicación, se realizaron las reposiciones de aquellas plantas que se murieron, por diversas causas.

4. Tratamientos y labores culturales

Las plantas recibieron los mismos tratamientos de AG_3 utilizados en el cultivo de Madrigal durante el año 2015, presentados en la sección 4 de Materiales y métodos del Capítulo II. Los mismos (número de aplicaciones de AG_3), se aplicaron en fechas diferentes ya que el cultivo 2016 fue implantado en el otoño y además hubo que esperar que las plantas trasplantadas más tardíamente por las copiosas lluvias, alcanzaran el tamaño adecuado para recibir el estímulo del AG_3 . Los tratamientos fueron los siguientes:

T₀) Testigo sin aplicación

T₁) Una aplicación de 30 ml de solución de AG_3 (50 ppm) por planta el 03/08/2016. La solución aplicada fue preparada en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, con ácido giberélico (AG_3) 3,9% (Research Organics Inc.), adquirido en Sigma Aldrich. La aplicación de AG_3 se realizó mediante una mochila manual, asperjando sobre el ápice de la planta y la base de las hojas (Figura 91), siguiendo el "Protocolo de aplicaciones fitosanitarios Campo Experimental Villarino" (Resolución CD N° 233/15).

T₂) Dos aplicaciones de 30 ml de solución de AG₃ (50 ppm) el 03/08 y el 17/08/2016.

T₃) Tres aplicaciones, dos de ellas de 30 ml de solución acuosa de AG₃ (50 ppm) por planta el 03/08 y el 17/08 y la tercera de 30 ml de solución acuosa de AG₃ (60 ppm) por planta el 31/08/2016.

La dosis total aplicada se estableció en base a recomendaciones de la empresa proveedora de las semillas.



Figura 91: aplicación de solución de AG₃ en plantas de alcaucil el día 03/08/2016.

Posiblemente las aplicaciones de AG₃ fueron muy tardías como para lograr mayor precocidad, pero algunas plantas estaban pequeñas como para ser tratadas con AG₃ y sumado a un invierno con gran cantidad de heladas, hubiese sido muy perjudicial para el cultivo o se pudo haber puesto en riesgo la cosecha al anticipar las aplicaciones. De todas maneras, la respuesta a la aplicación de AG₃ se visualizó a los pocos días por un mayor crecimiento vegetativo de las plantas, las hojas erguidas y con un color verde más claro (Figura 92).



Figura 92: plantas del genotipo Opal multiplicado por semilla, correspondientes al tratamiento sin aplicación de AG_3 (T0) (izquierda) y plantas con dos aplicaciones, previo a la tercera aplicación de AG_3 (T3) (derecha).

De acuerdo a los requerimientos del cultivo y la cantidad presente en el suelo a 20 y 40 cm de profundidad, se determinó que el fertilizante necesario para cubrir dicha demanda era solamente el Nitrógeno (N). La diferencia entre los requerimientos y la disponibilidad fueron $173 \text{ Kg de N ha}^{-1}$ (376 Kg de urea), para cuyo cálculo se consideró una densidad aparente de $1,25 \text{ g por cm}^3$. Se aportó a cada planta un total de 45 g de urea ($46\% \text{ de N}$), dividido en tres aplicaciones el 06/06, 04/07 y 09/08/2016. El fertilizante sólido granulado se colocó en la base de la planta y luego se incorporó al suelo. Desde el transplante al final de la cosecha las plantas recibieron 905 mm de agua de lluvia y 150 mm de riego complementario por goteo, para cubrir las necesidades en los períodos de menores precipitaciones. En esos casos se regó durante una hora, tres veces por semana y en los meses de mayor temperatura, una hora y media, dependiendo de las necesidades. El sistema de riego localizado entregaba 3 mm de agua por m^2 en cada hora de riego. A su vez se realizaron las labores necesarias de carpida, descortezado del suelo, aporques y control de plagas y enfermedades.

La cosecha del genotipo OPS se desarrolló desde el 26/09 al 31/10/2016, en forma manual y escalonada. En GA y OPHI la cosecha se inició el 6/10/2016; en GU y MAHI el 12/10/2016; MAS a los siete días respecto a los dos últimos y todos finalizaron la cosecha el 14/11/2016. Las inflorescencias inmaduras deben ser compactas y bien formadas, de un color verde típico, un corte de tallo liso y uniforme, libres de daños por insectos o por

manejo, y de defectos. Las inflorescencias de alcaucil deben parecer pesadas en relación a su tamaño. El tallo debe cortarse de 2,5 a 4 cm a partir de la base (Trevor y Cantwell, 1997).

5. Conformación de las muestras

De cada tratamiento, se cosecharon la totalidad de capítulos de calidad comercial, producidos por planta. Se tomaron al azar 12 capítulos del primer orden de cosecha o primarios y se conformaron las muestras para la medición de las diferentes variables. A cada uno se le extrajeron las brácteas de manera centrípeta como se indicó en la sección 5 de Materiales y métodos de los Capítulos I y II. De este modo quedaron conformados los grupos que representan a los tres estratos de brácteas externas (BE), medias (BM) e internas (BI). El fondo (F) es el receptáculo carnoso.

Por otro lado, luego de haber cosechado todos los capítulos con calidad comercial, se extrajo una hoja del estrato medio de 10 plantas de cada genotipo y tratamiento aplicado, tomando la sección media del limbo para obtener una muestra compuesta de hojas (H) (Figura 93 A). Luego, se cortaron en la base 10 plantas enteras (PE) constituidas por hojas, tallos florales y los capítulos pequeños (Figura 93 B), para su posterior chipeado,

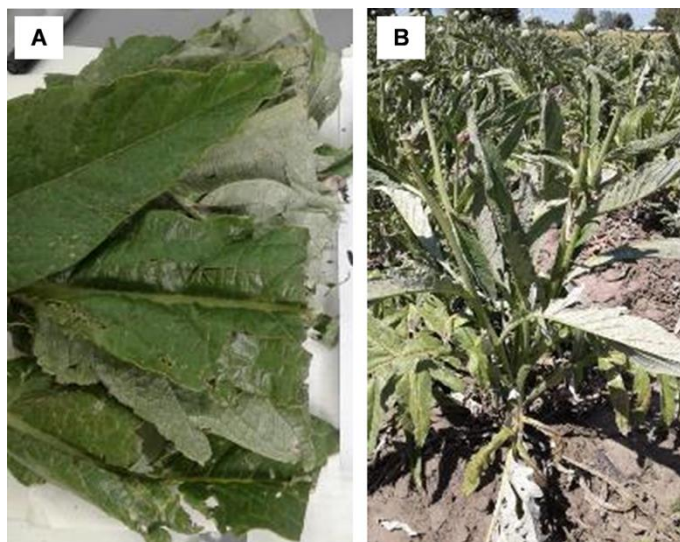


Figura 93: biomasa residual del cultivo de alcaucil al finalizar la cosecha de capítulos. Hojas (A) y planta entera (B).

Al finalizar la cosecha de alcauciles, se realizó el corte en el cuello (mochado) de diez plantas enteras de cada genotipo y tratamiento aplicado (Figura 94 A), con tres repeticiones. El chipeado de las PE consistió en procesarlas o picarlas (Figura 94 B y C) con

una chipeadora MODEL 6 CHIPPER (China). Luego se extrajeron muestras representativas del material chipeado para determinar las diferentes variables.



Figura 94: plantas enteras cortadas en la base (A); picado del material con chipeadora (B); detalle del órgano de picado (C); planta entera chipeada (D).

La preparación de las muestras y la medición de la mayoría de las variables se realizó en el Laboratorio Central de la FCA-UNR (33° LS y 61° LO).

6. Variables medidas

6.1. Variables químicas y estructurales

6.1.1. Contenido de ácidos clorogénico, dicafeoilquínicos y cinarina

Para medir el contenido de ácido clorogénico (AC), ácido dicafeoilquínico (DCQ) y cinarina (CIN) se prepararon extractos con el mismo procedimiento descrito e ilustrado en las Figuras 14 a 17 de la sección 6.1.1 de Materiales y métodos del Capítulo I. Los solventes utilizados para confeccionar los extractos fueron metanol absoluto o etanol al 96% y se utilizaron 10 gr de material tanto fresco como seco. A partir de material vegetal fresco, se evaluaron diferentes partes de la planta: F, BI, H y PE de plantas de todos los genotipos y formas de multiplicación, a las cuales se le habían aplicado los cuatro tratamientos (T_0 a T_3). Los extractos desarrollados con material seco fueron preparados a partir de H y PE de los tratamientos T_0 y T_3 , provenientes de la medición de peso seco. Durante dicha tarea se siguieron las indicaciones del Manual de Higiene y Seguridad del Laboratorio de la FCA

(Manual de procedimientos, Resolución CD N° 455/2014) y el Reglamento general para el funcionamiento del laboratorio central FCA (Resolución CD N° 148/88).

El análisis químico se realizó en el Instituto de Investigaciones para el Descubrimiento de Fármacos de Rosario (IIDEFAR-UNR-CONICET) y en el laboratorio de Espectrometría de Masa del Centro Científico Tecnológico de Rosario, Argentina. Los extractos metanólicos de F, BI y PE a partir de material fresco se analizaron en el Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), Universidad Politécnica de Valencia, España, en colaboración con su Director, el Dr. Jaime Prohens y la Dra Ana Adalid. Los extractos fueron evaporados y en Valencia se les restituyó el metanol, se zonicaron para homogeneizar y se filtraron previo al análisis por HPLC. La metodología empleada fue exactamente la misma que se describe en la sección 6.1.1 de Materiales y métodos del Capítulo I, con un equipo Agilent Technologies, HPLC infinity 1220 (Figura 95) y la columna utilizada fue una Phenomenex Luna Omega Polar C18, 150 x 4,6 mm, y tamaño de partícula de tres micras.



Figura 95: equipo Agilent Technologies, HPLC infinity 1220 (COMAV, Valencia, España)

Los experimentos se realizaron por triplicado a partir de extractos de muestras compuestas por diez BI y dos mitades de F, extraídos de diferentes capítulos primarios. En el caso de las H, la unidad experimental estaba compuesta de diez, extraídas del estrato medio de plantas diferentes y para PE se tomó una muestra del material chipeado de diez

plantas cortadas en la base, luego de cosechados todos los capítulos. En todos los casos las repeticiones fueron de cada genotipo y tratamiento aplicado y se expresaron como mg de AC, DCQ o CIN por kg de material vegetal fresco o seco (mg kg^{-1}).

6.1.2. Contenido de flavonoides

Los mismos extractos evaluados en el COMAV, España, fueron preparados para analizar los flavonoides miricetina (MIRIC), quercetina (QUER), luteonina (LUT), apigenina (APIG) y kaempferol (KAEM). Para la extracción se siguió la metodología de Guijarro Real et al. (2019). Brevemente, se colocaron 0,4 ml de extracto en viales de 2 ml y se agregó 0,2 ml de ácido clorhídrico 3,6 molar, logrando una muestra 1,2 molar. Se hidrolizaron durante dos horas a 95°C , luego se centrifugó y filtró cada muestra (Figura 96). Se almacenaron en freezer hasta realizar las mediciones.

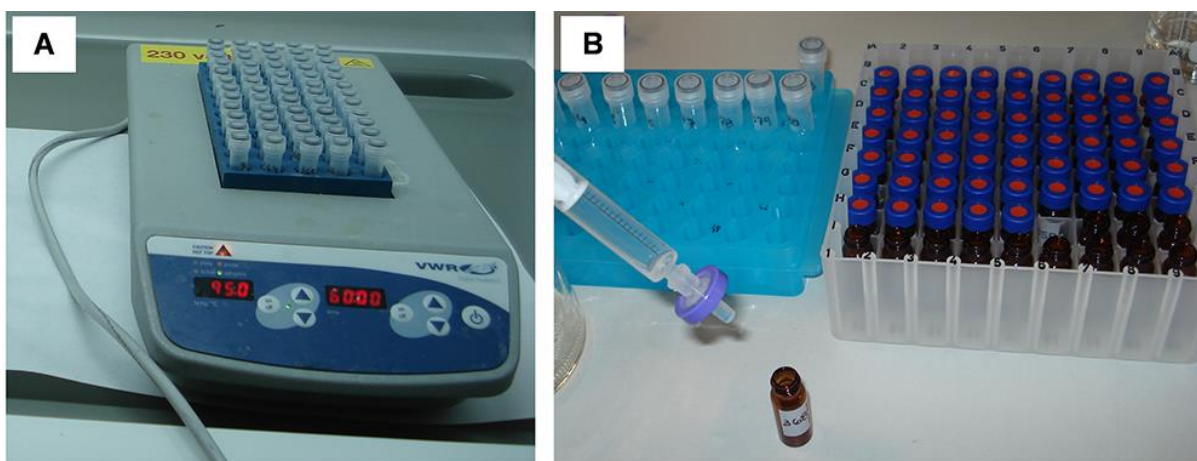


Figura 96: hidrolización de los extractos a 95°C durante dos horas (A) y filtrado para su almacenamiento y posterior análisis (B).

Para la medición de flavonoides se aplicó la metodología descrita por Bae et al., (2012). Las muestras se analizaron en un equipo de HPLC 1220 Infinity LC (Agilent, Santa Clara, CA, EE. UU.), con una columna BRISA C18 (150 mm x 4,6 mm i.d., tamaño de partícula tres μm ; Teknokroma, Barcelona, España). El volumen de inyección fue de 10 μl , presión de inicio 210 bares y un valor fijo de absorbancia de 360 nm. Los solventes utilizados para la fase móvil, de calidad HPLC, fueron (A) 0,1% de ácido fórmico en agua y (B) metanol, con gradiente de elución que comenzó con 40% de B, luego con 100% de B a

los diez minutos y se mantuvo durante cinco minutos y por último disminuyó a las condiciones iniciales a los 20 minutos y se equilibró durante cinco minutos. Se trabajó con un flujo de 0,8 ml por minuto. Se realizó una identificación tentativa de los compuestos mediante la comparación de los tiempos de retención de cada compuesto, con los picos de los estándares comerciales (Sigma-Aldrich) y con datos publicados en la bibliografía.

Se efectuaron tres repeticiones a partir de extractos utilizados para los análisis de compuestos cafeoilquínicos. La unidad experimental para cada parte de la planta analizada, se mencionó en la sección anterior (6.1.1). En todos los casos las repeticiones fueron de cada genotipo y tratamiento aplicado y se expresaron como mg kg⁻¹ de material vegetal fresco.

6.1.3. Pardeamiento del fondo

Para medir el pardeamiento en el fondo se cortó el capítulo en su eje longitudinal con cuchillo de cerámica. En una mitad del capítulo se midió la luminosidad (L*) utilizando la escala CIELab siguiendo el protocolo descrito en la sección 6.1.3 de Materiales y métodos del Capítulo I. El parámetro L* representa el porcentaje de reflectancia y sus valores van desde cero (negro) a 100 (blanco), por lo tanto, el delta L* (10 minutos del corte respecto al inicio), tiene valores negativos conforme a que el tejido se va oscureciendo luego del corte. Se realizaron seis repeticiones por tratamiento, en capítulos primarios y secundarios. La unidad experimental fue el F de un capítulo.

6.1.4. Fibra insoluble total

Para determinar la fibra insoluble total, expresada en %, en BI y F de capítulos primarios y planta entera (PE), se utilizó el método de separación mecánica de elementos fibrosos de Kramer y Twig (1973), el cual fue detallado en la sección 6.1.2 de Materiales y métodos del capítulo I. En la Figura 97 se presentan imágenes del procedimiento en planta entera, en el cual cada muestra se hierve, se escurre, se procesa, lava y filtra, para luego ser llevada a estufa a 60°C hasta peso constante. El peso seco resultante se expresó como un porcentaje del peso total de la muestra fresca.



Figura 97: Proceso de extracción de fibra insoluble total en planta entera. Tratamiento con calor (A); escurrido (B); procesado, lavado y filtrado (C); material secado en estufa (D).

Se realizaron tres repeticiones de cada genotipo y tratamiento, siendo la unidad experimental, las muestras compuestas por 10 BI, dos mitades de fondos, extraídos de dos capítulos distintos y 10 plantas enteras chipeadas.

6.2. Variables morfológicas y color

6.2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

Se efectuaron las mediciones de alto máximo del capítulo desde la base de las brácteas externas hasta el ápice, y el ancho máximo en su eje ecuatorial empleando un calibre y tomando como unidad el cm. El cociente de ambas medidas fue la relación alto/diámetro (RAD).

Para determinar las medidas de cada estrato de brácteas, se utilizó el programa Tomato Analyzer 3.0 (2010), (TA), que procesa imágenes digitales y permite de una manera adecuada, medir múltiples atributos de forma y color de manera ágil, una vez que los objetos de la imagen están correctamente delimitados. Si bien el programa TA fue desarrollado para la evaluación de caracteres en frutos de tomate, cada atributo es definido por una ecuación matemática, que permite ser utilizado en otras especies. Las imágenes se obtuvieron mediante un escáner común, generando archivos JPEG con 300 DPI, que es lo adecuado para objetos de tamaño entre uno y ocho cm. Al ser el objeto de medición estructuras con volumen como son las brácteas, se sacó la tapa del escáner y luego de acomodar la muestra, se tapó con una caja para lograr oscuridad. Los objetos deben poder identificarse lo mejor posible respecto al fondo y la superficie del escáner debió estar limpia para la próxima muestra. A cada una se le colocó una regla de referencia y la identificación de la

muestra (Figura 98). El programa permite corregir la delimitación de los diferentes objetos escaneados para medir exactamente las variables morfológicas y luego todos los datos obtenidos, se exportan a un documento de Excel. Las brácteas se escanearon de ambas caras, utilizando la del envés para las mediciones morfológicas, es decir la parte de adentro, cuyos bordes apoyan en la superficie del escáner. Para poder establecer la relación alto/ancho de brácteas (RAA), se consideraron los valores del alto y ancho máximo de cada estrato y se hizo el cociente entre ambos valores.

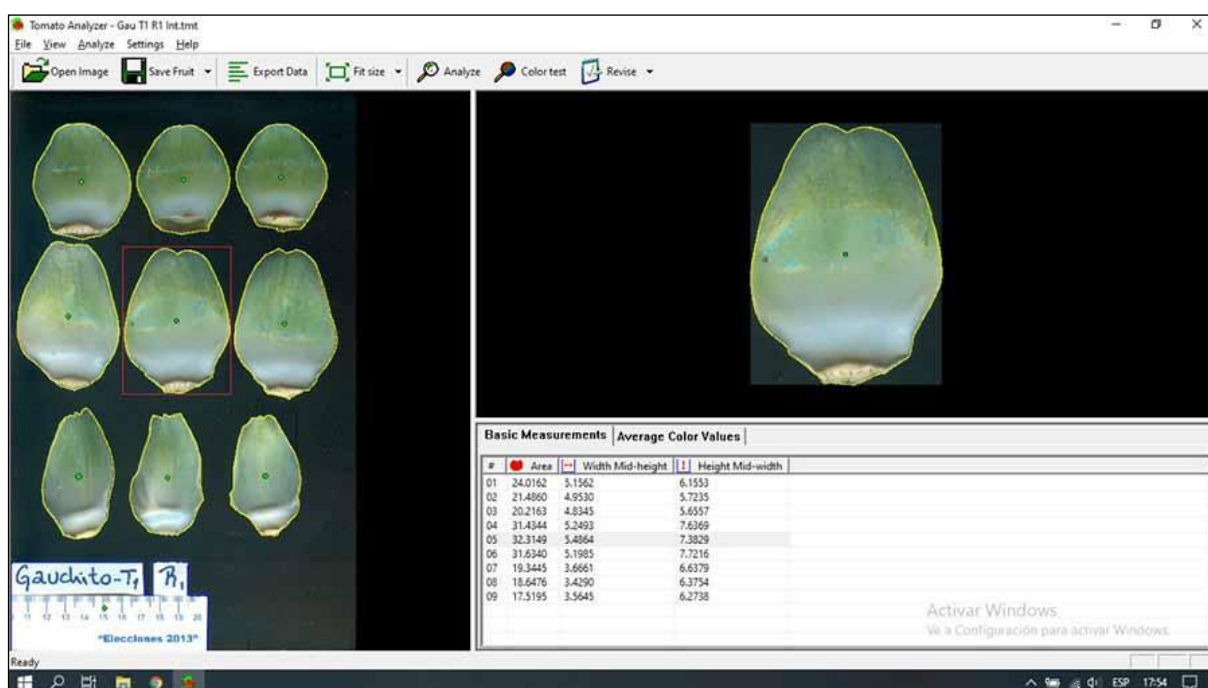


Figura 98: ejemplo del programa para analizar imágenes digitales Tomato Analyzer. Pantalla de la izquierda con la imagen escaneada de los tres estratos de brácteas; en el cuadrante superior derecho, la rectificación del perímetro de cada objeto y debajo los valores de todos los parámetros medidos.

Se generaron dos imágenes o submuestras diferentes para cada una de las tres repeticiones de cada genotipo y tratamiento aplicado. Cada imagen escaneada incluyó tres BI, BM y BE, de diferentes alcauciles primarios. La unidad experimental fue el capítulo entero en RAD y las medidas promedio de seis brácteas dentro de cada estrato, para RAA de las mismas.

6.2.2. Color de brácteas

Para medir el color en BI, BM y BE, también se utilizó el programa de procesamiento digital de imágenes TA, con el procedimiento descrito en la sección anterior y se utilizaron las imágenes del haz de las brácteas, es decir la parte externa. Se debe calibrar adecuadamente el programa, previo al escaneo de las imágenes, cuando se van a medir parámetros del color. La imagen debe ser de buena calidad en función de la calibración de colores y en cuanto a su nitidez. La calibración se realiza en función de lo que se quiere medir de un objeto y se calibra según la paleta de colores que pueden presentar realmente. En el caso de los tres estratos de brácteas de los genotipos estudiados, se podrán observar diferentes tonos de colores verde, violeta, amarillo y mezclas de los mismos (Figura 99).

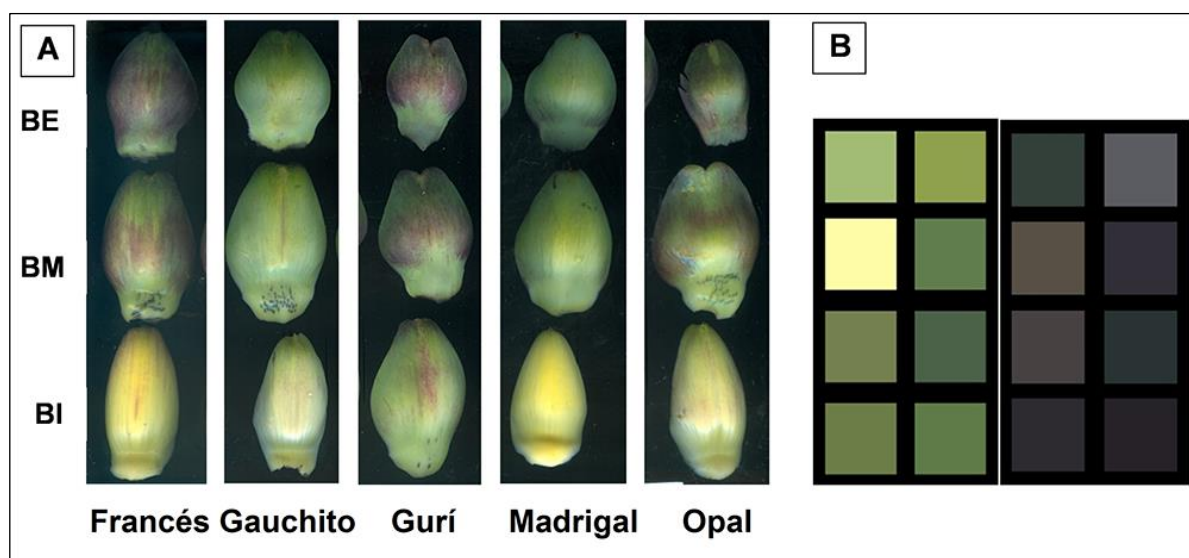


Figura 99: ejemplo de brácteas externas (BE), brácteas medias (BM) y brácteas internas (BI) escaneadas de los genotipos Francés, Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, de capítulos de alcaucil de plantas no tratadas (A). Paleta de colores para calibrar el programa Tomato Analyzer (B).

Se midió el parámetro L^* que representa la luminosidad del color con valores que van del 0 (blanco) al 100 (negro); el parámetro a^* es la variación entre rojo (+60) y verde (-60), mientras que b^* entre amarillo (+60) y azul (-60). El programa TA, realizará un promedio de todos los colores detectados en el área delimitada de cada bráctea.

Para obtener el valor del Índice de color (IC), se aplicó la siguiente fórmula:

$$IC = \frac{a^* \times 1000}{L^* \times b^*}$$

La interpretación del IC puede realizarse con los siguientes rangos:

- Entre -40 a -20, su valor relaciona los colores que van del azul-violeta al verde profundo.
- Entre -20 a -2, colores que van del verde profundo al verde amarillento.
- Entre -2 a +2, representa el amarillo verdoso.
- Entre +2 a +20, colores que van desde el amarillo pálido al naranja intenso.
- Entre +20 a +40, colores que van desde el naranja intenso al rojo profundo.

Se generaron dos imágenes o submuestras diferentes para cada una de las tres repeticiones de cada genotipo y tratamiento aplicado. Cada imagen escaneada incluyó tres BI, BM y BE, de diferentes alcauciles primarios. La unidad experimental fueron las medidas promedio de seis brácteas dentro de cada estrato.

6.2.3. Ancho y alto del fondo

Para determinar las medidas del fondo, se cortó el capítulo en su eje longitudinal y se midió el ancho y alto del receptáculo, en cm, con una regla milimetrada. Se consideró el ancho máximo entre la inserción de las brácteas externas y el alto desde la inserción de las flores y hasta un cm de tallo floral. La unidad experimental fue el fondo de dos capítulos por cada genotipo y tratamiento, con tres repeticiones.

6.3. Variables productivas

6.3.1. Rendimiento en peso fresco de capítulos y planta entera

Durante la etapa productiva del cultivo se comenzó con la cosecha de los capítulos primarios, una vez que los mismos alcanzaron su máximo tamaño, formando una cabeza compacta. Luego se prosiguió cosechando los sucesivos capítulos y se dejó de hacerlo cuando los mismos pesaron menos de 100 g. La totalidad de Kg cosechados en el lote evaluado se dividió por la densidad de plantas por m² y se obtuvo el rendimiento por unidad de superficie (Kg m⁻²), para cada genotipo con los cuatro tratamientos aplicados.

Al concluir la cosecha de los alcauciles, se recolectó la biomasa residual (planta entera, PE), constituida por las hojas, los tallos florales y los capítulos más pequeños que no alcanzaron los requerimientos de tamaño y calidad que exige el mercado local, con el procedimiento descrito en la sección de Materiales y métodos. Se obtuvo el peso total en kg y se llevó al valor por m², según la densidad de plantas utilizada.

6.3.2. Peso fresco del capítulo

Se pesaron los capítulos cosechados primarios enteros de todas las plantas de la parcela y la unidad experimental fue el capítulo entero.

6.3.3. Peso fresco de brácteas

Luego de determinar el peso fresco de los capítulos enteros, los mismos se sometieron al proceso de conformación de las muestras de los diferentes estratos de brácteas. Se pesaron el conjunto de las 10 BE, BM y BI, en g. La muestra representativa de cada conjunto de brácteas, complementa a la variable de peso medio total de capítulo, brindando una idea de la proporción de cada estrato de las mismas.

Cada repetición estuvo compuesta por 10 brácteas de cada estrato de dos alcauciles diferentes, por genotipo y tratamiento.

6.3.4. Peso seco del fondo, brácteas, hojas y planta entera

Se evaluó el peso seco de F, BI, H y PE a partir de material fresco, el cual se pesó y se colocó en estufa (60 °C), en bandejas de papel aluminio, hasta peso constante. En la Figura 100 se puede observar el material seco de una muestra de H (A) y PE (B), con los cuales se prepararon los extractos con metanol y etanol, descrito en la sección 6.1.1. de Materiales y métodos. El peso seco obtenido se refirió al peso fresco, expresado en %.



Figura 100: muestras de material seco de hojas (A) y planta entera (B).

Se realizaron tres repeticiones de cada genotipo y tratamiento aplicado, en cada parte de la planta estudiada. La unidad experimental fueron muestras compuestas por dos mitades de F y cinco BI de dos capítulos distintos. En el caso de las H fue una muestra compuesta del estrato medio de diez plantas y para PE, una muestra de diez plantas chipeadas.

6.3.5. Número de capítulos por planta

La cosecha se realizó identificando los capítulos de cada planta, logrando así el dato del número total de capítulos. Se consideraron las plantas que habían producido como mínimo cinco capítulos.

6.3.6. Precocidad

La precocidad se midió contando los días desde la primera aplicación de AG₃ hasta la cosecha del capítulo primario de cada planta (días a cosecha).

7. Comparación entre años, formas de multiplicación y tratamientos en Madrigal F1

Para lograr el segundo objetivo del presente capítulo, se seleccionaron las variables más representativas entre las químicas, morfológicas y productivas y se realizaron diferentes comparaciones.

Para evaluar el comportamiento de los hijuelos extraídos y trasplantados durante el año 2016, provenientes de las plantas de Madrigal cultivado en 2015 a partir de semillas, se compararon MAS 15 versus MAH 16.

Para evaluar la forma de multiplicación por semilla en dos años consecutivos, se comparó MAS 15 versus MAS 16.

Para evaluar el comportamiento de las dos formas de multiplicación en un mismo año, se compararon MAH 16 versus MAS 16.

8. Análisis estadístico

El diseño del experimento fue en parcelas divididas, en bloques al azar con tres repeticiones, donde la parcela mayor correspondió a los genotipos en sus dos formas de multiplicación y la menor a los tratamientos de aplicación de AG₃. La parcela menor estaba compuesta de 20 plantas. Las variables se analizaron en arreglo factorial, obteniendo información del efecto de los genotipos, los tratamientos y la interacción entre ambos. El análisis se efectuó dentro del grupo de los genotipos cultivares y dentro del grupo de los genotipos híbridos, con sus dos formas de multiplicación. Cuando se mencione efecto del genotipo en los híbridos, se estará incluyendo a las dos formas de multiplicarlos (MAHI, MAS, OPHI y OPS).

El modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_k + \beta_i + (\alpha\beta)_{ki} + T_j + (\beta T)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor observado en la unidad experimental

μ = media general del ensayo

α_k = efecto de los bloques

β_i = efecto de los genotipos (parcela mayor)

$(\alpha\beta)_{ki}$ = error de la parcela mayor

T_j = efecto de los tratamientos de AG₃ (parcela menor)

$(\beta T)_{ij}$ = efecto de la interacción entre los genotipos y los tratamientos

ϵ_{ijk} = error de la parcela menor

Solamente la variable del color de brácteas fue analizada dentro de cada genotipo, con el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_j + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = valor observado en la unidad experimental

μ = media general del ensayo

α_j = efecto de los bloques

T_i = efecto del tratamiento

e_{ij} = término del error

Las comparaciones entre años, formas de multiplicación y tratamientos para el genotipo Madrigal F1, se tomaron los mismos valores de las variables con sus repeticiones y se analizaron como un factorial. En los tres casos, el factor A es: un mismo material vegetal cultivado en dos años consecutivos (MAS 15-MAH 16), la multiplicación por semilla en dos años consecutivos (MAS 15-MAS 16) y la multiplicación por hijuelo y semilla dentro de un mismo año (MAH 16-MAS 16). El factor B son en los tres casos los mismos tratamientos de AG₃ aplicados (T_0, T_1, T_2, T_3).

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + T_k + \beta T_{jk} + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor observado en la unidad experimental

μ = media general del ensayo

α_j = efecto de los bloques

β_j = efecto del material vegetal en dos años, el año para multiplicación por semilla o la forma de multiplicación en un mismo año

T_j = efecto del tratamiento

e_{ijk} = término del error

Se analizó la normalidad con la prueba de Shapiro Wilks y la homogeneidad con la prueba de Levene para cada variable y se aplicó un ANAVA y la prueba DGC para la

comparación de valores medios. El programa estadístico utilizado es INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2016).

Para todas las variables, las tablas y gráficos fueron realizados utilizando los valores medios de cada tratamiento en cada genotipo, con su correspondiente error experimental, excepto para los gráficos con barras donde se apilan los datos de más de una variable.

RESULTADOS

1. Variables químicas y estructurales

1.1. Contenido de ácidos clorogénico, dicafeoilquínicos y cinarina

Los resultados de los análisis realizados en extractos metanólicos preparados con material fresco de H, F y BI, en los cultivares FRA, GA y GU, indicaron diferencias entre genotipos respecto al contenido de ácido clorogénico (AC), (Figura 101). En las H el mayor contenido se observó en GU, con un valor promedio de 2614 mg Kg⁻¹ de peso fresco; seguido de FRA con 1571 mg Kg⁻¹ y por último GA que tuvo 907 mg Kg⁻¹ ($p < 0,01$). Entre tratamientos no hubo diferencias y los valores promedios fueron entre 1443 mg Kg⁻¹ para T₀ y 1845 mg Kg⁻¹ para T₂. En el F también se encontró diferencia entre genotipos ($p < 0,05$), con mayores valores promedios de FRA y GU (590 mg Kg⁻¹), respecto a GA (281 mg Kg⁻¹). Entre tratamientos no se observaron diferencias, encontrando valores desde 259 mg Kg⁻¹ de peso fresco en T₂ aplicado a GA y 1280 mg Kg⁻¹ para T₃ en FRA. A su vez se observaron diferencias en el contenido de AC en las BI de FRA (1969 mg Kg⁻¹ de peso fresco) respecto a los otros genotipos que presentaron 1185 mg Kg⁻¹ en promedio ($p < 0,05$).

Con respecto a los ácidos dicafeoilquínicos (DCQ) en las H, no se observaron diferencias estadísticas entre genotipos y tratamientos. El mismo resultado se obtuvo en referencia al contenido de cinarina (CIN) en las BI. Para el F, el contenido de CIN no fue detectado con la metodología empleada en los experimentos (Figura 101).

No se observaron interacciones entre genotipos y tratamientos para ningún compuesto químico medido en las diferentes partes de la planta.

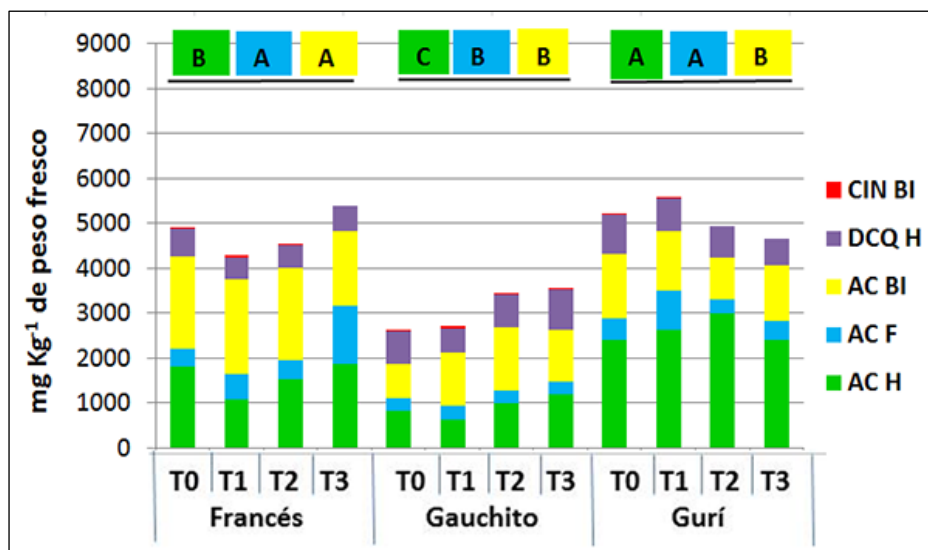


Figura 101: contenido de ácido clorogénico en hojas (H), fondo (F) y brácteas internas (BI); ácidos dicafeolquínicos (DCQ) en hojas y cinarina (CIN) en brácteas internas; expresados en mg Kg^{-1} que fueron detectados en capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras dentro de cada parte de la planta y compuesto químico medido, indican diferencias estadísticas entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

Los análisis realizados en extractos metanólicos preparados con material fresco de H en los híbridos MA y OP en ambas formas de multiplicación, respecto al contenido de AC, evidenciaron interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$). El mayor valor lo presentó MAHI con T₁ (3739 mg Kg^{-1} de peso fresco); diferenciándose del grupo de OPH T₂, OPS T₀ a T₂. Por último, el resto de genotipos y tratamientos en los cuales se detectaron los valores más bajos, desde 1765 mg Kg^{-1} en OPHI con T₃ hasta 505 mg Kg^{-1} en OPHI con T₀ (Figura 102). En el contenido de AC en el F del capítulo, no se observaron diferencias ni interacciones. En cambio, este mismo compuesto en las BI, presentó interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,05$), conformando el grupo de los mayores valores OPHI T₁-T₂ y OPS T₀ (3272 mg Kg^{-1} de peso fresco en promedio). Luego un grupo intermedio con OPHI T₀-T₃, OPS T₁ al T₃ y MAHI T₂-T₃, con valores de 1829 a 2750 mg Kg^{-1} de peso fresco. El contenido más bajo se observó en todos los tratamientos de MAS y MAHI T₀ - T₁, con valores desde 523 a 1616 mg Kg^{-1} de peso fresco.

