



**EFFECTO DEL AMBIENTE EN CLONES DE AJO (*Allium sativum* L.)
CULTIVADOS EN DIFERENTES PUNTOS GEOGRÁFICOS DE
ARGENTINA**

Por

Ing. Agr. MARÍA LUCÍA CIOTTI

Directora: Ing. Arg. (Dra.) Sandra García Lampasona

Codirector: Ing. Agr. (MSc) Aldo M. López

Tesis presentada como requerimiento parcial

para obtener el grado de

MAGISTER SCIENTIAE EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO

Facultad de Ciencias Agrarias

SEPTIEMBRE 2022

DEDICATORIA

A Juan, Beltrán y Alba.

A las abuelas de mis hijos.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en primer lugar al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) por haberme otorgado una beca para realizar mi maestría.

A Sandra y Aldo, por guiarme durante el transcurso de esta tesis.

A los evaluadores de este trabajo por su criterio y dedicación.

Al personal de laboratorio de biotecnología del INTA Mendoza, por darme un espacio de sus mesadas.

A todos los miembros de la cátedra de genética de la Facultad de Ciencias Agrarias, especialmente Vero y Laura, por darme un lugar en esas mesadas también y ayudarme con las técnicas de laboratorio.

Al laboratorio del INTA La Consulta, por abrirme sus puertas para realizar parte de las técnicas de laboratorio allí, especialmente a Cristian por responder a mis consultas.

A María Doñate de Viedma y a Carlos Segura de Encalilla por enviarme los ajos utilizados para el trabajo.

A Gabriel y Ramón por su generosidad y ayuda con el trabajo de campo.

A José Luis Burba por sus valiosas observaciones.

A Silvina quien durante todo el transcurso de la tesis me ha brindado su apoyo.

A Roma, por su amistad, escucha y empatía.

A todos mis compañeros becarios del INTA La Consulta (Delfi, Gonza, Fer, Flor, Lore, Noe, Cande, Mariano, Gisel, Flor) mis nuevos amigos, que transitan conmigo este camino y lo hacen maravilloso.

Y sobre todo a Andrés Morales, quien me ayudó con las técnicas de laboratorio, los análisis estadísticos y la redacción de este trabajo. Su tiempo y dedicación resultaron imprescindibles para la realización de este trabajo.

Finalmente a mi compañero de vida Juan por ser mi sostén y a mi familia por el amor.

**EFECTO DEL AMBIENTE EN CLONES DE AJO (*Allium sativum* L.)
CULTIVADOS EN DIFERENTES PUNTOS GEOGRÁFICOS DE
ARGENTINA**

Resumen

Los ajares de Mendoza son unos de los más importantes del mundo, debido a que Argentina ha logrado un alto nivel de especialización particularmente en la creación de nuevas cultivares. El problema reside en que los atributos genéticos, obtenidos con la creación de cultivares, se modifican a través de los años y por lo tanto la productividad y calidad comprometen a la uniformidad de los mismos. Con el intercambio permanente de material de reproducción y cuando los materiales se cultivan en diferentes ambientes, los resultados agronómicos no son los mismos. El objetivo de esta tesis fue determinar la variabilidad fenotípica observada en una colección de trabajo con tres cultivares: Morado INTA, Rubí INTA y Castaño INTA, provenientes de tres puntos geográficos del país: Encalilla (Tucumán); La Consulta (Mendoza), y Viedma (Río Negro); y la variabilidad fenotípica de estas mismas cultivares provenientes de los lugares mencionados, al homogeneizar el sitio de cultivo. Las mediciones se realizaron en poscosecha durante dos años consecutivos y se caracterizaron bulbos y bulbillos cosechados en el año 2017 (campaña de cultivo 2016) y 2018 (campaña de cultivo 2017), provenientes de las localidades recién mencionadas. Luego, en el año 2018, los bulbillos provenientes de estos lugares se plantaron en La Consulta homogeneizando el ambiente y las técnicas de cultivo, para determinar si las diferencias morfológicas previamente observadas persistían o desaparecían. Se detectaron diferencias morfológicas entre las cultivares en las distintas localidades para las variables: calibre de bulbos enteros, número de bulbillos de la hoja fértil 1, número de bulbillos de la hoja fértil 2, número total de bulbillos, color y tamaño de bulbillos, indicando la gran plasticidad de la especie. A su vez, las diferencias morfológicas que persistieron una vez homogeneizado el lugar de cultivo fueron: el número de bulbillos de la hoja fértil 2, número total de bulbillos, calibre y peso de bulbos, y color de bulbillos; indicando la “memoria” en la genética de la especie por provenir de diferentes zonas de cultivo.

Palabras clave: *Allium sativum*, ajo, variabilidad morfológica, plasticidad fenotípica.

**ENVIRONMENTAL EFFECT IN CROPS OF GARLIC (*Allium sativum* L.)
CULTIVATED AT DIFFERENT GEOGRAPHICAL LOCATIONS IN
ARGENTINA**

Abstract

Garlics from Mendoza are one of the most important in the world because Argentina has achieved a high level of specialization, especially in the development of new varieties. The problem is that these genetics attributes, obtained with the creation of cultivars, are modified through years, compromising productivity and quality uniformity. With the permanent exchange of reproductive material and when the materials are cultivated in different environments, the agronomic results are not the same. The aim of this thesis was to determine the phenotypic variability observed in a work collection with three cultivars: Morado INTA, Rubí INTA and Castaño INTA, from three geographical points of the country: Encalilla (Tucumán); La Consulta (Mendoza), and Viedma (Río Negro); and the phenotypic variability of these same cultivars from the places mentioned, by homogenizing the cultivation site. Bulbs and bulbils were measured postharvest, during two consecutive years: 2017 (2016 growing season) and 2018 (2017 growing season), from the places mentioned before. Then, in 2018, bulbils from these places were planted at La Consulta, to homogenize environment and crop management conditions and determine if the morphological differences previously observed persisted or disappeared. Morphological differences were detected between cultivars in the different locations for the variables: size bulbs, number of bulbils in fertile leaf 1, number of bulbils in fertile leaf 2, total number of bulbils, color and size of bulbils, indicating the great plasticity of garlic. Whereas, the morphological differences that persisted once the cultivation site was homogenized were: the number of bulbils of the fertile leaf 2, total number of bulbils, size and weight of bulblets, and color of bulbils, indicating the “memory” in the genetics of the species for coming from different cultivation areas.

Key words: *Allium sativum* L., garlic, morphological diversity, phenotypical plasticity.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
Resumen	v
Abstract	vi
ÍNDICE	vii
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Importancia del cultivo	2
1.2 Descripción botánica de la especie en estudio	3
1.3 Bases ecofisiológicas del cultivo de ajo	5
1.4 Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA).....	9
1.5 Problemática en estudio. Variabilidad morfológica en clones de ajo	9
1.6 Variabilidad epigenética.....	10
1.7 Descripción de los materiales utilizados	11
1.8 Descripción de las zonas geográficas elegidas.....	13
1.9 Desarrollo epistemológico	17
1.9.1 Hipótesis general.....	17
1.9.2 Materiales y métodos	17
1.9.3 Hipótesis específica 1	17
1.9.4 Hipótesis específica 2.....	17

1.10	Bibliografía	18
CAPÍTULO 2: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CLONES DE AJO CULTIVADOS EN DISTINTAS LOCALIDADES DE ARGENTINA		21
	Resumen	22
2.1	Introducción	23
2.2	Metodología	25
2.3	Resultados	26
2.3.1	Bulbos enteros	26
2.3.2	Bulbillos	33
2.4	Discusión.....	47
2.5	Conclusiones	48
2.6	Bibliografía	49
CAPÍTULO 3: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CLONES DE AJO DE DISTINTAS PROCEDENCIAS CULTIVADOS EN UN AMBIENTE COMÚN... 52		
	Resumen	53
3.1	Introducción	54
3.2	Metodología	56
3.3	Resultados	56
3.3.1	Bulbos enteros	56
3.3.2	Bulbillos	60
3.4	Discusión.....	70

3.5	Conclusiones	71
3.6	Bibliografía	72
CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES GENERALES		76
4.1	Bibliografía	78
ANEXO.....		79

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Clasificación de variedades de ajo cultivadas en Argentina. (Portela, 2013)
- Tabla 2. Tabla de Análisis de la Varianza para calibre medio de bulbos, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 3. Tabla de Análisis de la Varianza para el peso medio de bulbos, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 4. Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbos con defectos, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 5. Análisis de correlación entre el peso total de los bulbillos y los componentes de color L, h y c, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 6. Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 1, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 7. Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 2, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 8. Tabla de Análisis de la Varianza para el número total de bulbillos, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 9. Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbillos con defectos, para los años 2017 y 2018.
- Tabla 10. Tabla de Análisis de la Varianza para el calibre medio de bulbos para el año 2019.
- Tabla 11. Tabla de Análisis de la Varianza para el peso medio de bulbos totales, para el año 2019.
- Tabla 12. Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbos con defectos para el año 2019.
- Tabla 13. Análisis de correlación entre el peso de los bulbillos y los componentes de color L, h y c, para el año 2019.
- Tabla 14. Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 1, para el año 2019.
- Tabla 15. Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 2, para el año 2019.
- Tabla 16. Tabla de Análisis de la Varianza para el número total de bulbillos, para el año 2019.

Tabla 17. Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbillos con defectos para el año 2019. Valores de F y probabilidades.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corte longitudinal y transversal de un bulbo maduro de ajo con seis hojas fértiles.

Figura 2. Corrientes migratorias que participaron en la distribución de *Allium sativum* L. desde su centro de origen primario (A) B, C, D y E son considerados centros secundarios (Portela, 2013).

Figura 3. De izquierda a derecha: Morado INTA; Rubí INTA y Castaño INTA

Figura 4. Termopluviograma de Amaicha (Tucumán). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica.

Figura 5. Termopluviograma de La Consulta (Mendoza). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica..

Gráfico que relaciona la altitud (eje y) y latitud (eje x), para diferentes localidades.

Figura 6. Termopluviogramas. De Viedma (Río Negro). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica.

Figura 7. Gráfico en el que se exhibe la relación entre la altitud (eje y) y latitud (eje x), para las tres localidades estudiadas en el trabajo de tesis.

Figura 8. Calibre medio de bulbos para la interacción entre la cultivar y la localidad para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

Figura 9. Calibre medio de bulbos para la interacción entre el año y la localidad para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

Figura 10. Calibre medio de bulbos para la interacción entre el año y la cultivar para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

Figura 11. Peso medio de bulbos para la triple interacción entre el año y la cultivar y la localidad, para los años 2017 y 2018.

Figura 12. Número de bulbos con defectos para las cultivares para los años 2017 y 2018.

Figura 13. Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos; para el año 2017.

Figura 14. Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos; para el año 2018.

Figura 15. Gráfico de componentes principales para tamaño de bulbillos para el año 2017.

Figura 16. Gráfico de componentes principales para tamaño de bulbillos para el año 2018.

Figura 17. Número de bulbillos de la hoja fértil 1 para la interacción entre cultivar, localidad y año. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 18. Número de bulbillos de la hoja fértil 2 para la interacción entre la cultivar y la localidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 19. Número de bulbillos de la hoja fértil 2 para la interacción entre la localidad y el año. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 20. Interacción entre cultivar, localidad y año para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 1. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 21. Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 22. Diferencias entre localidades, para la variable: número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 23. Diferencias entre localidades para el calibre medio de bulbos para el año 2019. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Figura 24. Diferencias entre cultivares para el peso medio de bulbos para el año 2019. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Figura 25. Diferencias entre localidades para el peso medio de bulbos para el año 2019. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Figura 26. Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos, para el año 2019.

Figura 27. Gráfico de componentes principales para el tamaño de bulbillos para el año 2019.

Figura 28. Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 1. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 29. Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 2. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 30. Diferencias entre cultivares, para la variable: número total de bulbillos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 31. Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Figura 32. Diferencias entre localidades, para la variable: número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia del cultivo

El ajo es una de las hortalizas más importantes de la Argentina, produciéndose casi el 90 % en las provincias de Mendoza y San Juan. Mendoza es la principal provincia productora con una media de 10.000 ha, más 2.000 ha en los últimos diez años. También se cultiva en otras provincias como Córdoba, Buenos Aires, Río Negro, Salta, Tucumán, Santa Cruz y Chubut, que producen en escalas relativamente pequeñas, abasteciendo a mercados regionales (Burba, 2013). En la última temporada relevada en Mendoza se estimó una superficie cultivada de 11.323 ha (página consultada en el sitio de internet del Instituto de Desarrollo Rural (IDR)). Los ajares de Mendoza se destinan principalmente a exportación (70%), luego el 20% se destina para consumo interno y el 10% para ajo “semilla”. Argentina ocupa el tercer lugar a nivel mundial en exportaciones, con 98.409 t, detrás de China y España, de acuerdo a información encontrada en el sitio de internet del Ministerio de Agricultura de Argentina (www.argentina.gob.ar). El principal comprador de ajo argentino es Brasil, con una participación del 80% del total comercializado.

La cadena agroalimentaria y agroindustrial de este cultivo genera en el país entre U\$S 350.000.000 y U\$S 500.000.000 anuales dependiendo del precio internacional y las condiciones del cambio monetario. Además en una actividad de mucha importancia social en la región por la alta demanda de mano de obra que requiere su cultivo, aproximadamente 2.300.000 jornales por año sólo en las etapas de producción primaria y empaque (Burba, 2013).

Por problemas vinculados al bajo rendimiento del cultivo, en la década del '90 se propone la obtención de cultivares de alta pureza y uniformidad. A partir de 1994 y hasta la fecha, la Estación Experimental La Consulta del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), ha inscripto 22 cultivares. Además en conjunto con la Universidad Nacional de Cuyo 3 más y otros 3 con la Universidad Nacional de Córdoba, según información encontrada en el sitio de internet del INASE (gestion.inase.gob.ar).

Estas cultivares surgen del esfuerzo en conjunto de instituciones oficiales a través de convenios marco, y en menor medida con empresas privadas a través de convenios de vinculación tecnológica, dando lugar en 1989 al Proyecto Ajo/INTA. Este Proyecto desde su creación hasta la actualidad, ha pasado por tres etapas en sus objetivos, atendiendo a las prioridades del sector. Al comienzo el objetivo era aumentar la

producción y para ello se enfocó en mejoramiento genético y producción a semilla, ajustes de la ferti-irrigación, mantenimiento de la sanidad y mejora de la ingeniería del cultivo. En la segunda etapa había que aumentar la calidad, para lo que eran necesarias mejoras en poscosecha, el desarrollo de empaques y mejoras de la logística. En la tercera etapa, el objetivo era aumentar el negocio, donde había que diferenciar productos y aumentar la conservación. Actualmente, el Proyecto Ajo/INTA sigue con la creación de nuevas cultivares nobles de guarda para exportación y tempranos para mercado interno de bajos requerimientos de frío (atendiendo al eventual efecto del calentamiento global); y se enfoca en protocolos de manejo de cultivo, manejo sanitario y manejo poscosecha.

1.2 Descripción botánica de la especie en estudio

El ajo (*Allium sativum* L.) pertenece a la familia de las *Amaryllidaceae* (The Angiosperm Phylogeny Group, 2009), al igual que otras especies de importancia económica, como la cebolla (*Allium cepa*), puerro (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) y cebolla de verdeo (*Allium fistulosum*).

El bulbo, que es el órgano comercial, presenta un tallo comprimido en forma de disco donde se apoyan las **hojas** profundamente modificadas (Figura 1). De afuera hacia adentro se encuentran las hojas estériles (aquellas que envuelven al bulbo y no poseen bulbillos en sus axilas), que pueden tener distintas tonalidades de colores violáceos o ser blancas. Continúan las hojas fértiles denominadas “dentadas” ya que son las que contienen los bulbillos, vulgarmente llamados “dientes”, que son los órganos de consumo y de multiplicación. Cada bulbo de ajo presenta dos o más hojas fértiles con bulbillos en su interior. Cada bulbillo está formado por:

- hoja de protección: es la más externa, carece de lámina y está lignificada. Puede estar coloreada o ser blanca.
- hoja de reserva: representa más del 85 % del peso del bulbo. Sus reservas son las que utilizará la nueva plántula para la brotación.
- hoja de brotación: protege al nuevo brote durante la emergencia. Carece de lámina y su crecimiento se inhibe ante la luz, dejando pasar al nuevo brote.
- hojas verdaderas: son las únicas que poseen lámina y que, a futuro, pueden ser estériles o fértiles.

Las distintas tonalidades que puedan presentar las hojas que envuelven al bulbo, como las de protección de los bulbillos son las que se utilizan para darle nombres comerciales a las diferentes cultivares de ajo.

En algunos ecotipos (forma genéticamente diferenciada de una especie adaptada a un hábitat o ecosistema determinado) el tallo se prolonga dentro del falso tallo (el cual está compuesto por las vainas de las hojas con lámina) y forma un **escapo floral**. El escapo suele terminar en una inflorescencia en forma de umbela con bulbillos aéreos en su interior. Estos bulbillos aéreos, al igual que los bulbillos que presentan las hojas fértiles, son los responsables de la reproducción de la planta.

Es por ello que se clasifica a la especie como una planta de **reproducción agámica o asexual**, ya que generalmente carece de semilla botánica y por lo tanto de intercambio de información genética lo que anularía teóricamente las posibilidades de variabilidad genética. Cada bulbillo o bulbillo aéreo contiene la misma información genética que la planta que les da origen, por lo que se reproducirán en forma de clones. La reproducción comercial se realiza normalmente con bulbillos a los cuales se les llama **“ajo semilla”**.