Con respecto al contenido de DCQ en las H, se halló interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$), dada principalmente por el valor superior de MAHI con T_1 (1724 mg Kg^{-1} de peso fresco), en comparación con el resto de combinaciones que fueron desde 398 mg Kg^{-1} (OPHI T_0) a 879 mg Kg^{-1} de peso fresco (OPHI T_2). En las mediciones del compuesto CIN en las BI, también se observaron interacciones entre los dos factores evaluados ($p < 0,01$), presentando el mayor contenido MAHI con $T_2 - T_3$, OPS con $T_0 - T_1$ y OPHI T_2 (desde 71 a 63 mg Kg^{-1} de peso fresco), respecto al resto (desde 0 a 32 mg Kg^{-1}). En el F del capítulo, la CIN no fue detectada con la metodología aplicada (Figura 102).

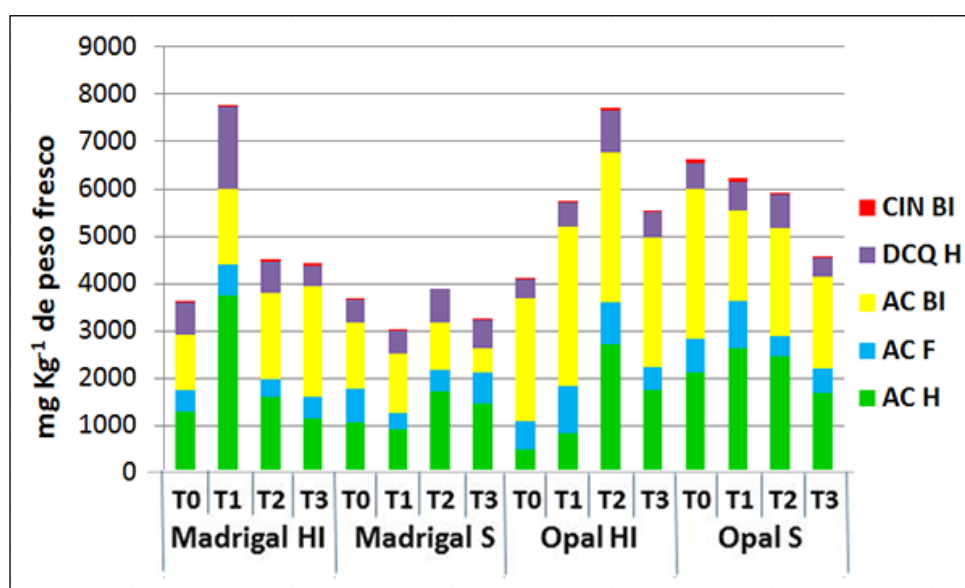


Figura 102: contenido de ácido clorogénico en hojas (H), fondo (F) y brácteas internas (BI); ácidos dicafeolquínicos (DCQ) en hojas y cinarina (CIN) en brácteas internas; expresados en mg Kg^{-1} que fueron detectados en capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T_0 -Ninguna aplicación; T_1 - Una aplicación; T_2 - Dos aplicaciones; T_3 - Tres aplicaciones.

En las condiciones experimentales y metodología empleada para la preparación de los extractos metanólicos y etanólicos de la PE en estado fresco, en todos los genotipos y tratamientos, no pudieron realizarse los análisis estadísticos porque se detectaron valores en muy pocas muestras. La misma situación se registró en los extractos de H y PE a partir de material seco de los tratamientos T_0 y T_3 , preparados tanto en metanol como etanol.

1.2. Contenido de flavonoides

Los resultados de los análisis realizados en extractos metanólicos preparados con material fresco de F y BI, en los cultivares FRA, GA y GU, indicaron diferencias entre genotipos respecto al contenido de algunos compuestos en las BI (Figura 103). En primer lugar, la miricetina (MIRIC) tuvo mayores valores en el genotipo FRA (20,3 mg Kg⁻¹ de peso fresco), respecto a GA y GU (9,2 mg Kg⁻¹, en promedio) ($p < 0,05$). El contenido de quercetina (QUER) y luteonina (LUT) en las BI no presentó diferencias entre genotipos y los valores detectados fueron muy pequeños. A su vez se halló mayor contenido de apigenina (APIG) en GA con valores promedio de 8,5 mg Kg⁻¹ de peso fresco, diferenciándose de GU (7,7 mg Kg⁻¹) y FRA (5,3 mg Kg⁻¹), en las BI ($p < 0,01$).

Con respecto a los mismos compuestos medidos, pero en el F del capítulo de alcaucil, no se observaron diferencias ni entre genotipos ni entre tratamientos. Los valores de MIRIC estuvieron en un rango de 4,4 mg Kg⁻¹ de peso fresco en GA con T₀ a 9,0 mg Kg⁻¹ en FRA con T₃. Los valores detectados de QUER y LUT en el F fueron muy pequeños. El contenido de APIG varió desde 3,3 mg Kg⁻¹ de peso fresco en GA con T₂ hasta 4,9 mg Kg⁻¹ en FRA con T₃ (Figura 103).

No se observaron interacciones entre genotipos y tratamientos para ningún compuesto químico medido en las diferentes partes de la planta.

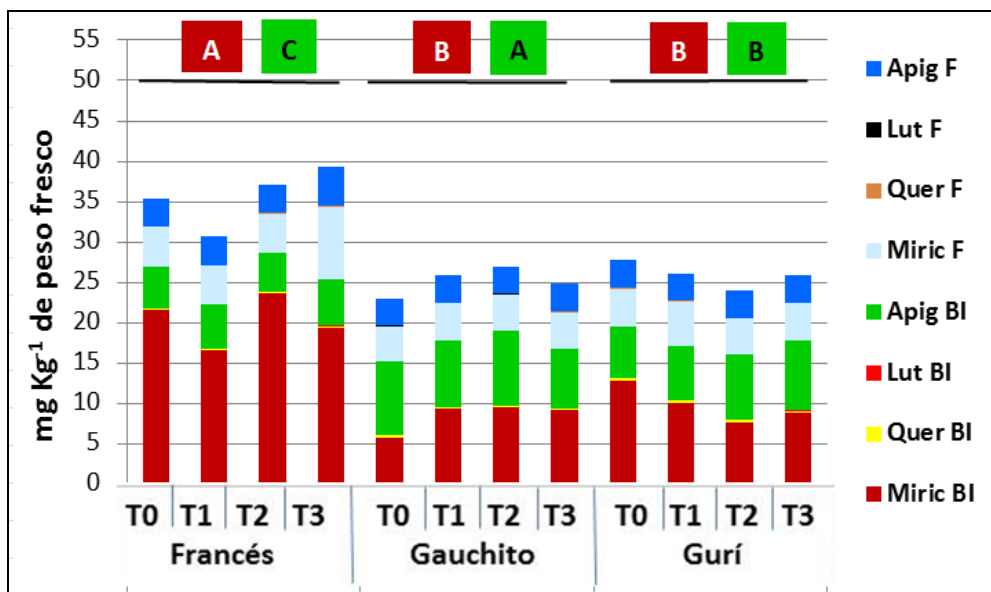


Figura 103: contenido de miricetina (MIRIC), quercetina (QUER), luteonina (LUT) y apigenina (APIG) en brácteas internas (BI) y fondo (F); expresados en mg Kg⁻¹ que fueron detectados en capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

Los análisis realizados en extractos metanólicos preparados con material fresco de BI y F en los híbridos MA y OP en ambas formas de multiplicación, respecto al contenido de algunos flavonoides, evidenciaron diferencias entre genotipos (Figura 104). En el caso de la MIRIC en BI, se observó diferencia ($p < 0,05$) entre OPHI con valores promedios de 20,3 mg Kg⁻¹ de peso fresco y el resto de los genotipos, que presentaron 10,8 mg Kg⁻¹ en OPS; 9,7 mg Kg⁻¹ en MAHI y 5,9 mg Kg⁻¹ en MAS. Respecto a QUER y LUT, se detectaron valores muy pequeños y no se observaron diferencias. A su vez se hallaron diferencias entre genotipos en el contenido de APIG ($p < 0,05$), siendo MAHI el de mayor valor promedio (9,0 mg Kg⁻¹ de peso fresco), comparado con el resto de genotipos que en promedio tuvieron 6,6 mg Kg⁻¹.

En el F del capítulo hubo diferencia entre genotipos en el contenido de MIRIC ($p < 0,05$), siendo mayor en OPHI con 8,6 mg Kg⁻¹ de peso fresco respecto a los otros genotipos (5,9 mg Kg⁻¹ en promedio), (Figura 104). Además, se observaron diferencias entre tratamientos ($p < 0,05$), presentando T₀ un valor de 7,5 mg Kg⁻¹ de peso fresco y el resto un

promedio de 6,3 mg Kg⁻¹. Respecto a QUER y LUT, se detectaron valores muy pequeños y no se observaron diferencias. En cambio, hubo interacción en APIG (p<0,01), donde MAS T₃ contenía 5,1 mg Kg⁻¹ de peso fresco respecto al resto de combinaciones.

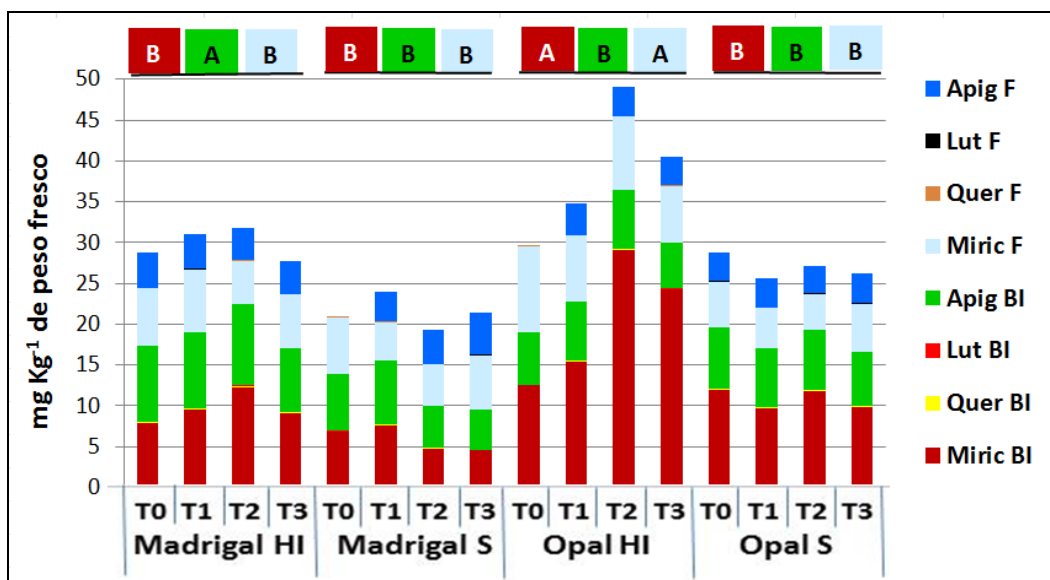


Figura 104: contenido de miricetina (MIRIC), quercetina (QUER), luteonina (LUT) y apigenina APIG) en brácteas internas (BI) y fondo (F); expresados en mg Kg⁻¹ que fueron detectados en capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre genotipos al 5%, según prueba de DGC

Respecto a la presencia de flavonoides en la PE a partir de material fresco, habiendo analizado solamente los tratamientos T₀ y T₃, en el caso de MIRIC no fue detectada; LUT y QUER, se observaron trazas de ambos compuestos. En referencia a APIG no hubo diferencias significativas y los valores encontrados en los cultivares fueron de 11,8 mg Kg⁻¹ de peso fresco en FRA, 9,4 mg Kg⁻¹ en GU y 5,7 mg Kg⁻¹ en GA. En los híbridos el contenido medido fue de 8,2 mg Kg⁻¹ de peso fresco en OPS; 6,5 mg Kg⁻¹ en MAHI; 4,8 mg Kg⁻¹ en OPHI y 4,4 mg Kg⁻¹ en MAS. El flavonoide KAEM no fue detectado en BI, F ni PE con la metodología empleada y bajo las condiciones en que se realizaron los experimentos.

1.3. Pardeamiento del fondo

En las mediciones del pardeamiento del F en un tiempo establecido de 10 minutos desde su corte, se observó interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$), destacándose GU con T₀ por presentar el mayor valor negativo (-12,1), indicando que se oscureció más que todo el resto de combinaciones. Dentro de esta variación los valores fueron de -8,1 en GU T₃ hasta -5,3 en GA T₁ (Figura 105).

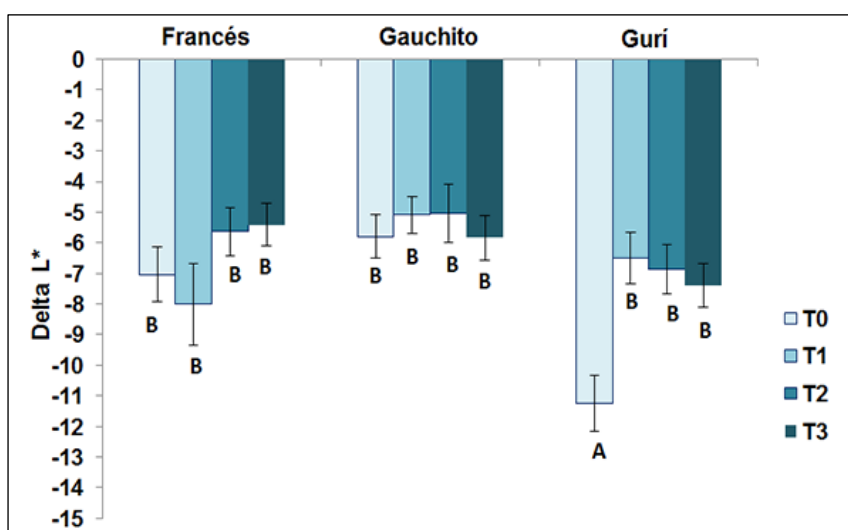


Figura 105: pardeamiento del fondo (delta L* entre 10 minutos del corte y el momento inicial) de capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

En cambio, en los híbridos no se observó diferencias ni entre tratamientos ni entre genotipos para la variable pardeamiento del F en el tiempo establecido desde su corte (Figura 106). Los valores tienen un rango desde -13,1 observado en OPHI T₂ hasta -5,1 en MAS con T₃.

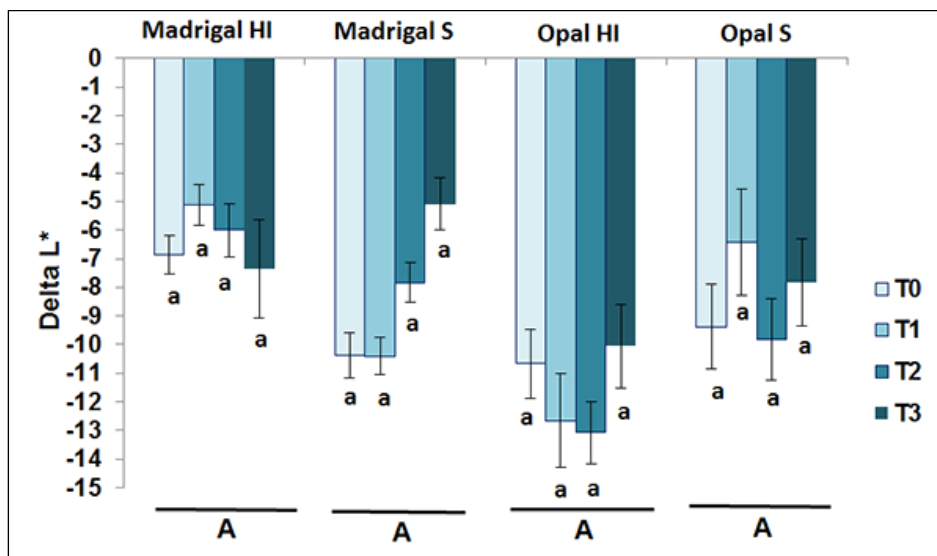


Figura 106: pardeamiento del fondo (delta L* entre 10 minutos del corte y el momento inicial) de capítulos **primarios** de plantas de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferente número de aplicaciones de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁- Una aplicación; T₂- Dos aplicaciones; T₃- Tres aplicaciones.

A modo de ejemplo, se muestra en la Figura 107 las fotos de los capítulos al momento del corte y el pardeamiento del F a los 10 minutos, provenientes de plantas con T₂ y T₃, en el genotipo OPHI.



Figura 107: capítulo primario del genotipo Opal multiplicado por hijuelo, con dos aplicaciones de AG₃, al momento del corte en su eje longitudinal (A); el mismo capítulo a los 10 minutos (B); capítulo con tres aplicaciones de AG₃ al momento del corte (C) y el mismo capítulo a los 10 minutos.

1.4. Fibra insoluble total

El contenido de fibra insoluble total no presentó diferencias entre genotipos ni entre tratamientos en las mediciones del F de los capítulos y los valores medios estuvieron en un rango de 1,6% en GU con T₃ a 2,9% en GA con T₀. En cambio, en las BI hubo diferencias entre genotipos ($p < 0,01$), siendo el de menor contenido FRA con promedio de 2,4%, luego GA con valores intermedios (3,2%) y el de mayor contenido GU con 4,4% de valor promedio (Figura 108).

Por último, la fibra insoluble presente en la PE no tuvo diferencias entre los diferentes genotipos y tratamientos, con valores muy similares en todos los genotipos (11,0% en promedio).

En los genotipos del grupo cultivares no se observaron interacciones entre los mismos y los tratamientos aplicados, en las diferentes partes analizadas, tanto comestibles como en la biomasa restante luego de finalizada la cosecha.

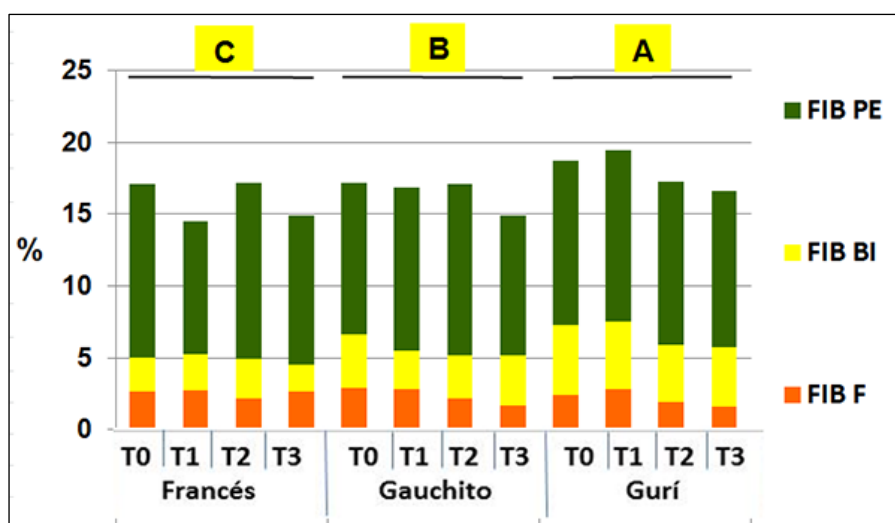


Figura 108: contenido de fibra insoluble total (FIB) expresado en %, en fondo (F), brácteas internas (BI) y planta entera (PE), de capítulos **primarios** de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

En los híbridos evaluados, con ambas formas de multiplicación, se observaron diferencias entre genotipos en el contenido de fibra presente en el F ($p < 0,01$). Los menores

valores fueron en MAHI y OPS con promedios de 2,2% y 2,0% respectivamente; seguidos de MAS (2,4%) y OPHI (2,7%). Si bien los valores son cercanos, también hubo diferencias entre los tres tratamientos de AG₃ aplicados, es decir en T₁ a T₃ el contenido de fibra fue menor (2,2% en promedio) comparados con el testigo o T₀ (p<0,01), con 2,8% (Figura 109).

En las BI también existieron diferencias entre genotipos (p<0,01), siendo los de menor contenido MAHI, MAS y OPHI (2,6% promedio), respecto a OPS (4,1%). Entre tratamientos se presentaron diferencias (p<0,01) con un promedio de 2,6% en T₂ y T₃, comparado con 3,3% en T₀ y T₁ (Figura 109).

Finalmente, en la fibra presente en la PE se observó efecto de la interacción entre genotipos y tratamientos (p<0,01), los diferentes genotipos y los tratamientos. La planta entera puede ser utilizada como fuente de fibra, por lo cual se destacarán los genotipos con los tratamientos que hayan presentado mayor porcentaje, como fueron OPHI T₂ y T₃; OPS con T₀ a T₂ y MAHI con T₃, respecto al resto. El rango desde el mayor al menor valor, varió desde 15,7% en OPHI T₂ hasta 8,6% de fibra total en OPHI T₀.

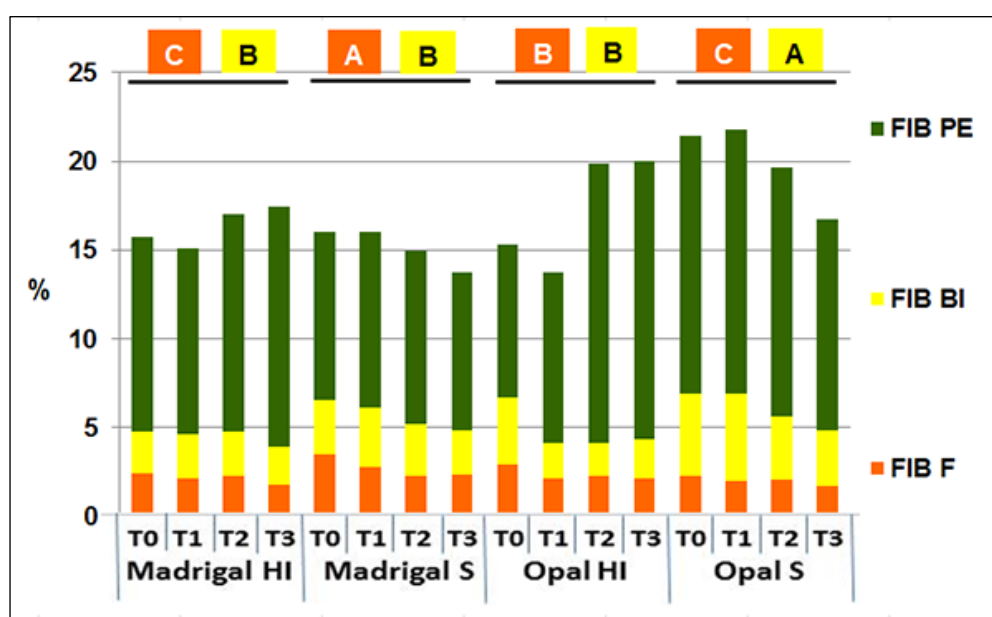


Figura 109: contenido de fibra insoluble total (FIB), expresado en %, en fondo (F), brácteas internas (BI) y planta entera (PE), de capítulos **primarios** de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

2. Variables morfológicas y color

2.1. Relación alto/diámetro del capítulo y Relación alto/ancho de brácteas

Los resultados en cuanto a la forma del capítulo, indicaron diferencias estadísticas entre los genotipos ($p < 0,01$) en referencia a la relación alto/diámetro del mismo (RAD), presentando FRA y GU mayores valores, es decir son más alargados que GA. Los dos primeros cultivares tienen una RAD promedio de 1,1 y GA 0,96 y no se observaron diferencias entre tratamientos (Figura 110).

La forma de los tres estratos de brácteas, presentó resultados variables en cada uno, en cuanto a la relación alto/ancho (RAA) de las mismas. En las BI se observó interacción, es decir que los tratamientos no tuvieron la misma influencia en todos los genotipos ($p < 0,05$), siendo FRA con todos los tratamientos los de mayor RAA, seguidos del resto en un rango de GA T₀ con 1,9 hasta GU T₃ con 1,6. En cambio en las BM se determinaron diferencias entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$), donde FRA fue superior (1,7) respecto a GA (1,4) - GU (1,4) y el T₁ menor RAA que el resto. En las BE se presentaron nuevamente interacciones ($p < 0,01$), quedando los valores de FRA, GU y GA de mayor a menor, pero con un ordenamiento de tratamientos diferente en cada uno. La RAA va desde 1,6 en FRA con T₁ a 1,2 en GA con T₃ (Figura 110).

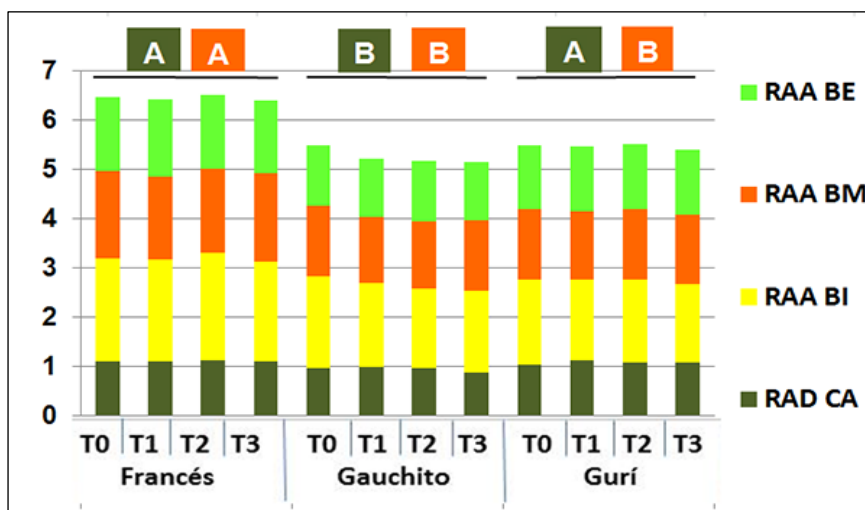


Figura 110: relación alto/diámetro de capítulo entero (RAD CA) y relación alto/ancho (RAA) de brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de los genotipos **Francés**, **Gauchito** y **Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

En el grupo de los híbridos, se encontraron interacciones en la forma del capítulo entero y los tres estratos de brácteas ($p < 0,01$), cuyos valores pueden visualizarse en la Figura 111. Respecto al capítulo, el genotipo OPHI tratado con T_1 y T_2 fueron los de mayor RAD, 1,1 en promedio. El resto de combinaciones estuvieron en el rango desde 1,0 en MAHI con T_2 hasta 0,9 en OPS T_2 .

La RAA de los tres estratos de brácteas presentaron interacción entre genotipos y tratamientos aplicados ($p < 0,01$). En las BI, la RAA mayor se observó en MAHI con T_0 y T_1 , seguidos del resto que se distribuyó en un rango de 2,0 en MAHI con T_2 hasta 1,5 en OPS con T_1 . En el estrato de BM, la mayor RAA, es decir las más alargadas fueron en MAHI – MAS con T_0 (1,6 de promedio) y las demás combinaciones de genotipos y tratamientos tuvieron valores de 1,5 en MAHI a 1,3 en OPS, ambos con T_1 . Por último, en las BE se diferenciaron OPHI $T_0 - T_1$ y OPHI T_3 con valores promedio de 1,4 respecto al resto. La RAA de las otras combinaciones fueron desde 1,4 en OPHI con T_1 a 1,2 en MAS con T_3 (Figura 111).

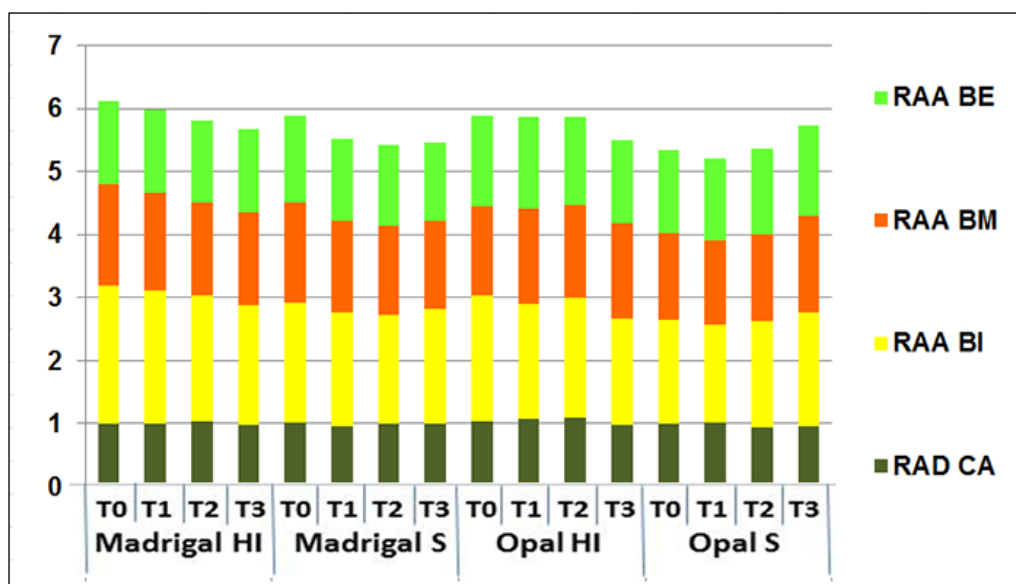


Figura 111: relación alto/diámetro de capítulo entero (RAD CA) y relación alto/ancho (RAA) de brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T_0 - Ninguna aplicación; T_1 - Una aplicación; T_2 - Dos aplicaciones; T_3 - Tres aplicaciones.

2.2. Color de brácteas

Se mostrarán solamente los datos del color del haz de las brácteas ya que son las que se ven en el conjunto del capítulo y determinan el color característico de cada genotipo. La variación del color es difícil de interpretar en números, cuando en realidad son espacios en una esfera tridimensional, que expresan el color objetivamente. Además, en las brácteas de los capítulos de alcaucil, pueden presentarse varios colores y tonalidades, que al realizar un promedio, resulta complicado catalogar su color en un único valor. Para la interpretación de los resultados se tomaron como referencia los rangos mencionados en la sección 6.2.2. de Materiales y métodos. Para complementar dicha escala se confeccionó una serie de colores con la variación encontrada en las brácteas de alcaucil, en base a las imágenes escaneadas de los tres estratos. Se consideraron los valores extremos observados en la totalidad de genotipos evaluados en la tesis (Figura 112).

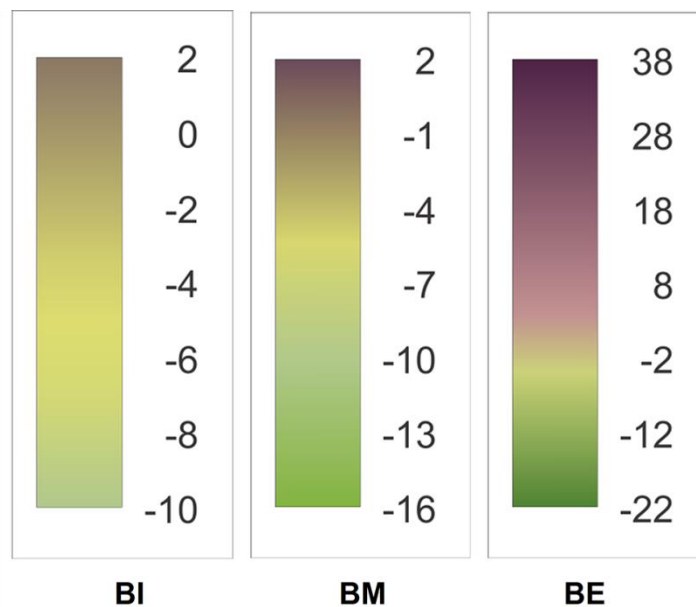


Figura 112: variación de colores en brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de plantas de los genotipos Francés, Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, a partir de imágenes procesadas con el programa Tomato Analyzer.

Los tratamientos de aplicación de AG₃ no tuvieron efecto significativo en el color de las BI y BM del genotipo FRA, en cambio en las BE con T₁ a T₃ presentaron tonalidades más amarillas y verdesas respectivamente, que el testigo violáceo ($p < 0,05$), cuyos valores se encuentran en la Tabla 11.

En el genotipo GA, se observaron diferencias entre tratamientos en los tres estratos de brácteas ($p < 0,01$). Con la aplicación de T₂ y T₃, las BI fueron más verdosas respecto a los otros tratamientos. En las BM fue a la inversa, presentando T₃ el color verde menos profundo respecto al testigo, con valores intermedios los otros dos tratamientos. Las BE de capítulos con todos los tratamientos de AG₃ tuvieron color verde menos profundo respecto al testigo.

En el genotipo GU, también se observaron diferencias entre tratamientos en los tres estratos de brácteas ($p < 0,01$). Las BI presentaron color verde amarillento, pero T₀ y T₃ se diferenciaron estadísticamente al ser más verdosas que los otros tratamientos. En las BM se observó el mismo resultado, con valores aún más negativos, respecto a T₂, que ya correspondería al amarillo verdoso y T₁ con valores intermedios. En las BE con la aplicación de T₀ a T₂, se observaron las tonalidades violáceas profundas, en cambio con T₃ fueron verdosas (Tabla 11).

Tabla 11: Índice de color (IC) de brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de plantas de los genotipos Francés, Gauchito y Gurí, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones

Estrato	Tratamiento	Francés	Gauchito	Gurí
BI	T0	-3,8 ±0,1	-7,7 ±0,2 a	-6,3 ±0,3 c
	T1	-2,5 ±1,2	-8,3 ±0,2 a	-4,8 ±0,3 b
	T2	-1,9 ±0,6	-9,6 ±0,3 b	-3,2 ±0,4 a
	T3	-1,8 ±0,5	-9,2 ±0,2 b	-6,9 ±0,2 c
		ns	p<0,01	p<0,01
BM	T0	-7,3 ±0,4	-13,5 ±0,4 c	-10,5 ±0,8 c
	T1	-7,1 ±1,5	-12,1 ±0,4 b	-4,3 ±0,7 b
	T2	-5,6 ±0,7	-12,5 ±0,4 b	-1,6 ±1,0 a
	T3	-7,0 ±0,5	-10,5 ±0,3 a	-9,5 ±0,4 c
		ns	p<0,01	p<0,01
BE	T0	3,9 ±3,6 a	-21,12 ±0,7 b	31,2 ±4,7 a
	T1	-0,9 ±5,1 b	-16,32 ±0,7 a	38,8 ±6,6 a
	T2	-5,5 ±3,1 b	-17,44 ±0,7 a	34,6 ±5,8 a
	T3	-10,3 ±1,3 b	-17,73 ±0,8 a	-7,3 ±1,8 b
		p<0,05	p<0,01	p<0,01

Diferentes letras indican diferencias entre tratamientos dentro de cada genotipo y estrato de bráctea; ns (no significativo), según el test DGC.

Los tratamientos de aplicación de AG₃ tuvieron efecto solamente en las BM del híbrido MAHI (p<0,01), que con T₀ y T₃, presentaron color verde más claro, respecto a los otros tratamientos (Tabla 12). En el genotipo MAS se observaron diferencias en las BI y BM (p<0,01), donde T₃ presentó en ambos casos, valores correspondientes a los verdosos más oscuros respecto al resto de tratamientos aplicados. En OPHI, las BI de capítulos no tratados fueron más amarillentas verdosas que con los tratamientos de AG₃ (p<0,05); no encontrándose efecto en BM y BE. En cambio, en OPS hubo diferencias entre tratamientos en BM y BE, en cuyos estratos, el T₃ presentó color verde más oscuro respecto a los otros (p<0,01).

Tabla 12: Índice de color (IC) de brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de plantas de los genotipos Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Estrato	Tratamiento	Madrigal H	Madrigal S	Opal H	Opal S
BI	T0	-4,8 ±0,2	-4,6 ±0,4 a	-2,6 ±0,6 a	-5,1 ±0,2
	T1	-5,1 ±0,2	-4,9 ±0,1 a	-2,7 ±0,5 b	-5,0 ±0,6
	T2	-4,9 ±0,2	-4,4 ±0,1 a	-3,3 ±0,8 b	-5,9 ±0,2
	T3	-5,3 ±0,2	-6,5 ±0,7 b	-5,2 ±0,8 b	-5,7 ±0,2
		ns	p<0,01	p<0,05	ns
BM	T0	-12,3 ±0,7 a	-11,9 ±0,5 a	-3,7 ±1,6	-7,1 ±0,4 a
	T1	-14,4 ±0,6 b	-12,0 ±0,5 a	-5,2 ±0,8	-7,7 ±0,8 a
	T2	-13,5 ±0,5 b	-12,2 ±0,6 a	-4,6 ±0,9	-8,7 ±0,6 a
	T3	-10,7 ±0,5 a	-15,8 ±1,2 b	-7,1 ±0,6	-10,2 ±0,5 b
		p<0,01	p<0,01	ns	p<0,01
BE	T0	-18,2 ±1,2	-18,9 ±1,2	3,3 ±6,2	-2,2 ±1,9 a
	T1	-19,2 ±0,8	-18,7 ±0,5	2,2 ± 3,6	-1,7 ±3,5 a
	T2	-18,7 ±0,8	-17,2 ±0,8	4,2 ± 3,0	-10,8 ±1,6 b
	T3	-19,4 ±0,6	-16,8 ±0,7	-4,7 ±1,8	-17,8 ±1,2 c
		ns	ns	ns	p<0,01

Diferentes letras indican diferencias entre tratamientos dentro de cada genotipo y estrato de bráctea; ns (no significativo), según el test DGC.

2.3. Ancho y alto del fondo

Con respecto a las medidas del fondo del capítulo primario, se observó interacción entre genotipos y tratamientos para la variable ancho del F (p<0,01), presentando los

mayores valores el genotipo GA con todos los tratamientos; FRA con T₃ y GU con T₀ (Figura 113).

En cambio, en el alto del F se hallaron mayores valores en GA y GU (3,0 cm promedio), respecto a FRA con 2,5 cm en promedio ($p < 0,01$).

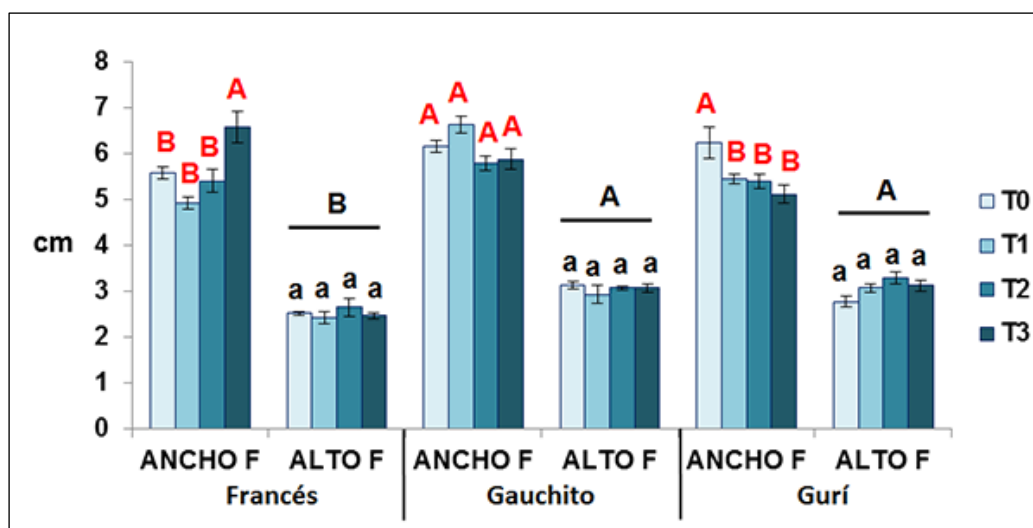


Figura 113: ancho y alto, expresados en cm, del fondo (F) de capítulos **primarios** de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Ancho del fondo: diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según prueba de DGC. Alto del fondo: diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

En el grupo de los híbridos también se observó interacción entre genotipos y tratamientos para la variable ancho del F ($p < 0,01$), presentando los mayores valores MAHI y MAS con todos los tratamientos, OPHI con T₀ y OPS con T₃, respecto al resto de combinaciones (Figura 114).

En cambio, en el alto del F se hallaron mayores valores en MAHI (3,1 cm promedio), respecto a los demás genotipos con 2,8 cm en promedio ($p < 0,01$).

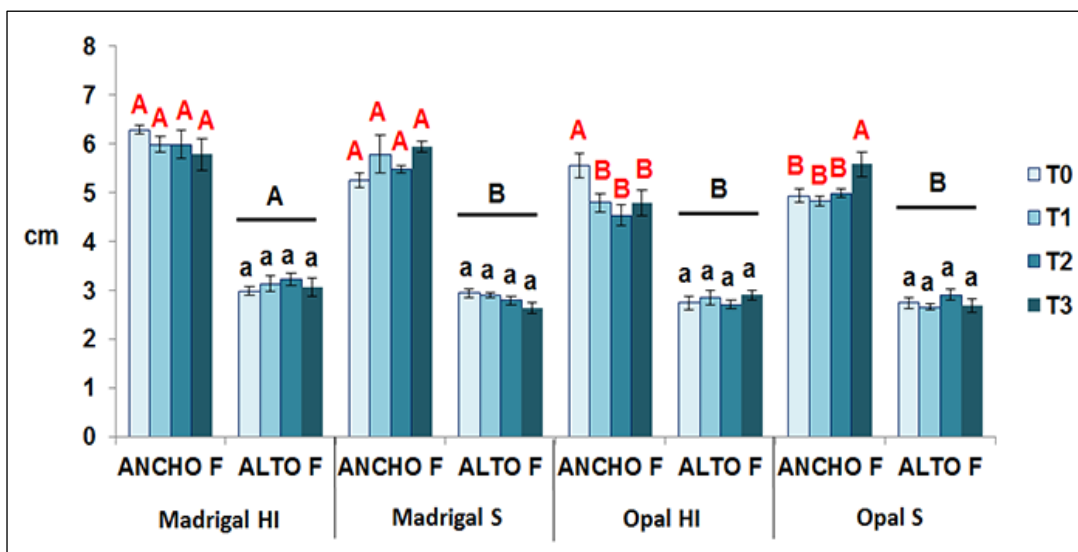


Figura 114: ancho y alto, expresados en cm, del fondo (F) de capítulos **primarios** de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Ancho del fondo: diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

Alto del fondo: diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

3. Variables productivas

3.1. Rendimiento en peso fresco de alcauciles y planta entera

El rendimiento de capítulos de alcaucil por unidad de superficie no presentó diferencias entre los genotipos ni entre tratamientos. El cultivar FRA no pudo ser evaluado en esta variable, en cambio GA y GU rindieron en promedio 1,5 Kg m⁻² en peso fresco de alcauciles (Figura 115).

En cuanto al rendimiento de planta entera, GA presentó mayores valores (2,4 Kg m⁻²), seguido de GU con un promedio de 1,8 Kg m⁻² y por último FRA con 0,6 Kg m⁻² (p<0,01).

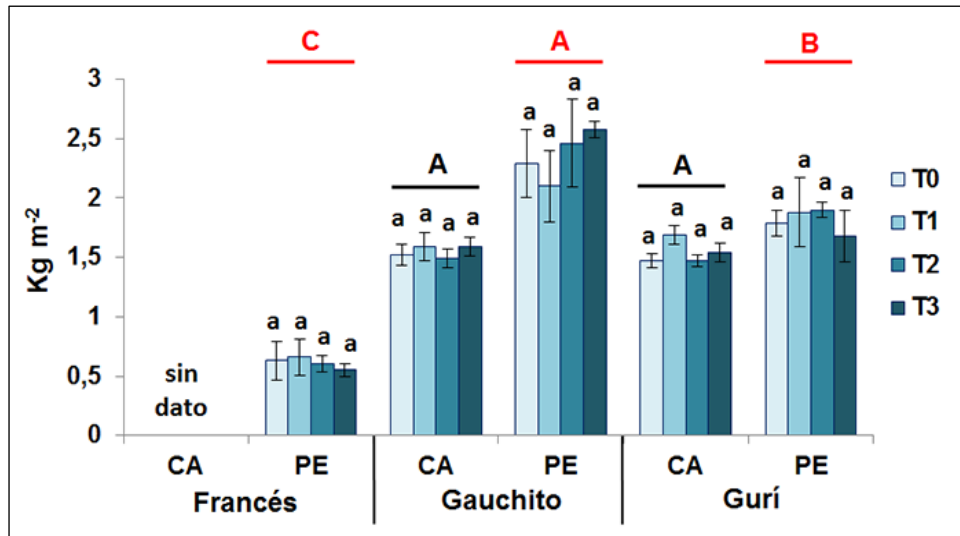


Figura 115: rendimiento en peso fresco, expresado en kg m⁻², de capítulos (CA) y planta entera (PE), de los genotipos **Francés**, **Gauchito** y **Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos, dentro de cada variable al 5%, según prueba de DGC.

En la Figura 116 se pueden observar los resultados del rendimiento en peso fresco de capítulos de alcaucil, en los cuales los híbridos presentaron interacción con los tratamientos aplicados ($p < 0,01$). Los valores superiores se hallaron en MAHI con T₀ y T₃ (1,6 Kg m⁻² de promedio), luego siguen MAHI con T₁ - T₂; MAS T₃ y OPHI T₀ respecto al resto de combinaciones. El rendimiento más bajo fue en MAS sin aplicación de AG₃, con un valor de 0,8 Kg m⁻².

El rendimiento de PE fue mayor en MAHI y MAS con un promedio de ambos de 1,8 Kg m⁻², respecto a OPHI y OPS ($p < 0,01$). No hay efecto significativo de los tratamientos en los genotipos (Figura 116).

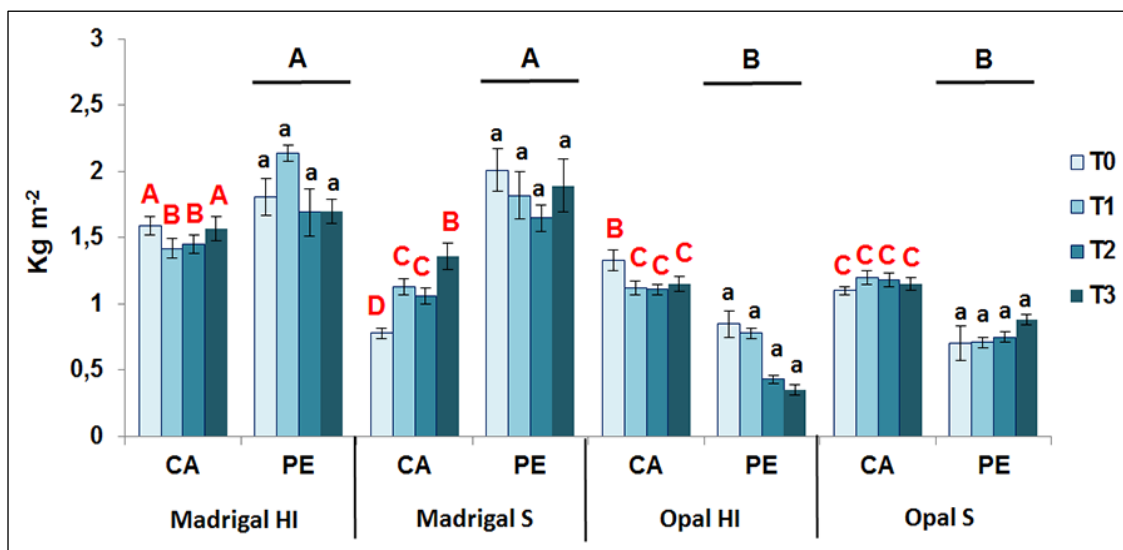


Figura 116: rendimiento en peso fresco, expresado en kg m⁻², de capítulos (CA) y planta entera (PE), de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Capítulos (CA): diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

Planta entera (PE): diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

3.2. Peso fresco del capítulo

El peso medio del capítulo primario fue mayor en GA y GU (363 y 349 g respectivamente), respecto a FRA con promedio de 205 g ($p < 0,01$). A su vez se observó efecto de los tratamientos sobre el peso medio, siendo mayor con T₀ y T₁, comparados con el resto ($p < 0,01$), (Figura 117).

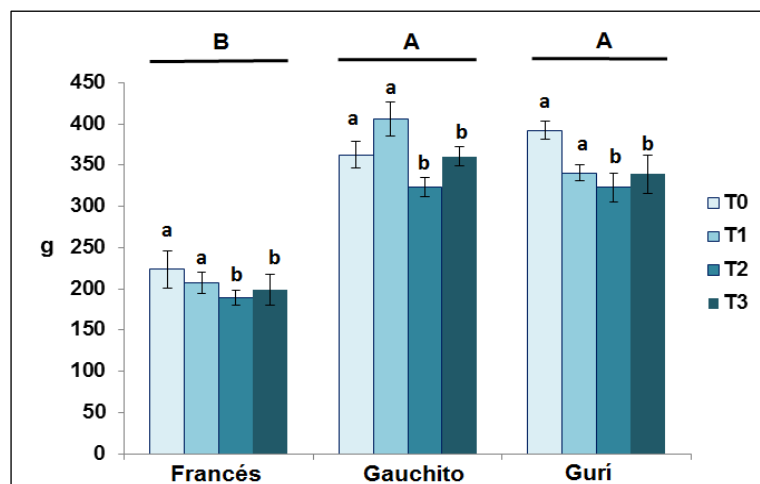


Figura 117: peso fresco, expresado en g, de capítulos **primarios** de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

En el grupo de los híbridos se observó interacción entre genotipos y tratamientos aplicados ($p < 0,05$), ya que estos tuvieron efecto diferente en cada genotipo (Figura 118). El mayor peso medio de capítulo primario se midió en MAHI con T₀, diferenciándose de MAHI T₁ a T₃, MAS T₃ y OPS con T₂ y a su vez del resto de combinaciones.

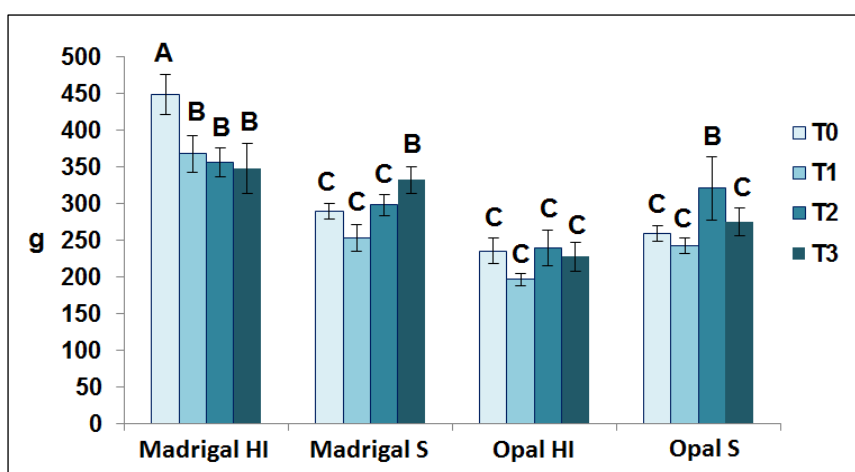


Figura 118: peso fresco, expresado en g, de capítulos **primarios** de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

3.3. Peso fresco de brácteas

El peso de una muestra de cada estrato de brácteas nos dio aproximadamente la participación de cada uno en el peso total del capítulo. En las BI se observaron diferencias entre genotipos ($p < 0,05$), con mayor peso en GU (43,5 g promedio), seguido de GA (32,6 g) y con menor valor en FRA (25,7 g), (Tabla 13).

En el estrato de BM hubo interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,05$), con el mayor peso observado en GA T₀, siguiendo T₁ a T₃; FRA T₀ y GU T₃, respecto al resto de combinaciones. En las BE también se establecieron interacciones ($p < 0,01$), con mayor peso en GA T₁ a T₃, luego T₀ y las demás combinaciones con los menores valores (Tabla 13).

Tabla 13: peso fresco, expresado en g, de 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de los genotipos Francés, Gauchito y Gurí, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones

Estrato	Tratamiento	Francés	Gauchito	Gurí
BI	T0	24,6 +-3,4	34,6 +-3,4	49,5 +-2,5
	T1	32,6 +-6,1	29,7 +-2,5	43,3 +-1,6
	T2	23,3 +-4,9	33,0 +-2,1	36,6 +-1,5
	T3	22,3 +-4,2	32,8 +-1,7	44,5 +-1,2
		C	B	A
Entre genotipos ($p < 0,05$)				
BM	T0	47,9 +-4,8 b	56,4 +-1,7 a	40,9 +-1,3 c
	T1	39,9 +-1,3 c	51,5 +-1,8 b	39,3 +-1,7 c
	T2	41,1 +-2,4 c	47,1 +-2,5 b	35,2 +-0,5 c
	T3	35,6 +-2,1 c	50,5 +-1,9 b	44,7 +-1,8 b
Interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,05$)				
BE	T0	21,9 +-2,6 c	27,2 +-1,2 b	17,4 +-0,9 c
	T1	18,1 +-1,7 c	31,8 +-0,7 a	17,8 +-1,1 c
	T2	20,8 +-1,7 c	31,3 +-1,3 a	16,9 +-0,6 c
	T3	17,4 +-0,7 c	33,1 +-1,1 a	20,9 +-1,2 c
Interacción entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$)				

Diferentes letras indican diferencias estadísticas entre genotipos (BI) y entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos (BM y BE), según el test DGC.

En los tres estratos de brácteas se establecieron interacciones entre genotipos y tratamientos, es decir que el efecto de las aplicaciones de AG₃, se expresó diferencialmente

en el peso de brácteas, en cada híbrido (Tabla 14). En BI los valores más elevados correspondieron a MAHI con los cuatro tratamientos, MAS con T₁ - T₃ y OPS con T₁ - T₂ (p<0,01), respecto al resto de combinaciones. En BM también el peso fue superior en MAHI con los cuatro tratamientos y MAS con T₃ (p<0,01), seguido de MAS T₁ - T₂, OPHI T₀ - T₂ y OPS T₀ - T₁, respecto al resto. En BE solamente MAHI con T₂ - T₃ presentaron los mayores valores, seguidos de MAHI T₀ - T₁, MAS T₁ al T₃ y OPS T₀ - T₁, respecto al resto de combinaciones (p<0,05).

Tabla 14: peso fresco, expresado en g, de 10 brácteas internas (BI), brácteas medias (BM) y brácteas externas (BE) de capítulos primarios de los genotipos Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀ - Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Estrato	Tratamiento	Madrigal H	Madrigal S	Opal H	Opal S
BI	T0	40,9 +3,9 a	23,4 +-2,4 b	30,6 +-5,1 b	33,5 +-1,9 a
	T1	41,5 +-2,3 a	36,8 +-3,9 a	25,1 +-3,9 b	31,9 +-4,5 a
	T2	36,2 +-1,7 a	28,5 +-1,1 b	27,7 +-1,8 b	28,2 +-2,2 b
	T3	35,9 +-4,3 a	43,9 +-5,0 a	15,4 +-3,3 b	29,8 +-1,7 b
Interacción entre genotipos y tratamientos (p<0,01)					
BM	T0	59,8 +-4,1 a	36,3 +-2,7 c	48,8 +-1,9 b	47,4 +-1,5 b
	T1	55,1 +-2,1 a	50,0 +-3,9 b	36,6 +-1,1 c	45,2 +-3,8 b
	T2	53,3 +-2,2 a	43,5 +-1,0 b	42,3 +-2,8 b	39,2 +-3,2 c
	T3	56,0 +-4,0 a	52,0 +-4,6 a	30,5 +-1,5 c	38,3 +-3,4 c
Interacción entre genotipos y tratamientos (p<0,01)					
BE	T0	25,0 +-1,1 b	19,9 +-1,3 c	19,3 +-0,9 c	22,7 +-1,1 b
	T1	23,1 +-1,1 b	22,6 +-2,1 b	16,0 +-1,3 c	22,9 +-1,5 b
	T2	28,5 +-1,5 a	24,2 +-1,5 b	19,1 +-1,9 c	20,1 +-1,4 c
	T3	28,5 +-1,4 a	24,1 +-2,8 b	18,9 +-1,5 c	19,9 +-1,0 c
Interacción entre genotipos y tratamientos (p<0,05)					

Diferentes letras indican diferencias estadísticas, dentro de cada variable, entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos, según el test DGC.

3.4. Peso seco del fondo, brácteas, hojas y planta entera

Los resultados en cuanto al peso seco del F, indicaron diferencias entre genotipos (p<0,01), con un promedio de 10,6 % de peso seco en FRA, seguido de 9,5% en GU y 8,5% en GA (Figura 119).

En las BI se observaron interacciones entre genotipos y tratamientos, presentando los mayores valores el cultivar FRA con T₁ (11,6%) y T₃, GA con T₀ y todo el genotipo GU, respecto al resto de combinaciones (p<0,01). Las mismas estuvieron en un rango de 9,5% en FRA T₁, hasta 8,5% de peso seco en GA T₃.

A su vez se hallaron interacciones en el peso seco de las H, con valores desde 17,4% a 15,9% en los genotipos FRA y GU con T₂ y T₃ (p<0,01). Le siguieron el resto de combinaciones, cuyo valor más bajo se midió en FRA con T₁.

En la Figura 119, se puede visualizar también que el porcentaje de peso seco en la PE, fue diferente entre los genotipos, siendo mayor en GU con 18,6%, seguido de FRA con 17,9 y GA con 15,3% (p<0,01).

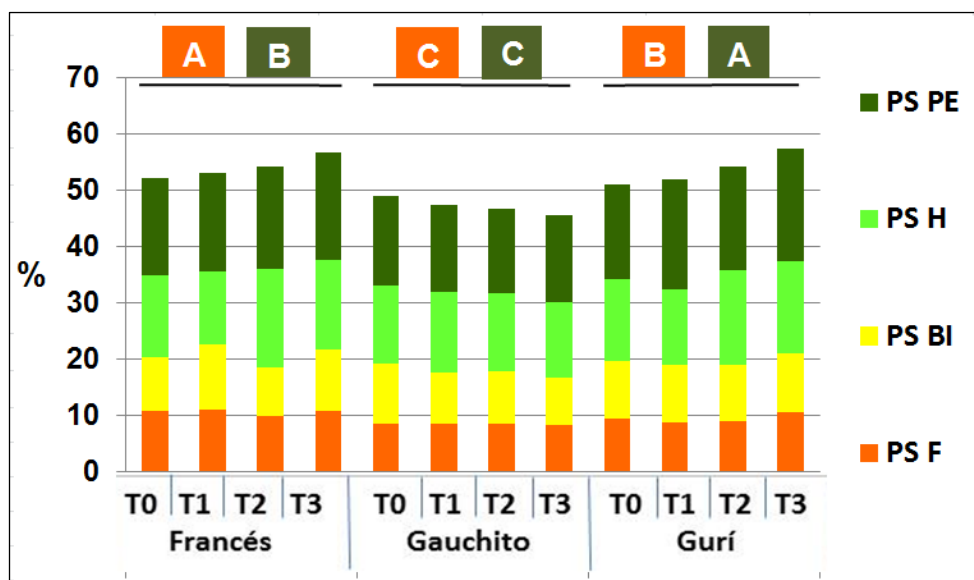


Figura 119: peso seco expresado en %, en fondo (F), brácteas internas (BI), hojas (H) y planta entera (PE), de capítulos **primarios** de los genotipos **Francés, Gauchito y Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre genotipos, dentro de cada variable al 5%, según prueba de DGC.

En el grupo de los genotipos híbridos, solamente se encontró diferencia entre los mismos en el peso seco del F (Figura 120), presentando el mayor valor OPHI, con un

promedio de 10,5%, seguido de MAHI y OPS (9,5%) y por último MAS con 8,9% de peso seco ($p < 0,01$).

En las demás partes de la planta evaluadas se observó interacción entre genotipos y tratamientos. En las BI el peso seco fue superior en MAS con T_0 , diferenciado de todo el resto de combinaciones ($p < 0,01$), las cuales van desde 10,5% en OPS T_3 hasta 8,1% en OPHI T_0 .

En las H el mayor peso seco se midió en los genotipos MAHI, MAS y OPHI tratados con $T_2 - T_3$, en un rango de 20,0 a 18,0%. Los menores valores se observaron en OPHI $T_0 - T_1$ y MAS T_1 , con un promedio de 12,0% de peso seco y las demás combinaciones con valores intermedios ($p < 0,01$).

El peso seco de la PE fue mayor en OPHI T_2 (22,0%) – T_3 (20,7%); OPS, MAHI con los cuatro tratamientos, OPHI y MAS con T_1 (15,0% promedio); todos diferenciados del resto de combinaciones ($p < 0,05$). El valor más bajo de 11,0% perteneció a MAS con T_2 (Figura 120).

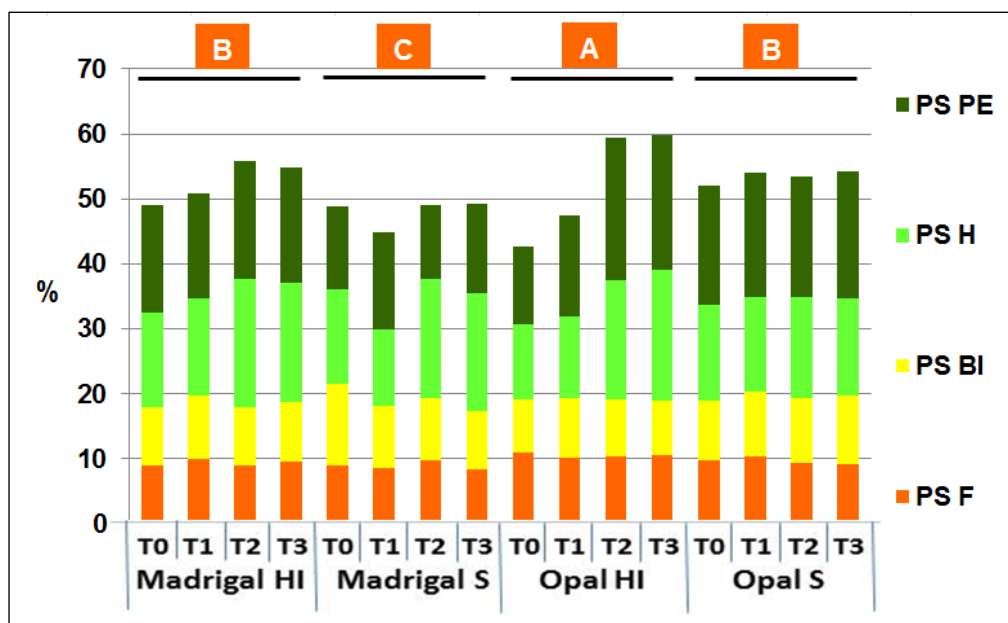


Figura 120: peso seco expresado en %, en fondo (F), brácteas internas (BI), hojas (H) y planta entera (PE), de capítulos **primarios** de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T_0 - Ninguna aplicación; T_1 - Una aplicación; T_2 - Dos aplicaciones; T_3 - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre genotipos al 5%, según prueba de DGC.

3.5. Número de capítulos por planta

El número de capítulos producidos por planta, pudo evaluarse en los genotipos GA y GU entre los cuales existió diferencias ($p < 0,05$), con promedios de 7,3 y 6,5 respectivamente. Los diferentes tratamientos con AG_3 no tuvieron influencia significativa en esta variable productiva (Figura 121).

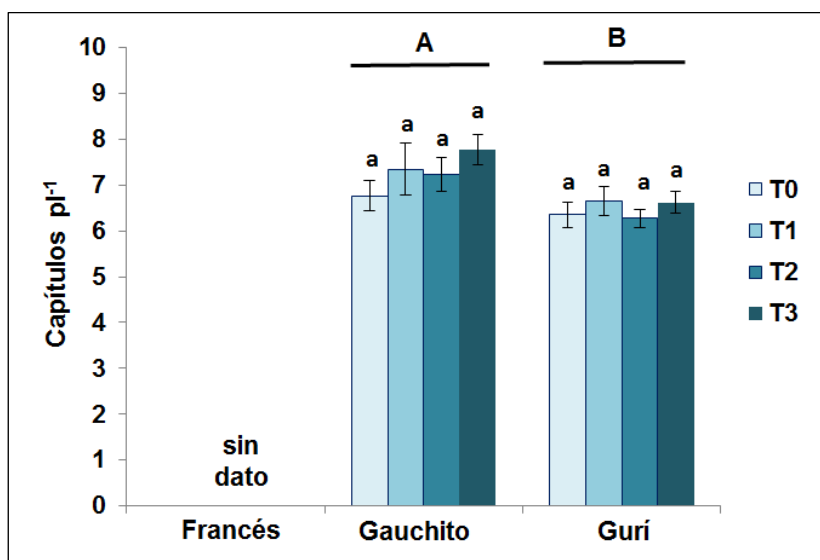


Figura 121: número de capítulos producidos por planta, de los genotipos **Francés**, **Gauchito** y **Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG_3). T₀-Ninguna aplicación; T₁ – Una aplicación; T₂ – Dos aplicaciones; T₃ – Tres aplicaciones. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

En los híbridos también se encontraron diferencias entre genotipos en cuanto al número de capítulos producidos ($p < 0,05$), siendo mayor en MAH (7,6), respecto al resto de cultivares, que en promedio dieron 6,5 capítulos (Figura 122). A su vez hubo diferencia entre los tratamientos aplicados, superando T₃ al resto ($p < 0,05$).

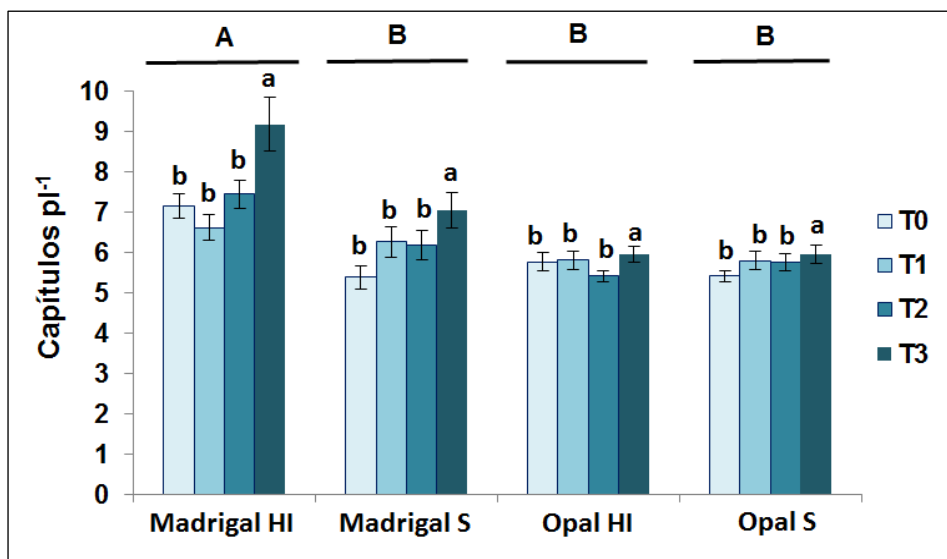


Figura 122: número de capítulos producidos por planta, de los genotipos **Madrigal** y **Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). Tratamientos: T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

3.6. Precocidad

Los genotipos se diferenciaron en su precocidad, siendo GU el más tardío ($p < 0,01$), con 77 días desde la primera aplicación de AG₃ a la cosecha del capítulo primario (Figura 123). A su vez se diferenciaron los tratamientos ($p < 0,01$), presentando mayor precocidad las plantas con los tratamientos de AG₃, con un promedio de 74 días respecto al testigo sin aplicación (79 días).

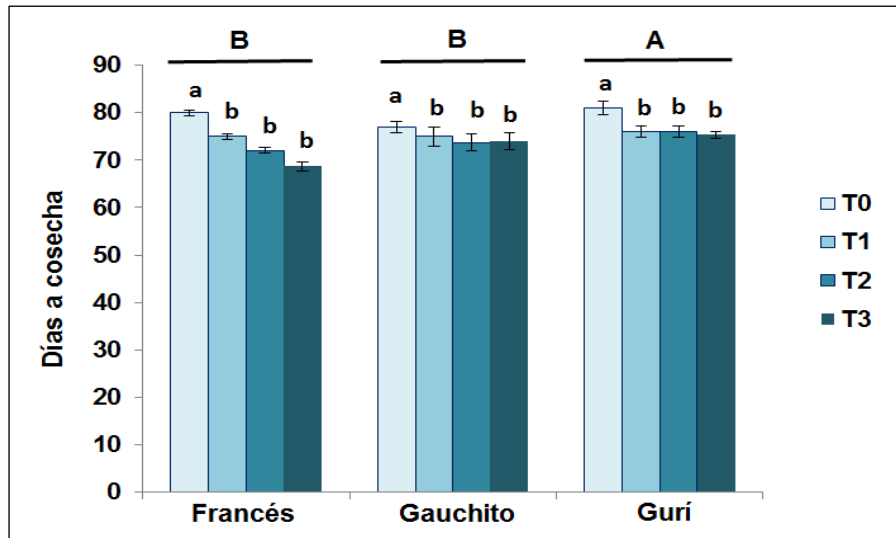


Figura 123: precocidad, días desde la primera aplicación de AG₃ a la cosecha del capítulo primario de los genotipos **Francés**, **Gauchito** y **Gurí**, con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre genotipos y minúsculas entre tratamientos al 5%, según prueba de DGC.

En los híbridos se generaron interacciones entre genotipos y tratamientos ($p < 0,01$), presentando menos días a cosecha el genotipo OPS con T₂ – T₃ (Figura 124), con un promedio de 56 días. El genotipo más tardío fue MAS con la aplicación de T₀ a T₂, mostrando una media de 88 días a la cosecha del capítulo primario.

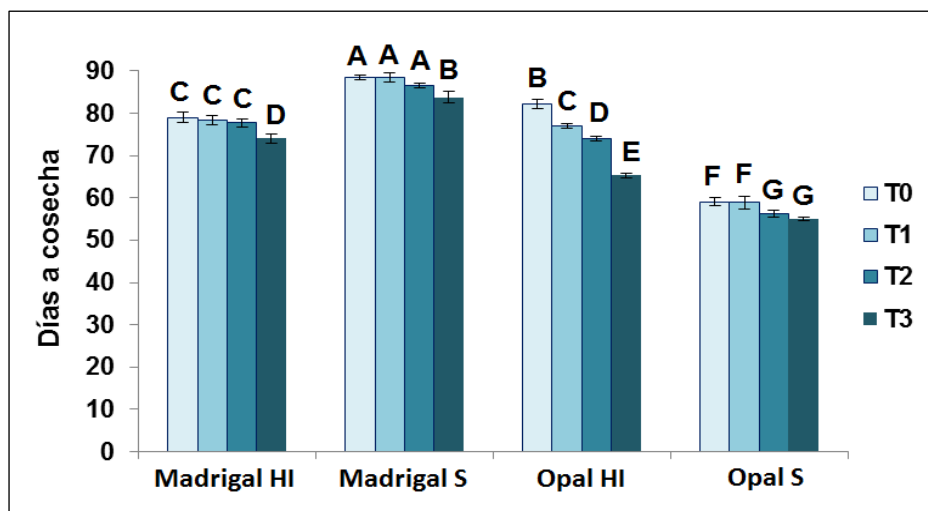


Figura 124: precocidad, días desde la primera aplicación de AG₃ a la cosecha del capítulo primario de los genotipos **Madrigal y Opal**, multiplicados por hijuelos (HI) y semillas (S), con diferentes tratamientos de ácido giberélico (AG₃). T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones. Diferentes letras indican diferencias entre medias para las combinaciones de genotipos y tratamientos al 5%, según el test DGC.

4. Análisis comparativo en Madrigal F1

Los resultados de comparar el mismo material genético vegetal de Madrigal F1 cultivado en 2015 a partir de semillas (MAS 15) y sus hijuelos extraídos y trasplantados durante el año 2016 (MAHI 16), se pueden observar en la Tabla 15. Algunas variables presentaron mayores valores en MAS 15 respecto a MAHI 16, como son la RAD del capítulo primario ($p < 0,01$) y peso seco del F ($p < 0,05$). En cambio, MAHI 16 presentaron mayores valores de ancho del F, menor pardeamiento del F (ΔL^*), menor contenido de fibra en BI y F, respecto a MAS 15. Así mismo, los tratamientos aplicados presentaron diferencias en los dos años consecutivos. Con T₂ y T₃, se observó un contenido más elevado de AC en las BI; a su vez todos los tratamientos de AG₃ disminuyeron el porcentaje de fibra en las BI respecto al testigo y con T₃ se halló el valor más bajo de fibra en el F ($p < 0,01$). Respecto al número de capítulos por planta, presentaron mayor valor los T₁ y T₂ ($p < 0,05$). También se encontraron interacciones entre el material vegetal y los tratamientos, aplicando T₂ en MAS 15 se obtuvo mayor contenido de AC en el F ($p < 0,01$) y con T₁ en MAHI 16, mayor AC y DCQ en las H. El T₀ y T₁ tuvieron efecto en MAHI 16, aumentando el peso medio del primer capítulo y el peso seco en BI. El rendimiento de capítulos fue superior con T₂ - T₃ en MAS 15 y con T₀ - T₃ en MAH 2016. Y por último todo el material vegetal de MAHI 16 fue más precoz que su planta madre 2015 ($p < 0,01$), (Tabla 15).