Si bien se puede reproducir una planta a través de un bulbillo aéreo, la misma alcanzará un tamaño pequeño y por consecuencia el bulbo también lo será. Esto se debe a que hay una relación directa entre el tamaño del bulbillo plantado y el tamaño del bulbo adulto final. Esta relación depende de la cultivar y del tamaño de la “semilla” plantada. (Gabriel y Guiñazú, 2007).

Como ya se mencionó, sólo algunos ecotipos son capaces de producir vara floral o escapo, y la presencia o no de vara floral en las distintas cultivares se utiliza para clasificar los genotipos de ajo en “cuello blando” cuando no tienen vara floral y “cuello duro” cuando sí la presentan.

Del disco se originan además las **raíces** en forma de cabellera, que alcanzan en su mayoría unos 30 cm de profundidad.

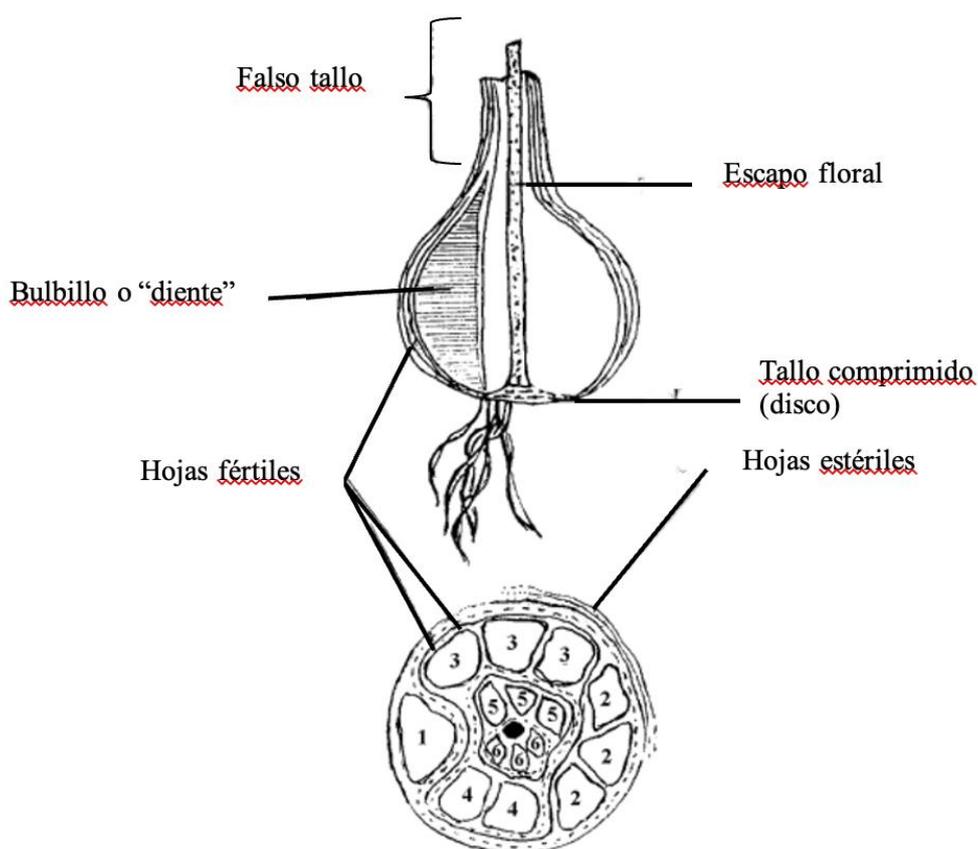


Figura 1. Corte longitudinal y transversal de un bulbo maduro de ajo con seis hojas fértiles. (Burba, 2003)

1.3 Bases ecofisiológicas del cultivo de ajo

El ajo evolucionó como especie cultivada acompañando a la humanidad por los últimos 5.000 años, y hoy se cultiva comercialmente en todos los continentes, con excepción de la Antártida, y en casi todas las latitudes (Portela, 2013). A pesar de los grandes ajustes adaptativos que la especie cultivada fue incorporando, lleva en su impronta la adaptación que su antecesor salvaje consiguió originalmente, a través de cientos de años de evolución, en la región del planeta de donde es originaria (Portela, 2013).

Desde su centro de origen, Tayikistán, Kazajistán, Kirguistán (Asia Central), de la mano del ser humano se estableció tempranamente, en cuatro áreas diferentes que se aceptan hoy como áreas de adaptación climática de la especie cultivada: 1) Clima del Mediterráneo, 2) Clima Continental Europeo, 3) Clima Asiático y 4) Clima Subtropical (Portela, 2013).

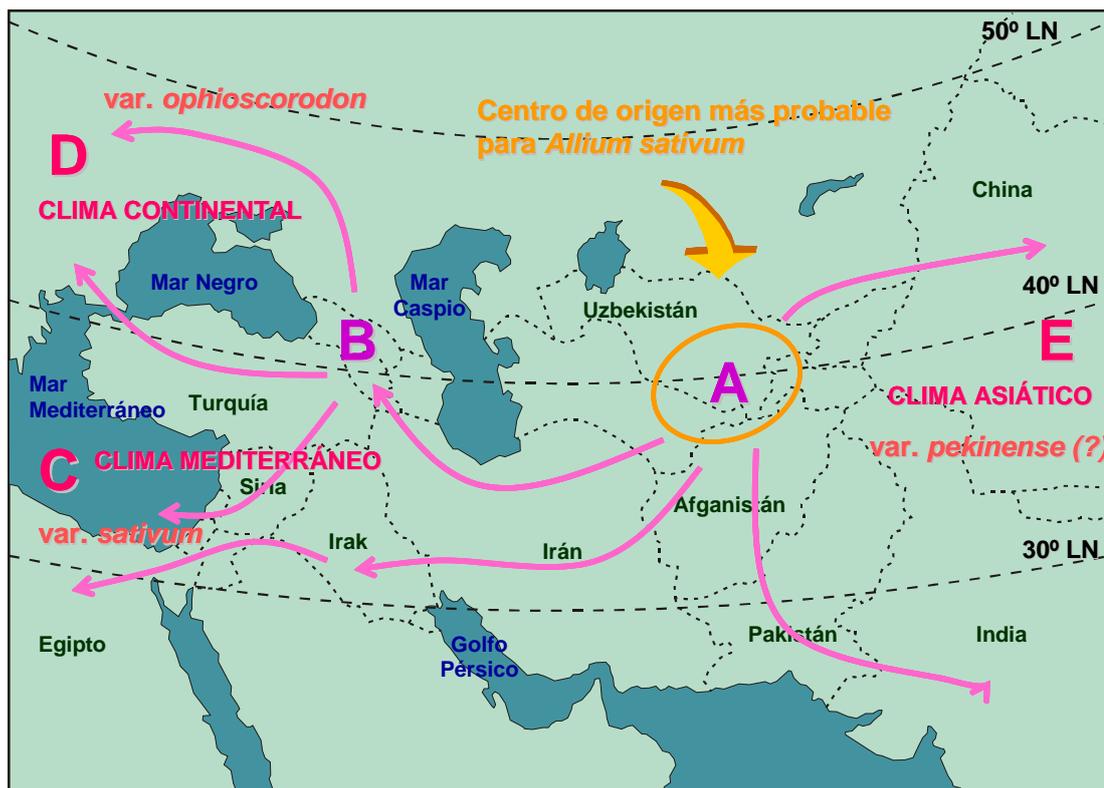


Figura 2. Corrientes migratorias que participaron en la distribución de *Allium sativum* L. desde su centro de origen primario (A) B, C, D y E son considerados centros secundarios (Portela, 2013).

El ajo es una especie de gran plasticidad, que pudo adaptarse a zonas climáticas muy diferentes entre sí. Esta adaptación a distintas áreas agregó características diferenciales y gran diversidad a la especie cultivada, al punto de reconocerse la existencia de cinco grupos dentro de *Allium sativum*: el grupo *sativum*, o ajo común (del Mediterráneo), el grupo *ophioscorodon* (de la región Continental europea), el grupo *pekinense* (del centro Asiático), el grupo subtropical (de la India) y el grupo *longicuspis* (de la región de origen de la especie) (Portela, 2013). En base a esta adaptación climática, se estableció una clasificación ecofisiológica de los ajos cultivados en Argentina, distinguiendo cuatro grupos (Tabla 1).

El ajo es, además, una especie que para producirse con normalidad depende en gran medida de los factores ambientales y su genotipo interacciona con el medio en cada ciclo del cultivo. Deberá, por lo tanto, estar en estricta sincronización con el ambiente para lograr su máxima expresión.

La radiación solar, el agua, la disponibilidad de nutrientes, son factores ambientales a los que responden la mayoría de las especies vegetales. *Allium sativum* L., responde

además al termo – fotoperíodo, principal condicionante para la propagación de la especie.

Una etapa de vernalización (bajas temperaturas) es necesaria para la ruptura de dormición de sus bulbillos, en este momento emerge la hoja de brotación y comienza el crecimiento vegetativo (Portela, 2003). Luego, para que se produzca la bulbificación el ajo requiere de días largos y altas temperaturas. Posteriormente, la senescencia de la planta vendrá con el rápido aumento de las temperaturas estivales. Finalmente, estas temperaturas continuas dan señal a los propágulos de la dormición, dando comienzo a un nuevo ciclo (Portela, 2013).

Entonces, las mejores condiciones térmicas para el crecimiento las consigue en otoño y primavera.

Morfológicamente, se establecen dos etapas en el inicio de bulbificación, la primera es la iniciación de yemas laterales, como resultado de la ruptura de la dominancia apical; sólo en las axilas de las hojas más jóvenes. La siguiente es la transición de la yema lateral hacia la formación de la hoja de reserva, lo que determina el comienzo irreversible de la formación del bulbo (Portela, 2003).

Bioquímicamente, diferencias en la duración del fotoperíodo y diferentes temperaturas, afectan los niveles de fitohormonas del ajo (Atif, *et al.*, 2020), a mayor fotoperíodo y mayores temperaturas, mayor concentración de fitohormonas. Además, se ven incrementados los niveles de ácidos fenólicos y alicina, lo cual le da al ajo mayores valores nutricionales.

Los distintos grupos de ajo tienen diferencias en las respuestas al largo del día y a la temperatura, por lo que se han propuesto diferentes clasificaciones ecofisiológicas. La primera, a principios de la década de 1990, los clasificaba según la duración del período de dormición (Burba, 1991). Luego en 2013 se propuso una nueva clasificación donde además se puso atención en los momentos del año en los que las plantas logran aprovechar mejor el ambiente para acumular biomasa. Se establecieron diferentes “Grupos ecofisiológicos” (GE) observando que las cultivares del GE III aprovechan el otoño-invierno; mientras que las del grupo IV comienzan a llenar el bulbo con temperaturas más cálidas en primavera. Estos patrones de crecimiento indican que estos ajos tienen diferentes adaptaciones específicas dentro del mismo centro de adaptación climática del Mediterráneo. Es decir, ambos grupos tienen

adaptación a climas templados, pero los óptimos térmicos para cada etapa ecofisiológica serían distintos.

Las variedades asiáticas (grupo *pekinense*), también deberían ubicarse en el GE III, porque están adaptadas a crecer en ambientes de clima templado. Pero la estación primaveral les resulta demasiado hostil, lo que hace que se entreguen más tempranamente que las cultivares del grupo *sativum* dentro del GE III.

Al observar la enorme capacidad adaptativa de la especie, el proyecto Ajo/INTA se propuso dilucidar cuáles de sus cultivares se adaptan mejor a distintos puntos geográficos de Argentina, a través de la Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA).

Tabla 1. Clasificación de variedades de ajo cultivadas en Argentina. (Portela, 2013)

Adaptación climática	Grupo Ecofisiológico	Subgrupo Ecofisiológico	Época de crecimiento vegetativo*	Duración del cultivo	Duración de la dormición	Grupo dentro de <i>Allium Sativum</i>
Ambiente tropical	GE I	-----	Estación seca	Corta	Muy corta	Subtropical
Ambiente Subtropical	GE II	-----	Otoño-invierno	Intermedia	Corta	Subtropical
Ambiente templado a templado - frío	GE III	Entrega temprana – a	Otoño-invierno	Larga	Intermedia	Pekienense
		Entrega tardía – b	Otoño-fin de invierno	Larga	Intermedia	Sativum
		Entrega extra tardía – c	Primavera – verano fríos**	Muy larga por invierno riguroso	Intermedia	Sativum
	GE IV	Entrega extra temprana – a	Principios de primavera	Larga	Larga	Sativum
		Entrega temprana – b	Primavera	Larga	Larga	Sativum
		Entrega tardía - c	Primavera	Larga	Larga	Ophioscorodon

*Período del año mejor aprovechado para acumular biomasa en las plantas, siempre que se las cultive en ambientes similares a aquellos a los que están originalmente adaptadas.

**Es el caso de variedades adaptadas a transcurrir el invierno en suelos congelados y cubiertos de nieve, como los que en Argentina se dan en ambientes de altas latitudes (superiores a 45° latitud sur), en los que el crecimiento ocurrirá de manera concentrada luego, entre una primavera y un verano cuyas condiciones térmicas son semejantes a las del invierno en latitudes medias (alrededor

1.4 Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA)

La RENDICA es una actividad montada por el equipo del Proyecto Ajo/ INTA y los extensionistas de varios puntos de la Argentina, como una Unidad Demostradora tendiente a conocer la respuesta de las variedades en ese ambiente, analizar la posibilidad de producir su propia semilla y difundirlas en función de la calificación obtenida de las mismas por parte de los productores locales (Lanzavechia, 2017).

Desde el INTA La Consulta, lugar de base del plan de mejoramiento genético del ajo, y donde se multiplican alrededor de 24 variedades diferentes de los distintos grupos comerciales de ajo, se envían todos los años muestras de 10 bulbos de cada variedad a las distintas zonas donde se desarrollarán las unidades demostradoras. Las zonas se extienden por todo el país.

Los responsables de llevar a cabo esta experiencia son los extensionistas de cada zona, en 21 puntos distintos a lo largo del país, ello implica la multiplicación anual durante 5 años de los materiales en la región y la multiplicación anual de la semilla de “reposición”. Además organizan jornadas para que los productores de la zona puedan conocer las variedades y reconocer en ellas una posibilidad de producción. Luego, una vez finalizado el ciclo productivo, evalúan los resultados y entregan a los productores interesados el material para su posterior producción (Lanzavechia, 2017). Para que la red de ensayos tenga éxito y cumpla con su objetivo, se aplica un Manual de Procedimiento Operativo (Burba *et al.*, 2010) con recomendaciones que el responsable de la unidad debe seguir.

1.5 Problemática en estudio. Variabilidad morfológica en clones de ajo

Como se describió anteriormente, la multiplicación del ajo se realiza comercialmente por vía agámica, es decir que cada bulbillo que compone un bulbo dará origen a una nueva planta, con la misma información genética que su antecesor.

Al iniciarse un programa de selección clonal clásica en ajo (a través de la identificación de variabilidad de caracteres deseables dentro de las poblaciones clonales de la especie), y que se lleva a cabo a través de parcelas familiares con prueba de progenie, aparecen respuestas diferenciales fenotípicas entre año y año.

Esto se debe a la gran plasticidad que tiene el cultivo de ajo de adaptarse a distintos ambientes, lo que comúnmente se llama plasticidad fenotípica.

El problema reside en que estos atributos genéticos (obtenidos con la creación de cultivares) se modifican a través de los años y por lo tanto la productividad y la calidad, comprometen muchas veces la uniformidad de los mismos materiales cultivados en diferentes ambientes.

Además se podría hipotetizar que al someter distintas cultivares de ajo a diferentes ambientes de cultivo, se producirán adaptaciones a estos ambientes, comprometiendo la estabilidad y uniformidad de las variedades. Esto genera otro problema, al no poder mantener en el tiempo la aptitud agronómica de las numerosas cultivares obtenidas.

En este trabajo de tesis se intentó identificar variaciones morfológicas producidas por cambios ambientales y corroborar posteriormente si estos cambios morfológicos persistían al uniformizar el ambiente de plantación.

Si bien es un hecho bien conocido que las secuencias de ADN determinan el fenotipo, evidencias actuales en plantas indican que los mecanismos epigenéticos pueden estar involucrados en la respuesta a las variaciones del ambiente, estímulos y/o todo tipo de estrés, lo que se conoce comúnmente como variabilidad epigenética.

1.6 Variabilidad epigenética

Diversos autores han definido a la variación epigenética como por ejemplo; Russo *et al.* (1996), como el estudio de cambios heredables mitóticos o meióticos en la función del gen, que no pueden ser explicados por cambios en la secuencia de ADN.

Springer y Kaeppler en 2008, agregaron que la variación epigenética involucra cambios en el fenotipo, sin cambios en la secuencia de ADN. ¿Cómo se explica esto? Los genes pueden requerir activadores o inhibidores que favorezcan o inhiban su expresión, facilitando o limitando el acceso para la transcripción de los genes, lo que llevará o no a que se sinteticen las proteínas para las cuales dicho gen codifica.