Tabla 15: Comparación del material genético vegetal de Madrigal F1 cultivado en 2015 a partir de semillas y sus hijuelos extraídos y trasplantados durante el año 2016. Referencias de las variables: BI (brácteas internas), F (fondo), H (hoja), CA (capítulo), AC (ácido clorogénico), DCQ (ácidos dicafeoilquínicos), RAD (relación alto/diámetro), DAC (días a cosecha). Tratamientos de ácido giberélico: T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂ - Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Variable	Madrigal semilla 2015				Madrigal hijuelo 2016				Material vegetal	Tratamiento	Interacción
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3			
AC F, mg kg ⁻¹	1192	992	2229	1553	461	654	366	460			**
AC BI mg kg ⁻¹	1373	1506	2755	2072	1167	1616	1829	2355		**	
AC H, mg kg ⁻¹	2506	2028	2240	1843	1296	3739	1607	1153			**
DCQ H mg kg ⁻¹	531	656	653	499	695	1724	652	409			*
Delta L* F	-11,0	-9,0	-9,8	-7,9	-6,9	-5,1	-6,0	-7,3	**		
Fibra F, %	5,1	4,9	4,3	3,6	2,3	2,1	2,4	1,8	**	**	
Fibra BI, %	5,8	4,2	2,9	3,3	2,5	2,5	2,3	2,1	**	**	
RAD del CA	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	0,9	1,0	0,9	**		
Ancho F, cm	5,1	4,9	5,6	4,9	6,3	5,9	5,9	5,8	**		
CA, Kg m ⁻²	1,4	1,4	1,7	1,7	1,6	1,4	1,5	1,6			*
Peso CA, g	251	248	271	273	425	453	360	385			**
p. seco F, %	16,0	16,7	16,0	16,8	9,0	9,9	8,9	9,6	*		
p. seco BI, %	14,7	13,9	10,4	10,4	9,1	9,8	9,0	9,2			**
N° CA pl ⁻¹	9,7	10,5	11,9	11,6	6,6	7,1	7,5	9,2	**	*	
DAC	177	173	135	126	77	79	81	74			**

* (p<0,05); ** (p<0,01).

Para evaluar la forma de multiplicación por semilla en dos años consecutivos, se comparó MAS 15 versus MAS 16. En la tabla 16 se puede observar la significancia estadística entre años, entre tratamientos y la interacción de ambos factores. El efecto del año de cultivo se expresó en cuatro variables, contenido de AC en las H, fibra y peso seco en el F y número de capítulos por planta, presentando el año 2015 el mayor valor en todos los casos (p<0,01). A su vez los tratamientos influyeron de la misma manera en ambos años, con T₀ y T₁ se midió el mayor contenido de fibra en el F (p<0,01). Con T₀ también se halló mayor porcentaje de peso seco en las BI respecto al resto y con todos los tratamientos de AG₃ se logró mayor número de capítulos, respecto al testigo (p<0,01). En todas las demás variables, excepto contenido de DCQ en H, los tratamientos tuvieron diferente efecto según los años de cultivo. Aplicando T₂ y T₃ en MAS 15, se obtuvo mayor contenido de AC en las BI, RAD del capítulo y rendimiento de capítulos por unidad de superficie (p<0,01).

Con T₃ en MAS 16, se observó el menor pardeamiento del F y mayor peso medio del capítulo primario (p<0,01) y a su vez con T₀ se observó el mayor contenido de fibra en BI, respecto al resto de combinaciones. Aplicando T₂ en MAS 15 y T₁ - T₃ en MAS 16, el ancho del F fue mayor (p<0,01). En el cultivo 2016 se obtuvo mayor precocidad, pero los tratamientos no se diferenciaron entre sí y en el 2015 el T₃ fue el más precoz (Tabla 16).

Tabla 16: Comparación de la multiplicación por semilla de Madrigal F1 cultivado en 2015 y 2016. Referencias de las variables: BI (brácteas internas), F (fondo), H (hoja), CA (capítulo), AC (ácido clorogénico), DCQ (ácidos dicafeoilquínicos), RAD (relación alto/diámetro), DAC (días a cosecha). Tratamientos de ácido giberélico: T₀-Ninguna aplicación; T₁ - Una aplicación; T₂- Dos aplicaciones; T₃ - Tres aplicaciones.

Variable	Madrigal semilla 2015				Madrigal semilla 2016				Año	Trata- miento	Inter- acción
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3			
AC F, mg kg ⁻¹	1192	992	2229	1553	696	341	447	650			*
AC BI mg kg ⁻¹	1373	1506	2755	2072	1411	1247	992	523			**
AC H, mg kg ⁻¹	2506	2028	2240	1843	1081	936	1722	1462	**		
DCQ H mg kg ⁻¹	531	656	653	499	490	473	721	607			ns
Delta L* F	-11,0	-9,0	-9,8	-7,9	-10,4	-10,4	-7,8	-5,1			**
Fibra F, %	5,1	4,9	4,3	3,6	3,5	2,8	2,3	2,3	**	**	
Fibra BI, %	5,8	4,2	2,9	3,3	3,1	3,4	2,9	2,5			*
RAD del CA	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	0,9	1,0	0,9			**
Ancho F, cm	5,1	4,9	5,6	4,9	5,2	5,8	5,5	5,9			**
CA, Kg m ⁻²	1,4	1,4	1,7	1,7	0,8	1,1	1,1	1,4			**
Peso CA, g	251	248	271	273	290	254	298	333			**
p. seco F, %	16,0	16,7	16,0	16,8	9,0	8,6	9,8	8,2	**		
p. seco BI, %	14,7	13,9	10,4	10,4	12,6	9,5	9,6	9,1		**	
N° CA pl ⁻¹	9,7	10,5	11,9	11,6	5,4	6,3	6,2	7,0	**	**	
DAC	177	173	135	126	88,4	88,3	86,5	84			**

* (p<0,05); ** (p<0,01); ns (no significativo)

Para evaluar el comportamiento de las dos formas de multiplicación del híbrido Madrigal F1 en las condiciones de un mismo año de cultivo, se compararon MAHI y MAS cultivados en 2016 (Tabla 17). En este caso se observó que la forma de multiplicación tuvo influencia solamente en tres variables y a favor de los hijuelos. En MAHI el contenido de fibra en el F fue menor y se observó mayor ancho de F y número de capítulos por planta. A su vez los tratamientos impactaron de la misma manera en las formas de multiplicación en dos

variables, siendo menor el contenido de fibra en el F cuando se aplicaron T₁ a T₃. Presentaron mayor número de capítulos, las plantas con aplicación de T₃ (p<0,05).

Por otro lado, los tratamientos influyeron de manera diferente en cada forma de multiplicación, por ejemplo con la aplicación de T₃ en MAHI se observó mayor contenido de AC en las BI y con T₁ mayor AC - DCQ en las H (p<0,01). A su vez, con T₁ y T₀ en MAHI el capítulo primario fue más pesado y aplicando T₃, se logró mayor precocidad, respecto al resto de combinaciones. Por otro lado, con T₁ - T₃ en MAHI y T₂ en MAS, se halló mayor peso seco en el F. Con todos los tratamientos en MAH y con T₃ en MAS, se logró el mayor rendimiento de capítulos (p<0,01). Por último, en el testigo de MAS se observó mayor peso seco de BI y aplicando T₁ - T₀ en MAS, se pardeó menos el F del capítulo (p<0,01), (Tabla 17).

Tabla 17: Comparación de las dos formas de multiplicación, hijuelo y semilla de Madrigal F1 cultivado en 2016. Referencias de las variables: BI (brácteas internas), F (fondo), H (hoja), CA (capítulo), AC (ácido clorogénico), DCQ (ácidos dicafeoilquínicos), RAD (relación alto/diámetro), DAC (días a cosecha). Tratamientos de ácido giberélico: T₀-Ninguna aplicación; T₁- Una aplicación; T₂- Dos aplicaciones; T₃- Tres aplicaciones.

Variable	Madrigal hijuelo 2016				Madrigal semilla 2016				Forma Multipl.	Trata- miento	Inter- acción
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3			
AC F, mg kg ⁻¹	461	654	366	460	696	341	447	650			ns
AC BI mg kg ⁻¹	1167	1616	1829	2355	1411	1247	992	523			*
AC H, mg kg ⁻¹	1296	3739	1607	1153	1081	936	1722	1462			**
DCQ H mg kg ⁻¹	695	1724	652	409	490	473	721	607			**
Delta L* F	-6,9	-5,1	-6,0	-7,3	-10,4	-10,4	-7,8	-5,1			**
Fibra F, %	2,3	2,1	2,4	1,8	3,5	2,8	2,3	2,3	**	**	
Fibra BI, %	2,5	2,5	2,3	2,1	3,1	3,4	2,9	2,5			ns
RAD del CA	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0	0,9			ns
Ancho F, cm	6,3	5,9	5,9	5,8	5,2	5,8	5,5	5,9	*		
CA, Kg m ⁻²	1,6	1,4	1,5	1,6	0,8	1,1	1,1	1,4			**
Peso CA, g	425	453	360	385	290	254	298	333			**
p. seco F, %	9,0	9,9	8,9	9,6	9,0	8,6	9,8	8,2			*
p. seco BI, %	9,1	9,8	9,0	9,2	12,6	9,5	9,6	9,1			*
N° CA pl ⁻¹	6,6	7,1	7,5	9,2	5,4	6,3	6,2	7,0	**	*	
DAC	77	79	81	74	88,4	88,3	86,5	84			*

* (p<0,05); ** (p<0,01); ns (no significativo)

Antes de continuar con la discusión de los resultados obtenidos, cabe destacar que por primera vez se estudió la composición química de los cultivares FCA y de los híbridos extranjeros en las condiciones regionales y las demás variables evaluadas, con diferentes tratamientos de AG₃. De esta manera se abrió un amplio campo para seguir investigando.

DISCUSIÓN

El análisis de los resultados indica que las producciones vegetales en sistemas intensivos están influenciados por múltiples factores y condiciones. Tanto los resultados generales como los particulares podrán servir de base para ajustar los manejos en las explotaciones hortícolas y para continuar con investigaciones en diversas direcciones.

Respecto a la medición de compuestos químicos en extractos metanólicos, partiendo de material fresco, en las distintas partes estudiadas se encontraron diferencias en el contenido de ácido clorogénico (AC) entre los cultivares. Se destacó GU por su mayor contenido en las H con un valor del 66% y 188% superior al encontrado en FRA y GA respectivamente. En el F del capítulo de alcaucil, FRA y GU superan en 110% al valor encontrado en GA. En BI el cultivar FRA presentó 40% más de AC que los otros genotipos. En el contenido de ácidos dicafeoilquínicos (DCQ y CIN), no se observó influencia de los genotipos. Los tratamientos no tuvieron efecto significativo en ninguno de los compuestos químicos medidos en las diferentes partes de la planta.

En cambio, los tratamientos con ácido giberélico (AG₃) en los híbridos multiplicados por semillas e hijuelos, tuvieron diferente efecto según el genotipo. En los extractos metanólicos de H en estado fresco, el mayor contenido de AC lo presentó MAHI con T₁, con valores muy distantes a los más bajos detectados en OPHI con T₃ y en OPHI testigo. En las BI, los mayores valores se detectaron en OPHI T₁-T₂ y OPS T₀. Esto representó también una diferencia significativa respecto a los de menor contenido, que se dieron en MAS con todos los tratamientos y en MAHI T₀ - T₁. En el F del capítulo, no hubo interacciones. A su vez se halló interacción entre genotipos y tratamientos en el contenido de DCQ en las H, principalmente por el valor superior de MAHI con T₁, significando un incremento del 99% respecto a OPHI T₂ y 333% a OPHI T₀. En las mediciones de CIN en BI, las interacciones se presentaron en MAHI con T₂-T₃, OPS T₀ - T₁ y OPHI T₂ con valores desde 71 a 63 mg Kg⁻¹ de peso fresco. En el F del capítulo, la CIN no fue detectada.

El contenido de los extractos metanólicos y etanólicos de la PE en estado fresco no pudo analizarse estadísticamente en las condiciones experimentales empleadas. La misma situación se registró en los extractos de H y PE a partir de material seco de los tratamientos T₀ y T₃.

En definitiva, se pudo observar que en los cultivares las mayores diferencias en el contenido de compuestos químicos, específicamente el AC, están dadas por la influencia del material genético como fue mencionado en la sección de Introducción y Discusión del capítulo I, en base a numerosas investigaciones en otros países. Se destacó GU por su mayor contenido de AC en H, FRA en las BI y ambos en el F. En cambio, en los híbridos, el número de aplicaciones de AG₃ tuvo incidencia diferente en cada material genético, presentando MAHI con T₁ el mayor contenido de AC en H. En las BI, fue en OPHI T₁-T₂ y OPS T₀. Respecto a los DCQ en las H, fue superior en MAHI con T₁ y la CIN en BI, MAHI con T₂-T₃, OPS con T₀-T₁ y OPHI T₂.

Si bien no se pueden comparar estos resultados a nivel regional por no existir antecedentes, es interesante destacar que la aplicación de AG₃ permitió mantener el contenido de principios activos y en algunos casos aumentarlos, es decir que la práctica frecuentemente manejada por los productores para lograr precocidad no va en detrimento de la composición química de cafeoilquínicos. Con una o dos aplicaciones de AG₃ se pudieron alcanzar, en algunos casos, mayores niveles de fenoles. Otro aspecto importante es que las hojas, consideradas desecho luego de la cosecha total de capítulos, puedan ser utilizadas para la extracción de compuestos agregando valor al destino del cultivo y constituyendo una ventaja para el productor de alcaucil en su doble propósito. Por último, en el caso de los híbridos, en la mayoría de los casos se mantuvo o se incrementó el contenido de principios activos, utilizando un hijuelo de plantas del año anterior que habían partido de semilla.

Continuando con la composición química, los resultados de flavonoides, también expresaron diferencias entre cultivares para algunos compuestos. El genotipo FRA presentó un 121% más de Miricetina (MIRIC), respecto a GA y GU en las BI. Y a su vez, GA tuvo un 61% más de apigenina (APIG) que FRA y 10% más que GU. En el F del capítulo, no se observaron diferencias para MIRIC. Los valores detectados de quercetina (QUER) y

luteonina (LUT) en el F fueron muy pequeños y el contenido de APIG varió desde 3,3 mg Kg⁻¹ de peso fresco en GA con T₂ hasta 4,9 mg Kg⁻¹ en FRA con T₃.

En los híbridos también se encontraron diferencias entre genotipos para algunos compuestos. Por ejemplo, OPHI tuvo 20,3 mg Kg⁻¹ de peso fresco de MIRC en BI, siendo un 87% superior a OPS, 109% a MAHI y 243% a MAS. También MAHI presentó 9,1 mg Kg⁻¹ de APIG, superando en un 36% al resto de genotipos. En el F del capítulo, OPHI presentó MIRC con un 46% más que el resto de genotipos. Y además se observaron diferencias entre tratamientos, presentando T₀ un valor de 7,5 mg Kg⁻¹ (19% superior al resto). En base a los resultados encontrados se puede definir que, en cuanto al contenido de algunos flavonoides, en particular MIRC y APIG, el mayor efecto fue de los genotipos tanto para cultivares como para híbridos, en BI y F.

Respecto a la presencia de flavonoides en la PE a partir de material fresco, se puede destacar solamente APIG. No hubo diferencias significativas y los valores encontrados en los cultivares fueron de 11,8 mg Kg⁻¹ de peso fresco en FRA, 9,4 mg Kg⁻¹ en GU y 5,7 mg Kg⁻¹ en GA. En los híbridos el contenido medido fue de 8,17 mg Kg⁻¹ de peso fresco en OPS; 6,5 mg Kg⁻¹ en MAHI; 4,8 mg Kg⁻¹ en OPHI y 4,4 mg Kg⁻¹ en MAS. Es muy importante destacar que, gracias a un trabajo colaborativo, se pudieron medir los flavonoides más importantes presentes en las diferentes partes de la planta de alcaucil, tanto en cultivares FCA como en híbridos comerciales, en las condiciones locales.

Respecto a la evaluación del pardeamiento del F en un tiempo establecido desde su corte, se determinó que los tratamientos de AG₃, interaccionaron según los cultivares entre los cuales se destaca GU con T₀ por presentar el mayor valor negativo (-12,1), indicando que se oscureció más que todo el resto de combinaciones. Dentro de esta variación los valores van de -8,1 en GU T₃ hasta -5,3 en GA T₁. En cambio, en los híbridos no se observó diferencias entre tratamientos o genotipos y tampoco interacciones. Los valores tienen un rango desde -13,1 observado en OPHI T₂ hasta -5,1 en MAS con T₃. Solamente el genotipo MAS tuvo un comportamiento similar respecto a los tratamientos, como se observó sobre el cultivo de Madrigal del año anterior, en valores absolutos (sección 4.1.2 del capítulo II). Las demás combinaciones de híbridos con sus formas de multiplicación y los tratamientos, presentaron diferente resultado.

Por otro lado, respecto al contenido de fibra en las diferentes partes de la planta, los cultivares mostraron diferencias en las BI, donde FRA presentó 2,4% de fibra, que equivale a un 45% menos que GU y 25% menos que GA. En la PE el % de fibra fue similar en todos los genotipos (11,0% en promedio). Los tratamientos de AG₃ no tuvieron incidencia significativa en los mismos, pero en los híbridos evaluados, con ambas maneras de multiplicación, se observaron diferencias entre genotipos y entre tratamientos, en F y BI. Se destacaron MAHI y OPS por contener menos fibra en el F (2,1% y 2,0%) y los tratamientos T₁ a T₃ disminuyeron en un 22% el contenido de fibra respecto al testigo. Así mismo MAHI, MAS y OPHI (2,6% promedio), tuvieron un 36% menos de fibra en las BI respecto a OPS; al mismo tiempo que T₂ y T₃ disminuyeron en 21% el contenido de fibra respecto a los demás tratamientos. Si bien los resultados de los cultivares no son comparables con los obtenidos en el capítulo I porque no se aplicaron los mismos tratamientos, se pudo observar que hubo disminución en el contenido de fibra de BI de capítulos primarios y secundarios de GA y GU en respuesta al AG₃ (sección 1.2 de Resultados del capítulo I). Y respecto a los híbridos, en los experimentos con los mismos tratamientos de AG₃ en un cultivo de Madrigal durante la cosecha 2015, se midió una disminución del 50% en el contenido de fibra en BI de capítulos primarios y secundarios (sección 1.2 de Resultados del capítulo II). Por último, en la fibra insoluble presente en la PE se observó interacción entre genotipos y tratamientos, destacándose a las combinaciones de mayor contenido, como fueron OPHI T₂ y T₃; OPS con T₀ a T₂ y MAHI con T₃, respecto al resto.

En definitiva, en los cultivares, no hubo impacto significativo de los tratamientos de aplicación de AG₃ sobre el contenido de fibra y los genotipos se diferenciaron solamente en las BI. En cambio, en los híbridos tienen influencia ambos factores. La respuesta genotípica puede ser propia de cada uno y la respuesta a los tratamientos de AG₃, fue similar a la observada en el cultivo de Madrigal en la campaña anterior, discutida en la sección 5 del capítulo II, aumentando la palatabilidad de las partes comestibles. Una ventaja adicional del uso de la biomasa residual es que se contribuiría al cuidado y la conservación del medioambiente y podría usarse como fuente de fibra.

En cuanto a la forma del capítulo (relación alto/diámetro o RAD), los resultados indicaron que las diferencias se establecieron por la forma normalmente más alargada de FRA y GU respecto a GA y los tratamientos de AG₃ no influyeron notoriamente en la forma del capítulo. La forma de los tres estratos de brácteas, presentó resultados variables en cada uno, en cuanto a la relación alto/ancho (RAA) de las mismas, pero no afectaron la forma característica de cada genotipo. En el grupo de los híbridos, se encontraron

interacciones en la forma del capítulo entero y los tres estratos de brácteas, pero de la misma manera que en los cultivares, los tratamientos no afectaron de forma notoria, la forma regular del capítulo de cada genotipo, aspecto importante para la comercialización de la hortaliza. Respecto al capítulo, el genotipo OPHI tratado con T₁ y T₂ fueron los de mayor RAD, 1,1 en promedio. El resto de combinaciones estuvieron en el rango desde 1,0 en MAHI con T₂ hasta 0,9 en OPS T₂.

La RAA de los tres estratos de brácteas presentaron interacción entre genotipos y tratamientos aplicados ($p < 0,01$). En las BI, la RAA mayor se observó en MAHI con T₀ y T₁, seguidos del resto que se distribuyó en un rango de 2,0 en MAHI con T₂ hasta 1,5 en OPS con T₁. Otros autores, en el sur de Italia, han determinado aumento lineal en la RAD del capítulo del híbrido Orlando F1, como consecuencia del adelanto en producción al aplicar AG₃, pero ese incremento fue leve en cosechas tempranas de febrero-marzo y marzo-abril. A su vez, la variación de la RAD de capítulos de Violeta de Sicilia no superó el 10% y no fue lineal, al adelantar la temporada de cosecha (Mauromicale y Ierna, 2000).

Otra característica a tener en cuenta es la coloración de los capítulos, en la cual todos los tratamientos de aplicación de AG₃ tuvieron efecto significativo en las BE de FRA, tornándolas amarillentas y verdosas. Así también en GA las BM y BE fueron verdes más claras respecto al testigo. En el genotipo GU, tanto T₃ como T₀ tornaron más verdosas a las BM y con T₃ las BE, presentaron color verde respecto al violeta de los demás tratamientos. Los híbridos presentaron diferencias con T₃, en las BM de MAHI, las cuales fueron verdes más claras. En cambio, en las BM de MAS y en BM - BE de OPS, aplicando T₃ fueron verde más oscuro respecto a los otros tratamientos.

En relación a la morfología del capítulo, el F es una parte fundamental y en las mediciones realizadas se observó interacción entre genotipos y tratamientos en el ancho del mismo, presentando los mayores valores el genotipo GA con todos los tratamientos; FRA con T₃ y GU con T₀. A su vez MAHI y MAS con todos los tratamientos, OPHI con T₀ y OPS con T₃, respecto al resto de combinaciones. En cambio, en el alto del F se hallaron diferencias entre genotipos, destacándose GA, GU y MAHI. La forma y coloración del capítulo son aspectos importantes tanto en su comercialización en fresco, como en su procesamiento industrial. Tanto es así que, en la introducción de genotipos multiplicados por semilla en la zona más importante de España, Andújar Sánchez et al (2005) evaluaron a Madrigal y Opal entre otros, junto al cultivar Blanco de Tudela de reproducción agámica. En

ese estudio, Madrigal presentó una forma esférica ovoidal, compacta, con brácteas gruesas y algo compactas, receptáculo más ancho, cuadrado y alto que Blanca de Tudela. Tiene un cierre triangular en punta y sin coloración, con parte comercial más alargada, que le dan un elevado peso específico al capítulo y se destaca por ser de un color ligeramente oscuro y brillante. El híbrido Opal se evaluó de color violeta claro, con un veteado verde, muy parecido al cultivar Violeta de Provenza, aunque de calibre algo mayor y más puntiagudo; con forma alargada medio compacta similar a Blanca de Tudela y brácteas hendidas, cierre con ligera apertura apical. Brácteas internas ligeramente violáceas, muy carnosas y alargadas hacia el ápice, receptáculo más cuadrado y alto que Blanca de Tudela (Andújar Sánchez et al., 2005).

En el caso de los cultivares GA y GU Los genotipos y tratamientos no tuvieron influencia significativa en el rendimiento de capítulos de alcaucil por unidad de superficie, los cuales presentaron un promedio de $1,5 \text{ kg m}^{-2}$. En cambio, en los híbridos, las aplicaciones de AG_3 tuvieron efecto diferente en los genotipos, por ejemplo MAHI presentó mayor rendimiento con T_0 y T_3 ($1,6 \text{ Kg m}^{-2}$ de promedio), dado mayormente por el mayor peso fresco del capítulo primario en el primer caso y por un mayor número de capítulos por planta en el segundo. En MAS con T_3 se observó mayor rendimiento respecto a los demás tratamientos por ambos factores nombrados anteriormente. Baixauli et al., (2020) evaluaron en Valencia, España, 14 genotipos multiplicados por semilla y dos por hijuelos (Blanco de Tudela y Violeta de Provenza), con tres aplicaciones de AG_3 de 30 ppm, dos en septiembre y una en octubre, equivalente al otoño de nuestra zona, aproximadamente. Considerando solamente a los híbridos estudiados en esta tesis y los dos cultivares, los autores mencionados determinaron un rendimiento primaveral total para Madrigal de $1,6 \text{ kg m}^{-2}$, superior a Opal ($0,9 \text{ kg m}^{-2}$), Blanco de Tudela ($0,9 \text{ kg m}^{-2}$) y Violeta de Provenza ($1,0 \text{ kg m}^{-2}$). Si bien no se pueden comparar distinto número de aplicaciones de AG_3 , se puede evaluar la respuesta de los genotipos híbridos y los cultivares FCA, respecto al nivel de rendimiento en las condiciones locales, para épocas similares a las ensayadas en España. El rendimiento de los genotipos estuvieron acordes con los logrados en el mencionado estudio.

Por otro lado, los tratamientos no tuvieron impacto en el rendimiento de PE y las diferencias encontradas fueron entre genotipos. Analizando los cultivares, GA presentó los mayores valores ($2,4 \text{ Kg m}^{-2}$) y entre los híbridos, MA en sus dos formas de multiplicación, llegaron a un promedio $1,8 \text{ Kg m}^{-2}$. El rendimiento de la biomasa restante luego de la cosecha, en muchos casos puede estar relacionado al tamaño que la planta alcanzó durante

su desarrollo y aunque no fue medido, se observó durante el cultivo, el mayor volumen y robustez de GA y MA. En la investigación citada anteriormente de Baixauli et al. (2020) se midió la altura de las plantas, diferenciándose Madrigal que llegó a 1,6 m, respecto de Opal con 1,3 m y de los cultivares que solamente midieron 1,0 m. A su vez, Peil y Gálvez (2005) mencionaron que el rendimiento de un cultivo viene dado por la capacidad de acumular biomasa fresca y seca, en los órganos que se cosechan y un incremento proporcional de la misma, garantiza un aumento incremento del rendimiento.

Un componente importante del rendimiento en alcaucil, es el peso medio del capítulo primario. El genotipo influyó en el mismo, por ejemplo GA fue un 77% mayor y GU un 70%, respecto a FRA y los tratamientos también tuvieron incidencia, presentando mayor peso con T₀ y T₁, comparados con el resto, disminuyendo en promedio más del 10%. En el grupo de los híbridos, los tratamientos de AG₃ tuvieron efecto diferente en cada uno. El mayor peso medio de capítulo primario se midió en MAHI con T₀, diferenciándose de MAHI T₁ a T₃ (disminución del 20%), MAS T₃ y OPS con T₂ y a su vez del resto de combinaciones. A su vez se observó que en OHI el peso fresco del primer capítulo no fue afectado por los tratamientos y que en MAS con T₃ y OPS con T₂, se observó un aumento del 19% y 24% respectivamente, dentro de cada genotipo. Salvando las diferencias en los experimentos, Mauromicale e Ierna (2000), en Siracusa y Catania, Italia, evaluaron el híbrido Orlando F1, con dos y tres aplicaciones de AG₃ (60ppm) y observaron disminución del peso en los capítulos primarios en ambas localidades. Con tres aplicaciones la disminución fue del 45% y 32% respectivamente. En Catania también se evaluó al cultivar Violeta de Sicilia y no se observó disminución del peso con las aplicaciones de AG₃. Es importante destacar que en los experimentos de la tesis se alcanzó un promedio de 363 g para el peso medio de GA y 380 g en MAHI, mientras que, en los trabajos citados del sur de Italia, el genotipo de multiplicación vegetativa no superaba 150 g y el híbrido 230 g de peso medio del capítulo primario.

Analizando el efecto de los genotipos y tratamientos en las dos variables citadas anteriormente, para relacionarlas con la proporción de peso seco en las diferentes partes comestibles, observamos que no siempre a un mayor rendimiento en fresco, le correspondió un mayor peso seco. En general GA, GU y MAHI, que presentaron mayor rendimiento fresco y peso medio del capítulo entero, fueron superados en el peso seco del F por FRA y OPHI. Por otro lado, los tratamientos interaccionaron con los genotipos en las BI y ocurrió un comportamiento similar, por ejemplo MAS con T₀, que presentó valores bajos de peso medio

fresco del capítulo y de BI, llegó a los valores superiores de peso seco en ese estrato de brácteas (12,6%), diferenciado de todo el resto de combinaciones, las cuales llegaron a 8,1% en OPHI T₀. La distribución de materia seca entre los diferentes órganos de la planta tiene un papel fundamental en la producción de un cultivo ya que los asimilados producidos por la fotosíntesis en los órganos de origen (principalmente las hojas), pueden ser almacenados o distribuidos vía floema entre los diferentes órganos de destino (Peil y Gálvez, 2005). La mayor acumulación de materia seca se presenta en el follaje, aproximadamente el 65,0% del total de la planta ya que es el responsable de consolidar nutricionalmente a la misma y un 13,0% correspondería a los capítulos (Gutiérrez, 2011). Los experimentos de la tesis se plantearon dando prioridad a la producción de capítulos, pero también como un cultivo de doble propósito, los valores de peso seco de H y PE son de importancia para el manejo de los subproductos. La aplicación de T₂ y T₃ permitió obtener los mayores valores de peso seco en las H, tanto en los cultivares FRA y GU (17,4% a 15,9%), como en los híbridos MAHI, MAS y OPHI, en un rango de 20,1 a 18,2%. Respecto a la PE se diferenciaron los genotipos, alcanzando 18,6% en GU y 17,9% en FRA. En los híbridos aplicando T₂ y T₃, se observaron los mayores valores de peso seco (22,0 y 20,7%).

Los genotipos influyeron en el número de alcauciles producidos por planta, destacándose GA con 12% más que GU y MAHI con valores superiores en un 23% respecto a MAS y 32% respecto al genotipo OP. Los tratamientos de AG₃ no tuvieron incidencia en los cultivares, en cambio en los híbridos la aplicación de T₃ superó al resto, diferencia más notoria en MA. Es decir que con T₃ el número de alcauciles por planta fue 30% superior respecto a los demás tratamientos en MAHI; un 18% en MAS y solamente un 4% en el genotipo OP en sus dos formas de multiplicación. El número de capítulos y el peso medio de los mismos, son las variables que más influyen en el rendimiento, por ejemplo en los híbridos los mayores valores del mismo se observaron en MAHI con T₀ por un mayor peso medio del capítulo primario y con T₃ dado por un mayor número de capítulos por planta. En cambio, en MAS se obtuvo mayor rendimiento con T₃ por la influencia de ambos factores de producción.

Los genotipos también se diferenciaron en su precocidad, siendo FRA y GA más precoces que GU. A su vez se diferenciaron los tratamientos, presentando menor cantidad de días desde la primera aplicación de AG₃ y la cosecha del primario con T₃. La disminución de ese tiempo con T₃ fue del 10% en FRA, 6% en GU y 4% en GA. En los híbridos los tratamientos actuaron de forma diferencial sobre los genotipos. El genotipo más precoz fue

OPS cuando se lo trató con $T_2 - T_3$, con un promedio de 56 días. El más tardío fue MAS con la aplicación de T_0 a T_2 , mostrando una media de 88 días a la cosecha del capítulo primario, es decir que con T_3 se logró disminuir ese tiempo en un 4%. Las condiciones climáticas en las cuales se desarrolló el cultivo 2016, quizás no permitieron lograr mayor precocidad, sumado al retraso en la aplicación de los tratamientos. Durante el período invernal se registraron mayor número de heladas y temperaturas más bajas durante junio y julio, comparadas con años anteriores. De esta manera el crecimiento pudo haber sido menor y por otro lado la inducción a floración se pudo haber dado naturalmente en los testigos, notándose en menor medida el efecto del AG_3 . Baixauli Soria et al. (2014), citan que con el ácido giberélico se consigue, en algunos cultivares, una inducción floral como si se hubieran sometido las plantas a un período de bajas temperaturas y en otros cultivares se produce solamente una mayor rapidez en el alargamiento del escapo, una vez se ha producido la inducción floral, por las condiciones ambientales. Al mismo tiempo Giner Martorel y Baixauli Soria (2015) sugieren que la dosis de AG_3 debe ajustarse a cada genotipo, ya que no todos responden adecuadamente a las mismas concentraciones.

A modo de síntesis de todos los resultados obtenidos bajo las mismas condiciones y tratamientos, resulta interesante remarcar la riqueza de la variedad genotípica y la diferente respuesta ante la aplicación de AG_3 , permitiendo a los sistemas hortícolas, tener mayor versatilidad. Es así como el cultivar FRA se destacó por su mayor contenido de AC en F y BI, MIRC en BI; menor contenido de fibra en las mismas; mayor RAD del capítulo; RAA de BM; peso seco del F y mayor precocidad. A su vez GA, presentó mayor contenido de APIG en BI, mayor ancho y alto del F, rendimiento de PE, peso medio del capítulo, número de capítulos por planta y precocidad. El genotipo GU se destacó por el mayor contenido de AC en el F y H, mayor RAD, alto del F, peso medio del capítulo primario, peso fresco y seco de BI y mayor peso seco de PE. Por otro lado, dentro de los híbridos MAHI presentó mayor contenido de APIG y menor de fibra en las BI; mayor alto y ancho del F, rendimiento fresco de PE; peso fresco de BI - BM; mayor peso seco de H y PE y número de capítulos por planta. Cuando se lo multiplicó por semilla se observó menor contenido de fibra en BI y F; mayor RAD del capítulo, ancho del F, rendimiento fresco de PE y mayor peso seco de H. El genotipo OPHI se destacó por su mayor contenido de MIRC en BI y F, mayor RAD del capítulo, peso seco del F y menor contenido de fibra insoluble. En OPS, se observó mayor peso seco de la PE y mayor precocidad.

Analizando los tratamientos con AG₃, se pudo evaluar que una sola aplicación por planta aumentó el peso seco de BI en FRA; incrementó el contenido de AC y DCQ en H de MAHI; el contenido de AC en BI en OPHI y CIN en OPS. Con dos aplicaciones de AG₃ por planta, se observó un mayor peso seco en H de FRA y GU; mayor contenido de CIN en BI y peso fresco de BE en MAHI; valores superiores de AC en BI, fibra en PE, peso seco de H y PE en OPHI y peso del capítulo en OPS. Realizando tres aplicaciones de AG₃, se alcanzó mayor número de capítulos por planta y precocidad en todos los híbridos. A su vez, mayor ancho de F y peso seco de H y BI en FRA; mayor peso seco en H de GU; valores superiores de CIN en BI, fibra en PE, rendimiento de capítulos y peso fresco de BE en MAHI; mayor contenido de APIG en F, rendimiento fresco de capítulos, peso medio de los mismos y peso fresco de BM en MAS; mayor contenido de fibra, peso seco de H y PE en OPHI y por último mayor ancho del F en OPS. Todos los tratamientos con AG₃, provocaron menor pardeamiento del F en GU, mayor peso fresco de BE en GA y mayor precocidad en todos los cultivares. En cambio, el testigo sin aplicaciones de AG₃, tuvo mayor pardeamiento y ancho del F en GU; peso fresco superior de BI - BM en GA; mayor peso medio del capítulo en MAHI; peso seco de BI en MAS y el ancho del F y rendimiento de capítulos en OPHI.

Para dar respuesta al segundo objetivo del presente capítulo se evaluó el comportamiento de los hijuelos del híbrido Madrigal F1 (MAHI 16), extraídos de plantas madres multiplicadas por semilla el año anterior (MAS 15), práctica difundida en los sistemas productivos, debido al alto costo de las semillas híbridas. Los resultados fueron interesantes en las condiciones de los experimentos, ya que algunas de las variables más relevantes se mantuvieron estables en el cultivo de MAHI 16 y otras mejoraron, como el pardeamiento, ancho del F y contenido de fibra en BI y F, respecto a MAS 15. Así mismo, se puede generalizar que la aplicación de T₂ y T₃, promovieron el contenido de AC en las BI, el número de capítulos por planta y disminuyeron el porcentaje de fibra en las BI y el F, tanto en MAS 15 como en MAHI 16. También contribuye a un manejo más específico, el conocimiento de las interacciones entre el material vegetal y los tratamientos. Por ejemplo, si se plantea un cultivo de doble propósito, se determinó que aplicando T₂ en MAS 15 se obtuvo mayor contenido de AC en el F ($p < 0,01$) y con T₁ en MAHI 16, mayor AC y DCQ en las H. Y en cuanto al objetivo del rendimiento de capítulos, éste fue superior con T₂ - T₃ en MAS 15 y con T₀ - T₃ en MAH 2016. Y por último todo el material vegetal de MAHI 16 fue más precoz que su planta madre 2015, respuesta muy dependiente de las temperaturas de cada año. En referencia a este comportamiento, Giner Martorel y Baixauli Soria (2015), en España, han podido verificar una gran variabilidad entre campañas respecto al adelanto de

la producción con la aplicación de AG₃ comparado con un testigo sin tratamiento. Esto se debe a numerosos factores entre los que se destacan los ambientales, especialmente la temperatura y el efecto vernalizante que pueda efectuar en los diferentes genotipos. Esto nos da una idea de lo complejo que resulta elaborar un calendario de producción en el cultivo de alcaucil, por lo tanto, será necesario la utilización de varios genotipos de diferente precocidad y paralelamente aplicar AG₃ al menos en una parte del cultivo.

Resultó muy interesante también evaluar en dos años consecutivos, la forma de multiplicación por semilla, la cual está siendo adoptada en los sistemas productivos. El efecto del año de cultivo se expresó solamente en cuatro variables, presentando MAS 15 mayor contenido de AC en las H, fibra y peso seco en el F y número de capítulos por planta. Esas diferencias podrían estar dadas por las condiciones climáticas y porque el ciclo del cultivo 2015 fue más extenso al realizar el trasplante en la primavera anterior, a diferencia del 2016 que fue en otoño. Los tratamientos tuvieron diferente efecto según los años de cultivo en una mayor cantidad de variables. Aplicando T₂ y T₃, las BI contenían más AC y se obtuvo mayor número de capítulos por unidad de superficie en MAS 15. Con T₃ en MAS 16, se observó el menor pardeamiento del F y mayor peso medio del capítulo primario. En el cultivo 2016 se obtuvo mayor precocidad, pero los tratamientos no se diferenciaron entre sí y en el 2015 el T₃ fue el más precoz.

Finalmente, al evaluar el comportamiento de las dos formas de multiplicación del híbrido Madrigal F1 cultivados en 2016, se observó que sólo tuvo influencia en tres variables y a favor de los hijuelos. En MAHI el contenido de fibra en el F fue menor y se observó mayor ancho de F y número de capítulos por planta. A su vez, con aplicación de T₃ las plantas presentaron mayor número de capítulos, en ambas formas de multiplicación. Aquí se observan también varias interacciones, que conviene analizar en función del destino de los capítulos, por ejemplo, con la aplicación de T₃ en MAHI se observó mayor contenido de AC en las BI y con T₁ mayor AC - DCQ en las H. A su vez, con T₁ y T₀ en MAHI el capítulo primario fue más pesado y aplicando T₃, se logró mayor precocidad. Con todos los tratamientos en MAHI y con T₃ en MAS, se logró el mayor rendimiento de capítulos. Por último, T₁ - T₀ en MAS, se pardeó menos el F del capítulo.

CONCLUSIONES

. En las condiciones en las cuales se desarrollaron los experimentos durante el año 2016, los genotipos se diferenciaron entre sí según la variable analizada y la parte de la planta evaluada. Este conocimiento permite destacar de cada uno sus propiedades nutricionales, calidad comercial y productiva, como así también valorizar su biomasa en cultivos de doble propósito.

. En los cultivares las mayores diferencias en el contenido de compuestos cafeoilquínicos están dadas por la influencia del genotipo y en los híbridos, el número de aplicaciones de ácido giberélico al cultivo, tuvo incidencia diferente en cada uno. Los genotipos se diferenciaron en el contenido de algunos flavonoides tanto en cultivares como en híbridos.

. Realizando dos y tres aplicaciones de AG₃, se impactó positivamente en la mayoría de las variables productivas en cultivares e híbridos y con una aplicación se mejoró el contenido de compuestos cafeoilquínicos en los híbridos.

. Los hijuelos del híbrido Madrigal F1 cultivados en 2016, extraídos de plantas multiplicadas por semilla el año anterior, conservaron estables algunas de las variables más relevantes y otras mejoraron.

. La forma de multiplicación por semilla en Madrigal F1, evaluada en dos años consecutivos, también se presentó estable y las diferencias estarían dadas por las condiciones del año y el ciclo del cultivo.

. En las dos formas de multiplicación del híbrido Madrigal F1 cultivados en 2016, se observaron numerosas interacciones con los tratamientos de AG₃ aplicados, sobre todo en variables químicas y productivas, las cuales conviene analizar en función del destino de los capítulos.

Capítulo IV

**INFLUENCIA DE LOS GENOTIPOS Y MANEJOS DE CULTIVO EN ALCAUCIL,
SOBRE LA ACTIVIDAD QUÍMICA Y BIOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS.**

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, la planta de alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) juega un papel importante como planta alimenticia y medicinal (Gebhardt, 2002; Pandino, et al., 2013). En la última década, la demanda mundial de verduras frescas ha aumentado como resultado de la evidencia médica que vincula el consumo regular de estos alimentos con una disminución en el desarrollo de enfermedades crónicas y degenerativas (Liu, 2003).

El contenido de compuestos químicos en los cultivares e híbridos estudiados, puede variar según el genotipo, como fuera también descrito por otros grupos de investigación (Lombardo et al., 2010; Lombardo et al., 2012), parte utilizada de la planta, condiciones de cultivo (García et al., 2016 a y b; Martínez Esplá et al., 2017), factores agronómicos y etapa de crecimiento foliar (Lombardo et al., 2018). La diversidad genética en este cultivo es enorme y las principales diferencias están relacionadas con el origen de los cultivares (Pagnotta et al., 2017). A pesar de la extensa investigación realizada sobre la composición química del alcaucil, es muy dinámico su estudio por la diversidad de metodologías y tecnologías empleadas, los cambios genotípicos, las nuevas realidades productivas, las tecnologías aplicadas a alimentos y las tendencias en el consumo. Es así que se han caracterizado 61 compuestos fenólicos en alcaucil, de los cuales 34 compuestos (isómeros) fueron informados por Abu Reidah et. al. (2013). El mayor conocimiento de la composición química del alcaucil contribuye a comprender el efecto que tienen sus compuestos bioactivos en la salud y bienestar del ser humano.

Los productos naturales son una de las fuentes más importantes en el desarrollo de nuevos fármacos y se han utilizado para prevenir diferentes enfermedades, entre ellas el cáncer (Newman y Cragg, 2016). El término quimioprevención por productos naturales se introdujo a fines de la década de 1970 refiriéndose a la prevención del cáncer mediante el uso selectivo de fitoquímicos o sus análogos (Mehta et al., 2010). Ha sido demostrado que ciertos agentes naturales pueden prevenir y revertir el proceso carcinogénico de manera pleiotrópica (Guilford y Pezzuto, 2008). El cáncer es uno de los principales problemas de salud humana y representa la segunda causa de muerte a nivel mundial después de las enfermedades cardiovasculares (OMS, 2018). El uso de compuestos dietéticos naturales constituye una estrategia prometedora que está siendo ampliamente estudiada para prevenir la formación y progresión del cáncer (Tan et al., 2011). Dado que el estrés oxidativo, la inflamación y la evasión de la apoptosis son importantes mecanismos biológicos de carcinogénesis, las actividades antioxidantes, antiinflamatorias y proapoptóticas representan

propiedades importantes para la prevención, supresión o reversión del desarrollo de la carcinogénesis.

Se ha demostrado que el alcaucil puede prevenir enfermedades crónicas y degenerativas (Agarwal y Mukhtar, 1996; Mileo et al., 2012; Pulito et al., 2015; González Sarrías et al., 2017). Sus propiedades preventivas estarían relacionadas con la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en la planta (Cecarelli et al., 2010; Pandino et al., 2012; Pereira et al., 2013). Por otro lado, se han informado estudios *in vitro* e *in vivo* que muestran la actividad de los extractos de hojas de alcaucil en ensayos anticancerígenos. Por ejemplo, cuando se trataron líneas celulares mesoteliales malignas con concentraciones crecientes de extracto de hoja de alcaucil ($3\text{-}200\ \mu\text{g mL}^{-1}$) durante 72 horas, las células mostraron tanto un crecimiento reducido como apoptosis incrementada de una manera dosis dependiente. Asimismo, a concentraciones de $6\text{-}12\ \mu\text{g mL}^{-1}$, el extracto de hoja de alcaucil inhibió significativamente la migración celular en un 50% (Pulito et al., 2015). Estudios recientes de Noriega Rodríguez et al. (2020), permitieron la obtención de un extracto innovador con alto contenido en compuestos bioactivos como antioxidantes fenólicos e inulina a partir de residuos agroindustriales de alcaucil, con un efecto antiproliferativo significativo en el colon (Caco-2) y células cancerosas de mama (MCF-7), lo que aumenta sus posibles beneficios para la salud humana. Sin embargo, existe escasa investigación en brácteas comestibles de alcaucil relacionadas con la quimioprevención del cáncer (Miccadei et al., 2008; Mileo et al., 2012) y curiosamente, los cultivares argentinos nunca fueron estudiados en este aspecto.

Por su parte los interferones (IFNs) son moléculas centrales del sistema inmune. Estos presentan un comportamiento dual desde el punto de vista biológico, ya que, si bien son ampliamente utilizados como bioterapéuticos para el tratamiento de enfermedades virales crónicas y distintos tipos de cáncer, entre otras, en ciertas patologías autoinmunes, como el Lupus, son producidos de manera exacerbada, principalmente los IFN α . En consecuencia, encontrar compuestos naturales que modulen negativamente la acción del IFN α útiles para controlar diferentes enfermedades autoinmunes, donde la citoquina es responsable del desarrollo y mantenimiento de los procesos inflamatorios, es un desafío que está atrayendo gran atención en el campo del descubrimiento de fármacos. El IFN α fue estudiado por Paluka et al., (2010) en enfermedades autoinmunes como el Lupus, resultando un blanco interesante en la búsqueda de nuevas aplicaciones terapéuticas para el alcaucil.

OBJETIVO

Estudiar la actividad química y biológica de extractos de diferentes partes del alcaucil, de distintos genotipos y manejos de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Ensayo de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Este es un ensayo autográfico químico, sencillo y versátil, que permite detectar las propiedades antioxidantes de extractos utilizando como revelador al compuesto 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), el cual es capturado por los componentes del extracto que sean captadores de radicales libres. El DPPH es un radical libre de color violeta que, al ser reducido por un compuesto capaz de donar átomos de hidrógeno se vuelve amarillo (Pyrzynska y Pękala, 2013). Los extractos naturales son mezclas complejas de compuestos químicos y esta metodología permitirá estudiar la actividad de los mismos frente a entidades químicas blanco dando información sobre sus componentes.

Se seleccionaron los extractos de hojas y brácteas de cultivares Gauchito FCA (GA), Gurí FCA (GU) y Oro verde FCA (OV), con el manejo de cultivo T₁, del cultivo 2013 (Fertilización; descrito en Materiales y métodos, sección 3 del capítulo I). El análisis químico se realizó en el Instituto de Investigaciones para el Descubrimiento de Fármacos de Rosario (IIDEFAR-UNR-CONICET), Argentina, en colaboración con el Dr. Pablo Santa Cruz.

A los extractos nombrados anteriormente se aplicó el ensayo de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) en cromatografía de capa delgada (CCD), siguiendo la metodología descrita por Cuendet et.al. (1997). Se sembraron manualmente 100 µg de extracto crudo en placas de sílica gel 60 F254 (Merck Chemicals Inc.), además de las sustancias testigo ácido clorogénico (AC) y rutina (Rut) en una placa duplicado (Figura 125). Las muestras se siembran cuidadosamente con un capilar sobre una línea base y se deja evaporar el solvente. Ambas placas de CCD se desarrollaron con el sistema de solventes acetato de etilo:ácido acético glacial:ácido fórmico:H₂O (100:11:11:26). La fase estacionaria es la capa

adsorbente de sílica-gel y el desarrollo de la placa se produce cuando la fase móvil desadsorbe a los compuestos que van quedando retenidos por su afinidad a la fase estacionaria según su polaridad. La imagen de cromatograma por CCD se capturó bajo luz blanca, UV₂₅₄ y UV₃₆₅. Luego, para revelar las placas, se pulverizaron hasta saturación con solución de DPPH (0,40 mg ml⁻¹ en etanol, EtOH). Se colocaron bajo una corriente de aire para eliminar el etanol y evitar la desorción de compuestos. La lectura del ensayo se realizó después de 30 minutos. La capacidad antioxidante de los extractos se confirma cuando el color púrpura del DPPH cambia al amarillo.

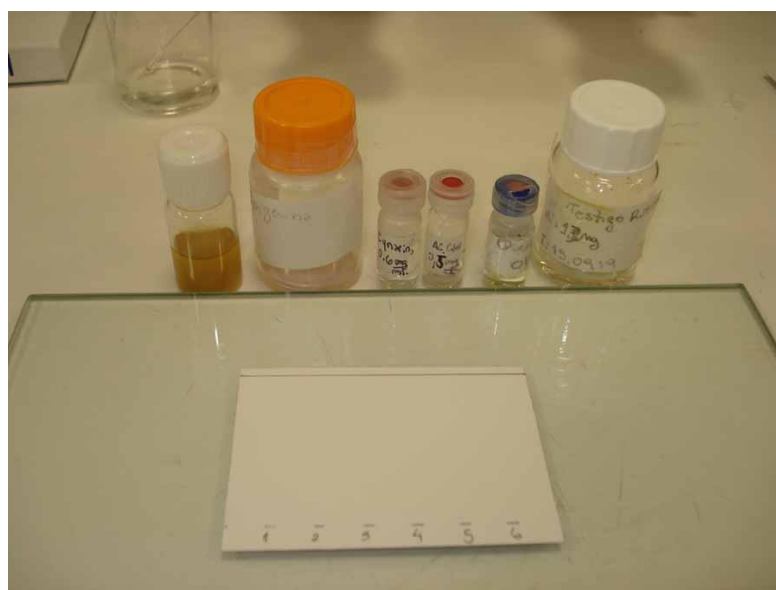


Figura 125: siembra de extractos y testigos en placas de cromatografía en capa delgada, para su posterior desarrollo, revelado y lectura.

Siguiendo con la investigación, se seleccionaron extractos de F y BI de capítulos primarios y secundarios y H del genotipo Madrigal, cultivo 2015, cuyas plantas fueron tratadas con T₀ y T₃ (Sin tratar y con tres aplicaciones de AG₃ respectivamente; descritos en Materiales y métodos, sección 3 del capítulo II). A su vez del cultivo 2016 se evaluaron extractos de F y BI de los genotipos GA, GU MAHI, MAS y OPHI, cuyas plantas fueron tratadas con T₀ y T₃ (Sin tratar y con tres aplicaciones de AG₃ respectivamente; descritos en Materiales y métodos, sección 3 del Capítulo III). Las determinaciones se realizaron en los laboratorios de investigación de la Planta Piloto de Producción de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR, siguiendo la metodología de Cuendet et al. (1997).

En estos experimentos se utilizó una serie de equipos que van realizando automática y precisamente todos los pasos. La siembra de los extractos con 20 calles por placa, se realizó con un equipo CAMAG Automatic TLC Sampler 4 (Figura 126 A). Para cada extracto de cada parte de la planta con los dos tratamientos de AG_3 aplicados, se sembraron 8 μL de dos repeticiones diferentes. La sustancia patrón se sembró en cuatro calles, cada una en concentración creciente respecto a la anterior. El desarrollo de la placa cromatográfica se realizó en el equipo CAMAG ADC2 (Automatic Developing Chamber) con el sistema de solventes acetato de etilo:ácido acético glacial:ácido fórmico: H_2O (100:11:11:26), (Figura 126 B).

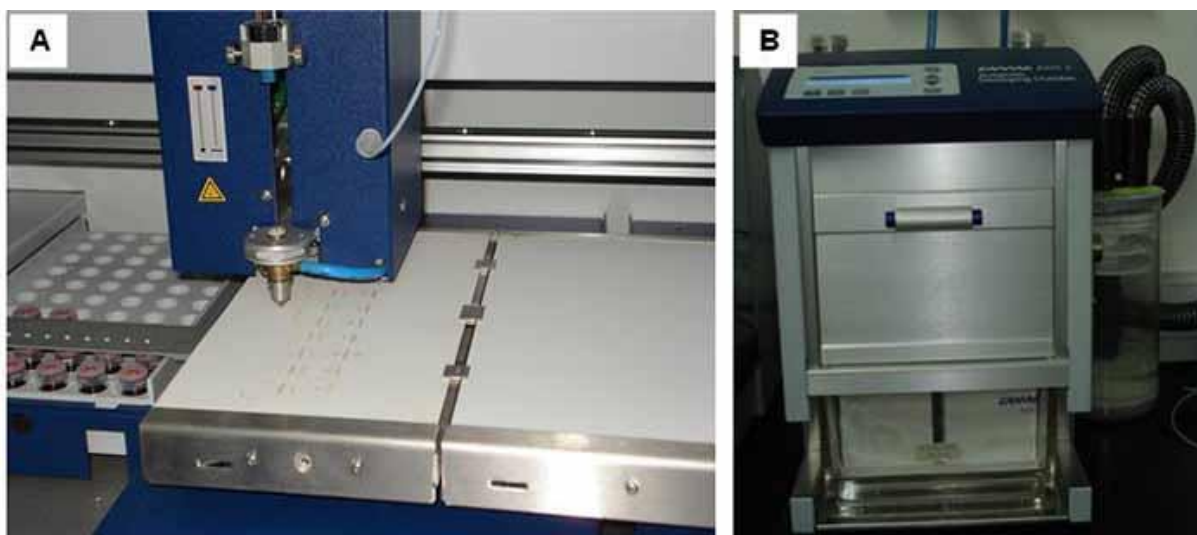


Figura 126: siembra de extractos y testigos en placas de cromatografía en capa delgada en un equipo CAMAG Automatic TLC Sampler 4 (A) y desarrollo de las placas en equipo CAMAG ADC2 Automatic Developing Chamber (B).

La imagen del cromatograma de CCD se capturó bajo luz blanca, UV_{254} y UV_{365} mediante un equipo CAMAG TLC Visualizer (Figura 127 A). Antes del revelado con DPPH, se realizó el escaneo del cromatograma con un equipo CAMAG-UV Scanner (Figura 127 B), a fin de realizar la cuantificación del ácido clorogénico presente en los extractos.

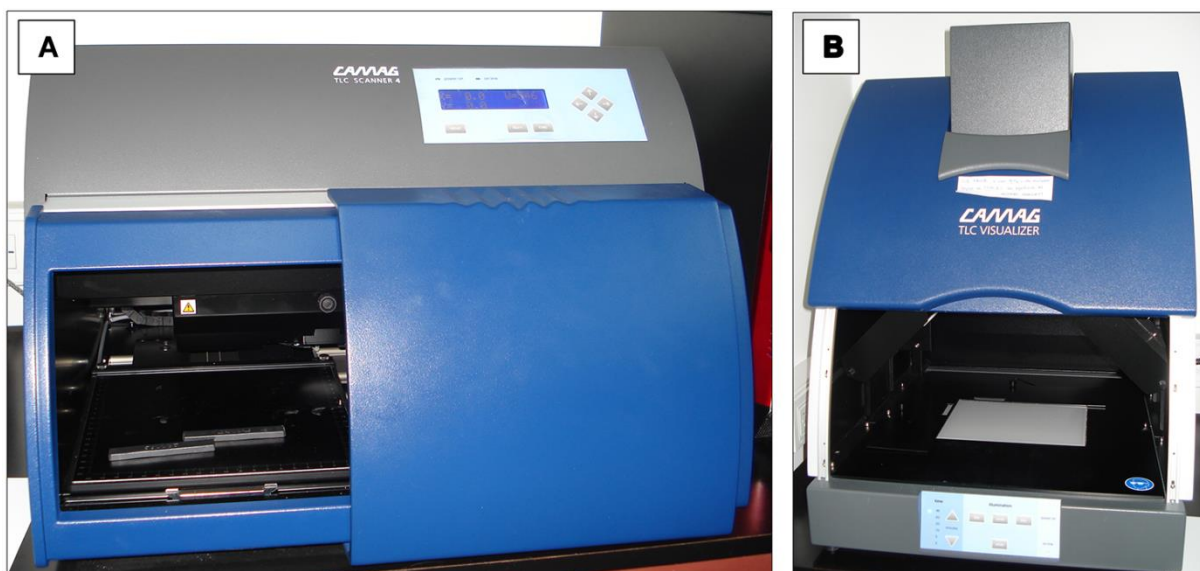


Figura 127: CAMAG TLC Visualizer (A) y CAMAG-UV Scanner (B).

Para el revelado con DPPH se preparó, inmediatamente antes de su uso, una solución etanólica de DPPH ($0,4 \text{ mg ml}^{-1}$), (Figura 128 A) y se rociaron los cromatogramas de CCD hasta saturarlos con la solución de DPPH (Figura 128 B). Se colocaron bajo una corriente de aire suave bajo campana de extracción de solventes y vapores, para lograr la evaporación del etanol y evitar la desorción de compuestos. La capacidad antioxidante de los extractos se confirma cuando el color púrpura del DPPH cambia al amarillo (Figura 128 C).



Figura 128: preparación de la solución de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) en etanol (A); rociado (B) y cromatograma revelado luego de la aplicación del DPPH(C).

Con el software del equipo CAMAG, se logran obtener las imágenes de los cromatogramas de cada una de las muestras sembradas por calle (Figura 129 A), además de escanear la placa entera con el desarrollo cromatográfico de las 20 calles bajo cada longitud de onda mencionada anteriormente (Figura 129 B).

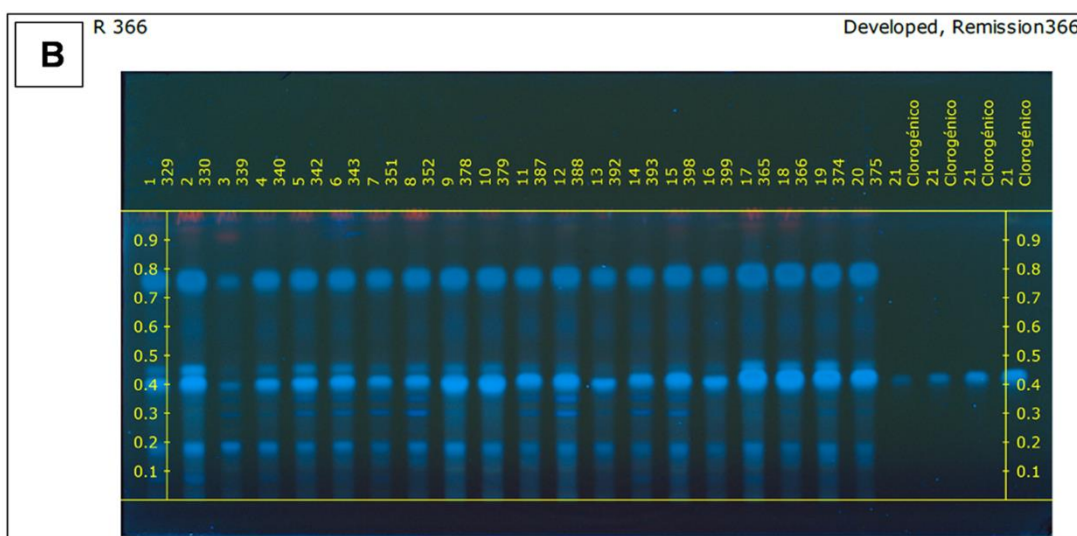
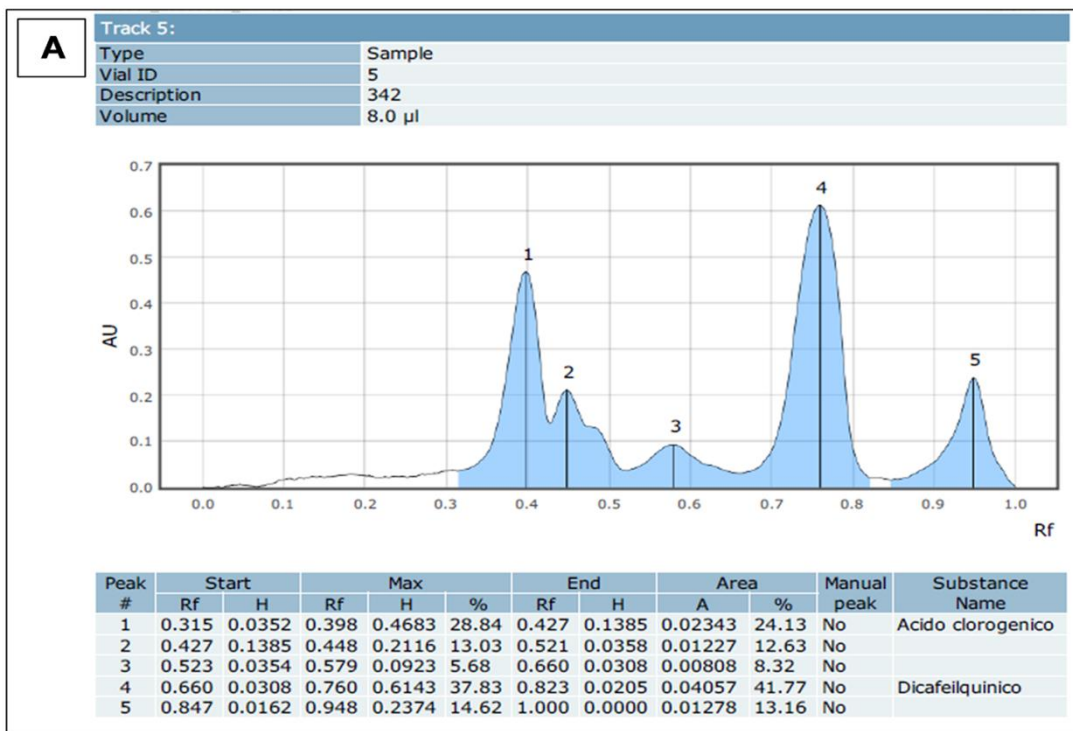


Figura 129: cromatograma de una muestra (una calle) de extracto de bráctea interna (A); cromatograma de un conjunto de muestras capturado bajo luz UV₃₆₆ (B).

La relación de la distancia desde el punto de siembra hasta cada halo definido respecto de la distancia total recorrida por el sistema de solventes (o fase móvil), se conoce como factor de retención (Rf) y es un parámetro que se calcula para cada halo o compuesto en el cromatograma; este parámetro junto con el tiempo de retención (Rt) en el cromatograma de absorción de luz UV y la concordancia con el Rf de los halos de las sustancias testigos y el Rt de los mismos, permiten en conjunto construir una curva de

calibración a partir de la cual puede establecerse, al cumplirse la ley de Lambert-Beer, la cuantificación de los compuestos para los que se cuenta con la sustancia testigo y establecer la concentración de los mismos en cada extracto.

Por otro lado, el tamaño y la intensidad del color de los halos en los que se produce cambio de color al revelar con DPPH, permitirá evaluar cualitativamente el poder antioxidante de los compuestos en el extracto. La metodología de CCD revelando con DPPH constituye un ensayo cualitativo que permite visualizar fácilmente las zonas donde los compuestos aparecen mostrando su mayor o menor capacidad de captar radicales de DPPH.

En los extractos de BI y F del cultivo 2016, se pudo realizar la cuantificación de ácido clorogénico (AC) presente en diferentes muestras a partir de la curva de calibración generada con diferentes concentraciones de la sustancia pura, la cual se correlacionó con las concentraciones de AC obtenidas en los extractos. Esto es posible de realizar cuando la concentración medida en cada extracto coincide con los puntos de la curva de calibración que muestran una relación lineal entre absorbancia y concentración. El contenido de AC de las muestras se expresará en mg Kg^{-1} de material fresco.

2. Ensayo de cultivo y proliferación de células tumorales

Para la determinación de la actividad biológica de los extractos de alcaucil, se seleccionaron aquellos correspondientes a las hojas y brácteas de GA y GU con T₁, del cultivo 2013 (Fertilización, descritos en Materiales y Métodos, sección 3 del Capítulo I). Se llevaron a cabo ensayos biológicos en colaboración con el grupo del Dr. Javier Girardini y la Dra. Marianela Masin, del Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR, UNR-CONICET).

Se utilizaron células SH-SY5Y (neuroblastoma humano, ATCC CRL-2266) como modelo para la evaluación del efecto de extractos en células cancerígenas y células WISH (células de amnios humanos ATCC CCL-25) como modelo de células normales. Las células se cultivaron en una mezcla de medio DMEM / Ham's F12 1:1 o MEM (Gibco), respectivamente, suplementado con SFB 10% (v / v), glutamina 2 mM a 37°C en humidificación de la atmósfera, 95% aire y 5% CO₂. La proliferación celular se evaluó

mediante el ensayo MTS utilizando un kit cromogénico (CellTiter 96TM AQueous NonRadioactive Cell Proliferation Assay, Promega) después de 72 h de tratamiento con diferentes diluciones de extracto: D100 (dilución de extracto en metanol, MetOH), (1:100; 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$); D300 (1:300; 13,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y D500 (1:500; 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$). También se evaluaron las soluciones de los estándares analíticos 1-4 (2 $\mu\text{g mL}^{-1}$), es decir las sustancias puras de los fenoles AC, DCQ (dicafeoilquinico) y los flavonoides luteonina y apigenina, importantes en la composición química del alcaucil. El solvente MetOH, se usó como control negativo en ambas líneas celulares y la doxorubicina se usó como control positivo (compuesto antiproliferativo conocido) en la línea celular ATCC CCL-25. Las microplacas se leyeron a 492 y 690 nm y la intensidad de la señal se informó como la media de la absorbancia medida en tres pocillos.

Los ensayos *in vitro* basados en células, se analizaron estadísticamente con un ANAVA, seguida de la prueba de Bonferroni con GraphPad Prism para Windows, versión 6 (GraphPad Software Inc.).

3. Ensayo de activación del interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α) utilizando un ensayo gen reportero (EGR) basado en células WISH:

Aquellos extractos que arrojaron resultados interesantes en los experimentos de capacidad antioxidante y de proliferación celular fueron seleccionados, y analizados con otro ensayo biológico en el Laboratorio de Cultivos Celulares, Centro Biotecnológico del Litoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral. Los experimentos se realizaron en colaboración con las Dras. Marianela Masin y Milagros Bürgi.

Los extractos se analizaron empleando un ensayo de gen reportero (EGR) basado en células, desarrollado previamente en dicho laboratorio (Bürgi et al., 2012; Bürgi et al., 2016), con el fin de evaluar si los extractos seleccionados podrían tener algún efecto modulador sobre la actividad del IFN- α . En este EGR, la expresión de la proteína reportera verde fluorescente (EGFP) es dirigida por el promotor Mx2. Los genes Mx2 son activados específicamente por interferones tipo I (IFNs-I), en varios tipos celulares. La línea WISH-Mx2/EGFP expresa los receptores específicos para IFNs-I en su superficie celular. Luego de la incubación con IFN-I, el promotor Mx2 es activado y consecuentemente la proteína reportera expresada. De esta manera, el porcentaje de células expresando EGFP,

cuantificado por citometría de flujo, es directamente proporcional a la potencia de los IFNs-I (Figura 130).

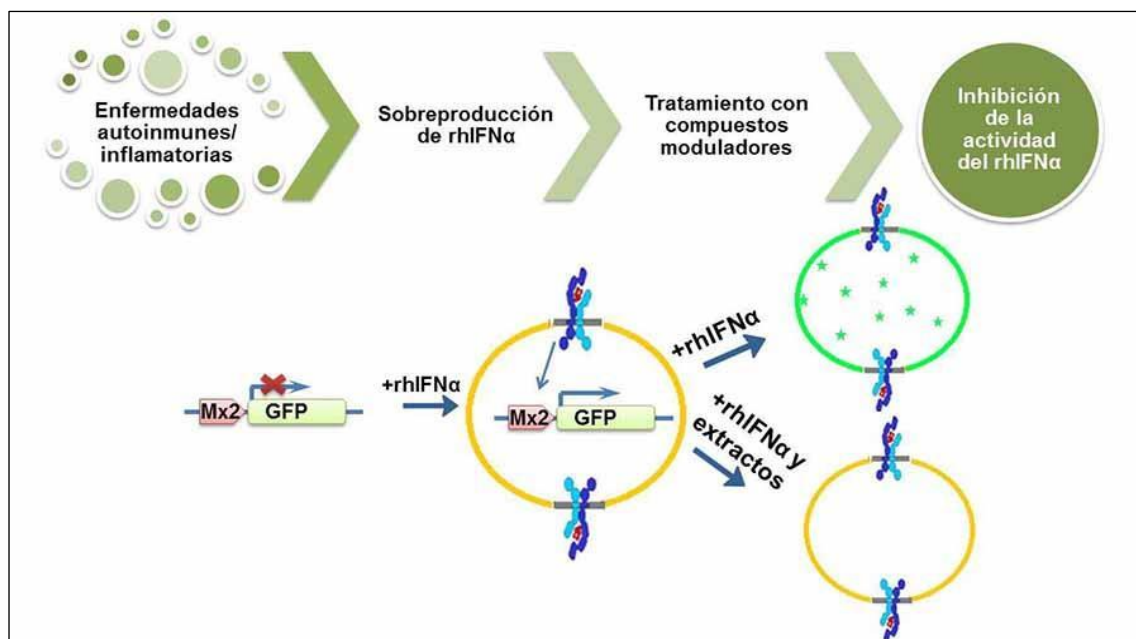


Figura 130: esquema del proceso de activación del interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α) utilizando un ensayo gen reportero (EGR).

(Figura de Masin, M.; Laboratorio de Cultivos Celulares, FCB, UNL).

Las células reporteras WISH-Mx2/EGFP se sembraron en placas de 96 pocillos ($2,0 \times 10^4$ células pocillo⁻¹) y se incubaron durante 24 h a 37°C con 5% de CO₂. Se descartaron los sobrenadantes y se añadió interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α) en una concentración 60 UI mL⁻¹ en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con SFB 2%, concentración necesaria para desarrollar el 50% de la respuesta EGFP. Al mismo tiempo, se añadieron diluciones 1:100 de extractos (40 μ g mL⁻¹) o ácido clorogénico (AC, solución metanólica, 2 μ g mL⁻¹) a las células. Esta dilución fue previamente evaluada en cuanto a su toxicidad empleando la misma línea celular. Ninguno de los extractos analizados resultaron tóxicos para las células a las diluciones ensayadas. El control negativo corresponde a células sin IFN- α . El resto de los controles incluyen IFN- α . Cuando sólo se incluye IFN- α corresponde al control positivo (Burgüi et al., 2020); células tratadas con solvente MetOH (control del solvente extractor) y células tratadas con AC (control AC). Todas las células se incubaron durante 24 h a 37°C con 5% de CO₂ (Figura 131 A). Las células se tripsinizaron, se resuspendieron cuidadosamente en 0,20 mL de solución buffer fosfato (Figura 131 B) y posteriormente se procesaron mediante citometría de flujo. Las muestras y los controles se analizaron por triplicado, en tres experimentos independientes.