Para Richards (2006), la epigenética es el estudio de cambios heredables en la expresión y función génica que no pueden ser explicados por cambios en la secuencia de ADN. Observó que la variación heredable no necesariamente se basa en cambios de secuencias, sino que existen cambios heredables en la expresión génica en total ausencia de variabilidad genética. Una característica fundamental del fenómeno epigenético es que está influenciado por el ambiente y un mismo genotipo puede mostrar fenotipos alternativos.

Los cambios epigenéticos se basan en un conjunto de procesos moleculares que pueden activar, reducir o desactivar (silenciar) completamente la actividad de los genes. Estos mecanismos epigenéticos pueden: (1) metilar residuos de citosina en el ADN (relacionado con el silenciamiento génico), (2) remodelar la estructura de la cromatina mediante modificación química, en particular mediante acetilación o metilación de proteínas de tipo histonas y (3) regular procesos mediados por pequeñas moléculas de ARN que regulan la expresión de los genes mediante el silenciamiento postranscripcional de estos por pequeñas moléculas de ARN de interferencia. Estudios recientes muestran como esas pequeñas moléculas de ARN pueden estar involucradas en la metilación de las citosinas y la modificación de histonas. (Wassenegger 2005; Masuelli y Marfil 2011).

1.7 Descripción de los materiales utilizados

Se trabajó con cultivares INTA, inscriptas en el Registro Nacional de Cultivares (INASE), las cuales fueron distribuidas durante al menos 3 años, a distintas zonas geográficas de Argentina, a través de la Red Nacional de Distribución de Cultivares de Ajos (RENDICA). (Burba, *et al.* 2010)

Cada una de las cultivares elegidas pertenece a distintas variedades y a diferentes grupos ecofisiológicos (Burba y Portela, 2013), logrando de esta manera abarcar los diferentes “grupos” de ajos cultivados en Argentina.

Se realiza a continuación una breve descripción (realizada en el ambiente donde ocurrió la obtención), de cada cultivar utilizado. (Burba y Lanzavechia, 2013)

Morado INTA (*Allium sativum var pekinense*) pertenece al grupo ecofisiológico IIIa (bajos requerimientos de frío y mediano fotoperíodo para bulbificar).

La planta presenta un porte erecto, de gran altura, con hojas anchas de color verde medio, con vara floral (cuello duro), en época temprana. Moderada capacidad como donante de bulbillos aéreos (105 útiles por planta). Moderadamente sensible a la expresión de “rebrote” en plantaciones tardías.

El bulbo es por lo general grande o muy grande (69/71 mm de diámetro y 83/89 g), de forma chata, regular, con dientes que no cierran bien sobre el tallo floral; disco radical pleno a algo hundido, con hojas envolventes blanco sucio con gruesas estrías moradas; Peso Específico Relativo (PER) alto (1,24).

Los bulbillos son 11 normalmente de color castaño claro. De tamaño grande 7,1g; mediano 5,3 g; chico 3,2 g y muy chico 1,5 g.

El ciclo es de 230 días (entre principios de marzo y principios de noviembre).

El rendimiento es muy alto (25.000 kg/ha de ajos secos, cortados y limpios), con más del 90 % de calibres superiores a 60 mm en densidades de 25.0000 plantas/ha en líneas simples, tamaño mínimo de semilla de 3 g, fertilizaciones nitrogenadas de 100 kg/ha y 30 riegos por superficie.

Rubí INTA (*Allium sativum var sativum*) pertenece al grupo ecofisiológico IVb (altos requerimientos de frío y fotoperíodo largo para bulbificar). Gran adaptación y estabilidad a ambientes ricos y pobres.

La planta se caracteriza por llegar a cosecha con más de 8 hojas de láminas muy largas (más de 58 cm), y anchas (más de 30 mm), con porte erecto (ángulo de inserción cerrado), con un 65% quebradas en el primer tercio y ángulo de quilla de 92°, con vara floral emergente (cuello duro), en época semi tardía (fines de noviembre). Muy buen comportamiento como donante de bulbillos aéreos.

El bulbo de color blanco, pesa en promedio 72 g (entre 62 y 91 g), con un diámetro ecuatorial de 61 mm (entre 53 y 68 mm)

Presenta generalmente 13 bulbillos, de tamaño grande, de color rojo violáceo intermedio distribuidos en 2 hojas fértiles con 6 bulbillos en la primera y 7 en la segunda.

El ciclo es de 235 a 240 días (entre mediados de abril y principios de diciembre). El rendimiento es alto (18.700 a 27.300 kg/ha de ajos secos, cortados y limpios), con más del 70% de calibres superiores a 55 mm en densidades de 330.000 plantas/ ha en líneas simples.

Castaño INTA (*Allium sativum var ophioscorodon*) pertenece al grupo IVc (medianos requerimientos de frío y fotoperíodo largo para bulbificar). Inicio de bulbificación a mediados de noviembre. Gran adaptación a ambientes pobres y medios.

La planta tiene un porte erecto, de altura media, con hojas largas, de ancho medio de color verde muy oscuro, porte abierto con disposición en forma de hoja de palma, con vara floral emergente (cuello duro), en época temprana (principios de noviembre), alcanzando el 80% de floración a los 200 días desde plantación. Muy sensible a “rebrote” en plantaciones tardías. Buen comportamiento como donante de bulbillos aéreos.

El bulbo va de mediano a grande (55/65 mm y 65/70 g), de forma globosa algo periforme, disco radical plano y contorno muy regular, prácticamente sin defectos de forma con hojas envolventes blanco cremosas fuertemente variegadas de morado, con PER alto (hasta 1,1), de muy buena conservación y alta resistencia al penetrómetro (7 kg) en pulpa.

Los bulbillos pueden ser de 5 o 6, muy grandes (media de 8 g), insertos en dos hojas fértiles, de color castaño brillante. Tamaño grande 8,7 g; mediano 5,4 g; chico 2,3 g, sin la presencia de “cuñas”.

El ciclo es de aproximadamente 300 días (entre mediados de marzo y fines de diciembre). El rendimiento es medio (15.000 a 18.000 kg/ha de ajos secos, cortados y limpios), con más del 95% de calibres superiores a 55 mm en densidades de 260.000 plantas/ha en líneas simples, tamaño mínimo de semillas de 5 g.



Figura 3. De izquierda a derecha: Morado INTA; Rubí INTA y Castaño INTA

1.8 Descripción de las zonas geográficas elegidas

Durante el desarrollo de este trabajo se emplearon tres cultivares que fueron cultivados en La Consulta (San Carlos, Mendoza), y luego enviados a dos puntos geográficos muy diferentes entre sí, y cultivados durante al menos tres años en los sitios destino, es decir que tienen tres ciclos o más de cultivo en cada localidad (Burba *et al.*, 2010). Las zonas geográficas elegidas para el ensayo fueron: Encalilla, Tucumán (latitud: 26°30'00'' sur, longitud: 65°58'00'' oeste, altitud: 1810 metros sobre el nivel del mar (m s.n.m.); La Consulta, Mendoza (latitud: 33°43'59'' sur, longitud: 69°07'04'' oeste, altitud: 940 m s.n.m.) (lugar de origen) y Viedma, Río Negro (latitud: 40°48'00' sur, longitud: 63°00'00'' oeste, altitud: 2,56 m s.n.m.).

El clima de Amaicha (área de influencia de Encalilla), es de "desierto" de altura (1.983 m s.n.m.). Se clasifica como Bwk por el sistema Köppen-Geiger. Este sistema divide a los climas del mundo en cinco grupos principales: tropical, seco, templado, continental y polar, identificados por la primera letra en mayúscula. Cada grupo se

divide en subgrupos y cada subgrupo en tipos de clima. Por lo que cada tipo de clima se identifica con un símbolo de 2 o 3 letras. En este caso (Bwk) B hace referencia a un clima seco donde las precipitaciones anuales son inferiores a la evapotranspiración potencial anual. La segunda letra en esta clasificación nos indica el grado de aridez, puede ser desértico o estepario, w indica desértico; y finalmente la tercer letra indica el régimen de temperatura donde k es frío (la temperatura media anual es menor a 18°C). En Amaicha prácticamente no hay lluvias durante todo el año, alcanzando las precipitaciones solo 222 mm. La temperatura media anual es de 14,9 °C.

El clima de La Consulta es de estepa local pre cordillerana (1.025 m s.n.m.). Se clasifica como Bsk por Köppen y Geiger. B: clima seco, s: estepario y k: frío. Las lluvias son escasas, alcanzando 339 mm. La temperatura media anual en La Consulta se encuentra a 13,1 °C. (José Luis Burba 2020, comunicación personal)

El clima en Viedma se conoce como un clima de estepa local, a lo largo del año, se dan escasas precipitaciones. Según el sitio de internet (es.climate-data.org) el clima aquí se clasifica como Bsk por el sistema Köppen-Geiger. En Viedma, la temperatura media anual es de 14.2 °C. En un año, la precipitación es 324 mm.

Los climas de estas tres localidades presentan diferencias y similitudes que pueden observarse en cada uno de los climogramas que se presentan a continuación. (Figura 4 (Raúl Orell, datos no publicados), 5 (José Luis Burba 2020, comunicación personal) y 6, información encontrada en el sitio de internet Climate-data.org (es.climate-data.org)).

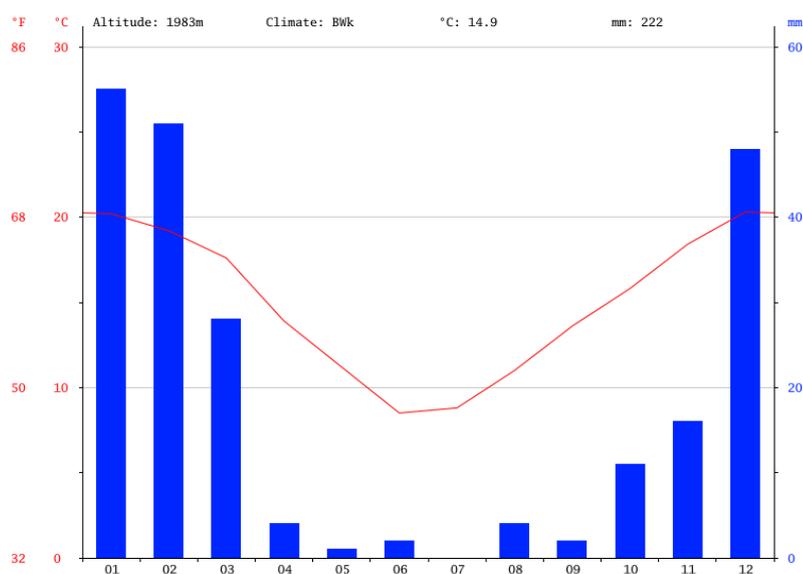


Figura 4. Termopluyviograma de Amaicha (Tucumán). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica.

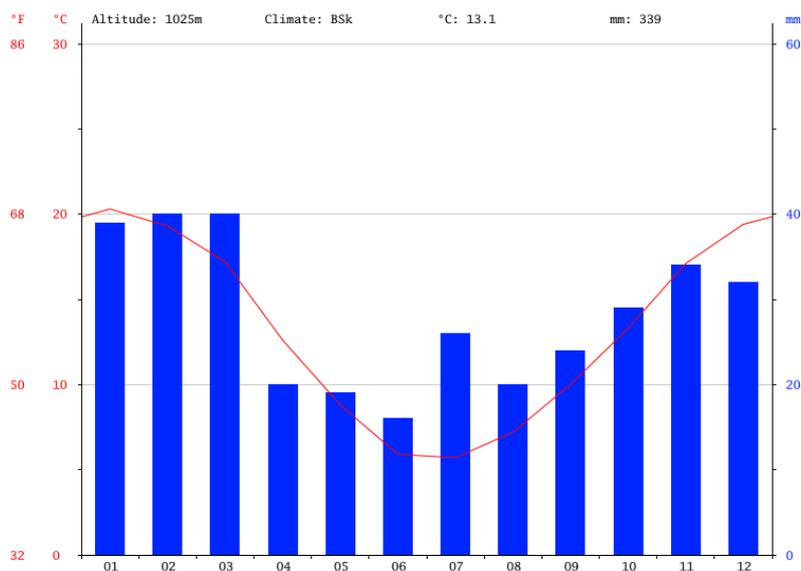


Figura 5. Termopluriograma de La Consulta (Mendoza). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica.

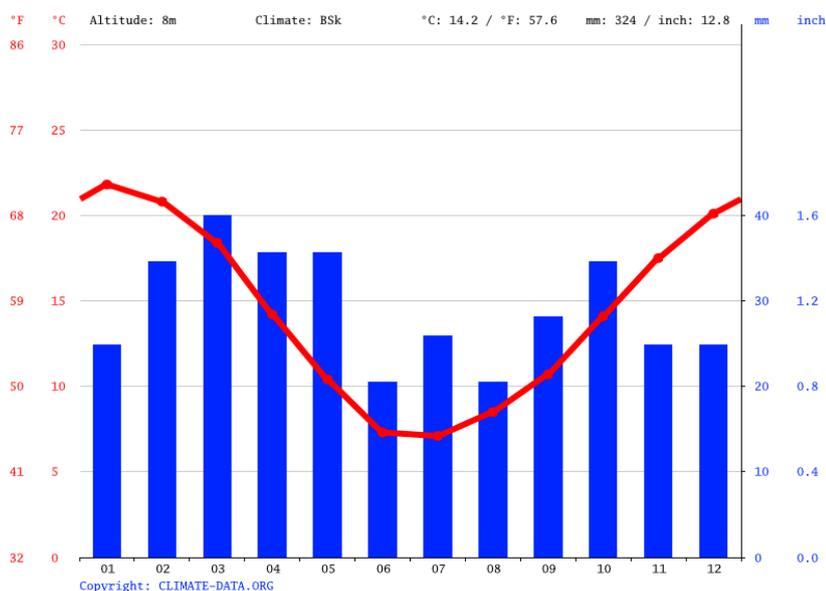


Figura 6. Termopluriogramas. De Viedma (Río Negro). Barras azules: precipitaciones, línea roja: marcha térmica.

Resulta de interés mencionar, el Índice Latialtimétrico de Compensación (ILAC), desarrollado por Burba en el 2017, el cual relaciona la altitud y latitud de una localidad determinada para el cultivo de ajo. Como cada grupo de la especie tiene diferentes

requerimientos de frío y respuesta al fotoperíodo para bulbificar, estos valores de altitud y latitud se pueden ir compensando según la zona, tal como se muestra en el siguiente gráfico (Figura 7).

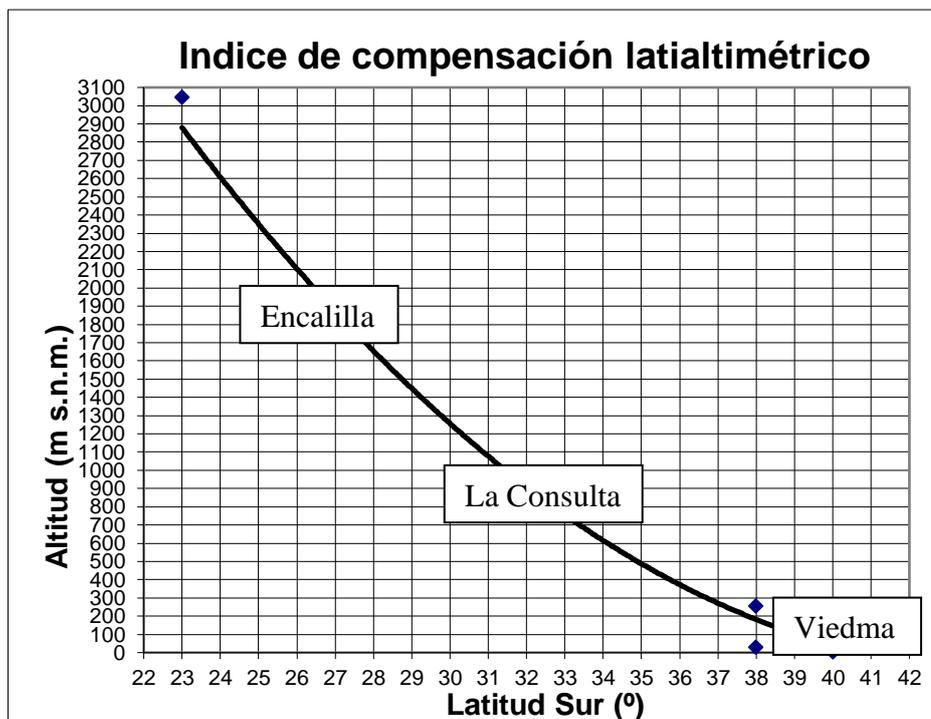


Figura 7. Gráfico en el que se exhibe la relación entre la altitud (eje y) y latitud (eje x), para las tres localidades estudiadas en el trabajo de tesis.

Así es posible encontrar respuestas muy similares cultivando la misma variedad de ajo a latitudes muy australes y prácticamente a nivel del mar como en zonas tropicales de altura (Burba, 2017).

En las zonas seleccionadas para este trabajo de tesis se pueden observar estas diferencias de altitud y latitud. Estas tres cultivares de ajo creciendo en tres zonas geográficas disímiles, representan un modelo ideal para estudiar diversidad morfológica, ya que se podrían reflejar las distintas adaptaciones climáticas de la especie.

1.9 Desarrollo epistemológico

1.9.1 Hipótesis general

Cultivares monoclonales de ajos sometidos a condiciones ambientales diferentes, en latitud y altitud muestran variabilidad fenotípica.

Objetivos

Evaluar la variabilidad fenotípica de 3 cultivares de ajo que hayan vegetado durante prolongados períodos de tiempo (más de 3 años) en ambientes distintos. Se determinará la estabilidad de las diferentes cultivares estudiadas frente a los cambios ambientales a los que fueron sometidas.

1.9.2 Materiales y métodos

Las cultivares utilizadas para realizar el siguiente estudio fueron Morado INTA, Rubí INTA y Castaño INTA, provenientes de Encalilla (Tucumán), La Consulta (Mendoza) y Viedma (Río Negro).

Se evaluaron diez bulbos provenientes de los lugares antes mencionados, durante al menos tres campañas de cultivo, dando como consecuencia nueve tratamientos.

1.9.3 Hipótesis específica 1

El cultivo en campo durante sucesivas campañas agrícolas de una misma cultivar de ajo en distintos ambientes genera cambios morfológicos.

Objetivo específico 1

Identificar, caracterizar y cuantificar la variación morfológica observada en bulbos y bulbillos de las cultivares Rubí INTA, Morado INTA y Castaño INTA, cultivadas durante al menos 3 años en 3 lugares diferentes: en Encalilla (Tucumán), La Consulta (Mendoza) y Viedma (Río Negro).

1.9.4 Hipótesis específica 2

Las diferencias morfológicas generadas por los diferentes ambientes de cultivo del cual provienen las cultivares, no desaparecen al uniformizar el lugar de plantación.

Objetivo específico 2

Identificar, caracterizar y cuantificar la variación morfológica observada en bulbos y bulbillos de las cultivares Rubí INTA, Morado INTA y Castaño INTA, cultivadas en La Consulta (Mendoza), provenientes de Encalilla (Tucumán), Viedma (Río Negro), y La Consulta (Mendoza).

1.10 Bibliografía

- ATIF, M.J., AMIN, B., GHANI, M.I. ALI, M., ZHANG, S., CHENG, Z. Effect of photoperiod and temperature on garlic (*Allium sativum* L.) bulbing and selected endogenous chemical factors, *Environmental and Experimental Botany*, Volume 180,2020,104250,ISSN 0098-8472,<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104250>.
- BURBA, J.L. 1991. Caracterización de cultivares y tipos clonales de ajo obtenidos e introducidos en Argentina. En: CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO. (2º, Mendoza, EEA La Consulta INTA), Agro de Cuyo, p. 76-79.
- BURBA, J.L. 2003. Producción de ajo. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. La Consulta, Mendoza, Argentina. Texto preparado para Asociación Argentina de Horticultura y presentado en las jornadas de actualización en la producción de ajo. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Comahue. Agosto 2003.
- BURBA, J.L.; LANZAVECHIA, S., LÓPEZ, A. y PORTELA, J.A. 2010. Procedimiento para el montaje y la conducción de Unidades Demostradoras de la Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA). PO 3.1.2. Revisión 2012. En: BURBA, J.L. (Ed.). 2013. Manual de Procedimientos Operativos para la Producción, Empaque, Comercialización e Industrialización de Ajo. La Consulta, Mendoza, AR. INTA Estación Experimental Agropecuaria La Consulta. (Proyecto Ajo/INTA Doc. 107).
- BURBA, J. L. 2013. Evolución histórica del cultivo de ajo en Argentina. En: 100 temas sobre producción de ajo. 1. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 8-17.
- BURBA, J.L.; LANZAVECHIA, S. 2013. Cultivares argentinos de ajo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 2. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 56 – 84.
- BURBA, J.L.; LANZAVECHIA, S.; PAREDES, M.I.; LÓPEZ, A. 2013. Difusión de cultivares. En: 100 temas sobre producción de ajo. 2. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 93 – 108.
- BURBA, J.L.; PORTELA, J.A. 2013. Bases ecofisiológicas del cultivo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 3. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 7-36.
- BURBA, J.L. 2017. El Índice Latialtimétrico de Compensación (ILAC), como herramienta para orientar la adaptación de grupos Ecofisiológicos y Cultivares de Ajo. En: CURSO TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO (15º, Mendoza, 2017). INTA EEA La Consulta, p. 53 a 56.

- CLIMATE-DATA.ORG. Página consultada el 23 de marzo de 2022. <https://es.climate-data.org/america-del-sur/argentina/rio-negro/viedma-1925/>
- GABRIEL, E. L. y GUIÑAZÚ, M. E. 2007. Cálculo de necesidad de semilla y producción potencial para cultivares de ajo INTA. Ediciones INTA ISBN 978-987-521-264-0.
- IDR. Página consultada el 17 de Agosto de 2022. <https://www.idr.org.ar/wp-content/uploads/2020/08/Estimaci%C3%B3n-Superficie-Hort%C3%ADcola-Invernal-2019.pdf>
- INASE. Página consultada el 17 de agosto de 2022. <https://gestion.inase.gob.ar/consultaGestion/gestiones/index/page:2>
- LANZAVECHIA, S. 2017. Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo. En: CURSO TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO, XV. Mendoza, 30 al 1 de setiembre, Mendoza, INTA EEA La Consulta. p. 45-52. (Proyecto Ajo/INTA). Publicado además en: Agro de Cuyo, INTA Centro Regional Cuyo.
- MASSUELI R.W., MARFIL, C.F. 2011. Variabilidad epigenética en plantas y evolución. *Journal of Basic And Applied Genetics* 22:1-8.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA DE LA NACIÓN ARGENTINA. 2020. Página consultada el 17 de agosto de 2022. (https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/produccion-ajo-argentina-ministerio-agricultura_0.pdf). (Consulta: 15 de Agosto de 2022)
- PORTELA, J. A. 2003. En: CURSO TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO, VIII. Mendoza, 25 al 28 de junio, Mendoza, INTA EEA La Consulta. p. 53-66. (Proyecto Ajo/INTA).
- PORTELA, J. A. 2013. Crecimiento y desarrollo de la planta de ajo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 3. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 8 – 35.
- RICHARDS, E.J. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7:395-401.
- RUSSO V.E.A., MARTIENSSEN R.A., RIGGS A.D. 1996. Epigenetic mechanisms of gene regulation. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- SPRINGER, N.M., KAEPLER S.M. 2008. Capítulo tres. En: *Epigenetics: The Second Genetic Code*. Pp. 59 – 80. *Advances in Agronomy*, Volume 100, ISSN 0065-2113, DOI: 10.1016/S0065-2113(08)00603-2.
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants:

APG III, *Botanical Journal of the Linnean Society*, Volume 161, Issue 2, October. Pages 105–121, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>

WASSENEGGER, M. 2005. The roll of the RNAi machinery in heterochromatin formation. *Cell* 122:13-16.

**CAPÍTULO 2: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CLONES DE
AJO CULTIVADOS EN DISTINTAS LOCALIDADES DE ARGENTINA**

Resumen

Se caracterizaron tres cultivares de ajo (Morado INTA, Rubí INTA y Castaño INTA), provenientes de tres localidades (Encalilla, Tucumán; La Consulta, Mendoza y Viedma, Río Negro), en dos ciclos de cultivo (2017 y 2018). Las evaluaciones se realizaron poscosecha y se evaluaron bulbos enteros y bulbos desgranados (bulbillos). Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente empleando el software estadístico INFOSTAT 2014 (Di Rienzo *et al.* 2014) mediante análisis de la varianza (ANAVA) y comparación de medias. Se encontraron diferencias significativas en las diferentes localidades, para las siguientes variables de estudio: calibre de bulbos enteros, número de bulbillos de la hoja fértil 1, número de bulbillos de la hoja fértil 2 y número total de bulbillos. También se observaron diferencias en las respuestas de las cultivares estudiadas. Por el contrario, las variables estudiadas que no tuvieron cambios morfológicos significativos según el lugar de cultivo fueron el número de bulbos y bulbillos con defectos.

Palabras clave: bulbo, bulbillo, hoja fértil, caracterización morfológica, cultivar, Viedma, Encalilla, La Consulta.

2.1 Introducción

El rendimiento potencial de un cultivo está determinado principalmente por el tamaño (biomasa) de los bulbillos empleados como “semilla” y por la cantidad plantada de estos por unidad de superficie (Portela, 2013).

La expresión vegetativa del cultivo dependerá del número de plantas que se hayan establecido, lo que depende primeramente del número de plantas que hayan brotado, y asimismo de la biomasa inicial de las plantas emergidas.

Las condiciones térmicas del invierno y de la primavera tardía son capaces de generar alteraciones de las formas de los bulbos (como los “ajos martillos”), y estos defectos, si bien se los considera leves, son descartados de la producción de alta gama.

Estas mismas condiciones suelen alterar el número de plantas a cosecha, ya sea por la aparición de “bulbos cebollones”, muerte por “tristeza” u otros patógenos generalizados en los cultivos comerciales.

Además, las condiciones de cosecha y poscosecha pueden alterar la proporción de bulbos normales, tal es el caso de la “parálisis cerosa”. (Lanzavechia, 2013)

Finalmente, el estado fisiológico del bulbillito y su tamaño serán características determinadas por la variedad de ajo que se trate, ya que no todas presentan la misma precocidad de plantación, ni tampoco son homogéneas en el número de bulbillos formados, su peso medio y su distribución en el bulbo. Otra diferencia entre las cultivares, es la cantidad de bulbillos “dobles” o “triples” que pudieran presentar. Éstos se clasifican como defectos ya que serán luego “semillas” que dará plantas múltiples que no se desarrollarán de manera correcta.

Cada uno de los componentes del rendimiento en un cultivo de ajo es controlado por las variables ambientales, que condicionan el resultado global. Al estado fisiológico del bulbillito también lo condiciona lo que haya ocurrido en el ciclo anterior, en particular la ocurrencia de bajas temperaturas y el régimen fotoperiódico en el cual se hayan formado los bulbos (Portela, 2013). Además resulta relevante el ambiente en que transcurre el período entre la cosecha del bulbo “madre” y el momento en que comience la preparación de los bulbillos para ser plantados, es decir el trato poscosecha que tendrán los bulbos que se utilizarán para el otro ciclo productivo.

Una vez establecidas en el campo, la biomasa vegetativa que serán capaces de generar las plantas, dependerá esencialmente de la adecuada disponibilidad de agua y

nutrientes, como así también del régimen térmico (temperaturas medias diarias, características de la localidad y del año), y del fotoperíodo (característico de la localidad) (Portela, 2013).

El color de las catáfilas de bulbos y bulbillos, es un factor genético fuertemente influenciado por el ambiente, donde intervienen diversos factores como; temperatura de almacenamiento de la semilla, temperatura de campo, temperatura poscosecha, fecha de plantación del cultivo, textura y estructura del suelo, pH y disponibilidad de nitrógeno en el suelo (Burba y Cavagnaro, 2022) .

Con las prácticas agronómicas, se interviene en el ambiente para generar las mejores condiciones posibles para el cultivo, según el requerimiento que éste tenga en cada una de las etapas del proceso productivo.

Lo anteriormente escrito, demuestra que en una evaluación poscosecha de bulbos de ajo, intervendrán múltiples condicionantes que pueden hacer variar las características morfológicas a evaluar esencialmente, éstas serán: los bulbillos empleados como “semilla”, las plantas capaces de brotar, las variedades plantadas, las variables ambientales de ese ciclo de cultivo y del ciclo anterior, el trato poscosecha de bulbos y bulbillos, la disponibilidad de agua y nutrientes, el régimen térmico y de fotoperíodo y las prácticas agronómicas realizadas sobre el cultivo.

Tomando como base los antecedentes mencionados, se decidió trabajar con tres cultivares que difieren entre sí, tanto morfológica como ecofisiológicamente; y así poder realizar una mejor comparación entre los ambientes al evaluar diferentes características morfológicas.

Hipótesis específica 1:

El cultivo en campo durante sucesivas campañas agrícolas de una misma cultivar de ajo en distintos ambientes genera cambios morfológicos.

Objetivo específico 1:

Identificar, caracterizar y cuantificar la variación morfológica observada en bulbos y bulbillos de las cultivares Rubí INTA, Morado INTA y Castaño INTA, cultivadas durante al menos 3 años en 3 localidades diferentes: en Encalilla (Tucumán), La Consulta (Mendoza) y Viedma (Río Negro).

2.2 Metodología

Las mediciones se realizaron poscosecha durante dos años consecutivos. Se evaluaron bulbos cosechados en el año 2017 (campana de cultivo 2016) y en el 2018 (campana de cultivo 2017), provenientes de Encalilla, Tucumán; Viedma, Río Negro y La Consulta, Mendoza. Las plantaciones en cada lugar se realizaron según protocolo para la RENDICA (Burba, *et al.* 2010) descrito en el anexo. Con estas mediciones se caracterizaron las diferencias entre cultivares en cada localidad. Cada año, se evaluaron 10 bulbos de cada localidad. Los bulbos se pesaron en una balanza y se midió el calibre con una calibradora manual. Además se contabilizó el número de bulbos con defectos. Estos defectos pueden ser de forma (martillo, pera, doble piso), bulbos “cebollones”, bulbos blandos por ataque de patógenos o bulbos con parálisis cerosa. En la medida que se separaban los bulbillos del bulbo, se contó la cantidad de bulbillos de cada hoja fértil.

Posteriormente, los bulbillos de cada bulbo anteriormente evaluado, se clasificaron por su tamaño con la ayuda de zarandas. Se tomó el peso total y medio de los mismos y se clasificaron por su color con colorímetro. Además se contabilizó el número de bulbillos con defectos de cada bulbo. Los bulbillos con defectos pueden ser bulbillos múltiples, bulbillos con ataques de patógenos o bulbillos con parálisis cerosa.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo partiendo de un modelo estadístico saturado, que incluye todos los factores considerados (año, localidad y cultivar) y sus interacciones, y se aplicó una estrategia de selección de modelos lineales generalizados y mixtos, basada en la eliminación de los factores hacia atrás, teniendo en cuenta el test de cociente de verosimilitudes (LRT); y para las evaluaciones modeladas por Poisson la diferencia entre criterios de información (dAIC y dBIC) de los modelos.

Para cada medición se evaluó la media y la desviación estándar y posteriormente, los datos obtenidos se analizaron estadísticamente empleando el software estadístico INFOSTAT 2008 (Di Rienzo, *et al.* 2008) mediante análisis de la varianza (ANAVA) y comparación de medias con el estadístico DGC (Di Rienzo, *et al.* 2002).

Para definir el color y realizar las comparaciones correspondientes, se trabajó con el espacio de color CIELAB, definido por la Comisión Internacional de Color (CIE), el cual correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana. Este sistema se utiliza para evitar las interpretaciones subjetivas sobre un mismo objeto. Al clasificar los colores, se los puede expresar en términos de matiz

(color), luminosidad (brillo) y saturación (vividez). Al crear escalas para éstos atributos, podemos expresar en forma precisa el color.

Para medir el color se emplearon dos bulbillos diferentes por bulbo, tomando el color de la catáfila que recubre el bulbillo (hoja de protección). Se utilizó un colorímetro CR-400 (*Konica Minolta*, Tokyo, Japón), que brinda valores de $L^*a^*b^*$. L^* indica la luminosidad y a^* y b^* son las coordenadas cromáticas: a^* = coordenadas rojo/verde y b^* = coordenadas amarillo/azul. Para poder interpretar estos valores, se expresaron en L (luminosidad), h (matiz) y c (croma o saturación), utilizando fórmulas matemáticas con los valores de a^* y b^* arrojados por el colorímetro.

Las fórmulas utilizadas fueron las siguientes:

$$h \text{ (matiz)} = \arctg (b^*/a^*)$$

$$c \text{ (croma)} = \text{raiz} (a^{*2} + b^{*2})$$

2.3 Resultados

2.3.1 Bulbos enteros

2.3.1.1 2.3.1.1. Calibre medio de bulbos

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N (\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \epsilon_{ijk} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3; k= 1, 2$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

γ_k : efecto del “k-ésimo” año;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

$\alpha\gamma_{ik}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y el “k-ésimo” año

$\beta\gamma_{jk}$: interacción entre la “i-ésima localidad” y el “k-ésimo año”

ϵ_{ijk} : error experimental

Tabla 2: Tabla de Análisis de la Varianza para calibre medio de bulbos, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	20,36	0,0080

Localidad	2	187,24	0,0001
Año	1	8,39	0,0442
Cultivar*Localidad	4	11,83	0,0173
Localidad*Año	2	16,93	0,0112
Cultivar*Año	2	5,39	0,0732

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

La tabla de ANOVA para el calibre medio de bulbos (Tabla 2), indica diferencias significativas en las interacciones entre la cultivar y la localidad; y la localidad y el año. Sin diferencias en la interacción entre la cultivar y el año.