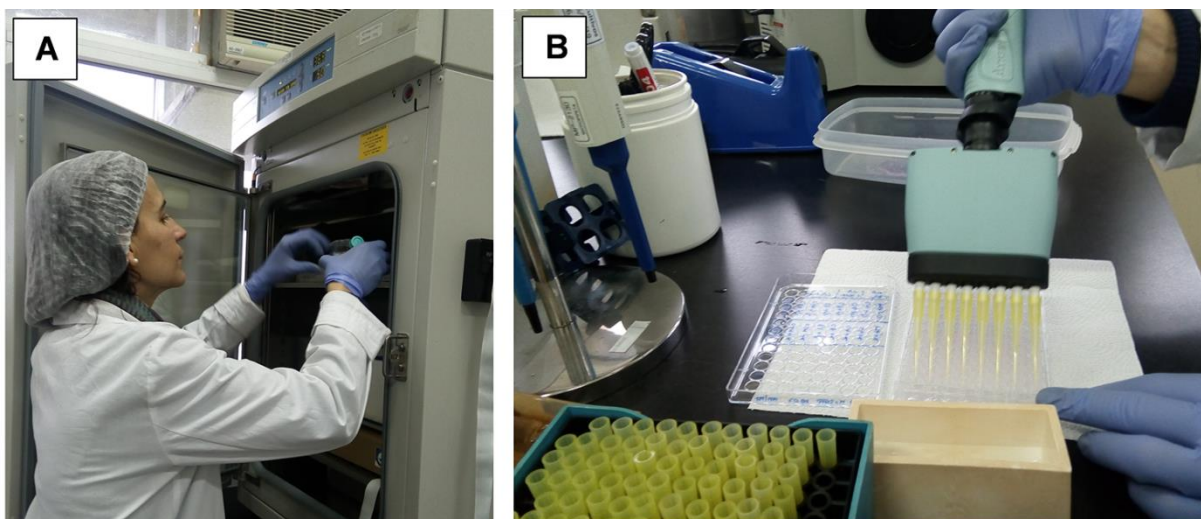


Figura 131: incubación de las células tratadas (A); suspensión de las células previo a la cuantificación (B).

El porcentaje de células EGFP positivas se cuantificó mediante citómetro de flujo Guava® EasyCyte™ (Guava Technology, EEUU) (Figura 132 A). Las adquisiciones de datos se realizaron con el software Guava CytoSoft™ 3.6.1 (Figura 132 B). Los datos obtenidos se analizaron con el software FlowJo versión 7.6.5.

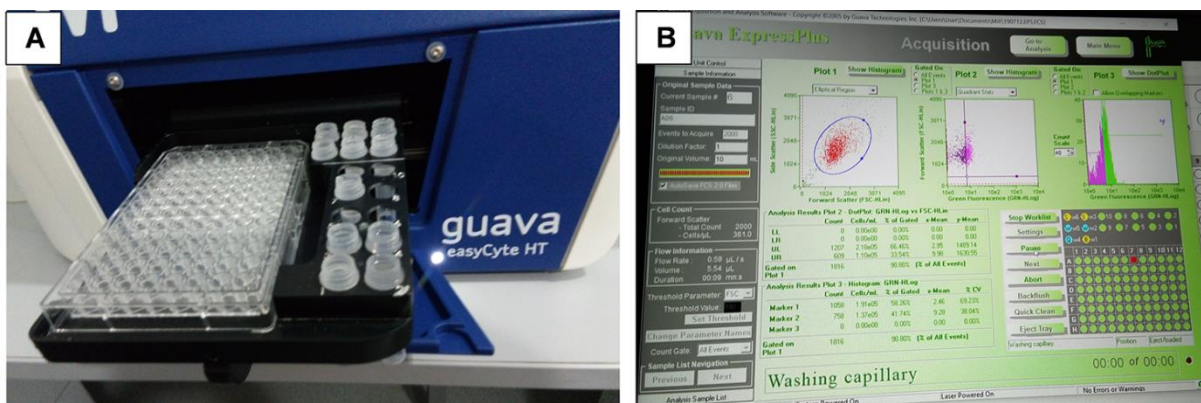


Figura 132: colocación de muestras en el citómetro (A); adquisición y análisis de los datos (B).

Los ensayos biológicos *in vitro* se analizaron estadísticamente utilizando un ANAVA seguido de la prueba post test Dunnet, utilizando la herramienta GraphPad Prism para Windows, versión 6 (GraphPad Software Inc.).

RESULTADOS

1. Ensayo para detectar compuestos que captan radicales libres (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo, DPPH)

En los cromatogramas de H y BI de GA, GU y OV del cultivo 2013, se observaron manchas amarillentas sobre el fondo púrpura en la región media de la placa (Figura 133 A), sugiriendo la presencia de captadores del radical DPPH. La detección de las manchas más polares coincide en Rf con los factores de retención característicos de AC y Rutina (0,50 - 0,45), constituyentes fenólicos presentes en alcaucil (Figura 133 B). Estos compuestos estarían implicados en las propiedades de captación de radicales libres. A su vez, los halos o zonas amarillentas correspondientes al AC son de mayor tamaño y de mayor intensidad en las BI que en las H. Esto indicaría, cualitativamente, una mayor capacidad antioxidante de los extractos de BI, es decir la parte comestible del capítulo. Si bien no se sembró la sustancia patrón de los ácidos DCQ, por su Rf en el desarrollo de la placa y mediciones previas por HPLC, las manchas amarillentas de mayor tamaño presentes en la parte superior del cromatograma corresponderían al isómero ácido 1,5-O-dicafeoilquínico (Figura 133 A).

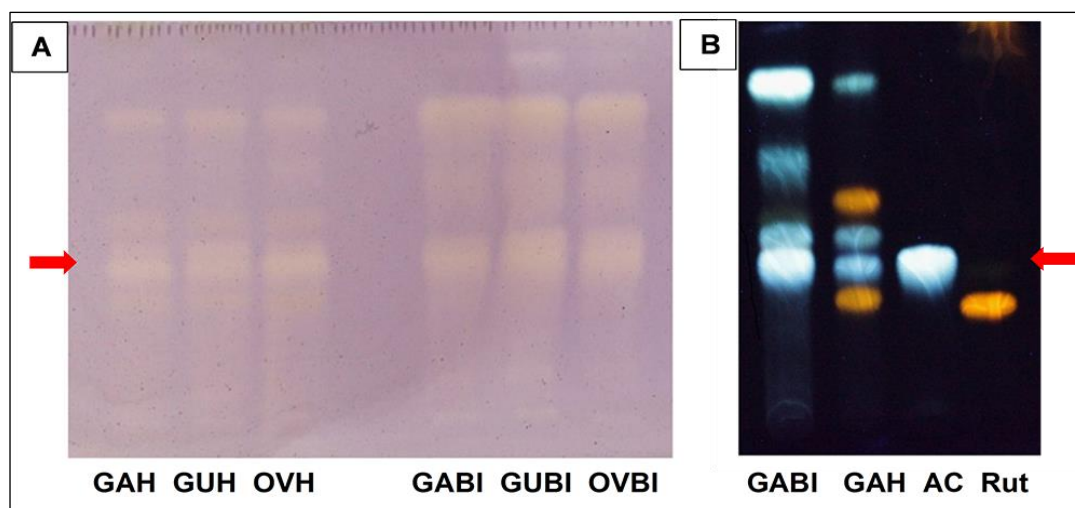


Figura 133: Autografía de DPPH de extractos de hojas de Gauchito (GAH), Gurí (GUH), Oro Verde (OVH) y de brácteas internas de Gauchito (GABI), Gurí (GUBI) y Oro Verde (OVBI) (A). Cromatograma de extractos de brácteas internas de Gauchito (GABI) y de sus hojas (GAHR), observadas bajo luz UV a 254 nm (B). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

En la Figura 134, se puede observar el cromatograma de los extractos de H, BI y F de capítulos primarios y secundarios del genotipo Madrigal F1, de plantas sin tratar T₀ y tratadas con T₃ del cultivo 2015. En el extremo derecho de la placa se encuentran las cuatro zonas amarillentas que corresponden al AC en cantidades crecientes (0,5 µg; 1 µg; 2 µg; 4 µg). Se puede observar que en los extractos correspondientes a los viales 5,11 y 15, no se detectó ningún cambio de color durante todo el desarrollo del cromatograma. En general, las zonas amarillentas correspondientes al contenido de AC en la muestra son de mayor tamaño en las H y BI respecto a las del F. Por otro lado, las manchas amarillentas son de menor tamaño en los F de capítulos secundarios, tratados con T₃ y en una repetición con T₀.

Los DCQ también presentaron manchas amarillentas más grandes en los extractos de BI respecto a F, siendo en las H mucho más pequeñas y tenues. En las H se observaron dos compuestos que presentan capacidad de captar radicales libres con Rfs anterior y posterior al de AC, que corresponderían a compuestos flavonoides presentes en las mismas (Figura 134). Cabe señalar que los compuestos medidos en esta tesis son los metabolitos secundarios más abundantes en las diferentes partes de la planta de alcauil, los cuales se correlacionan con las zonas de mayor captación de radicales libres.

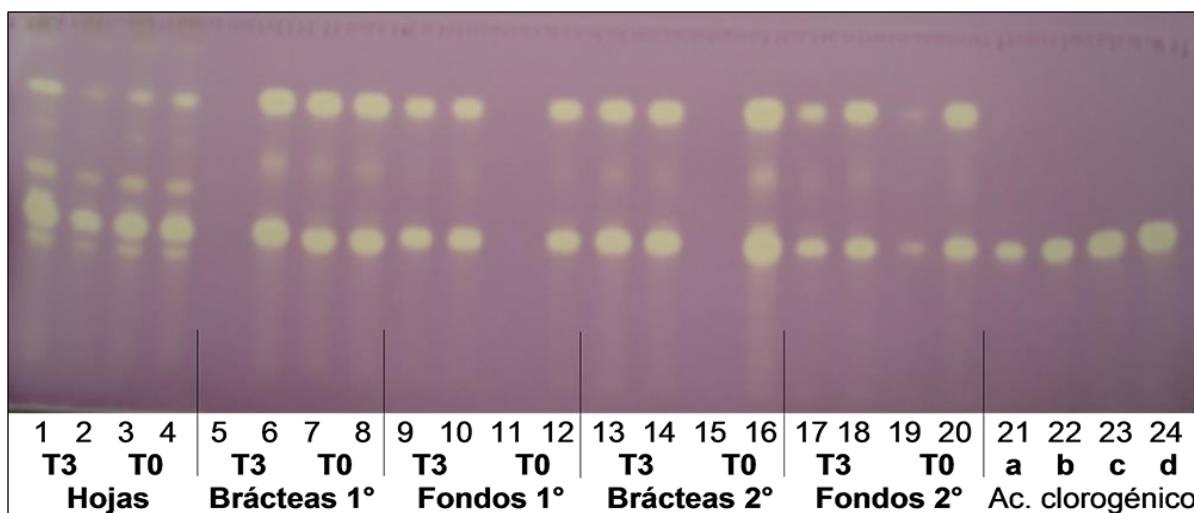


Figura 134: cromatograma de los extractos de H (MAH), BI (MABI) y F (MAF) de capítulos primarios (1°) y secundarios (2°), del genotipo Madrigal F1, cultivo 2015, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Patrón: ácido clorogénico 0,5 µg (a); 1 µg (b); 2 µg (c); 4 µg (d). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

Con respecto a los ensayos autográficos de DPPH de BI de los genotipos seleccionados del cultivo 2016, se puede visualizar en la Figura 135, el cromatograma de los extractos sembrados y del patrón de AC. Las zonas amarillentas de mayor tamaño e intensidad correspondieron al genotipo OP multiplicado por HI, tanto para sus manchas correspondientes a AC como para las de DCQ. Las zonas de menor intensidad se observaron en los extractos de GA y GU. En estos genotipos, es más notoria la diferencia entre T₃ (mayor tamaño e intensidad de coloración amarillenta) respecto a T₀ y es más tenue en MAHI y OPHI. En una repetición de MAS con el T₀, la zona amarillenta es más grande que con T₃ (Figura 135).

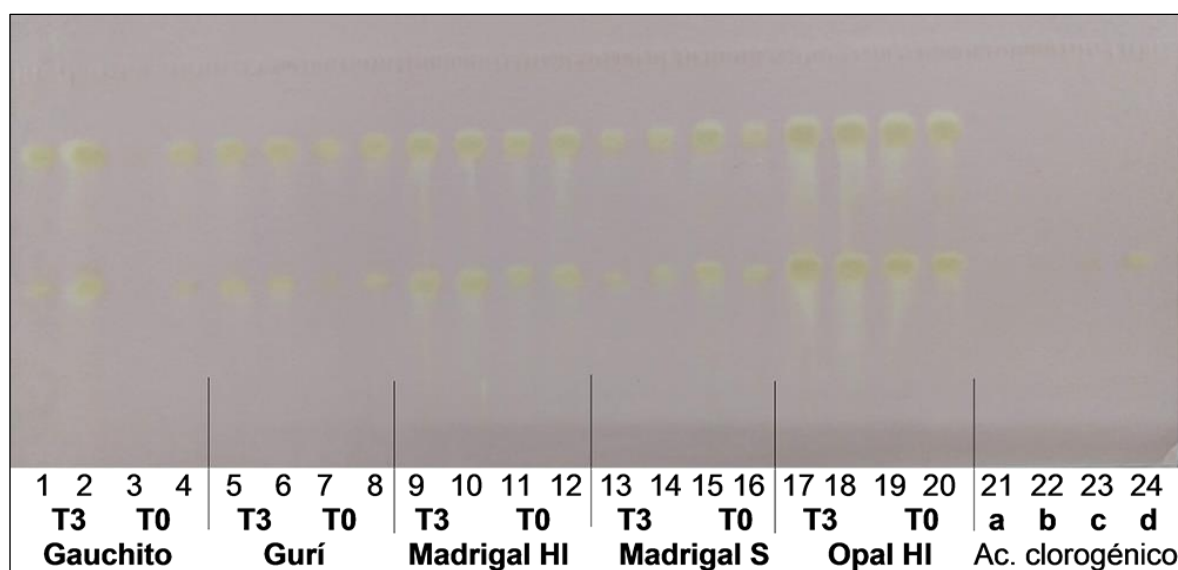


Figura135: cromatograma de los extractos de brácteas internas de los genotipos Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelo (HI) o semilla (S), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Patrón: ácido clorogénico 0,25 µg (a); 0,5 µg (b); 1 µg (c); 2 µg (d). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

Este análisis cualitativo se complementó con los cromatogramas de HPTLC, donde se ven representados los picos y áreas correspondientes a los compuestos químicos presentes en cada extracto (Figura 136).

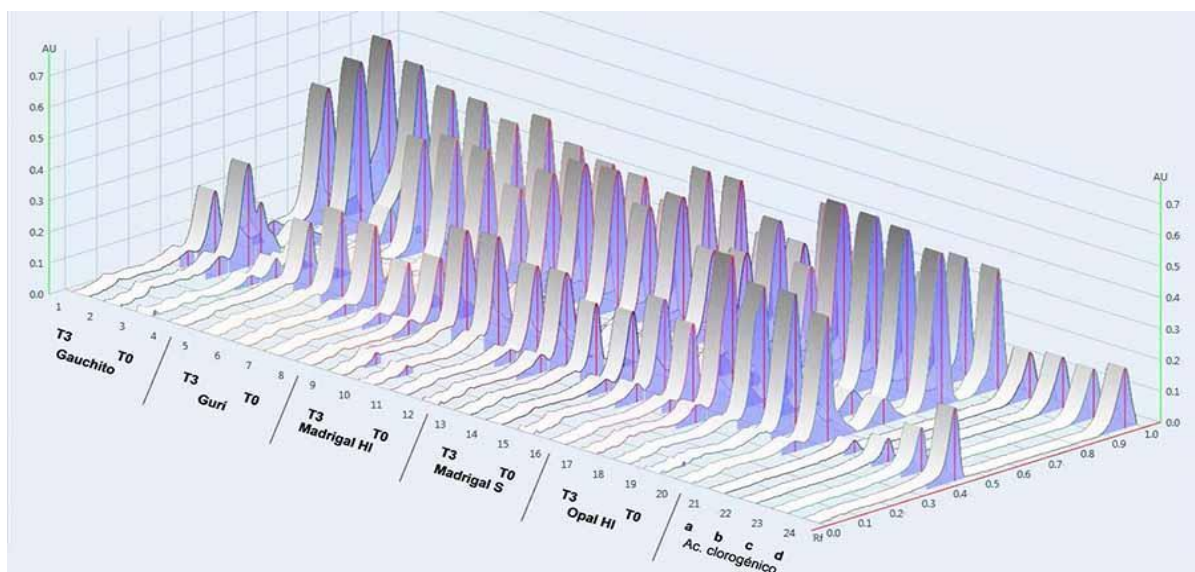


Figura 136: imagen integrada tridimensional del cromatograma de los extractos de brácteas internas de los genotipos Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelo (HI) o semilla (S), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Patrón: ácido clorogénico 0,25 µg (a); 0,5 µg (b); 1 µg (c); 2 µg (d). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

De la misma manera se trabajó con los F, desarrollando el ensayo autográfico de DPPH y además, cromatogramas de absorción UV a 330 nm sobre cada muestra sembrada en la placa. En el ensayo de DPPH, las zonas amarillentas que muestran capacidad de captar radicales libres resultaron casi imperceptibles en el genotipo GA. Todas las zonas de los extractos restantes tienen en general menor intensidad que lo observado en BI. El genotipo OPHI se destaca por generar zonas de mayor intensidad de color respecto a los demás genotipos, en las zonas correspondientes a los Rfs de AC y DCQ. Solamente una de las repeticiones de GU y MAS con T₀, muestra manchas que se podrían considerar de mayor tamaño respecto a T₃ (Figura 137).

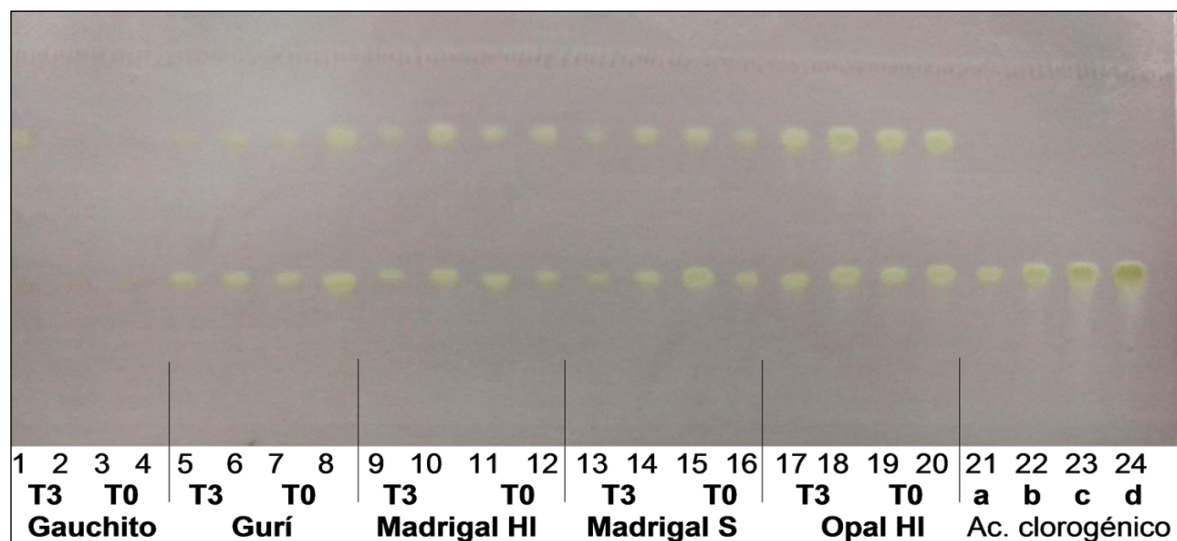


Figura 137: cromatograma de los extractos de fondos de los genotipos Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelo (HI) o semilla (S), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Patrón: ácido clorogénico 0,5 µg (a); 1 µg (b); 2 µg (c); 4 µg (d). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

En los cromatogramas de absorción UV a 330 nm de los extractos de F desarrollados sobre cada muestra desarrollada en la placa, se observan los picos y áreas de los compuestos cafeilquínicos detectados y encontrados en BI (Figura 138).

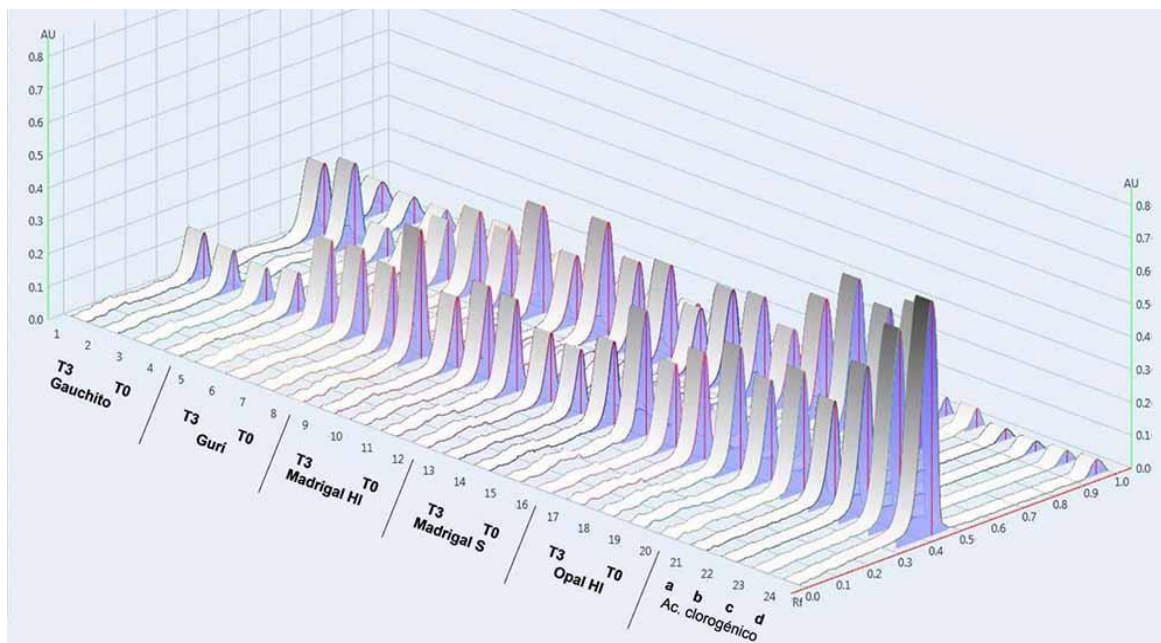


Figura 138: imagen integrada tridimensional del cromatograma de los extractos de fondos de los genotipos Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelo (HI) o semilla (S), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Patrón: ácido clorogénico 0,5 µg (a); 1 µg (b); 2 µg (c); 4 µg (d). Fase estacionaria Sigel GF254. Fase móvil: acetato de etilo:ácido fórmico:acético glacial:agua (100:11:11:26).

A partir de estos resultados se pudo cuantificar el contenido de AC presente en los extractos de F, extrapolados en la curva de calibración construida con concentraciones crecientes de AC patrón (0,0625 hasta 0,5 mg mL⁻¹). En la Tabla 18 se presentan los valores obtenidos para 13 muestras de F, expresados en mg kg⁻¹ de material fresco

Tabla 18: cuantificación de ácido clorogénico en extractos de fondos de los genotipos Gauchito, Gurí, Madrigal y Opal, multiplicados por hijuelo (HI) o semilla (S), cultivo 2016, de plantas tratadas con T3 (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T0 (testigo sin aplicación), expresados en mg Kg⁻¹ de peso fresco de material.

Genotipo	Fondos 2016			
	T3		T0	
	N° vial	mg kg ⁻¹	N° vial	mg kg ⁻¹
Gauchito				
Gurí	5	890	7	834
Gurí	6	938	8	1908
Madrigal HI	10	1079	11	1067
Madrigal S	14	895	15	1779
Madrigal S			16	908
Opal HI	17	1359	19	1217
Opal HI	18	1721	20	1672

En el caso de las BI, solamente cinco muestras coincidieron con la curva de calibración, pero no fue posible realizar una cuantificación de compuestos por existir picos de otros compuestos al final del desarrollo del patrón AC. Estos compuestos son producto de transformación de la propia sustancia pura de AC, como puede verse en la Figura 136).

A partir de estos resultados también se pueden asociar el tamaño e intensidad de las zonas amarillentas reveladas con DPPH con el contenido de AC en cada extracto donde éste se pudo cuantificar. El ensayo de DPPH por autografía permitió evaluar cualitativamente a los diferentes genotipos y tratamientos, los cuales fueron estudiados por primera vez en este trabajo. Resultaría muy interesante seguir investigando la capacidad antioxidante de los diferentes extractos de alcaucil, más allá de los ensayos realizados en esta tesis.

2. Ensayo de cultivo celular y proliferación de células tumorales

Los resultados *in vitro* sobre el efecto de los extractos en la proliferación de células tumorales cancerígenas, indicaron que, tanto los extractos de H del genotipo GA como de GU, mostraron actividad antiproliferativa sobre las células de neuroblastoma aún con las mayores diluciones (concentraciones de 13 a 8 µg mL⁻¹). En la Figura 139 A puede observarse que los extractos de H de GA y GU redujeron significativamente el número de

células de neuroblastoma respecto al control negativo (células con solvente, MetOH), a las células tratadas con AC y a las tratadas con extractos de BI.

Por otro lado, en la Figura 139 B se puede observar que ni aún a la mayor concentración de extractos de H o BI de GA y GU (D100, 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$) hubo inhibición de las células normales, mientras que la DX reduce en un 20% la viabilidad de estas células a D100; 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

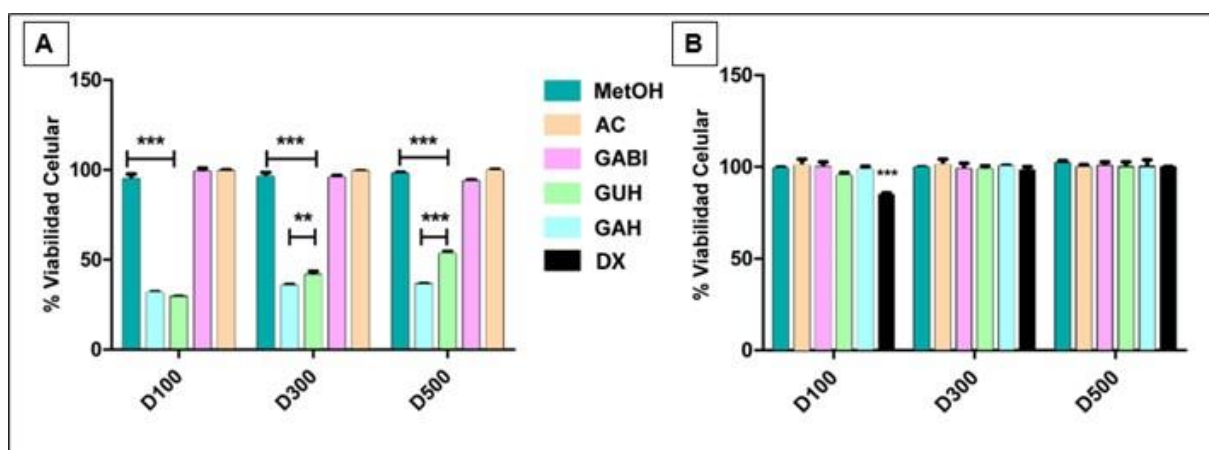


Figura 139: (A) efecto de los extractos de hojas (H) y bráctea interna (BI) de los genotipos Gauchito (GA) y Guri (GU) sobre la viabilidad de las células tumorales SHSY5Y, durante 72 h. Control negativo metanol (MetOH). Extractos de H de GA y GU (D100 = 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D300 = 13 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D500 = 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$), BI de GA (D100 = 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D300 = 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D500 = 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$), ácido clorogénico (AC) (D100 = 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D300 = 3.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$, D500 = 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$), doxorrubicina (DX control positivo, D100= 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$; D300 = 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y D500 = 0.05 $\mu\text{g mL}^{-1}$). La media \pm DE está representada para cada muestra. Los asteriscos indican la existencia de una diferencia significativa entre los extractos y el control. (** p <0.01 y *** p <0.001).

Por otro lado, se evaluaron los compuestos puros AC, DCQ, luteolina y apigenina (testigos) presentes en los extractos de H y BI de GA y GU. Tomando como punto de partida los extractos probados a la mayor dilución (Figura 140 A) y evaluando los componentes

antes mencionados en concentraciones superiores a las detectadas para los mismos en los extractos, se observó que luteonina y apigenina también redujeron el número de células de neuroblastoma (Figura 140 B), aunque en mucho menor medida que los extractos de H (Figura 140 A).

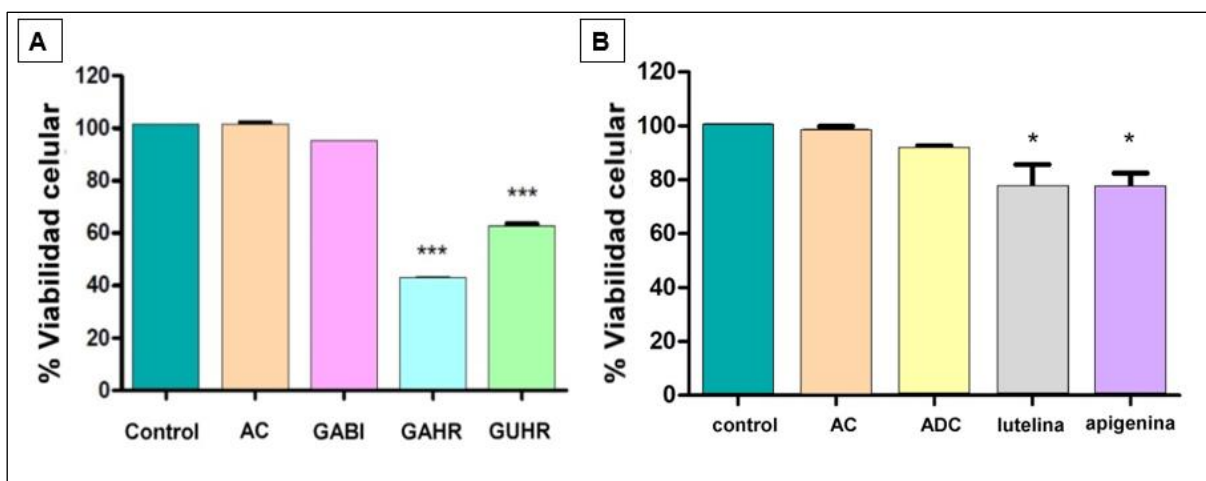


Figura 140: (A) efecto de extractos de bráctea interna y hoja de Gauchito (GABI, GAH) y de hoja de Guri (GUH), respecto al ácido clorogénico (AC) y a metanol (control negativo), sobre la viabilidad de células de neuroblastoma humano SH-SY5Y, expresado en %. Concentración de extractos 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de testigos AC 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$. **(B)** Efecto de los compuestos puros, ácido clorogénico (AC) y dicafeilquínico (DCQ); luteonina y apigenina sobre la viabilidad de las células tumorales (neuroblastoma humano SH-SY5Y), respecto al control de metanol expresado en %. Concentración de testigos 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Se representaron valores medios y el DE. Diferencia significativa entre los extractos y el control: * $p < 0,05$. Diferencia significativa entre los extractos y el control: *** $p < 0,001$.

Posteriormente, los cuatro testigos fueron mezclados en partes iguales en solución para evaluar su actividad conjunta frente a las células de neuroblastoma humano SH-SY5Y, no mostrando inhibir su viabilidad. A su vez, los ensayos realizados para evaluar el efecto residual sobre las células tratadas con los extractos con el fin de constatar si tenían capacidad de regenerarse y volver a su estado original demostraron que la viabilidad de las células fue irreversible.

3. Efecto de los extractos sobre la actividad del interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α)

Como se ha explicado anteriormente, a los mismos extractos del cultivo 2013 en los que se evaluó la capacidad antioxidante y el efecto sobre la proliferación de células cancerígenas, también se ensayaron respecto a la modulación del interferón alfa humano. Dicha modulación de la actividad del rhIFN- α se evidencia por la disminución de la fluorescencia de EGFP, como consecuencia de la inactivación del promotor Mx2, inducible específicamente por los IFNs-I. En la Figura 141 A se puede observar una microscopía de fluorescencia de células sin INF- α o control negativo; con INF- α o control positivo (Figura 141 B) y células con INF- α tratadas con extractos metanólicos de H de GU, donde se observa su efecto modulador (Figura 141 C).

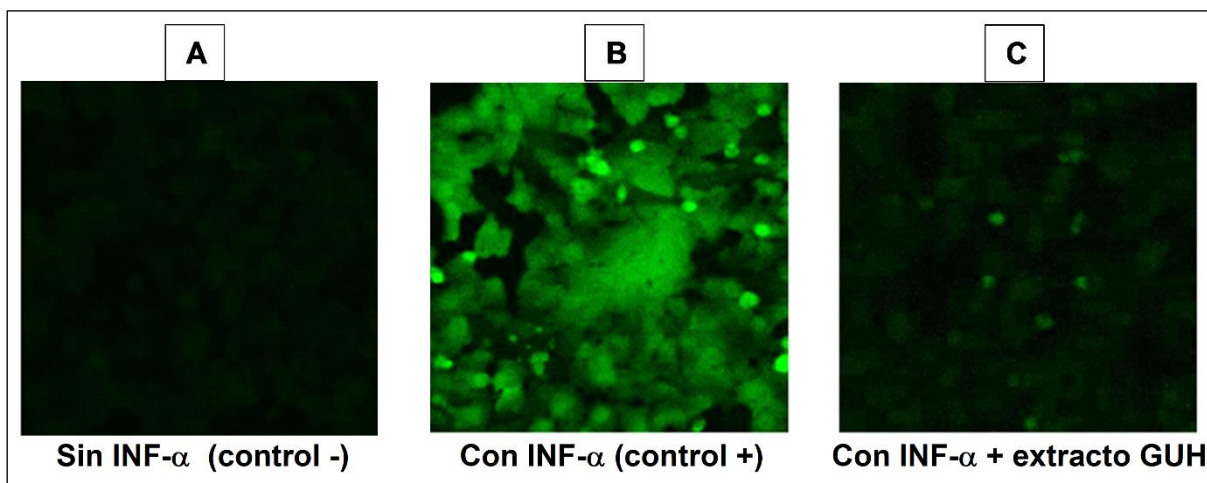


Figura 141: microscopía de fluorescencia utilizando el EGR-WISH-Mx2/EGFP, de células sin INF- α o control negativo (A), con INF- α o control positivo (B) y células con INF- α a las 24 horas de ser tratadas con extractos metanólicos de hojas del genotipo Gurí (GUH) (C).

En la Figura 142 se puede observar que la incubación de extractos de BI de GA y H de GA y GU con células WISH-Mx2/EGFP durante solo 24 h, fue suficiente para registrar una clara inhibición de la actividad de rhIFN- α . Las células expuestas a los extractos de H de ambos cultivares, exhibieron una disminución altamente significativa del porcentaje de fluorescencia de la proteína EGFP, lo que se traduce en una inhibición de la actividad de la citoquina. Asimismo, no se observó esta inhibición para el control AC. Este comportamiento manifiesta el rol modulador de los extractos de H sobre la actividad biológica del rhIFN- α .

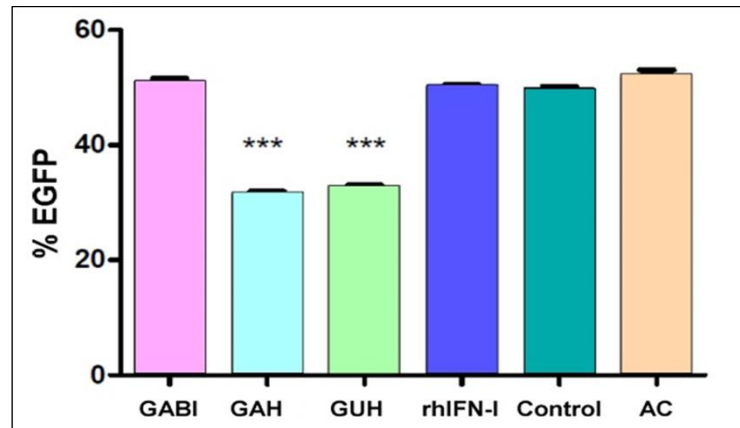


Figura 142: efecto de extractos de bráctea interna y hoja de Gauchito (GABI, GAH); de hoja de Guri (GUH) y de ácido clorogénico en rhIFN-I, respecto al control de metanol, expresado en % de EGFP. Concentración de extractos 40 $\mu\text{g ml}^{-1}$ y de testigo 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Se representó valores medios y el desvío estandar. Significancia estadística: *** $p < 0,001$.

Seguendo con los ensayos biológicos de los extractos seleccionados del cultivo 2016, se determinó que la incubación de extractos de H de todos los genotipos con las células WISH-Mx2/EGFP durante 24 h fue suficiente para detectar una clara disminución del % de EGFP, respecto al control ($p < 0,001$), excepto para GU con T_3 (Figura 143). Algunos extractos de plantas tratadas con T_3 presentaron los menores valores de EGFP, como pudo observarse en H de FRA y OPHI (12,0% y 15,0% de EGFP, respectivamente). En cambio, en otros casos los extractos de plantas sin aplicación de AG_3 o T_0 , presentaron menor expresión de la proteína fluorescente, destacándose los valores de GU, MAHI (11,0% y 17,5% de EGFP, respectivamente). Los demás genotipos y tratamientos presentaron valores intermedios (Figura 143).