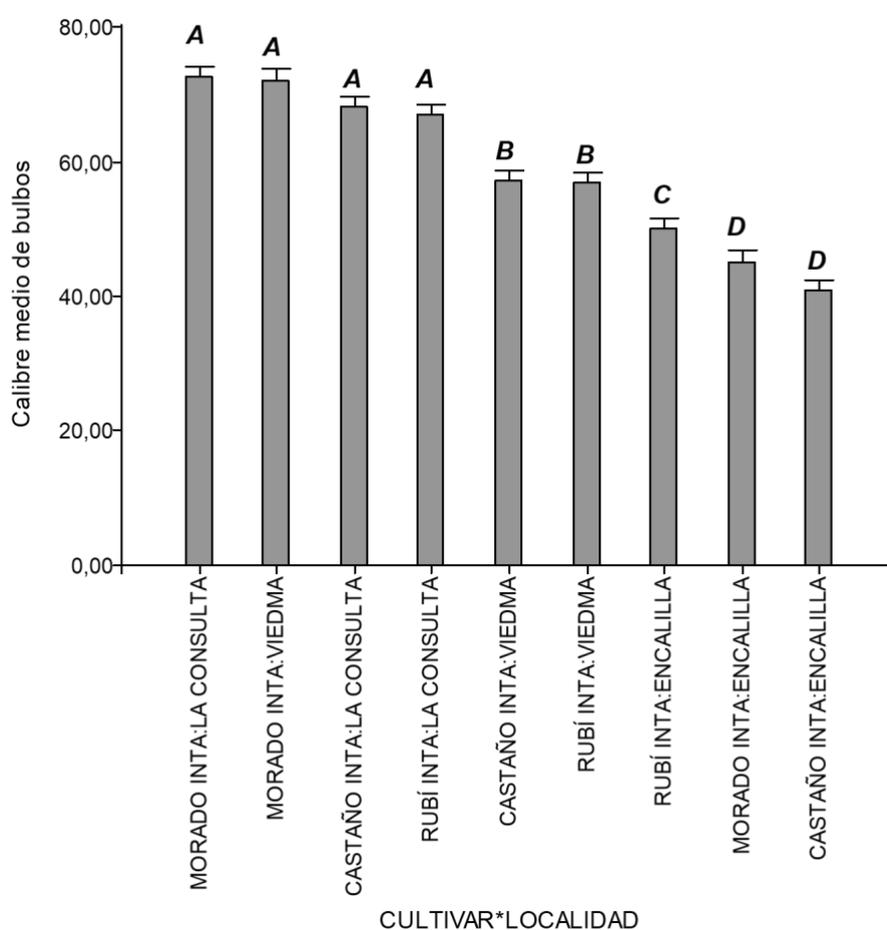


Figura 8: Calibre medio de bulbos para la interacción entre la cultivar y la localidad para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

En la Figura 8, se observan diferencias entre las cultivares para las distintas localidades, siendo Encalilla la que presenta bulbos con menores calibres para las 3 cultivares. Luego, Rubí INTA y Castaño INTA tienen calibres significativamente menores en la localidad de Viedma respecto a la localidad de La Consulta. Morado INTA, no tiene diferencias en los calibres de estas dos localidades.

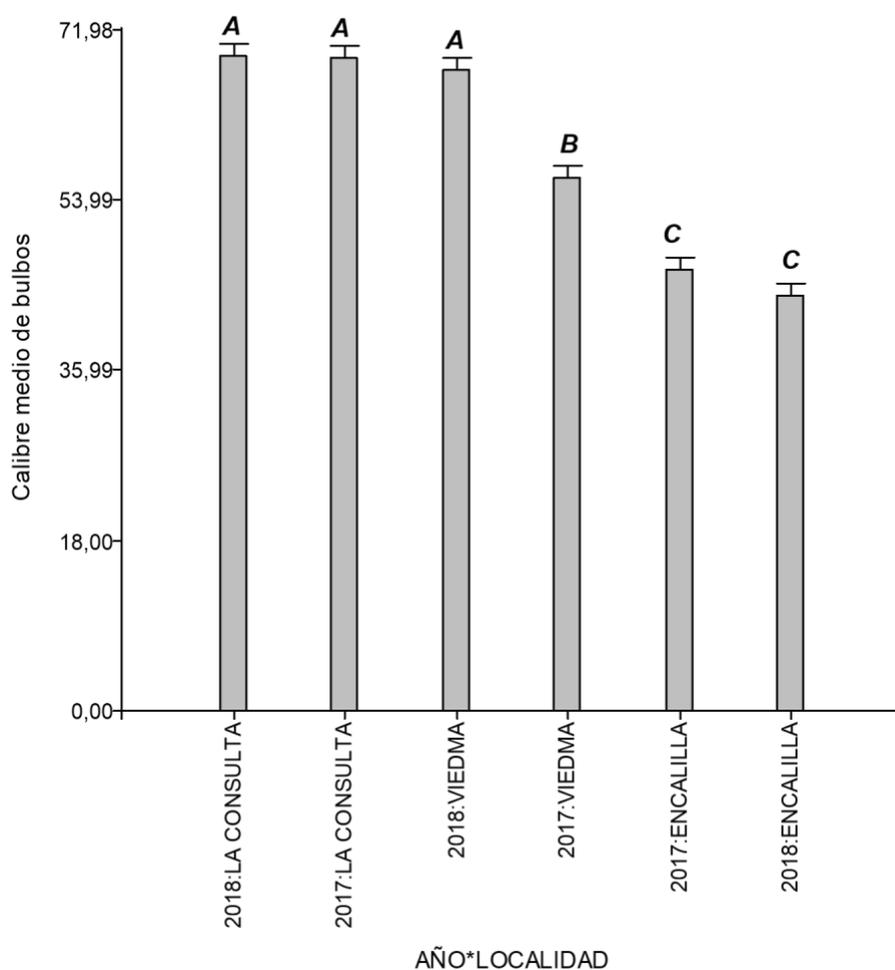


Figura 9: Calibre medio de bulbos para la interacción entre el año y la localidad para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

Podemos observar en la Figura 9, que los calibres para las localidades de La Consulta y Encalilla no presentaron diferencias entre los años 2017 y 2018. Sí hubo diferencias significativas entre los años de estudio para la localidad de Viedma.

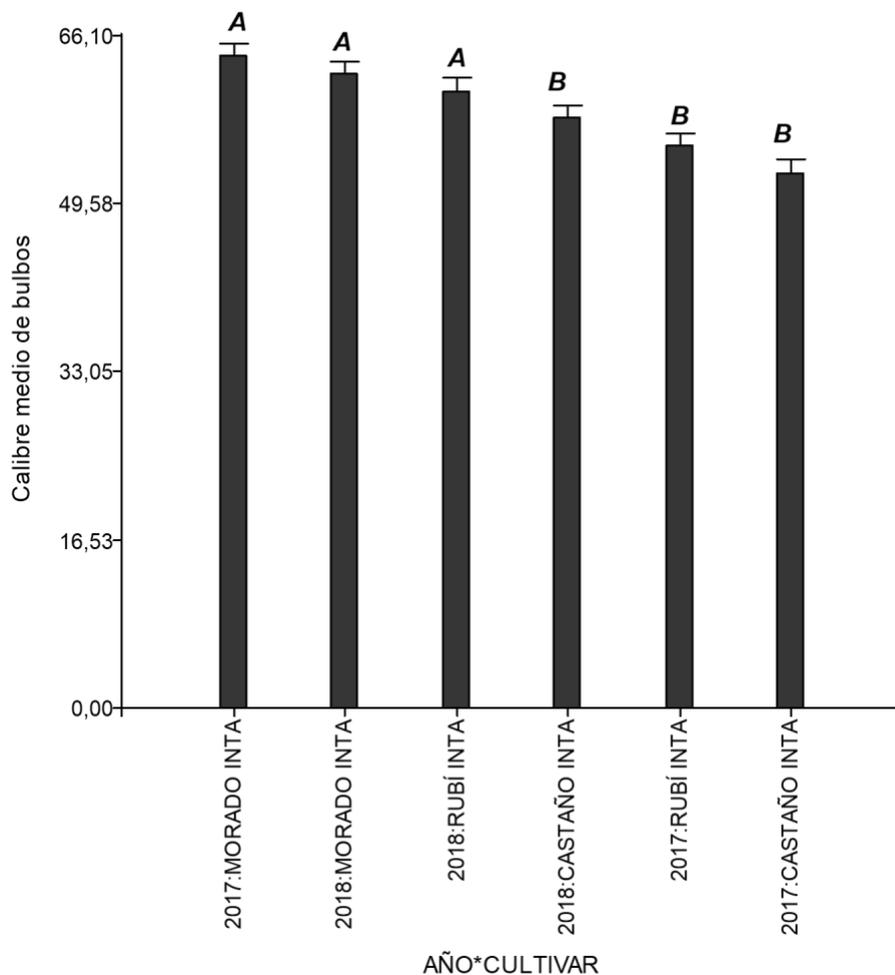


Figura 10: Calibre medio de bulbos para la interacción entre el año y la cultivar para los años 2017 y 2018. Letras distintas indican diferencias significativas.

2.3.1.2 Peso medio de bulbos

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \epsilon_{ijk} \quad i=1, 2,3; j=1, 2,3; k=1, 2$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

γ_k : efecto del “k-ésimo” año;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

$\alpha\gamma_{ik}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y el “k-ésimo” año

$\beta\gamma_{jk}$: interacción entre la “i-ésima localidad” y el “k-ésimo año”

ϵ_{ijk} : error experimental

Tabla 3: Tabla de Análisis de la Varianza para el peso medio de bulbos, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	2,39	0,2072
Localidad	2	50,07	0,0015
Año	1	0,62	0,4763
Cultivar*Localidad	4	1,17	0,4412
Localidad*Año	2	4,70	0,0891
Cultivar*Año	2	0,05	0,9560

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

A pesar de que las pruebas no son significativas para el peso medio de bulbos (Tabla 3), la comparación por el cociente de verosimilitud da que el modelo completo difiere de los modelos simplificados, por lo que se acepta el modelo completo y se interpretan las interacciones como significativas.

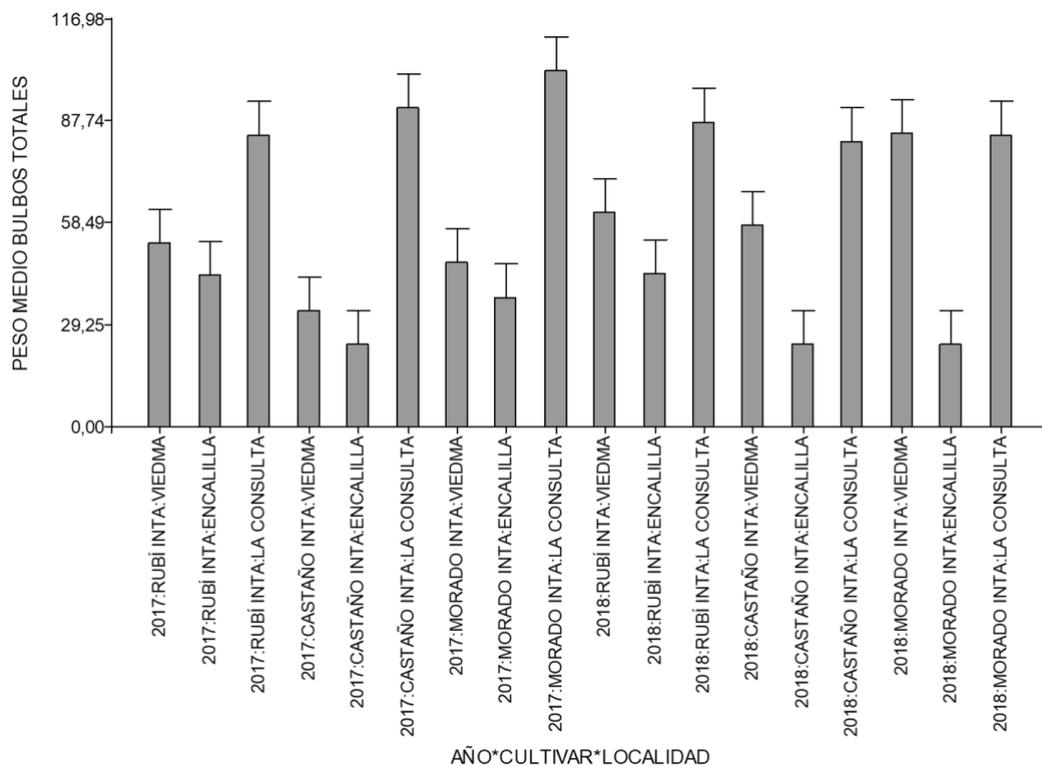


Figura 11: Peso medio de bulbos para la triple interacción entre el año y la cultivar y la localidad, para los años 2017 y 2018.

Se puede observar en la Figura 11, que los mayores pesos de bulbos son para la localidad de La Consulta en ambos años, para las tres cultivares. Luego, siguen los de la localidad de Viedma y por último los de Encalilla. Además en la localidad de Viedma se observan diferentes pesos según el año de cultivo; siendo mayores los pesos de bulbos para las tres cultivares en el año 2018. Y en Encalilla se observan más marcadas las diferencias de pesos entre las cultivares, que en las otras localidades, siendo los pesos de Rubí INTA mayores a los de las otras cultivares.

2.3.1.3 Número de bulbos con defectos

Modelo estadístico utilizado

$Y \sim \text{POI}(\mu)$

$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3; j = 1, 2, 3;$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ϵ_{ijk} : error experimental

Tabla 4: Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbos con defectos, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	4,41	0,0346
Localidad	2	3,76	0,0515

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

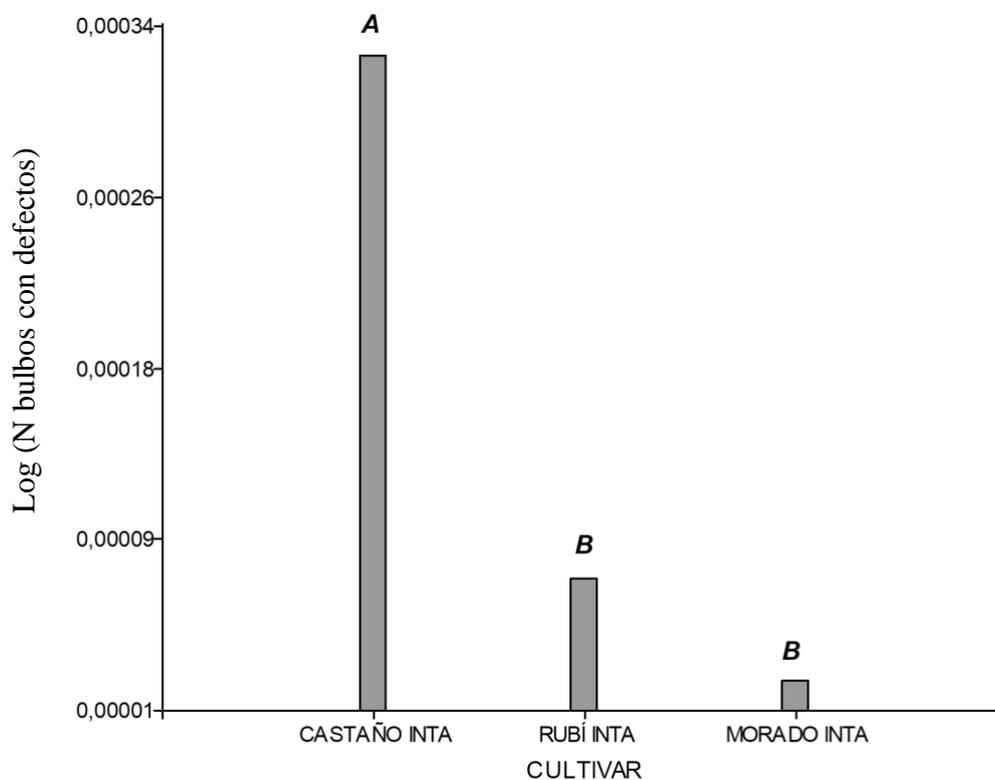


Figura 12: Logaritmo del número de bulbos con defectos para las cultivares para los años 2017 y 2018.

Con el modelo estadístico utilizado se encontró que sólo hay diferencias significativas entre las cultivares, para los años 2017 y 2018. Siendo Castaño INTA la cultivar con más bulbos con defectos.

2.3.2 Bulbillos

El tamaño de bulbillos y el color se describieron mediante análisis de componentes principales.

2.3.2.1 Color de bulbillos

A partir del análisis de componentes principales para el año 2017 (Figura 13), se aprecia que las variables de luminosidad (L) y de matiz (h) están correlacionadas, es decir, a medida que aumenta la luminosidad de los bulbillos, éstos tienden a ser más amarillos (mayores valores de h). Por el contrario, cuando los bulbillos son más oscuros, tienden a tonalidades más rojizas. Y estas dos variables tienen una relación inversa con la variable C (saturación).

Castaño INTA y Morado INTA muestran poca dispersión respecto a las localidades. Mientras que Rubí INTA presenta mayor variabilidad.

Las catáfilas de los bulbillos de Encalilla son más oscuras y rojizas y además presentan mayor intensidad de color. Las muestras de Viedma se observan más claras, más amarillas y con menos intensidad de color. Y las muestras de La Consulta varían mucho según la cultivar.