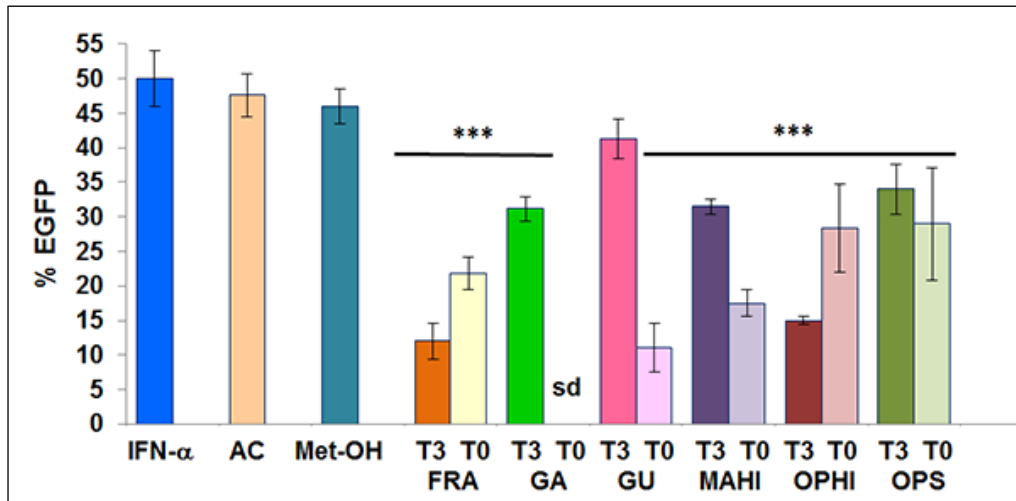


Figura 143: determinación del porcentaje de células EGFP positivas, evaluado mediante citometría de flujo, luego de cada tratamiento control: interferón- α (IFN- α); ácido clorogénico (AC); solvente extractor metanol (MetOH). Extractos de hojas de los genotipos: Francés (FRA); Gauchito (GA); Gurí (GU); Madrigal multiplicado por hijuelo (MAHI); Opal multiplicado por hijuelo y semilla (OPHI - OPS), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Significancia estadística: *** p<0,001.

Con respecto al mismo ensayo con los extractos de BI de los capítulos, en la Figura 144 se puede observar el efecto de los diferentes genotipos y tratamientos, sobre la actividad del IFN- α (p<0,001). Se visualizó un menor % de EGFP en algunos extractos a cuyas plantas se les aplicó T₃, como es el caso de OPHI y FRA (23,0% y 31,0% de EGFP, respectivamente). En las plantas con T₀, los extractos de BI que menos % de EGFP presentaron fueron los genotipos GU (23,0%) y OPHI (27,0%), seguidos de MAHI y OPS con un promedio de 35,0%.

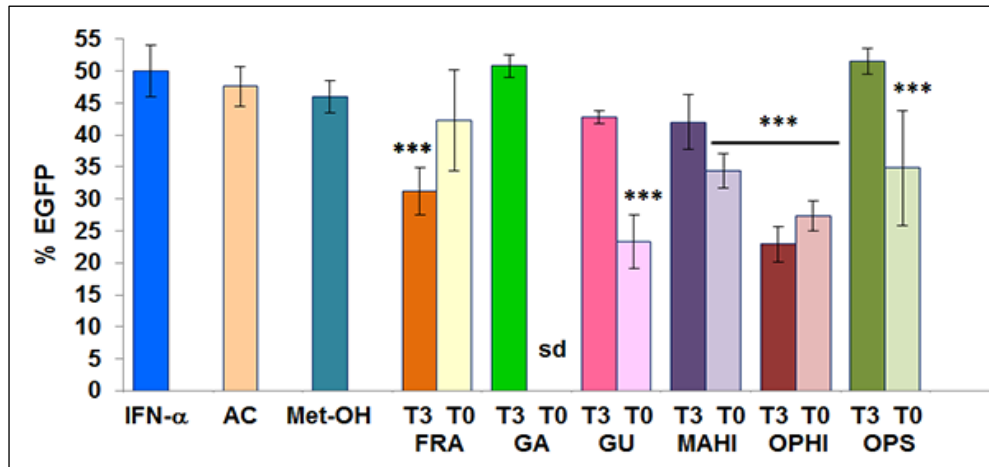


Figura 144: determinación del porcentaje de células EGFP positivas, evaluado mediante citometría de flujo, luego de cada tratamiento control: interferón- α (IFN- α); ácido clorogénico (AC); solvente extractor metanol (MetOH). Extractos de brácteas internas de los genotipos: Francés (FRA); Gauchito (GA); Gurí (GU); Madrigal multiplicado por hijuelo (MAHI); Opal multiplicado por hijuelo y semilla (OPHI - OPS), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Significancia estadística: *** p<0,001.

Respecto a los extractos del F y su efecto sobre la actividad del IFN- α , se observó que el valor más bajo de proteína EGFP fue detectado en el genotipo GU con T₀ (p<0,001). Los demás genotipos y tratamientos presentaron una significativa disminución del % EGFP respecto a los controles (Figura 145).

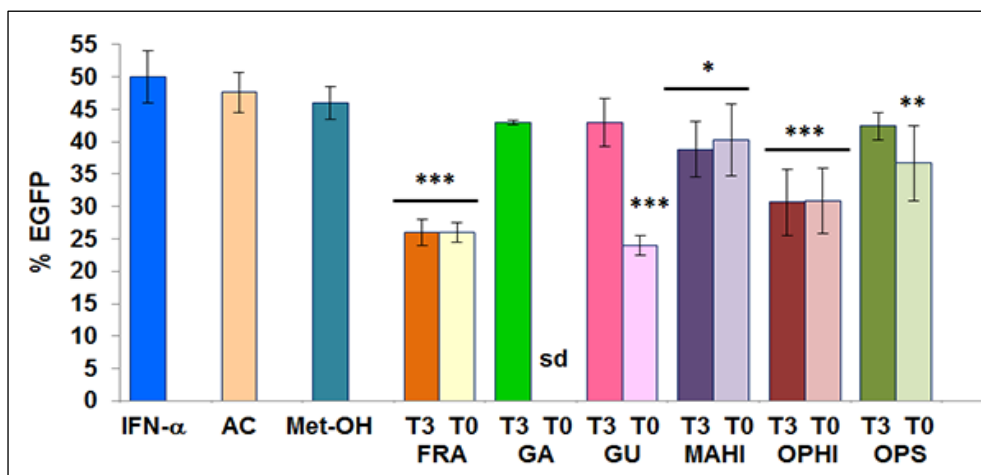


Figura 145: determinación del porcentaje de células EGFP positivas, evaluado mediante citometría de flujo, luego de cada tratamiento control: interferón- α (IFN- α); ácido clorogénico (AC); solvente extractor metanol (MetOH). Extractos de fondos de los genotipos: Francés (FRA); Gauchito (GA); Gurí (GU); Madrigal multiplicado por hijuelo (MAHI); Opal multiplicado por hijuelo y semilla (OPHI - OPS), cultivo 2016, de plantas tratadas con T₃ (tres aplicaciones de ácido giberélico) y T₀ (testigo sin aplicación). Significancia estadística: *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001.

Los resultados de estos experimentos demostraron que la mayor parte de los extractos de los genotipos evaluados producen una menor producción de EGFP.

DISCUSIÓN

Analizando los resultados obtenidos respecto al ensayo de DPPH de los extractos de H y BI de los tres cultivares FCA, GA, GU y OV, cultivados en el 2013, se pudo observar que todos ellos tienen capacidad de captar radicales libres. En los cromatogramas se evidenciaron varias áreas de color amarillo claro sobre el fondo púrpura en la región media, que se correlacionan con los factores de retención característicos de TLC de los ácidos cafeoilquínicos y flavonoides, de mayor intensidad los primeros en las BI, e indicando la presencia de captadores de DPPH en los tres cultivares. Así mismo en los cromatogramas de extractos de H, BI y F de capítulos primarios y secundarios del genotipo Madrigal F1, de plantas tratadas con T₃ y T₀, del cultivo 2015, también se observaron las zonas amarillentas correspondientes con el factor de retención de AC y de DCQ. En general, esas zonas que demuestran la capacidad de captar radicales libres, en particular las correspondientes al AC contenido en las muestras, fueron de mayor tamaño en las H y BI respecto a las del F. Los

DCQ también produjeron manchas amarillentas más grandes en los extractos de BI que en F, siendo en las H mucho más pequeñas y tenues.

Con respecto a los resultados de BI de los genotipos seleccionados del cultivo 2016, las zonas amarillentas de mayor tamaño e intensidad correspondieron al genotipo OP multiplicado por HI, tanto para AC como para DCQ. Las zonas de menor intensidad se observaron en los extractos de GA y GU. En estos genotipos, es más notoria la diferencia entre T_3 (mayor tamaño e intensidad de color en las manchas amarillentas) respecto a T_0 , siendo más tenue en MAHI y OPHI. En el desarrollo autográfico de los extractos de F, se observaron manchas amarillentas de menor intensidad que las observadas en BI. Se destacó el genotipo OP multiplicado por HI, con zonas de color más intenso que las presentes en los demás genotipos; respecto a los tratamientos, una de las repeticiones de GU y MAS muestra manchas de mayor tamaño con T_0 que con T_3 .

Varios autores han reportado que los compuestos fenólicos presentes en el alcaucil tienen actividad antioxidante (Pérez García et al., 2000; Llorach et al., 2002; Garbetta et al., 2014). Estos antioxidantes naturales con propiedades redox son captadores de radicales, agentes reductores o donantes de hidrógeno (Jesionek et al., 2015; Kähkönen et al., 2005; Proestos et al., 2005). El alcaucil presenta una elevada capacidad antioxidante (Wu et al., 2004), ocupando el lugar número 17 en la selección de 50 alimentos con mayor contenido de compuestos antioxidantes, presentando en valores absolutos 4237 mmol de electrones por átomo de hidrógeno donado en la reacción redox por 100 g de muestra. A su vez alcanza el cuarto lugar cuando se expresa el contenido de antioxidantes en términos del tamaño de la porción preparada para el consumo, en el cual el alcaucil posee 3559 mmol por porción (Halvorsen et al., 2006).

Ahora bien, el contenido de compuestos químicos y su acción biológica, varían entre diferentes cultivares, edad, generación de la planta, órganos de la planta, condiciones de crecimiento, densidad de plantación, cosecha, poscosecha, almacenamiento y los procesamientos realizados (Tomás Barberán y Espín, 2001; Lombardo et al., 2018). Si bien los extractos analizados se elaboraron con material crudo y fresco, cabe destacar que varios estudios han informado que hervir verduras induce a la pérdida de nutrientes y compuestos bioactivos inestables al calor debido a la oxidación, degradación térmica, y otros eventos que reducen el contenido de estos compuestos (Pellegrini et al., 2009). Los capítulos de alcaucil generalmente se cocinan antes de comer y dado que actualmente se acepta que los

fenoles son los principales contribuyentes a la actividad antioxidante de los alimentos vegetales, es importante considerar el impacto al ser procesados. En este sentido, Ferracane et al. (2008), observaron un aumento del poder antioxidante total en muestras cocidas con respecto a alcauciles crudos. Otra investigación de Lutz et al. (2011), aporta datos muy interesantes determinando que, tanto el contenido de fenoles como la capacidad antioxidante aumentan luego de la cocción en alcauciles maduros, como en los más inmaduros, destinados generalmente para la industria.

Por otro lado, los polifenoles poseen una acción dual en referencia a los niveles redox de las células, ya que pueden actuar como antioxidantes o prooxidantes dependiendo de diversos factores como la concentración de polifenoles o los niveles redox de la propia célula. Esto permite que los polifenoles sean responsables del efecto preventivo al actuar como antioxidantes, así como de la capacidad de inducir muerte en las células tumorales mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (Jukić et al., 2015). Esa acción dual mencionada, se corroboró en forma complementaria con los resultados positivos de los ensayos biológicos de células de neuroblastoma, tratadas con diferentes concentraciones de extractos de BI y H de los cultivares GA y GU, generados en la Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. Se pudo determinar que los extractos de H de GA y GU, redujeron significativamente el número de células cancerígenas del sistema nervioso central (neuroblastoma humano SH-SY5Y, ATCC CRL-2266). Esta reducción de la viabilidad fue dependiente de la dosis y los extractos de H de GA y GU mostraron un efecto positivo incluso a la dilución más alta (D500, $8 \mu\text{g mL}^{-1}$). A su vez, GA ejerció un mayor efecto que GU, produciendo una disminución de más del 50% en la viabilidad de las células SH-SY5Y. La concentración de ácidos mono y di-cafeoilquínicos en los extractos de hojas en estas diluciones es de 0,11 y 0,15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en GA y 0,12 y 0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en GU, mientras que el extracto de BI de GA contiene 0,36 y 1,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. Cuando se evaluaron estos extractos sobre la proliferación celular normal, ninguno de ellos mostró efecto sobre la viabilidad de las mismas. Por otro lado, interesantemente, no hubo recuperación de la viabilidad de las células cancerígenas luego de haber sido tratadas con los extractos y colocadas en medio rico para su desarrollo y libre de extracto de H, aspectos muy importantes a tener en cuenta en los ensayos biológicos (resultados preliminares no mostrados). Sin embargo, la doxorubicina, un medicamento que se utiliza en el tratamiento de varios tipos de cáncer, muestra una reducción del 20% en la viabilidad de células normales a una concentración de 0,20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Asimismo, se informó que este antibiótico de antraciclina con actividad antineoplásica disminuye más del 60% la viabilidad de las células

SH-SY5Y cuando se exponen a $0,10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de fármaco (Almeida et al., 2018). Para comprender si los ácidos cafeoilquínicos o los flavonoides presentes en el extracto de H de GA estaban ejerciendo el efecto observado sobre las células del neuroblastoma, se evaluaron también el AC, DCQ, apigenina y luteolina puros sobre ellas. Ninguno de estos compuestos reprodujo la actividad observada para los extractos de H de los cultivares GA y GU, ni tampoco cuando ellos fueron combinados en una única solución, sugiriendo que esta actividad se debe presumiblemente a la presencia adicional de otros compuestos bioactivos no fenólicos que no fueron identificados en este trabajo de tesis. Aunque aún quedan interrogantes que requieren estudios más profundos, los resultados obtenidos demuestran que los genotipos argentinos GA y GU, tienen el potencial de inhibir la viabilidad de las células del neuroblastoma humano sin afectar la viabilidad de las células normales.

Otros grupos han informado que los polifenoles son considerados compuestos bioactivos con propiedades anticancerígenas. Por ejemplo, el grupo de Mileo et al. (2016), demostró que dosis altas de extractos de la parte comestible de la alcachofa reducían e inhibían la viabilidad celular de células cancerígenas de mama, cuyo efecto citotóxico estaba mediado por la inducción de apoptosis. Esto es debido a la capacidad de los polifenoles para comportarse como prooxidantes e inducir la rotura del ADN y consecuentemente, la apoptosis en células neoplásicas. Es decir, los polifenoles generan determinadas cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) que dan lugar a un mayor nivel de estrés oxidativo en las células malignas lo que provoca la detención de su crecimiento, sin afectar a las células no tumorales. Los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que los extractos de H de los genotipos GA y GU que tienen el potencial de inhibir la viabilidad de las células de neuroblastoma y podrían ser buenos candidatos para ser utilizados en quimioprevención.

Finalmente, los ensayos de capacidad moduladora de los extractos de alcaucil sobre la actividad del IFN I- α resultaron también positivos. Los IFN I- α son moléculas centrales del sistema inmunológico con acciones farmacológicas o patológicas. La incubación de extractos de H de GA y GU del cultivo 2013, con células WISH-Mx2/EGFP durante solo 24 h fue suficiente para registrar una clara inhibición de la actividad de IFN- α , evidenciada por la disminución de la fluorescencia de EGFP. Este tipo de actividad también fue reportada por García et al. (2009). La magnitud de la inhibición realizada por los extractos se calculó considerando al control positivo con INF- α , como un 100% de expresión de EGFP y la diferencia con el valor observado en las muestras tratadas, da el valor del % de inhibición de los mismos, sobre el INF- α . Los extractos de BI no demostraron inhibición y los de H

lograron una inhibición altamente significativa del 32% en promedio, comparadas con las células control (tratadas con la citoquina pero sin extracto). Respecto a los resultados de este tipo de ensayos con genotipos y tratamientos seleccionados del cultivo 2016, se puede destacar el efecto modulador de los extractos de FRA y OPHI con T₃, disminuyendo en 76 % y 70% respectivamente el % de EGFP. A su vez los extractos de GU y MAHI redujeron en 78% y 65% dicha expresión del IFN- α , cuando las plantas no recibieron ninguna aplicación de AG₃, respecto a las células sin tratar. Coincidentemente, los extractos de H de GU y MAHI fueron los genotipos que presentaron el mayor contenido de AC o de DCQ. Los ensayos con extractos de BI y F, presentaron menor inhibición del IFN- α . Se destacaron los extractos de BI del genotipo OPHI con T₃, presentando una disminución del 54% en la cantidad de fluorescencia de la proteína o EGFP y con T₀ 45%; también GU tratado con T₀, con 53,4% de inhibición. En cuanto a extractos de F, ejercieron una reducción significativa del % de EGFP el genotipo GU con T₀ (52%); FRA y OPHI con ambos tratamientos (48% y 38% respectivamente). Esta inhibición se evidencia por la disminución de la fluorescencia de EGFP en relación al control de IFN, demostrando que los extractos son capaces de inhibir la actividad del IFN- α .

El efecto de los extractos de alcaucil sobre la actividad del IFN-I da una premisa muy prometedora para hacer un estudio más extenso y comprensivo sobre los genotipos argentinos y los híbridos extranjeros como potenciales candidatos naturales para el tratamiento de enfermedades causadas por la sobreproducción o hiperactividad de IFN-I. En este sentido y en relación a la actividad sobre células cancerígenas que fuera previamente descrito, es interesante remarcar que la inflamación crónica coopera con el desarrollo de varios tipos de cáncer (Ben Neriah y Karin, 2011). Por lo tanto, la utilidad de los extractos de alcaucil que resultaron más activos en ambos ensayos podría ser muy promisoria.

Por su parte los IFNs son moléculas centrales del sistema inmune con un comportamiento dual, ya que son ampliamente utilizados como bioterapéuticos para el tratamiento de enfermedades virales crónicas, distintos tipos de cáncer, entre otras. Contrariamente, son uno de los principales responsables de las patologías autoinmunes. Encontrar compuestos naturales que modulen negativamente la acción del IFN- α para controlar diferentes enfermedades donde esta citoquina es responsable del desarrollo y mantenimiento de los procesos inflamatorios, es un desafío que está atrayendo gran atención en el campo del descubrimiento de fármacos. Aunque se necesitan más investigaciones, nuestros resultados sugieren que los cultivares de alcaucil creados en la

Facultad de Ciencias Agrarias (UNR), en particular GA y GU, pueden explotarse en formulaciones farmacéuticas para prevenir patologías humanas relacionadas con el cáncer del sistema nervioso central y la inflamación crónica. Respecto a esta última, FRA, GU y OPHI presentan potencialidad. El mayor efecto se observó en extractos de H, pero también las partes comestibles evaluadas tuvieron un comportamiento interesante. El carácter químico que permite diferenciar a las H respecto de la porción comestible (BI y F), es la presencia de un número mayor de flavonoides.

Cabe citar nuevamente el rol biológico que poseen los flavonoides. Estos representan el grupo más grande de fitonutrientes. Son más de 6000 tipos, y muchos de ellos son considerados potencialmente anticancerígenos. Debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias muy bien documentadas, se esperaría que los flavonoides reduzcan el riesgo de ciertos cánceres, ya que el estrés oxidativo y la inflamación crónica no deseada pueden aumentar el riesgo de que las células se vuelvan cancerosas (Kumar y Kant, 2017). Desde el punto de vista nutracéutico, el alcaucil resulta un alimento muy completo y también sus múltiples beneficios terapéuticos orientan su utilización en la industria farmacéutica. La actividad moduladora sobre $\text{INF-}\alpha$ se continuará investigando ya que los extractos de las cultivares estudiadas podrían constituir una alternativa natural para el tratamiento de enfermedades causadas por sobreproducción o hiperactivación de rhIFN , como es el caso de enfermedades autoinmunes como Lupus. Revalorizar el cultivo del alcaucil en Argentina, y sus múltiples aplicaciones, permitirá una mayor amplitud económica y ecológica en los sistemas productivos hortícolas.

CONCLUSIONES

. Los extractos de todas las partes de las plantas evaluadas independientemente del genotipo, del tratamiento y del año, mostraron capacidad de captar radicales libres de DPPH, siendo las brácteas las que expresaron mayor actividad.

. Los extractos de hojas de Gauchito y Gurí FCA redujeron significativamente la proliferación de células tumorales de neuroblastoma humano, sin afectar a las células normales y evidenciando un efecto residual en las células tumorales tratadas.

. Los extractos de hojas de Gurí y Madrigal multiplicado por hijuelo, ambos de plantas no tratadas con ácido giberélico, presentaron el mayor efecto inhibitorio del $\text{IFN-}\alpha$.

CONSIDERACIONES FINALES

El alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*), es una hortaliza originaria de la cuenca mediterránea y desde allí fue traída a Argentina por los inmigrantes italianos y españoles. De manos de los inmigrantes, vinieron los materiales genéticos, las técnicas de manejo del cultivo, la cultura de su preparación y consumo. En el proceso de adaptación a las diferentes condiciones agroecológicas, nuestro país llegó a ser el quinto productor mundial de alcaucil. Su mayor destino es el consumo en fresco, pero también se procesa, teniendo múltiples aplicaciones en la industria alimenticia y farmacéutica por su abundante contenido de principios activos. La búsqueda de mejorar y revalorizar los recursos genéticos del alcaucil, en función de múltiples objetivos es una tarea constante. En ese camino se enfocó hace tres décadas, un grupo de investigadores de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Rosario (FCA-UNR), siendo el único referente nacional dedicado al tema, con una visión integral e interdisciplinaria y con reconocimiento internacional. Con ese enfoque se planificó y desarrolló este trabajo de tesis.

Para ampliar el espectro varietal, lograr oferta de calidad la mayor parte del año y ofrecer a los productores hortícolas un valioso cultivo alternativo, es necesario estudiar a los cultivares nacionales e híbridos extranjeros en su respuesta al manejo agronómico en las condiciones regionales. Es por eso que en esta tesis se planteó el estudio del efecto de los manejos de cultivo en la composición química, el contenido de fibra, pardeamiento, morfología y la productividad de los genotipos obtenidos en la FCA-UNR. De esa primera etapa pudo dilucidarse la influencia que tienen la fertilización, el riego y la aplicación de ácido giberélico (AG_3) en los cultivares Gauchito, Gurí y Oro verde en diversas variables. Se pudo ponderar a los genotipos según sus características distintivas, lo cual permite direccionar el destino de la producción, ofrecer alimentos de calidad, hacer que los sistemas intensivos hortícolas manejen los recursos de manera sustentable y que se generen subproductos de alto valor.

Esas líneas de investigación quedaron abiertas para ser profundizadas en diversos aspectos y a su vez fueron orientando los siguientes pasos de la tesis; por un lado elegir la aplicación de AG_3 para ampliar el conocimiento de este manejo de cultivo en las condiciones locales y por otro lado comenzar a estudiar los materiales genéticos híbridos, ambos aspectos nunca abordados. Ante la creciente utilización de genotipos extranjeros, es muy importante realizar experimentos regionales, más aún para el cultivo de alcaucil, cuya respuesta a la inducción floral puede ser variable de un año a otro. Los resultados obtenidos

en el genotipo Madrigal F1, indicaron que también el diferente número de aplicaciones por planta, influyen en algunas variables medidas, especialmente el contenido de principios activos, la productividad y precocidad.

Estudios previos nos habían indicado que era posible obtener un cultivo con el propósito de cosechar todos sus capítulos comercializables y luego aprovechar su follaje restante para obtener metabolitos secundarios. Esos tratamientos de AG₃ debían evaluarse también en los cultivares FCA-UNR y en otros híbridos, cuyas plantas fueran multiplicadas por hijuelos y semillas, bajo las mismas condiciones de cultivo. Esto tampoco había sido estudiado de esa manera, teniendo en cuenta a la planta completa, y nos abrió un abanico de actuales y futuros análisis. Al mismo tiempo se pudo ampliar el estudio de la composición química, en particular de los flavonoides, en colaboración con un grupo de investigación de Valencia, España, que se presentó como una línea futura de investigación.

Otro gran objetivo que pudo llevarse a cabo en colaboración con grupos de trabajo con experiencia en actividad química y biológica de extractos de origen natural, fue la evaluación de los extractos respecto a su actividad antioxidante, anticancerígena y antiinflamatoria. Para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos se utilizó cromatografía en capa delgada y como revelador al compuesto 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH). Se aplicaron ensayos de cultivo y proliferación de células tumorales SH-SY5Y de neuroblastoma humano y de activación del interferón alfa humano recombinante (rhIFN- α) utilizando un ensayo gen reportero (EGR) basado en células WISH. Con este trabajo de tesis verificamos el potencial de esta línea de investigación que tiene gran interés por parte de la comunidad científica.

Finalmente, los resultados de esta tesis aportan valiosos conocimientos sobre los genotipos locales y extranjeros de alcaucil, su comportamiento agronómico ante diversos manejos en las condiciones regionales, la calidad de sus capítulos, la productividad en cultivo de doble propósito y las potenciales aplicaciones biológicas de sus extractos. Revalorizar el cultivo del alcaucil en Argentina para sus múltiples aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica, permitirá una mayor amplitud económica y ecológica en los sistemas productivos hortícolas. Por último, me gustaría destacar que el camino recorrido junto a mis directores y a tantas personas de excelente calidad personal y profesional, va más allá de lo presentado en este documento.

BIBLIOGRAFÍA

- . Abu Reidah, I.M.; Arraez Roman, D.; Segura Carretero, A.; Fernandez Gutierrez, A. 2013. Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Chemistry* 141: 2269-2277.
- . Agarwal, R. and Mukhtar, H. 1996. Cancer Chemoprevention by Polyphenols in Green Tea and Artichoke. In: American Institute for Cancer Research editor. *Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and Treatment. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 401:35-50. Boston, MA: Springer Press.
- . Ahvenainen, R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* 7: 179-187.
- . Alcón, F.; de Miguel, M.D.; Arcas, N.; Condés, L.F.; Fernández, J.A. 2011. Break-even point assessment of new artichoke cultivars with sexual reproduction. *Acta Horticulturae ISHS* 898: 321-326.
- . Almeida, D.; Pinho, R.; Correia, V.; Soares, J.; Bastos, M.L.; Carvalho, F.; Capela, J.P.; Costa, V.M. 2018. Mitoxantrone is More Toxic than Doxorubicin in SH-SY5Y Human Cells: A 'Chemobrain' In Vitro Study. *Pharmaceuticals* 11:41-60.
- . Andújar Sánchez, M.; Plana Arnaldos, V.; López Martínez, R.; Martínez Mínguez, F.; López García, A. 2005. Comportamiento de nuevas variedades de alcachofa procedentes de semilla en el valle del Guadalentín. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica. Programa de Innovación tecnológica. *Horticultura* 17:44 pp.
- . APHA, AWWA, WEF. 2012. *Standard Methods for examination of water and wastewater*. 22nd ed. Washington: American Public Health Association, 1360 pp. ISBN 978-087553-013-0 <http://www.standardmethods.org/>.

. Artés Calero, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 7(2):61-85.

. Azzini, E.; Bugianesi, R.; Romano, F.; Di Venere, D.; Miccadei, S.; Durazzo, A.; Foddai, M.S.; Catasta, G.; Linsalata, V.; Maiani, G. 2007. Absorption and metabolism of bioactive molecules after oral consumption of cooked edible heads of *Cynara scolymus* L. (cultivar Violetto di Provenza) in human subjects: a pilot study. British Journal of Nutrition 97:963-969 doi: 10.1017/S0007114507617218

. Bae, H.; Jayaprakasha, G.K.; Jifon, J.; Bhimanagouda, S.P. 2012. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. Food Chemistry 130:751-758.

. Baixauli Soria, C. y Maroto, J. V. 2011. Cvs de alcachofa propagable por semilla, respuesta al ácido giberélico. Editorial Académica Española.

. Baixauli Soria, C.; Giner, A.; Aguilar, J. M.; Nájera, I.; Maroto, J. V.; Pascual, B.; Pascual, N.; Torres, J. F.; López Galarza, S. y San Bautista, A. 2014. Respuesta productiva y agronómica de diferentes cvs de alcachofa multiplicados por semilla. Agrícola Vergel 375: 184-188.

. Baixauli Soria, C. 2017a. Cultivos hortícolas al aire libre. Alcachofa. Serie Agricultura 13:340-369. Cajamar, Caja Rural. Coordinadores Maroto Borrego, J.V. y Baixauli Soria, C. ISBN-13-13:978 – 84-95531-82-7.

. Baixauli Soria, C. 2017b. Situación actual del cultivo de la alcachofa. Biblioteca Horticultura, Grupo THM. pp 13. https://issuu.com/horticulturapostcosecha/docs/baixauli_alcachofa.

. Baixauli Soria, C.; Giner, A.; Aguilar, J.M. y Nájera, I. 2020. Comportamiento productivo y agronómico de nuevos cultivares y líneas de semilla de alcachofa propagada. Acta Horticulturae ISHS 1284:145-148. DOI: 10.17660 / ActaHortic.2020.1284.19. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.1284.19>

- . Bari, R. and Jones, J. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* 69:473–488. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0>.
- . Barrientos Llanos, H.; Castillo Gutiérrez, C.R.; García Cárdenas, M. 2015. Análisis de crecimiento funcional, acumulación de biomasa y translocación de materia seca de ocho hortalizas cultivadas en invernadero. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, La Paz, vol.2, nº1:7-118. ISSN: 2518-6868.
- . Bartual R., 1985. IV cursos internacionales de horticultura en climas áridos. Ministerio de Agricultura y Ministerio de Asuntos Exteriores de España 5:1-25.
- . Beckman, C.H. 2000. Phenolic-storing cells: Keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants?. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57:101-110.
- . Bekheet, S. and Sota, V. 2019. Biodiversity and medicinal uses of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) plant. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management* 5(1):39-54. DOI: <https://doi.org/10.3329/jbcm.v5i1.42184>.
- . Ben Neriah, Y. and Karin, M. 2011. Inflammation meets cancer, with NF-κB as the matchmaker. *Nature Immunology* 12:715-23.
- . Bianco, V.V. 1990. Carciofo (*Cynara scolymus* L.). p. In: V.V. Bianco and F. Pimpinini (eds.), *Orticoltura*. Patron Editore, Bologna, Italy, 209-251.
- . Bianco, V.V. 2005. Present situation and future potential of artichoke in the Mediterranean basin, *Acta Horticulturae ISHS* 681:39-55.
- . Blumenthal M., 2000. The complete German Commission E Monographs, Therapeutic Guide to Herbal Medicines. 84.
- . Boari, F.; Cantore, V.; De Palma, E. and Rubino, P. 2000. Evapotranspiration trend in seed propagated artichoke, [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori], in southern Italy. *Acta Horticulturae ISHS* 537:511-518.

- . Bömke, C. and Tudzynsk B. 2009. Diversity, regulation, and evolution of the gibberellin biosynthetic pathway in fungi compared to plants and bacteria. *Phytochemistry* 70:1876-1893.
- . Brat, P.; Georgè, S.; Bellamy, A.; Duchaffalut, L.; Scalbert, A.; Mennen, L.; Arnault, N.; Amiot, M.J.; 2006. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *Journal of Nutrition* 136:2368-2373.
- . Bürgi, M.; Prieto, C.; Etcheverrigaray, M.; Kratje, R.; Oggero, M.; Bollati-Fogolín, M. 2012. WISH cell line: From the antiviral system to a novel reporter gene assay to test the potency of human IFN- α and IFN- β . *Journal of Immunology Methods* 381:70-74.
- . Bürgi, M.; Zapol'skii, V.A.; Hinkelmann B.; Köster, M.; Kaufmann, D.E.; Sasse, F. et al. 2016. Screening and characterization of molecules that modulate the biological activity of IFNs-I. *Journal of Biotechnology* 233:6-16.
- . Bürgi, M.; Hernández, P.; Cabrera, M.; Cerecetto, H.; González, M.; Kratje, R.; Raimondi, A.; Oggero, M.; Bollati-Fogolin, M. 2020. Identification and characterization of human interferon alpha inhibitors through a WISH cell line-based reporter gene assay. *Bioorganic Chemistry* 94 (2020) 103372.
- . Cabezas Serrano, A.B.; Amodio, M.L.; Cornacchia, R.; Rinaldi, R.; Colelli, G. 2009. Screening quality and browning susceptibility of five artichoke cultivars for fresh-cut processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89:2588-2594.
- . Cannella, C. 2009. Aspetti nutrizionali (capitolo Alimentazione) in *Il carciofo e il cardo*. Ed. ART S.p.A. Bologna. Bayer CropScience, 464 pp. ISBN 978-88-9631-05-0.
- . Cantore, V. and Boari, F. Capítulo Irrigazione e salinitá, in *Il carciofo e il cardo*. Ed. ART S.p.A. Bologna. Bayer CropScience, 464 pp. ISBN 978-88-9631-05-0.
- . Caruana, M. and Vasallo, N. 2015. Tea polyphenols in Parkinson's disease, Capítulo 6: 117-137 del libro *Natural compound as therapeutic agents for amyloidogenic diseases*. *Avances in Experimental Medicine and Biology*. 863, DOI 10.1007/978-3-319-18365-7-6. Editor Vasallo N.. Springer International Publishing Switzerland.

- . Caputo, M.; Silva, M.; Beauclair, E.; Gava, G. 2007. Acúmulo de sacarose, produtividade e florescimento de canade-açúcar sob reguladores vegetais. *Interciência* 32:834-840.
- . Ceccarelli, N.; Curadi, M.; Picciarelli, P.; Martelloni, L.; Sbrana, C.; Giovannetti, M. 2010. Globe artichoke as a functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 3:197-201.
- . Ciancolini, A.; Alignanc, M.; Pagnotta, M.A.; Miquelc, J.; Vilaremc, G.; Crinò, P. 2013. Morphological characterization, biomass and pharmaceutical compounds in Italian globe artichoke genotypes. *Industrial Crops and Products* 49:326-333.
- . Cointry, E.; García, S.M.; López Anido, F.; Firpo, I.T.; Cravero, V.; Muñoz, S. 2005. Aumentando el espectro varietal en alcaucil (*Cynara scolymus* L.: Gauchito FCA y Gurí FCA. *Horticultura Argentina* 24 (56/57): 5-7. ISSN 0327-3431.
- . Coinu, R.; Cart, S.; Urgeghe, P.; Mulinacci, N.; Pinelli, P.; Franconi, F.; Romani, A. 2007. Dose-effect study on the antioxidant properties of leaves and outerbracts of extracts obtained from Violetto di Toscana artichoke. *Food Chemistry*. 101:524-531.
- . Condés Rodríguez, F.L.; Pato Folgoso, A.; Vicente Conesa, F.E.; Miguel Gómez, M.D.; Alcón Provencio, F. 2008. Efecto del ácido giberélico en la producción precoz de la alcachofa. Programa de Innovación Tecnológica. Consejería de Agricultura y Agua. Dirección General de Modernización de Explotaciones y Capacitación Agraria. Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica. Plaza Juan XXIII, s/n - 30071 Murcia.
- . Cravero, V.P.; López Anido, F.S.; Espósito, A.M.; Cointry, E.L. 2011. Mejoramiento convencional y no convencional de especies hortícolas. *Journal of Basic & Applied Genetics* Vol. 22, Issue 1:1-4, Article 5. ISSN: 1852-6233.
- . Cuendet, M.; Hostettmann, K.; Potterat, O.; Dyatmiko, W. 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagyaea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80: 1144–1152.