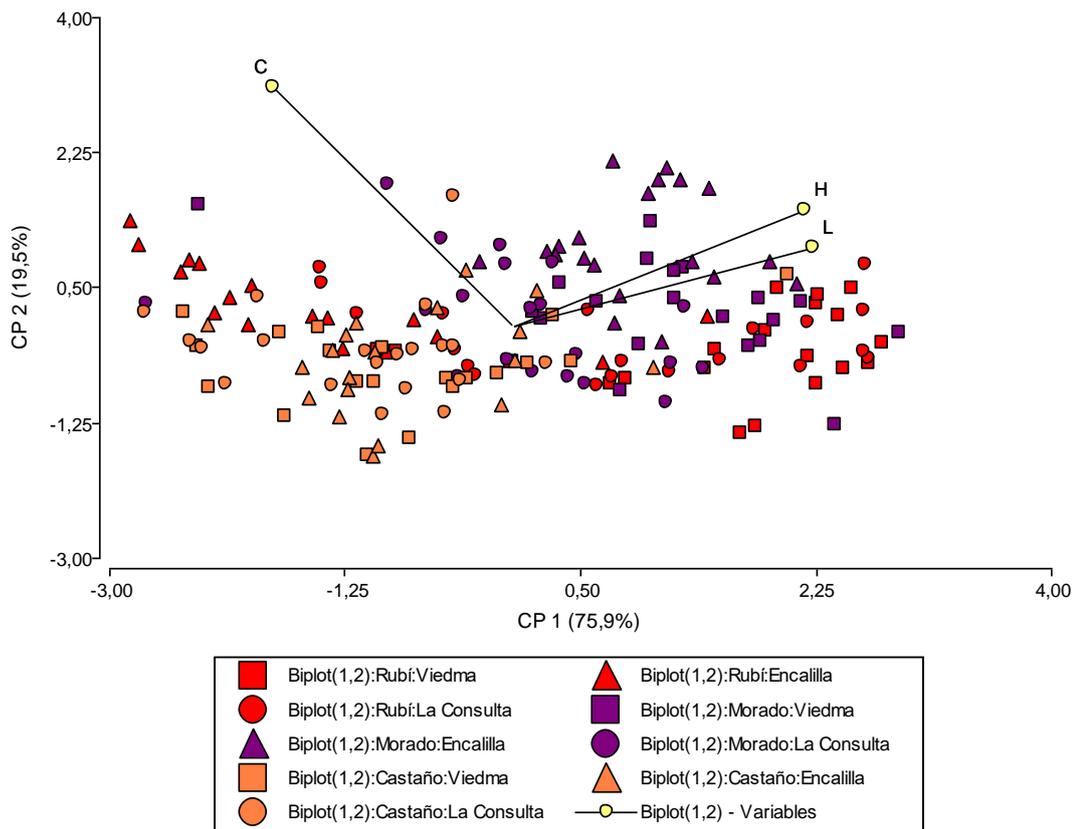


Figura 13: Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos; para el año 2017.

En el año 2018 el análisis de componentes principales (Figura 14), nos indica que las variables L y h, se encuentran correlacionadas aunque en menor medida que en el año 2017. Y la variable c también tiene una relación inversa, con las otras pero menos marcada. Este año podemos observar que las localidades se agrupan más que las cultivares.

Rubí INTA de la localidad de Viedma, tiene colores más amarillos que rojos, Rubí INTA de Encalilla, presenta colores más rojos y los bulbillos de La Consulta, están en el medio entre amarillos y rojos. La intensidad de color para esta cultivar es mayor para los bulbillos de Encalilla que para las otras localidades. Además, lo que se puede apreciar es que mientras más amarillos los bulbillos, más claros son.

Para la cultivar Castaño INTA, encontramos los bulbillos de Encalilla más rojos, menos luminosos y más intensos que los de las otras localidades. Viedma y La Consulta tienen varios puntos en común, aunque otros de Viedma se alejan y son más amarillos, claros y menos intensos.

Finalmente, Morado INTA tiene bulbillos de colores bien intensos en Encalilla, además estos son más oscuros y rojos. Las otras localidades tienen bulbillos con colores más diversos (entre amarillos y rojos), en especial Viedma. La Consulta, los tiene más agrupados, aunque principalmente son rojos y más oscuros, aunque con menos intensidad de color que los de Encalilla.

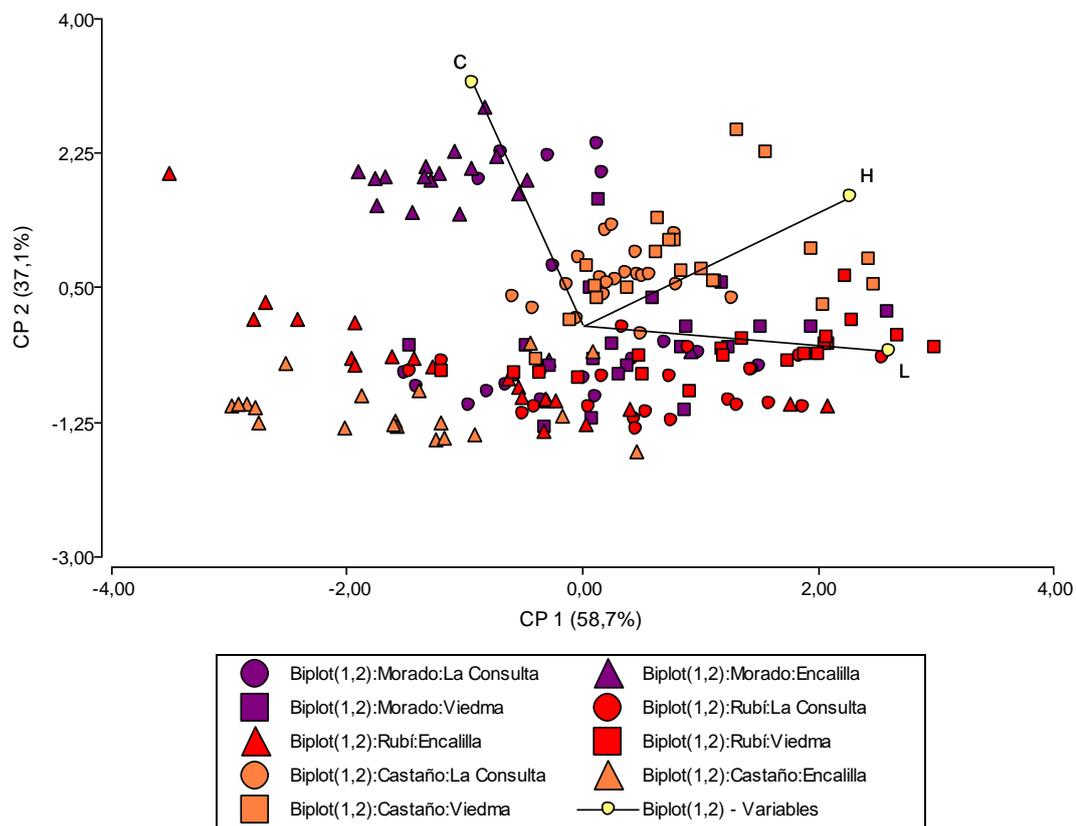


Figura 14: Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos, para el año 2018.

2.3.2.2 Tamaño de bulbillos

Se observa correlación entre los bulbillos de tamaños chicos, cuñas y medianos y éstos en correlación negativa con los bulbillos muy grandes.

Se puede apreciar que Castaño INTA de Viedma y de La Consulta, tiene más bulbillos de tamaño grandes y muy grandes. Mientras que Castaño INTA en Encalilla tiene mayor número de bulbillos grandes y muy grandes, aunque también hay medianos y chicos.

Morado INTA está muy distribuido según la localidad, ya que en La Consulta hay más bulbillos muy grandes y grandes, en Viedma hay más medianos y cuñas y en Encalilla predominan los chicos y cuñas.

Por último, Rubí INTA también muestra mucha distribución, habiendo más bulbillos en La Consulta entre muy grandes y grandes, en Viedma hay más medianos y grandes y en Encalilla principalmente chicos y cuñas.

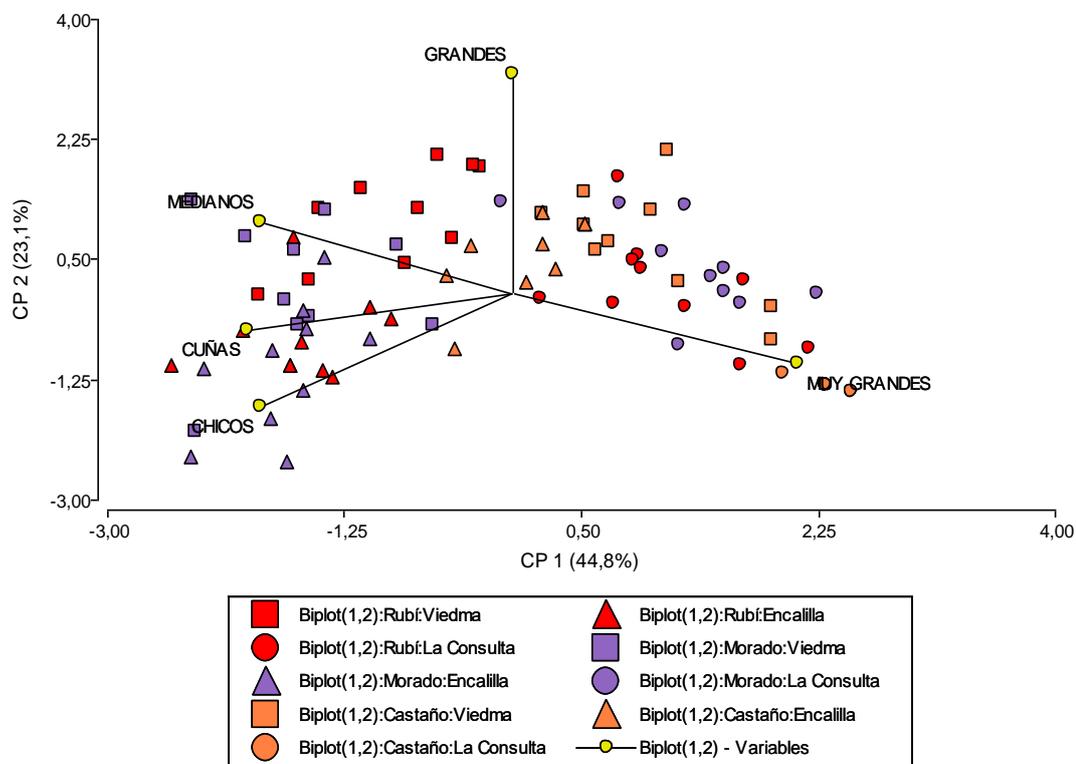


Figura 15: Gráfico de componentes principales para tamaño de bulbillos para el año 2017.

En el año 2018 (Figura 16), observamos aún más marcada la dispersión según localidad para Morado INTA y Rubí INTA; y Castaño INTA tiene bulbillos mayormente muy grandes en las tres localidades. Morado INTA tiene más bulbillos chicos en Encalilla y en Viedma y La Consulta hay más bulbillos muy grandes, grandes y medianos. Rubí INTA tiene más bulbillos entre muy grandes y grandes para La Consulta, entre medianos y cuñas para Viedma y medianos, chicos y cuñas para Encalilla.

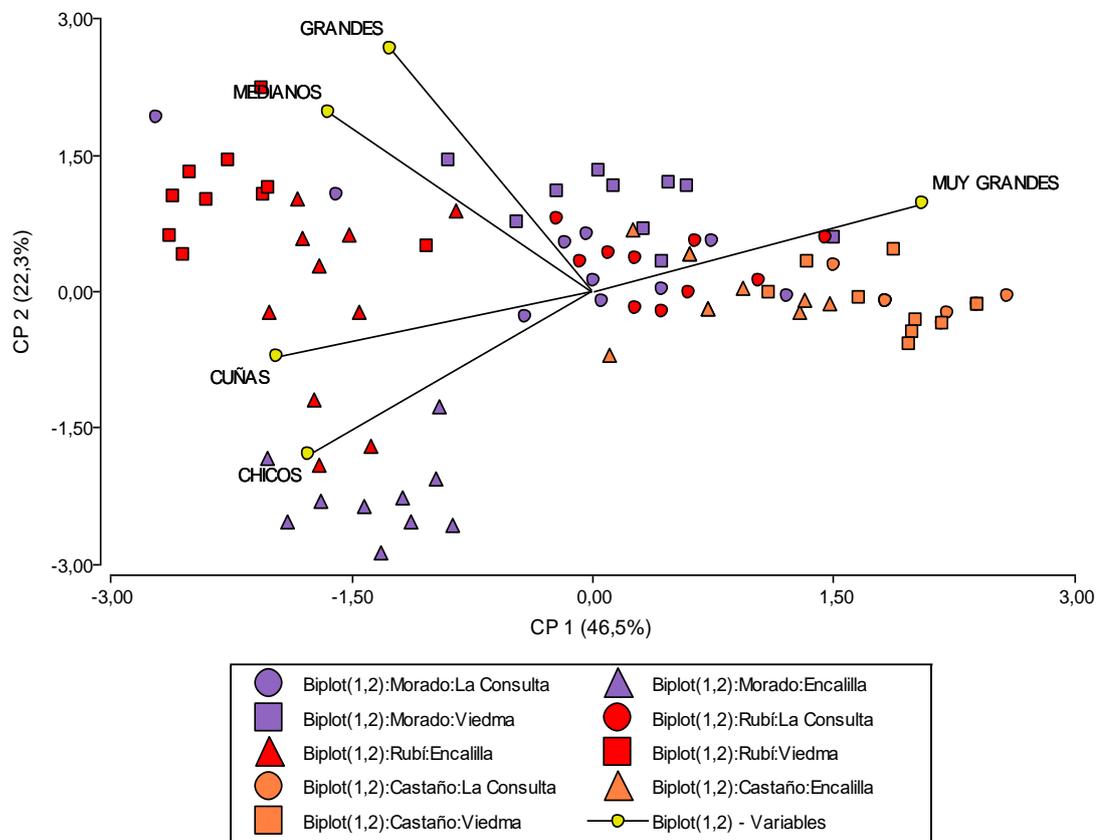


Figura 16: Gráfico de componentes principales para tamaño de bulbillos para el año 2018.

2.3.2.3 Correlación entre color y tamaño de bulbillos

A través del análisis de correlación (Tabla 5), se observa correlación positiva y significativa ($p < 0,05$) para la luminosidad (0,26) y para la variable de matiz (0,15); lo cual indica que mientras más grande es el peso del bulbillito, más claro y amarillo. Y correlación negativa para la saturación o intensidad (-0,11), lo que significa que a mayor peso de bulbillos, menor intensidad de color.

Tabla 5: Análisis de correlación entre el peso total de los bulbillos y los componentes de color L, h y c, para los años 2017 y 2018.

Variable	r	p-valor
L	0,26	<0,0001
h	0,15	0,0045
c	-0,11	0,0435

p valor<0.05 significativos

r: coeficiente de correlación de Pearson

2.3.2.4 Número de bulbillos de la hoja fértil 1

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \epsilon_{ijk} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3; k= 1, 2$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

γ_k : efecto del “k-ésimo” año;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

$\alpha\gamma_{ik}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y el “k-ésimo” año

$\beta\gamma_{jk}$: interacción entre la “i-ésima localidad” y el “k-ésimo año”

$\alpha\beta\gamma_{ijk}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar, la “i-ésima” localidad y el “i-ésimo” año

ϵ_{ijk} : error experimental

En el análisis realizado se encontró que la interacción triple entre los efectos de variación fue significativa (Tabla 6). Lo que indica que hay diferencias entre las cultivares en cada localidad y en cada año.

Tabla 6: Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 1, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	504,35	<0,0001
Localidad	2	18,41	<0,0001
Año	1	0,04	0,8475
Cultivar*Localidad	4	3,00	0,0200
Localidad*Año	2	29,10	<0,0001
Cultivar*Año	2	25,79	<0,0001
Cultivar*Localidad*Año	4	3,22	0,0142

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

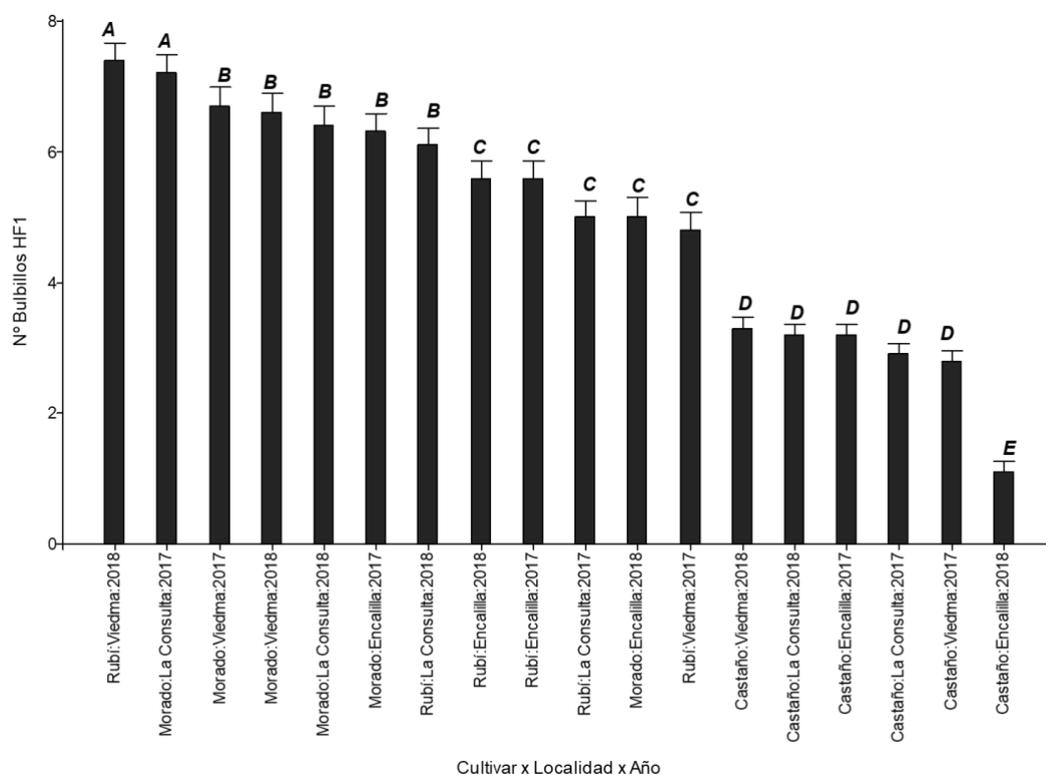


Figura 17: Número de bulbillos de la hoja fértil 1 para la interacción entre cultivar, localidad y año. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05).

En la Figura 17 se puede observar que la cultivar Rubí INTA, en Viedma en el año 2018 fue la que más bulbillos presentó en la hoja fértil 1, mientras que en el 2017 la media para esa cultivar en la misma localidad fue la menor. Para la cultivar Morado INTA las medias no son significativamente diferentes, excepto para Encalilla (Tucumán) en el año 2018. Lo mismo ocurre para la cultivar Castaño INTA, donde en Encalilla en el año 2018 presentó diferencias con el resto de los tratamientos, siendo las medias para esa variable mucho menores.

Podemos observar, que el efecto año tuvo significancia en la hoja fértil 1, sobre todo en la localidad de Encalilla para las cultivares Morado INTA y Castaño INTA. Para la cultivar Rubí INTA no hubo cambios en esa localidad entre los años, pero si hubo efecto año en la localidad de Viedma.

2.3.2.5 Número de bulbillos de la hoja fértil 2

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \varepsilon_{ijk} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3; k= 1, 2$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

γ_k : efecto del “k-ésimo” año;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

$\alpha\gamma_{ik}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y el “k-ésimo” año

$\beta\gamma_{jk}$: interacción entre la “i-ésima localidad” y el “k-ésimo año”

$\alpha\beta\gamma_{ijk}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar, la “i-ésima” localidad y el “i-ésimo” año

ε_{ijk} : error experimental

Se puede observar en la Tabla 7, que son significativas las interacciones entre la localidad y la cultivar y entre la localidad y el año.

Analizando las dos variables que resultan significativas para las interacciones, podemos observar que hay diferencias significativas entre ellas, mediante comparaciones múltiples de medias con el estadístico DGC (Di Rienzo et al, 2002). Donde Rubí INTA resulta con mayor cantidad de bulbillos en su hoja fértil 2 en la localidad de Viedma, mientras que en La Consulta y Encalilla no hay diferencias. La cultivar Morado INTA tiene menor cantidad de bulbillos en Encalilla y no hay diferencias entre La Consulta y Viedma. Y para la cultivar Castaño INTA hubo diferencias entre todas las localidades (Figura 18).

Analizando la localidad respecto al año (Figura 19), podemos observar que Encalilla no tuvo diferencias en los años estudiados, mientras que La Consulta y Viedma sí presentaron diferencias, teniendo para ambas localidades menor cantidad de bulbillos en la hoja fértil 2 el año 2017.

Tabla 7: Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 2, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	388,62	<0,0001
Localidad	2	30,53	<0,0001
Año	1	12,48	0,0005
Cultivar*Localidad	4	5,81	0,0002
Localidad*Año	2	5,96	0,0032
Cultivar*Año	2	1,00	0,3696
Cultivar*Localidad*Año	4	2,23	0,0675

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

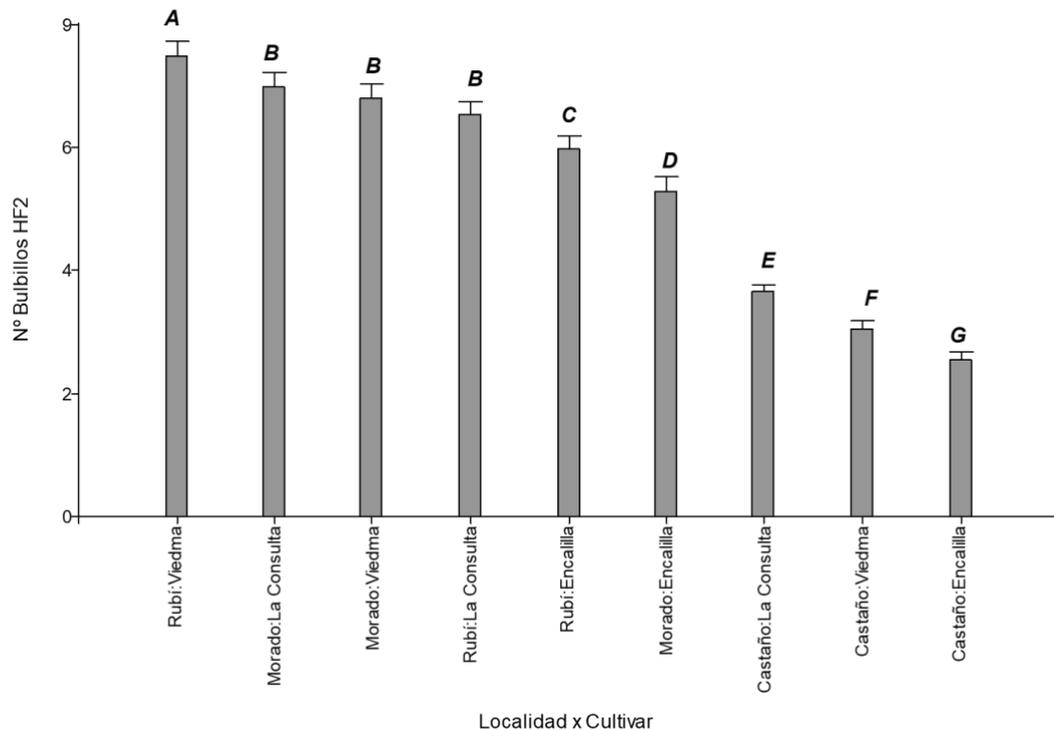


Figura 18: Número de bulbillos de la hoja fértil 2 para la interacción entre la cultivar y la localidad. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

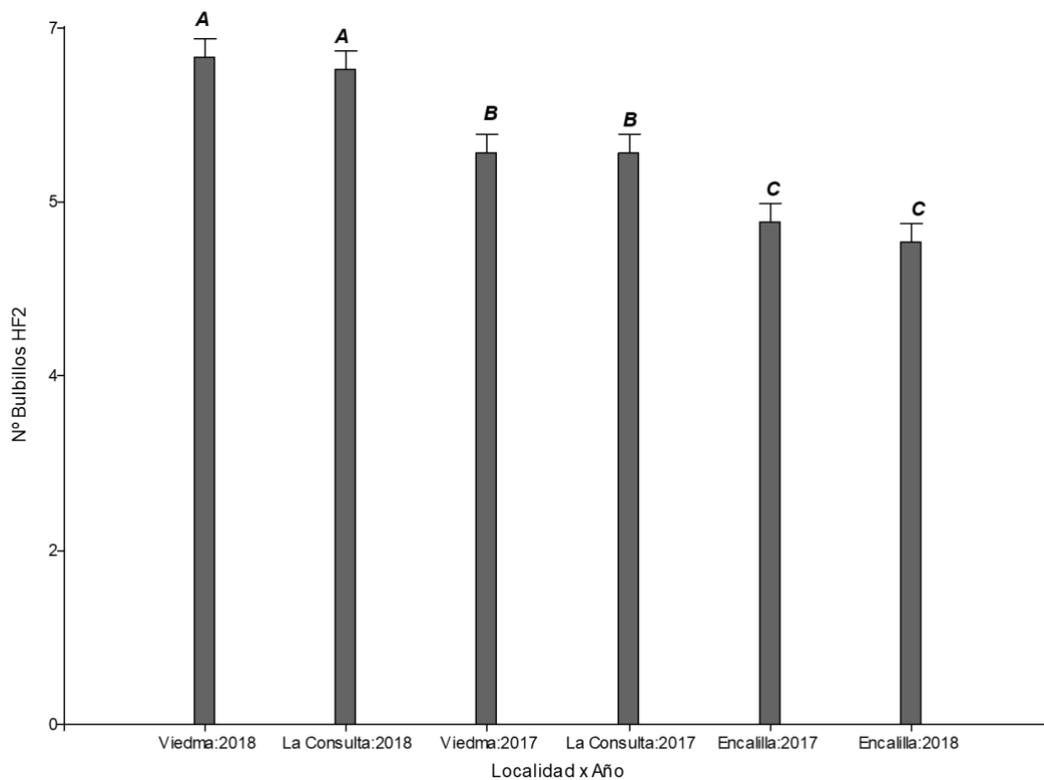


Figura 19: Número de bulbillos de la hoja fértil 2 para la interacción entre la localidad y el año. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.2.6 Número total de bulbillos

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \varepsilon_{ijk} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3; k= 1, 2$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

γ_k : efecto del “k-ésimo” año;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

$\alpha\gamma_{ik}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y el “k-ésimo” año

$\beta\gamma_{jk}$: interacción entre la “i-ésima localidad” y el “k-ésimo año”

$\alpha\beta\gamma_{ijk}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar, la “i-ésima” localidad y el “i-ésimo” año

ε_{ijk} : error experimental

Tabla 8: Tabla de Análisis de la Varianza para el número total de bulbillos, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	795,59	<0,0001
Localidad	2	51,56	<0,0001
Año	1	7,85	0,0057
Cultivar*Localidad	4	6,41	0,0001
Localidad*Año	2	29,02	<0,0001
Cultivar*Año	2	5,77	0,0038
Cultivar*Localidad*Año	4	4,08	0,0035

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

En el ANAVA (Tabla 8), se observa significativa la triple interacción entre la cultivar, la localidad y el año para el número total de bulbillos.

En la Figura 20, podemos observar que Castaño INTA es la cultivar que más diferencias mostró respecto a las localidades y los años. Siendo La Consulta la localidad que más bulbillos presentó y Encalilla la que menos, en ambos años. Y en las 3 localidades hubo diferencias significativas entre los años estudiados.

Luego la cultivar Rubí INTA no mostró diferencias significativas respecto a las localidades, ni respecto a los años de estudio, excepto para la localidad de Viedma en el año 2018, donde el número total de bulbillos fue significativamente mayor.

Y por último Morado INTA no tuvo diferencias en las localidades de La Consulta y Viedma, ni entre ellas, ni entre los años estudiados. Encalilla tuvo significativamente menor número de bulbillos que las otras localidades en ambos años de estudio.

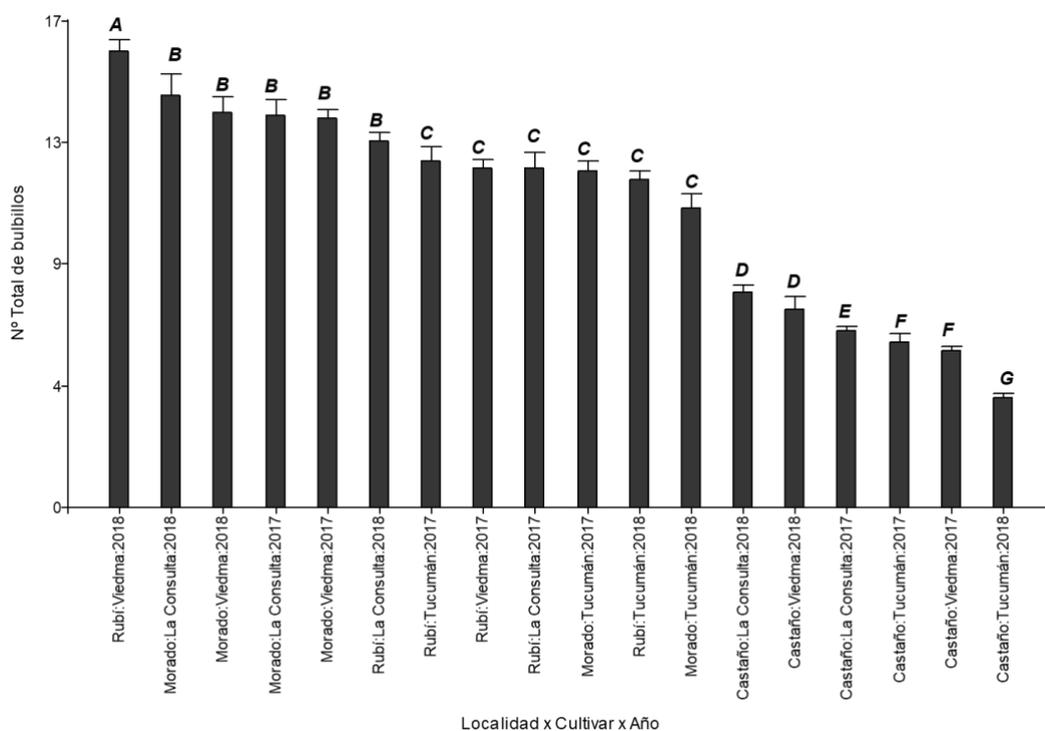


Figura 20: Interacción entre cultivar, localidad y año para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 1. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.2.7 Número de bulbillos con defectos

Modelo estadístico utilizado

$Y \sim \text{POI}(\mu)$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ε_{ijk} : error experimental

Se observaron diferencias significativas entre las cultivares y entre las localidades. (Tabla 9).

Tabla 9: Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbillos con defectos, para los años 2017 y 2018.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	5,34	0,0056
Localidad	2	3,17	0,0445

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

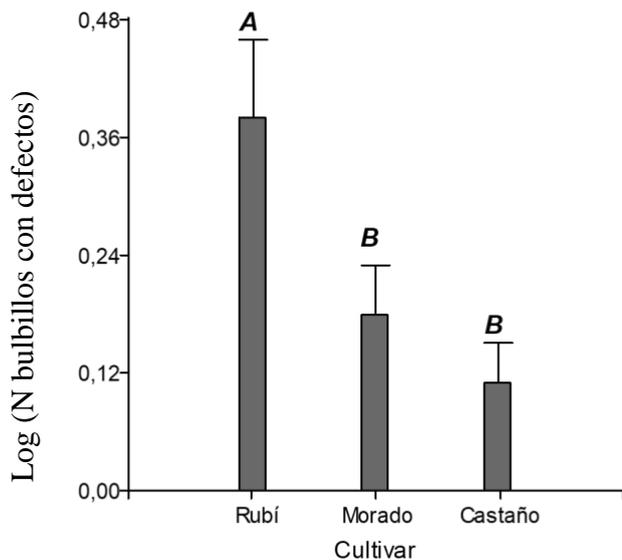


Figura 21: Diferencias entre cultivares, para la variable: logaritmo del número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En la figura 21 observamos diferencias para la variable en estudio, siendo la cultivar Rubí INTA, la que mayor cantidad de bulbillos con defectos tiene.

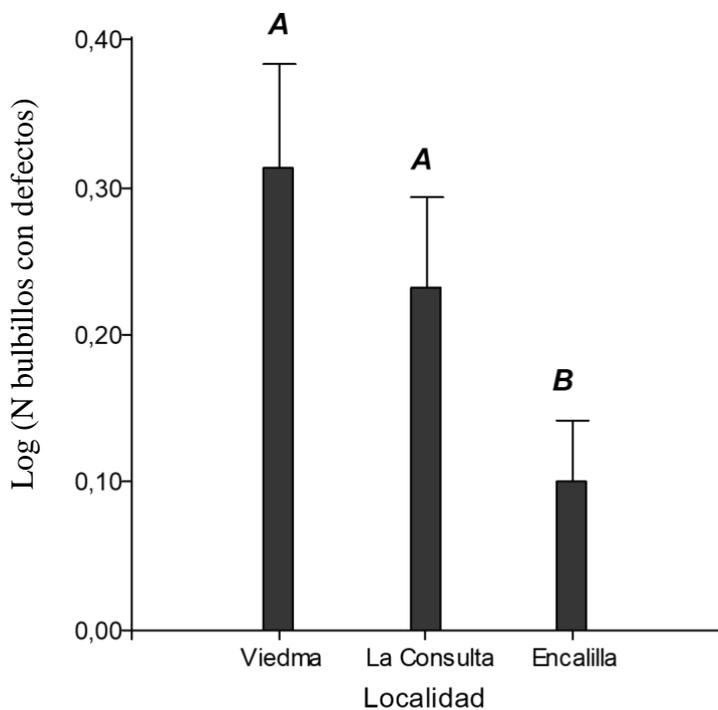


Figura 22: Diferencias entre localidades, para la variable: logaritmo del número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

La Figura 22 muestra las diferencias para las localidades en el número de bulbillos con defectos, siendo menores en Encalilla que en Viedma y La Consulta.