- . Curadi M.; Picciarelli P.; Lorenzi R.; Graifenberg A; Cecerelli N. 2005. Antioxidant activity and phenolic compound in de edible part of early and late Italian artichoke *Cynara scolymus* L. varieties it. *Journal Food Science* 1:33-44.
- . D'Antuono, I.; Garbetta, A.; Linsalata, V.; Minervini, F.; Cardinali, A. 2015. Polyphenols from artichoke heads (*Cynara cardunculus* (L.) subsp. *scolymus* Hayek): In vitro bio-accessibility, intestinal uptake and bioavailability. *Food and Function* 6:1268-1277.
- . D'Antuono, I; Carola, A.; Sena, L.M.; Linsalata, V.; Cardinali, A.; Logrieco, A.F.; Colucci, M.G.; Apone, F. 2018. Artichoke Polyphenols Produce Skin Anti-Age Effects by Improving Endothelial Cell Integrity and Functionality. *Molecules* 23 (11), 2729. <https://doi.org/10.3390/molecules23112729>.
- . Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. 2016. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- . Di Venere, D.; Linsalata, V.; Calabrese, N.; Pieralice, M.; Bianco, V.V.; Lattanzio, V. 2005. Morphological and biochemical changes during growth and development of artichokes buds. *Acta Horticulturae ISHS* 681:437-443.
- . Elia, A.; Calabresse, N.; Bianco, V.V. 1994. Sowing time gibberellic acid treatment and cultivar of "seed" propagated artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 371:347-354.
- . Elia, A. and Conversa, G. 2007. Mineral nutrition aspects in artichoke growing. *Acta Horticulturae ISHS* 730:239–249.
- . Fallahi, E.; Conway, W.S.; Hickey, K.D.; Sams, C.E. 1997. The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. *HortScience* 32:831-835.
- . Fantini, N.; Colombo, G.; Giori, A.; Riva, A.; Morazzoni, P.; Bombardelli, E.; Carai, M.A.M. 2011. Evidence of glycemia-lowering effect by a *Cynara scolymus* L.extract in normal and obese rat. *Phytotherapy Research* 25:463-466.

- . Firpo, I.T.; Rotondo, R.; Ferratto, J.A.; Murray, R. 2004. Influencia de la temperatura y del envase sobre la calidad poscosecha del espárrago verde (*Asparagus officinalis* L.). Revista Información Técnica Económica Agraria, Vol. 100V N° 3:165-172.
- . Fratianni, F.; Tucci, M.; De Palma, M.; Pepec, R. and Nazzaro, F. 2007. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). Food Chemistry 104:1282-1286.
- . Fritsche, J.; Beindorff, C.; Dachtler, M.; Zhang, H.; Lammers, J.G. 2002. Isolation, characterization and determination of minor artichoke leaf extract compounds. EurFood Research Technology 215 (2):149-57.
- . Ferracane, R.; Pellegrini, N.; Visconti, A.; Graziani, G.; Chiavaro, E.; Miglio, C.; Fogliano, V. 2008. Effects of different cooking methods on antioxidant profile, antioxidant capacity, and physical characteristics of artichoke. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56:8601-8608.
- . Garbetta, A.; Capotorto, I.; Cardinali, A.; D'Antuono, I.; Linsalata, V.; Pizzi, F.; Minervini, F. 2014. Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: Influence of in vitro gastro-intestinal digestion. Journal of Functional Foods 10:456-464.
- . Garcia, J.M.; Gao, A.; He, P-L; Choi, J.; Tang, W.; Bruzzone, R.; Schwartz, O.; Naya, H.; Nan, F-J.; Li, J.; Altmeyer, R.; Zuo, J-P. 2009. High-throughput screening using pseudotyped lentiviral particles: A strategy for the identification of HIV-1 inhibitors in a cell-based assay. Antiviral Research 81:239-247.
- . García, S.M.; Firpo, I.T.; Cointry, E.L.; López Anido, F.S.; Cravero, V.P. 2005. Effects of Different Agronomic Practices on Artichoke Production. A: Bianco, V.V.; Calabrese, N.; Rubatzky V. (ed). Proceedings of the IV International Congress on Artichoke. Valenzano - Bari: ISHS Section Vegetables 83-88pp.
- . García, S.M. 2006. Estrategias alternativas para incrementar la producción y precocidad en el cultivo de alcaucil (*Cynara scolymus* L.). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario. 173 pp.

- . García, S.M.; Firpo, I.T.; López Anido, F.S.; Cravero, V.P.; Rotondo, R.; Cointry, E.L. 2010. Incidencia del ácido giberélico sobre caracteres productivos en alcaucil. Revista Ciencias Agronómicas. Facultad de Ciencias Agrarias. UNR. Nº XVI:007-011. ISSN 1853-4333.
- . García, S.M.; Cravero, V.P.; López Anido, F.; Cointry, E. 2015. Globe artichoke cultivation in Argentina. *Chronica Horticulturae* vol. 55, nº 2:15-20. ISSN: 0578-039X.
- . García, S.M.; Rotondo, R.; López Anido, F.; Cointry, E.; Santa Cruz, P.; Furlán, R.; Escalante, A.M. 2016a. Influence of irrigation on the chemical compounds in leaves in vegetative and reproductive stage and bracts of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). *Acta Horticulturae* ISHS 1147:95-102. http://www.actahort.org/books/1147/1147_14.htm.
- . García, S.M.; Rotondo, R.; López Anido, F.; Cointry, E.; Santa Cruz, P.; Furlán, R.; Escalante, A.M. 2016b. Effect of giberelic acid application on the content of active compounds in leaves and bracts of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). *Acta Horticulturae* ISHS 1147:103-112. http://www.actahort.org/books/1147/1147_15.htm.
- . Garnica, J.; Macua, J.I.; Lahoz, I. and Malumbres. A. 2004. Influence of irrigation in the production and industrial quality of artichoke in Navarra. *Acta Horticulturae* ISHS 660:359-364.
- . Gebhardt, R. 2001. Anticholestatic activity of flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) and of their metabolites. *Medical Science Monitor* 7:316-320.
- . Gebhardt, R. 2002a. Prevention of tauroolithocholate-induced hepatic bile canalicular distortions by HPLC-characterized extracts of artichoke (*Cynara scolymus*) leaves. *Planta Medica* 68:776–79.
- . Gebhardt, R. 2002b. Inhibition of cholesterol biosynthesis in HepG2 cells by artichoke extracts is reinforced by glucosidase pretreatment. *Phytotherapy Research* 16:368–372.
- . Gil Izquierdo, A.; Gil, M.I.; Conesa, M.A.; Ferreres, F. 2001. The effect of storage temperature on vitamin C and phenolics content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2:199-202.

- . Giner Martorell, A. y Bauxauli Soria, C. 2015. Cultivo de la alcachofa de semilla. Fichas de Transferencia 013:1-19. Fundación Cajamar Comunidad Valenciana. Grupo Cooperativo Cajamar.
- . González Sarrías, A.; Núñez Sánchez, M.; Tomás Barberán, F.; Espín, J. 2017. Neuroprotective Effects of Bioavailable Polyphenol-Derived Metabolites against Oxidative Stress-Induced Cytotoxicity in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65:752-758.
- . Grasso, R.; Mondino, M.; Ortiz Mackinson, M.; Vita Larrieu, E.; Longo, A.; Ferratto, J.. 2013. Censo 2012 del Cinturón Hortícola de Rosario. Ajuste del Diagnóstico Agronómico de necesidades y estrategias de intervención del Proyecto Hortícola de Rosario 2013/2018. INTA Publicaciones Miscelánea N° 50. 31 pp. ISSN 0326-256.
- . Guilford, J.M. and Pezzuto, J.M. 2008. Natural products as inhibitors of carcinogenesis. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 17:1341-1352.
- . Gujjarro Real, C.; Prohens, J.; Rodríguez Burruezo, A.; Adalid Martínez, A.M.; López Gresa, M.P.; Fita, A. 2019. Wild edible fool's watercress, a potential crop with high nutraceutical properties. *Peer J*, DOI 10.7717/peerj.6296. <http://doi.org/10.7717/peerj.6296>.
- . Gutiérrez, L. 2011. Extracción de macronutrientes en el cultivo de alcachofa (*Cinara scolymus* L.), variedad Imperial Star en La Libertad, Perú. *Invest. Apli. Innov.* 5(11): 49-63.
- . Halvorsen, B.L.; Carlsen, M.H.; Phillips, K.M.; Bøhn, S.K.; Holte, K.; Jacobs, D.R. and Blomhoff, R. 2006. Content of redox-active compounds (i.e. antioxidants) in foods consumed in the United States. *American Journal of Clinical Nutrition* 84:95-135.
- . Helyes, L. and Lugasi, A. 2006. Formation of certain compounds having technological and nutritional importance in tomato fruits during maturation. *Acta Alimentaria*, vol. 35 (2):183-193.
- . Hewett, E. 2006. An overview of preharvest factors influencing postharvest quality of horticultural products. *Int. J. Postharvest Technology and Innovation*, Vol.1, N° 1:4-15.

- . Hurrell, J.A.; Bayón, N.D.; Delucchi, G. 2017. Plantas cultivadas de la Argentina: asteráceas-compuestas. 1a ed. Editorial Hemisferio SUR S.A. CABA 576 pp. ISBN 978-950-504-634-8.
- . Ierna, A and Mauromicale, G. 2004. Calendario di produzione, resa e caratteristiche di capolini di carciofo a propagazione agamica. *Sementi Elette* 50:37-42.
- . Jaakola, L.; Määttä Riihinen, K.; Kärenlampi, S.; Hohtola, A. 2004. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta* 218:721-728.
- . Jesionek, W.; Majer Dziedzic, B.; Choma, I.M. 2015. Separation, Identification, and Investigation of Antioxidant Ability of Plant Extract Components Using TLC, LC–MS, and TLC–DPPH•. *Journal of Liquid Chromatography Related Technologies* 38:1147-1153.
- . Jukić, H.; Habeš, S.; Aldžić, A.; Durgo, K.; Kosalec, I. 2015. Antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds of the extracts of *Echinacea purpurea* (L.). *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 44:43-52.
- . Kader, A. (ed.) 2007. Tecnología poscosecha de cultivos hortofrutícolas. (3° edición). Serie de Horticultura Poscosecha N° 24. Traducción de la Publicación 3311 de ANR. Universidad de California. 571 pp.
- . Kähkönen, M.P.; Hopia, A.I.; Vuorela, H.J.; Rauha, J.P.; Pihlaja, K.; Kujala, T.S.; Heinonen, M. 2005. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:3954-3962.
- . Kinay, P.; Yildiz, F.; Sen, F.; Yildiz, M.; Karacali, I. 2005. Integration of pre- and postharvest treatments to minimize *Penicillium* decay of Satsuma mandarins. *Postharvest Biology and Technology* 37:31-6.
- . Kramer, A. and Twig, B. 1973. Quality control for the food industry. Ed. The Avi Publishing Company, INC. Westport Connecticut (USA).

- . Kumar, H. and Kant, G. 2017. Effect of Antioxidant Activity of Horticulture Crops for Human Health. *Chemical Science Review and Letters* 6 (23):2008-2013. ISSN 2278-6783.
- . Larcher, W. 2006. *Ecofisiologia vegetal*. 3ª ed. Editora RiMa. São Carlos-SP. 295-338. São Carlos – SP, 2006. 529 p
- . Lattanzio, V.; Cardinali, A.; Di Venere, D.; Linsalata, V.; Palmieri, S. 1994. Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: enzymic or chemical reaction? *Food Chemistry* 50:1-7.
- . Lattanzio, V.; Cicco, N.; Linsalata, V. 2005. Antioxidant activities of artichoke phenolics. *Acta Horticulturae ISHS* 681:421-428.
- . Lattanzio, V.; Kroon, P.A.; Linsalata, V.; Cardinali, A. 2009. Globe artichoke a functional food and source nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods* 1:131-144.
- . Leskovar, D.I. and Xu, C. 2013. Irrigation Strategies and Water Use Efficiency of Globe Artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 983:261-268.
- . Li, Y.H., Wu, Y.J., Wu, B., Zum, M.H., Zhang, Z., Sum, G.M., 2011. Exogenous gibberellic acid increases the fruit weight of Comte de Paris pineapple by enlarging flesh cells without negative effects on fruit quality. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 1715–1722.
- . Liu, R.H. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition* 78:517S-520S.
- . Llorach, R.; Espin, J.; Tomás-Barberán, F.; Ferreres, F. 2002. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) by products as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal Agricultural Food Chemistry* 50:3458-3464.
- . Lombardo, S.; Pandino, G.; Mauro, R.; Mauromicale, G. 2009. Variation of Phenolic Content in Globe Artichoke in Relation to Biological, Technical and Environmental Factors. *Italian Journal Agron. / Riv. Agronomy* 4:181-189.

- . Lombardo, S.; Pandino G.; Mauromicale G; Knodler M.; Carle M.; Schieber A. 2010. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L var *scolymus* L Fiori). Food Chemistry 119:1175-1181.
- . Lombardo, S.; Pandino, G.; Ierna, A.; Mauromicale, G. 2012. Variation of polyphenols in a germplasm collection of globe artichoke. Food Research International 46: 544-551.
- . Lombardo, S.; Pandino, G.; Mauromicale, G. 2017. Minerals profile of two globe artichoke cultivars as affected by NPK fertilizer regimes. Food Research International, Volume 100, Part 2:95-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.028>
- . Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G. 2018. The influence of pre-harvest factors on the quality of globe artichoke. Scientia Horticulturae (Amsterdam) 233:479-490 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.036>.
- . Lombardo, S.; Pandino, G.; Scavo, A.; Mauromicale, G. 2020. Total polyphenol content and antioxidant activity in five Sicilian globe artichoke ecotypes of 'Spinoso di Palermo'. Acta Horticulturae ISHS 1284:285-290. DOI 10.17660/
- . López Anido, F.; Cointry, E.; Cravero, V.; García, S.M.; Firpo, I.T. 2005. New Argentinian Clones of Artichoke. Proc. IVth International Congress on Artichoke. Acta Horticulturae ISHS 681:329-332.
- . López Anido, F.; Cravero, V.P.; Martín, E.A.; Cripa, I.; Cointry, E.L. 2010. Differential expression of the genetic variance in F2 populations of reciprocal crosses of artichoke. Span Journal of Agricultural Research 3:679-685.
- . López, J.; González, A.; Fernández, J.A.; Bañón, S.; Vicente, F.E. 2004. Present state of artichoke cultivation in the province of Murcia (SE Spain). Eds V.V. Bianco, N. Calabrese and V. Rubatzky 599-605. (ISHS: Valenzano, Bari, Italia).
- . Ludford, P.M. 2003. Hormonal changes during postharvest, In: Bredt J, Bartz J (Eds), Postharvest Physiology and pathology of Vegetables. Marcel Dekker. New York, 31-77.

- . Lutz, M.; Henríquez, C.; Escobar, M. 2011. Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked. *Journal of Food Composition and Analysis* 24:49-54.
- . Macua, J.I.; Lahoz, I.; Garnica, J. 2005. The influence of irrigation water quantities on the production and quality of the 'Blanca de Tudela' artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 681:257-262.
- . Macua, J.I. 2007. New Orizons for Artichoke Cultivation. *Acta Horticulturae ISHS* 730: 39-48.
- . Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémesy, C.; Jiménez, I. 2005. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- . Maroto Borrego, J.V. 2002. *Horticultura Herbácea Especial*. Editorial Mundi-Prensa 5ta Ed. 2002, 704pp. ISBN 978848476429.
- . Martínez Esplá, A.; García Pastor, M.; Zapata, P.; Guillen, F.; Serrano, M.; Valero, D.; Gironés Vilaplana, A. 2017. Preharvest application of oxalic acid improves quality and phytochemical content of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) at harvest and during storage. *Food Chemistry* 230:343-349.
- . Massignan, L.; Lovino, R.; Di Venere, D.; Linsalata, V. 2005. Effect of harvest time, processing and packaging on the quality of 'ready to use' artichokes. *Acta Horticulturae ISHS* 681: 629-636.
- . Mauromicale, G. and Ierna, A. 2020. Characteristics of heads of seed-grown globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori] as affected by harvest period, sowing date and gibberellic acid. *Agronomie, EDP Sciences*, 2000, 20 (2):197-204. 10.1051/agro: 2000119. hal-00886000.
- . Mehta, R.G.; Murillo, G.; Naithani, R.; Peng, X. 2010. Cancer Chemoprevention by Natural Products: How Far Have We Come?. *Pharmaceutical Research* 27:950–961.

- . Melilli, M.G.; Scalisi, C.; Argento, S.; Raccuia, S.A. 2013. Healthy compounds in globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. subsp. *scolymus* (L.) Hegi) heads as affected by genotype and harvest time. *Acta Horticulturae ISHS* 983:439-444 DOI:10.17660/ActaHortic.2013.983.64. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.983.64>
- . Miccadei, S.; Di Venere, D.; Cardinali, A.; Romano, F.; Durazzo, A.; Foddai, M.S.; Fraioli, R.; Mobarhan, S.; Maiani, G. 2008. Antioxidative and apoptotic properties of polyphenolic extracts from edible part of artichoke (*Cynara scolymus* L.) on cultured rat hepatocytes and on human hepatoma cells. *Nutrition and Cancer* 60:276-283.
- . Miguel, A.; Baixauli, C.; García, M.J.; y Maroto, J.V. 2001. Producción de alcachofa multiplicada por semilla. Influencia de distintos cultivares, ciclos y tratamientos con ácido giberélico. IV Congreso Ibérico Ciencia Hortícola 495 pp.
- . Mileo, A.; Di Venere, D.; Linsalata, V.; Fraioli, R.; Miccadei, S. 2012. Artichoke polyphenols induce apoptosis and decrease the invasive potential of the human breast cancer cell line MDAMB231. *Journal of Cell Physiology*. 227:3301-3309.
- . Mileo, A.M.; Di Venere, D.; Miccadei, S. 2016. Antitumour effects of artichoke polyphenols: cell death and ROS-mediated epigenetic growth arrest, 3. *Stem Cell Epigenetics* 2016; 3: e1242.doi:10.14800/sce.1242. <http://www.smartscitech.com/index.php/sce>
- . Moglia, A. 2005. Isolamento ed analisi del polimorfismo di retrotrasposoni in *Cynara cardunculus* L. Tesi Di Laurea Di II Livello. Univ. Degli Studi di Torino. Facoltà di Agraria 151 pp.
- . Moglia, A.; Lanteri, S.; Comino, C.; Acquadro, A.; Devos, R.; Beekwilder, J. 2008. Stress-induced biosynthesis of dycafeoilquinic acid in globe artichoke. *Journal Science Food Agricultural* 56:8641-8649.
- . Mondino, M., Balaban, D., Cavalieri, O.; García, S. 2017. Efecto de la cobertura de suelo con acolchados plásticos sobre el comportamiento del cultivo de alcaucil (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.). *FAVE Sección Ciencias Agrarias*, 16(2):61-68. <https://doi.org/10.14409/fa.v16i2.7019>.

- . Mulinacci, N.; Prucher, D., Peruzzi, M.; Romani, A.; Pinelli, P.; Giaccherini, C.; Vincieri, F.F. 2004. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 34:349-357.
- . Namesny Vallespir, A. 1993. Post Recolección de Hortalizas. Vol. I Hortaliza de hoja, tallo y flor. Ediciones de Horticultura, S.L. 330 pp
- . Negro, D.; Grieco, S.; De Lisi, A.; Sarli G.; Sonnante, G. 2011. Chlorogenic acid content variation in artichoke plant parts and physiological stages. Proc. VII IS on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives Ed. C. Bazinet. *Acta Horticulturae ISHS* 942:469-472.
- . Negro, D.; Montesano, V.; Grieco, S.; Crupi, P.; Sarli, G.; De Lisi, A.; Sonnante, G. 2012. Polyphenol compounds in artichoke plant tissue and varieties. *Journal of Food Science* 77(2):244-252.
- . Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products* 79:629-661.
- . Nicolas, J.J.; Richard Forget, F.C.; Goupy, P.M.; Amiot M.J.; Aubert, S.Y. 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science Nutrition* 34:109-157.
- . Nicoletti, D.; Corradini, R.; Galante, M.; Tonci, C. 2005. Caratterizzazione di composti fenolici nella parte edibile e di scarto dei carciofi mediante HPLC– DAD–MS. XIX Congresso di Chimica Analitica, Università degli Studi di Cagliari. Sardegna.
- . Noriega Rodríguez, D.; Soto Maldonado, C.; Torres Alarcón, C.; Pastrana Castro, L.; Weinstein Oppenheimer, C.; Zúñiga Hansen, M.E. 2020. Valorization of Globe Artichoke (*Cynara scolymus*) Agro-Industrial Discards, Obtaining an Extract with a Selective Effect on Viability of Cancer Cell Lines. *Processes* 8, 715; doi:10.3390/pr8060715. www.mdpi.com/journal/processes.
- . Norma IRAM-SAGPyA 29574. 2009. Determinación del pH en suelo para uso agropecuario. Método electrométrico pH en agua (1:2,5). En discusión pública.

- . Norma IRAM-SAGPyA 29570-1. 2010. Determinación de fósforo extraíble en suelos. Parte 1- Método Bray Kurtz 1 modificado.
- . Norma IRAM 21322:2006. Método del conductímetro relación suelo:agua 1:2,5. 2017 (en discusión pública).
- . Oh, M.M. and Rajashekar, C.B. 2009. Antioxidant content of edible sprouts: Effects of environmental shocks. *Journal of the Science Food Agriculture* 89:2221-2227.
- . Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L.; Montonati, M. 2007. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta* 25(121):20-33.
- . Oms Oliu. G.; Rojas Grau, M.A.; González, L.; Varela, P.; Soliva Fortuny, R.; Hernando M.; Perez Munuera, I.; Fiszman, S.; Martin Belloso, O. 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology* 57:139-148.
- . Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Base de datos Estadísticos (FAOSTAT). 2020. Producción de productos alimentarios y agrícolas / Países por producto. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- . Organización mundial de la salud (OMS). 2018. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- . Pagnota, M.A. 2011. The European Project: European Genetic Resources of *Cynara spp.* *Acta Horticulturae ISHS* 942:41-46.
- . Pagnota, M.A.; Saccardo, F.; Temperini, O.; Rey, N.A.; Noorani, A.; Lobianco, C.; Crinò, P.; Tabazza, R.; Cuozzo, L.; Papacchioli, V.; Sonnante, G.; Pignoni, D.; Morguese, A.; Sarli, G.; De Lisi, A.; Raccuia, S.A. 2012. Characterization of *Cynara* European genetic Resources. *Acta Horticulturae ISHS* 942:89-93.
- . Pagnotta, M.A.; Rey, N.A.; Mondini, L.; Aringoli, R.; Jordan, R.; Saccardo, F. 2016. Assessment of artichoke hybrids under USA and Italian conditions and the heritability of

some important traits. *Acta Horticulturae ISHS* 1147:257–264. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2016.1147.36>

. Pagnotta, M.A.; Fernández, J.A.; Sonnante, G.; Egea Gilabert, C. 2017. Genetic diversity and accession structure in European *Cynara cardunculus* collections. *PLoS ONE*. 12:e0178770.

. Palucka, A.K.; Blanck, J.P.; Bennett, L.; Pascual, V.; Banchereau, J. 2010. Cross-regulation of TNF and IFN- α in autoimmune diseases. *PNAS* 102, 9: 3372-3377.

. Pandino, G.; Courts, F.L.; Lombardo, S.; Mauromicale, G.; Williamson, G. 2010. Caffeoylquinic acids and flavonoids in the immature inflorescence of globe artichoke, wild cardoon, and cultivated cardoon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:1026-1031.

. Pandino, G.; Lombardo, S.; Mauromicale, G.; Williamson, G. 2011a. Phenolic and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes. *Food Chemistry* 126:417-422. Elsevier.0308-8146/5.

. Pandino, G.; Lombardo, S.; Mauromicale, G.; Williamson, G. 2011b. Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) germplasm. *Journal of Food Composition Analysis* 24:48-153.

. Pandino, G.; Lombardo, S.; Mauromicale, G.; Williamson, G. 2011c. Phenolic acids and flavonoids in leaf and floral stem of cultivated and wild *Cynara cardunculus* L. genotypes. *Food Chemistry* 126:417-422.

. Pandino, G.; Lombardo, S.; Mauro, R.P.; Mauromicale, G. 2012. Variation in polyphenol profile and head morphology among clones of globe artichoke selected from a landrace. *Scientia Horticulturae* 138:259–265.

. Pandino, G.; Lombardo, S.; Mauromicale, G. 2013. Globe artichoke leaves and floral stem as a source of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products* 44:44-49.

. Pandino, G. and Mauromicale, G. 2020. Globe artichoke and cardoon forms between traditional and modern uses. *Acta Horticulturae ISHS* 1284:1-18. ISHS 2020. DOI 10.17660/

- . Paradiso, R.; Cuocolo, B.; De Pascale, S. 2007. Gibberellic acid and nitrogen rate affect yield and quality of artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 730:211-216.
- . Peil, R.M. and Gálvez, J. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de fruto cultivadas en invernadero. *Revista Brasileira Agrociência*, v.11, n. 1:05-11, jan-abr, 2005 05. DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.18539/CAST.V1111.1171](https://doi.org/10.18539/CAST.V1111.1171)
- . Pellegrini, N.; Miglio, C.; Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., Brighenti, F., 2009. Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *International Journal of Food Science and Nutrition* 60:12-22.
- . Pereira, C.; Calhelha, R.C.; Barros, L.; Ferreira, I.C. 2013. Antioxidant properties, anti-hepatocellular carcinoma activity and hepatotoxicity of artichoke, milk thistle and borututu. *Industrial Crops and Products* 49:61-65.
- . Perez Garcia, F.; Adzet, T.; Cañigueral, S. 2000. Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes. *Free Radical Research*. 33:661-665.
- . Pesce, G.R. and Mauromicale, G. 2019. *Cynara cardunculus* L.: Historical and Economic importance, Botanical descriptions, Genetic resources and Traditional Uses. Cap 1:1-20. Springer Nature Switzerland AG. In E. Portis et al. (eds.), *The Globe Artichoke Genome, Compendium of Plant Genomes*, https://doi.org/10.1007/978-3-030-20012-1_1.
- . Peschel, W.; Sanchez Rabaneda, F.; Diekmann, W., Plescher, A., Gartzia, I., Jimenez, D.; Lamuela Raventos, R.; Buxaderas, S.; Codina, C. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry* 97:137-150.
- . Pignone, D. and Sonnante, G. 2004. Wild artichokes of south Italy: did the story begin here? *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:577-580.
- . Pignone, D. and Sonnante, G. 2009. Origine ed evoluzione pp. 2-11. Il carciofo e il cardo. Coordinamento scientifico N. Calabrese. Collana coltura & coltura. Ed. Script Bologna, pp 464. ISBN 978-88-9631-05-0.

- . Pomares, F.; Baixauli, C.; Aguilar, J.M.; Giner, A.; Tarazona, F.; Gómez, J.; Albiach, R. 2004. Effects of water and nitrogen fertilization on seed-grown globe artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 660:303-309.
- . Proestos, C.; Chorianopoulos, N.; Nychas, G.J.E.; Komaitis, M. 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1190-1195.
- . Pulito, C.; Mori, F.; Sacconi A.; Casadei, L.; Ferraiuolo, M.; Valerio, M. et al. 2015. *Cynara scolymus* affects malignant pleural mesothelioma by promoting apoptosis and restraining invasion. *Oncotarget*. 6:18134-18150. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4017>
- . Pyrzyńska, K. and Pękala, A. 2013. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods* 5:4288-4295.
- . Qureshi, K.M., Chughtai, S., Qureshi, U.S., Abbasi, N.A., 2013. Impact of exogenous application of salt and growth regulators on growth and yield of strawberry. *Pak. Journal of Botany*. 45, 1179–1185.
- . Rey, N.; Jordan, R.; Saccardo, F.; Pagnotta, M.A. 2016. A successful strategy to obtain artichoke hybrids. *Acta Horticulturae SIHS* 1147:357-368. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1147.50>
- . Ricci, I.; Amodio, M.L.; Colelli G. 2013. Influence of pre-cutting operations on quality of fresh-cut artichokes (*Cynara scolymus* L.): Effect of storage time and temperature before cutting. *Postharvest Biology and Technology* 85:124-131.
- . Rincón, L.; Pérez, A.; Pellicer, C.; Abadía, A.; J. Saéz. 2007. Nutrient uptake by artichoke. *Acta Horticulturae ISHS* 730:287-292.
- . Rodrigues, C.; Vandenberghe, L., Oliveira, J.; Soccol, C.R. 2011. New perspectives of gibberelic acid production, A review, *Critical Reviews in Biotechnology* 32(3):263-73. Early online.

- . Rodríguez López, J.N. 2009. Aprovechamiento de residuos de alcachofa. Apuntes metodología bioquímica. <http://hdl.handle.net/10201/6303>.
- . Rojas C. 2011. Cultivo de alcachofa (*Cynara cardunculus* sub *scolymus* L.). Instituto de Investigaciones Agropecuarias, centro de investigación especializado en agricultura del desierto y altiplano (CIE), INIA URURI, Región de Arica y Parinacota. Ministerio de Agricultura. Informativo n°56, octubre 2011.
- . Romani, A.; Pinelli, P.; Cantini, C.; Cimato, A.; Heimler, D. 2006. Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). Food Chemistry 95:221-225.
- . Rondanelli, M.; Giacosa, A.; Orsini, F.; Opizzi, A.; Villani, S. 2011. Appetite control and glycaemia reduction in overweight subjects treated with a combination of two highly standardized extracts from *Phaseolus vulgaris* and *Cynara scolymus*. Phytotherapy Research 25:1275-1282.
- . Rotondo, R.; Firpo, I.T.; García, S.M.; López Anido, F.; Cravero, V.P.; Cointry, E. 2011. Characterization of Argentine's Globe Artichoke (*Cynara cardunculus* [L.] var. *scolymus*) Cultivars by Post-harvest. Related Traits. Proc. V IC on Artichoke. Acta Horticulturae ISHS 942:473-478. ISS 0567-7572.
- . Rottemberg, A. and Zohary, D. 2005. Wild genetic resources of cultivated artichoke. Acta Horticulturae ISHS 681:307-301.
- . Saccardo, F.; Jordan, R.; Jordan, A.; Crino, P.; Micozzi, F.; Lo, B.C.; Temperini, A.; Rey, N.; Pagnotta, M.A. 2013. Innovative strategy to obtain F1 Hybrids of Globe Artichoke. Acta Horticulturae ISHS 983:159-179.
- . Serna, A.; Hurtado Salazar, A.; Ceballos Aguirre, N. 2017. Efecto del ácido giberélico en el crecimiento, rendimiento y calidad del tomate bajo condiciones controladas. Temas Agrarios - Vol. 22(2):70-79.

- . Saézn Rodríguez, T.; García Giménez, D.; Vazquez, R. 2002. Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke extract in rats. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology* 9:687-693.
- . Salata, A. and Gruszecki, R. 2010. The quantitative analysis of polyphenolic compounds in different parts of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) depending on growth stage of plants. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 9(3):175-181.
- . Salisbury F. y Ross C. 2012. *Fisiología de las Plantas*. 4ª ed. Editora Norte-americana. São Paulo, 774pp.
- . SAMLA. 2004. *Sistemas de Apoyo Metodológico a los Laboratorios de Análisis de Suelos, Agua, Vegetales y Enmiendas Orgánicas*. Primera edición, SAGPyA, Dirección de Agricultura, CD Rom. ISBN 987-918440-8.
- . Sardodei, A.S.; Shahadadi, F.; Vakili, M.; Gholamshahi, S. 2014. Effects of gibberellic acid (GA₃) on phenolic compounds and antiradical activity of marigold (*Calendula officinalis*). *International Journal of Biosciences* Vol. 4, N° 3:80-84. ISSN 2220-6655 (print) 2222-5234 (Online).
- . Sharaf Eldin, M.A.; Schnitzler, W.H.; Nitz, G.; Razin, A.M.; El Oksh, I.I. 2007. The effect of gibberellic acid (GA₃) on some phenolic substances in globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* (L.) Fiori). *Elsevier. Scientia Horticulturae* 111:326-329.
- . Shinohara, T.; Agehara, S.; Sun Yoo, K.; Leskovar, D.I. 2011. Irrigation and Nitrogen Management of Artichoke: Yield, Head Quality, and Phenolic Content. *Hortscience* 46(3):377-386.
- . Sidrach, L.; Garcia Canovas, F.; Tudela, J.; Rodriguez Lopez, J. 2005. Purification of cynarases from artichoke (*Cynara scolymus* L.) enzymatic properties of cynarase. *Phytochemistry* 66:41-49.
- . Sindhi, V.; Gupta, V.; Sharma, K.; Bhatnagar, S.; Kumari, R.; Dhaka, N. 2013. Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*. Volume 7, Issue 9:828-835.

- . Sonnante, G.; De Palma, M.; Nazzaro, F.; Fratianni, F.; De Paolis, A.; Pignone, D.; Tucci, M. 2006. Analisi dei composti funzionali e identificazione di geni coinvolti nella sintesi dei fenilpropanoidi in carciofo. Cong. "Il Carciofo dal laboratorio al mercato". Roma. 127-129.
- . Sonnante, G.; Pignone, D.; Hammer, K. 2007. The Domestication of Artichoke and Cardoon: From Roman Times to the Genomic Age. *Annals of Botany*, 1-6pp.
- . Sponsel, V. and Hedden, V. 2004. Gibberellin biosynthesis and inactivation. In: Davies P (ed). *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* Kluwer Acad Pub, Dordrecht, The Netherlands, 63-94pp.
- . Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. 5th Edition, Sinauer Associates Inc., Sunderland, 782 pp.
- . Tan, A.C.; Konczak, I.; Sze, D.M.; Ramzan, I. 2011. Molecular pathways for cancer chemoprevention by dietary phytochemicals. *Nutrition and Cancer* 63:495-505.
- . Todaro, A.; Peluso, O.; Catalano, A.E.; Mauromicale, G.; Spagna G. 2010. Polyphenol oxidase activity from three Sicilian artichoke [*Cynara cardunculus* L. Var. *scolymus* L. (Fiori)] cultivars: studies and technological application on minimally processed production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:1714-1718.
- . Tomás Barberán, F.A. and Espin, J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81:853-876.
- . Tomato Analyzer. 2010. Procesamiento digital de imágenes. http://vanderknaaplab.uga.edu/tomato_analyzer.html
- . Trevor, S. and Cantwell, M. 1997. Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha de la alcachofa. http://ucanr.edu/sites/Postharvest_Technology_Center_/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=19&ds=799 (Acceso: 12 de noviembre de 2020).

- . Van Duyn, M.A.S. and Pivonka, E. 2000. Overview of the Health Benefits of Fruit and Vegetable Consumption for the Dietetics Professional: Selected Literature. Journal of the American Dietetic Association Volume 100, Issue 12:1511-1521.
- .Westland, S. 2001. Frequently asked questions about colour physics. www.colourware.com.uk.
- . Walkley, A. and Black, I.A. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
- . Wang, M.; Simon, J.E.; Aviles, I.F.; He, K; Zheng, Q.Y.; Tadmor, Y. 2003. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). Journal of Agricultural Food Chemistry 51:601-608.
- . WHO 2012. <http://www.msal.gov.ar/argentina-saludable/plan/frutas-y-hortalizas.html> (Accessed August 2012).
- . Williamson, G. and Manach, C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II Review of 93.Intervention studies. American Journal of Clinical Nutrition 81:243S-255S.
- . Wittemer, S.M.; Ploch, M.; Windeck, T.; Müller, S.C.; Drewelow, B.; Derendorf, H.; Veit, M. 2005. Bioavailability and pharmacokinetics of caffeoylquinic acids and flavonoids after oral administration of Artichoke leaf extracts in humans. Phytomedicine Volume 12, 1–2:28-38. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.11.002>.
- . Wu, X.; Beecher, G.R.; Holden, J.M., Haytowitz, D.B.; Gebhardt, S.E.; Prior, R.L. 2004. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. Journal of Agricultural Food Chemistry 52:4026-4037.
- . Zapata, P.J.; Martínez Esplá, A.; Valero, D.; Medina Santamarina, J.; Martínez Romero, D.; Castillo, S.; Parra, J.; Serrano, M. 2019. Influencia del contenido fenólico y la actividad enzimática en el pardeamiento y aptitud comercial de 12 variedades de alcachofa.

<https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/234280-Influencia-contenido-fenolico-actividad-enzimatica-pardeamiento-aptitud-comercial-12.html>

. Zheng, Z.P.; Cheng, K.W.; To, J.T.K.; Li, H.; Wang, M. 2008. Molecular Nutrition Food Research 52: 1530-1538.

. Zhu, X.; Zhang, H.; Lo, R. 2005. Antifungal activity of *Cynara scolymus* L. extracts. Fitoterapia 76:108-111.