2.4 Discusión

Cuando caracterizamos tres cultivares, desarrollándose en tres ambientes y las comparamos entre sí, observamos claramente que hay características que dejan de ser sólo propias de la cultivar y pasan a ser producto de su interacción con un determinado lugar con condiciones climáticas específicas. Tal es el caso de los números de **bulbillos de la hoja fértil 1** y el **número total de bulbillos** donde, las tres cultivares muestran diferencias significativas en todas las localidades y en los dos años de estudio. También es el caso del **calibre de bulbos**, donde la cultivar interacciona con la localidad y además las localidades también interaccionan con el año, lo que nos permite asegurar que el calibre es una variable afectada por el ambiente y por las condiciones climáticas específicas del ciclo de cultivo. De la misma manera interacciona el **peso medio de bulbos totales**, donde los pesos medios son notablemente mayores para la localidad de La Consulta, el año de cultivo mostró diferencias en la localidad de Viedma y las cultivares tuvieron diferentes pesos en la localidad de Encalilla. Además, se interpreta que la cultivar Rubí INTA puede presentar pesos medios aceptables, en ambientes desfavorables para las otras cultivares. Los resultados sugieren que las variables morfológicas estudiadas fueron fuertemente afectadas por el ambiente de cultivo, concordando con Mitjans (2020) en azafrán de distintas procedencias y tamaños, donde se evaluaron caracteres fenológicos de la especie, encontrando diferencias en el período de floración y producción de flores. También coinciden con Ibañez *et al.* (2018) en *Solanum kurtzianum* y Draghi y Whitlock (2012), quienes postularon que un mismo clon o genotipo puede presentar variaciones morfológicas según factores ambientales como el suelo y el clima. En ajo, Vieira y Nodari (2007), describieron diferencias en aspectos fisiológicos y morfológicos del ajo al estar expuestos a diferentes ambientes. Además, Lucena *et al.* (2016), compararon diversas características de cultivares de ajo sometidos a diferentes períodos de vernalización en dos localidades diferentes de Brasil, observando diferencias en el comportamiento de los genotipos en relación al diámetro del bulbo en ambas localidades. Y Atif *et al.* (2020), describieron cambios morfológicos de la especie en diversos ambientes controlados.

Se evidenciaron mayor cantidad de **bulbillos con defectos** para la cultivar Rubí INTA, y menor cantidad para la localidad de Encalilla, sugiriendo que podría ser una característica propia de la cultivar y además que el ambiente de cultivo puede modificar.

En el caso del **color de bulbillos**, se observaron diferencias entre los años de cultivo en todas las variables utilizadas para medir color, además se observaron cambios entre las localidades en la intensidad del color y en las matices, sugiriendo la influencia del ambiente sobre esta variable tal como se describe en el trabajo de Burba y Cavagnaro (2022) quienes postulan que la pigmentación de la hoja protectora de los bulbillos de ajo es un factor genético fuertemente influenciado por el ambiente, particularmente la temperatura y la textura de los suelos.

Además, se observaron correlaciones positivas entre matices y luminosidad, respecto al tamaño; y negativas entre intensidad de color y tamaño, tal como describió Burba *et al.* (1999).

El **tamaño de bulbillos**, es una característica que se utiliza para describir las cultivares (Burba, 2013), aunque los resultados indican que está fuertemente afectada por el ambiente y el año de cultivo.

Finalmente, se observaron cambios entre las localidades en la mayoría de las variables morfológicas estudiadas, indicando adaptaciones de la especie al ambiente, las cuales podrían ser causadas por variabilidad epigenética, (Chen y Tian, 2007, Servet *et al.*, 2010, Zhao y Zhou, 2012, Wang *et al.*, 2011, Kou *et al.*, 2011).

En el caso contrario, observamos que variables como el número de bulbos con **defectos**, corresponden a diferencias sólo entre las cultivares, sin ser afectados por el ambiente.

2.5 Conclusiones

Los resultados evidencian cambios morfológicos en las tres cultivares de ajo, según la localidad de cultivo y el año de estudio, validando la hipótesis específica 1, para las siguientes variables de estudio: calibre de bulbos enteros, número de bulbillos de la hoja fértil 1, número de bulbillos de la hoja fértil 2 y número total de bulbillos. También para color y tamaño de bulbillos se observan diferencias en los gráficos de componentes principales. El número de bulbillos con defectos aunque no tuvo una

interacción significativa entre las fuentes de variación, sí tuvo diferencias en las localidades.

Por el contrario la variable estudiada que no tuvo cambios morfológicos significativos según el lugar de cultivo fue el número de bulbos con defecto.

Ante la expansión de áreas de cultivo del ajo, se deberán anticipar cambios en la morfología de los clones que serán propias de la plasticidad fenotípica que presenta la especie.

Las diferencias entre los caracteres medidos al estar expuestos a distintos ambientes por varios ciclos de cultivo, demuestran la gran plasticidad que tiene la especie, lo que anticipará cambios en su morfología, en respuesta a las adaptaciones al medio.

Finalmente, se puede observar que Rubí INTA interacciona principalmente con Viedma, Morado INTA con Encalilla y Castaño INTA tuvo interacción con todas las localidades. Entonces, al describir una cultivar, habrá que tener en cuenta que éstas características son propias de esa cultivar cuando recibe ciertos estímulos del ambiente, sobre todo el fotoperíodo y las temperaturas mínimas durante el ciclo de cultivo. Así las cultivares adquirirán morfologías variables según el lugar de cultivo, es decir que no se puede esperar la misma respuesta de una cultivar cuando esta cambia de ambiente.

2.6 Bibliografía

- ATIF, M.J., AMIN, B., GHANI, M.I. ALI, M., ZHANG, S., CHENG, Z. Effect of photoperiod and temperature on garlic (*Allium sativum* L.) bulbing and selected endogenous chemical factors, *Environmental and Experimental Botany*, Volume 180,2020,104250,ISSN 0098-8472,<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104250>.
- BURBA, J.L., LANZAVECHIA, S., OCAÑAS, R. 1999. Relación entre el rendimiento potencial y el color de “dientes” en ajos “colorados”. En: CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO (6°, Mendoza, Argentina, 1999). Mendoza, INTA EEA La Consulta, EEA La Consulta, p. 63-64.
- BURBA, J.L.; LANZAVECHIA, S., LÓPEZ, A. y PORTELA, J.A. 2010. Procedimiento para el montaje y la conducción de Unidades Demostradoras de la Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA). PO 3.1.2. Revisión 2012. En: BURBA, J.L. (Ed.). 2013. Manual de Procedimientos Operativos para la Producción, Empaque, Comercialización e Industrialización de Ajo. La Consulta, Mendoza, AR. INTA Estación Experimental Agropecuaria La Consulta. (Proyecto Ajo/INTA Doc. 107).

- BURBA, J. L., LANZAVECHIA, S. 2013. Cultivares argentinos de ajo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 2. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 56-84.
- BURBA, J.L., CAVAGNARO, P. 2022. Factores genéticos y ambientales que modifican la pigmentación de bulbos de ajo. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria La Consulta, Mendoza, Argentina. Documento Proyecto Ajo/INTA 151, pdf, 13 p.
- CHEN, Z.J., TIAN, L. 2007. Roles of dynamic and reversible histone acetylation in plant development and polyploidy. *Biochim. Biophys. Acta*, 1769 (2007), pp. 295-307
- DI RIENZO, J.A., GUZMAN, A.W., CASANOVES, F. 2002. A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *JABES* 7, 129–142. <https://doi.org/10.1198/10857110260141193>
- DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M.G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., ROBLEDO, C.W. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DRAGHI, J.A., WHITLOCK, M.C. 2012. Phenotypic plasticity facilitates mutational variance, genetic variance, and evolvability along the major axis of environmental variation. *Evolution* 66: 2891-2902. PubMed <http://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01649>.
- IBAÑEZ, V.N., MASUELLI, R.W., MARFIL, C.F. 2018. Plasticidad fenotípica y variabilidad epigenética en la especie silvestre de papa *Solanum kurtzianum*. En: XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores; Mendoza; Argentina; 2018; 1-12.
- KOU, H. P., LI, Y., SONG, X.X., OU, X.F., XING, S.C., MA, J., VON WETTSTEIN, D., LIU, B. 2011. Heritable alteration in DNA methylation induced by nitrogen-deficiency stress accompanies enhanced tolerance by progenies to the stress in rice (*Oryza sativa* L.) *J. Plant Physiol.*, 168 (2011), pp. 1685-1693
- LANZAVECHIA, S. 2013. Aptitud de las variedades argentinas de ajo para producción *premium*. En: 100 temas sobre producción de ajo. 2. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 86-87.
- LUCENA, R.R.M., NEGREIROS, M.Z.D., MORAIS, P.L.D.D., LOPES, W.D.A.R., *et al.* 2016. Qualitative analysis of vernalized semi noble garlic cultivars in western Rio Grande do Norte State, Brazil. *Rev. Caatinga* 29: 764-773. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252016v29n329rc>
- MITJANS VADELL, L.C. 2020. Evaluación de la variabilidad genética en germoplasma de azafrán (*Crocus sativus* L.) cultivado en Argentina. Tesis de Maestría en Genética Vegetal, Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Agrarias, Rosario, Argentina. 50p.

- PORTELA, J. A. 2013. Crecimiento y desarrollo de la planta de ajo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 3. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 8 – 35.
- SERVET, C., CONDE, N., SILVA, N., ZHOU, D.X. 2010. Histone acetyltransferase AtGCN5/HAG1 is a versatile regulator of developmental and inducible gene expression in Arabidopsis. *Mol. Plant*, 3 (2010), pp. 670-677
- TRANI, P.E., PASSOS, F.A., FOLTRAN, D.E., TIVELLI, S.W.L., *et al.* (2005). Avaliação dos acessos de alho pertencentes à coleção do Instituto Agronômico de Campinas. *Hortic. Bras.* 23: 935-939. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000400015>
- VIEIRA, R.L., NODARI, R.O. 2007. Diversidade genética de cultivares de alho avaliado por marcadores RAPD. *Cienc. Rural* 37: 51-57. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000100009>
- WANG, W., ZHAO, X., PAN, Y., ZHU, L., FU, B., LI, Z. 2011. DNA methylation changes detected by methylation-sensitive amplified polymorphism in two contrasting rice genotypes under salt stress *J. Genet. Genomics*, 38 (2011), pp. 419-424
- ZHAO, Y, ZHOU, D.X. 2012. Epigenomic Modification and Epigenetic Regulation in Rice. *Journal of Genetics and Genomics*. 39(7):307–15. doi: 10.1016/j.jgg.2012.02.009 WOS:000306738400003. PMID: 22835977.

**CAPÍTULO 3: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CLONES DE
AJO DE DISTINTAS PROCEDENCIAS CULTIVADOS EN UN AMBIENTE
COMÚN**

Resumen

Se caracterizaron tres cultivares de ajo (Morado INTA, Rubí INTA y Castaño INTA), cultivados en La Consulta, provenientes de tres localidades (Encalilla, Tucumán; La Consulta, Mendoza y Viedma, Río Negro). Las evaluaciones se realizaron poscosecha y se evaluaron bulbos enteros y bulbos desgranados (bulbillos). Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente empleando el software estadístico INFOSTAT 2014 (Di Rienzo *et al.* 2008) mediante análisis de la varianza (ANAVA) y comparación de medias. Se encontraron diferencias significativas, para las siguientes variables de estudio: calibre de bulbos enteros, número de bulbillos de la hoja fértil 2 y número total de bulbillos. Las diferencias en el color de catáfilas de bulbillos también persistieron entre las localidades de origen. Por el contrario la variable estudiada en las que no se encontraron diferencias significativas al uniformizar el lugar de cultivo, fue el número de bulbillos de la hoja fértil 1.

Palabras clave: ajo, ambiente uniforme, expresión fenotípica, variabilidad epigenética.

3.1 Introducción

Debido a que las plantas no pueden adaptarse de manera conductual o migrar para adaptarse por ser organismos sésiles, los mecanismos de respuesta epigenética reversibles, que actúan bajo condiciones ambientales (Angers *et al.* 2010; Müller 2010; Downen *et al.* 2012; Robertson y Richards 2015), pueden ser particularmente cruciales para su supervivencia individual y la persistencia de la población dentro de los entornos dinámicos que experimentan. Los procesos epigenéticos son responsables de varios mecanismos de plasticidad fenotípica, este es un elemento clave en la evolución de las especies y las interacciones ecológicas, y en plantas superiores existe una mayor capacidad para producir fenotipos alternativos en respuesta al medio. En algunas especies de plantas, se ha encontrado una relación entre las metilaciones y la plasticidad fenotípica (Zhang *et al.* 2013), floración inducida por el ambiente (Bastow *et al.* 2004; He y Amasino 2005; Bossdorf *et al.* 2008), cambios en la morfología de las hojas (Herrera y Bazaga 2013), y en la morfología floral (Cubas *et al.* 1999; Herrera y Bazaga 2010) o en el tamaño de la planta (Finnegan *et al.* 1996). La variación epigenética también puede ser alterada directamente por las interacciones ecológicas, a diferencia de la variación genética (Fieldes y Amyot 1999; Richards 2006; Whitelaw y Whitelaw 2006) y, por lo tanto, puede proporcionar una vía acelerada adicional para el cambio evolutivo. Además, los factores epigenéticos se consideran cada vez más importantes para el control molecular del fenotipo individual (Bossdorf *et al.* 2008; Jablonka y Raz 2009).

Los cambios en la metilación del genoma permiten la adaptación al medio ambiente mediante respuestas de corto a mediano término (Zhao y Zhou 2012). Algunos autores como Latzel y colaboradores (2013) demostraron recientemente que la diversidad epigenética incrementa la productividad y estabilidad de poblaciones de plantas.

La variabilidad epigenética posee características diversas que han sido definidas por diversos autores. Downen y colaboradores (2012) sostenían que la variabilidad epigenética podría inducirse con el ambiente, mientras que otros autores (Becker *et al.* 2011; Schmitz *et al.* 2011) citan que podrían surgir estocásticamente, es decir, de manera aleatoria. Shea *et al.* (2011) distinguían entre las variaciones epigenéticas producidas por el ambiente como no aleatorias y las modificaciones epigenéticas

estocásticas, heredables entre generaciones, comparables a mutaciones genéticas aleatorias en el sentido que pueden contribuir a fenotipos adaptativos a través de acción de la selección natural.

Feng *et al* (2010) citan que las modificaciones epigenéticas podrían reiniciarse entre las sucesivas generaciones, sin embargo otros autores demostraron que esto no ocurría completamente y una parte de la variabilidad era transmitida por meiosis a las generaciones siguientes (Johannes *et al.* 2009).

Luego, la epigenética comenzó a estudiarse en organismos con reproducción asexual (Gao *et al.* 2010; Verhoeven *et al.* 2010; Massicotte *et al.* 2011; Richards *et al.* 2012), lo que ofreció algunas ventajas. Estos autores manifiestan que como en los organismos de reproducción asexual no hay variación por recombinación y segregación, la variabilidad epigenética podría ser importante para la evolución de estos individuos. Además, en los organismos sexuales, es en el proceso de la meiosis cuando se produce el restablecimiento del epigenoma entre las generaciones (Feng *et al.* 2010), por lo que en los seres de reproducción asexual, podría haber menos restablecimientos epigenéticos que en los de reproducción sexual. La variabilidad epigenética, es entonces, relevante para la evolución y la adaptación a los diferentes ambientes en los organismos asexuales.

Aunque no se conoce si existen diferencias en los niveles de metilación de clones de una misma variedad de ajo desarrollados durante largos períodos de tiempo en ambientes distintos, Gimenez *et al.* (2018) evaluaron la variabilidad genética y epigenética y midieron el peso de bulbos de una cultivar de ajo durante trece años; encontrando una alta variabilidad epigenética y baja variabilidad genética, con cambios significativos en el peso de los bulbos.

Aunque en este trabajo de tesis no se evaluaron caracteres moleculares referidos a la variabilidad epigenética, se hipotetiza que al uniformizar el lugar de cultivo de los bulbos traídos de las distintas localidades (Encalilla, Tucumán; Viedma, Río Negro) plantándolos en La Consulta, Mendoza, las diferencias morfológicas observadas entre los tratamientos en el capítulo anterior, persistirían. Estas diferencias podrían atribuirse a variabilidad epigenética heredada, lo que se intentará determinar en trabajos futuros.

Hipótesis específica 2:

Las diferencias morfológicas generadas por los diferentes ambientes de cultivo del cual provienen las cultivares, no desaparecen al uniformizar el lugar de plantación.

Objetivo específico 2:

Identificar, caracterizar y cuantificar la variación morfológica observada en bulbos y bulbillos de las cultivares Rubí INTA, Morado INTA y Castaño INTA, plantadas en La Consulta (Mendoza), provenientes de campañas anteriores de cultivo en Encalilla (Tucumán), Viedma (Río Negro), y La Consulta (Mendoza).

3.2 Metodología

Se plantaron las 3 cultivares (Morado INTA, Rubí INTA y Castaño INTA), provenientes de las distintas localidades (Encalilla, Tucumán; La Consulta, Mendoza y Viedma, Río Negro) en La Consulta, Mendoza. Se plantaron 20 bulbillos de cada tratamiento (cultivar x localidad) de los bulbillos cosechados en el año 2018. La plantación se realizó a razón de 12 bulbillos por metro lineal, en camas simples. El riego fue superficial y los manejos técnicos fueron iguales para todas las cultivares siguiendo el manual de procedimientos operativos para la RENDICA (Burba *et al.*, 2010).

Las mediciones se realizaron poscosecha, evaluando las mismas características descriptas anteriormente en el punto 2.2. Se evaluaron 10 bulbos por tratamiento.

3.3 Resultados

3.3.1 Bulbos enteros

3.3.1.1 Calibre medio de bulbos

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2, 3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ε_{ij} : error experimental

Tabla 10: Tabla de Análisis de la Varianza para el calibre medio de bulbos para el año 2019.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	0,32	0,7432
Localidad	2	7,73	0,0422

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

La Tabla 10 indica diferencias significativas en el calibre medio de bulbos para la localidad, sin diferencias entre las cultivares.

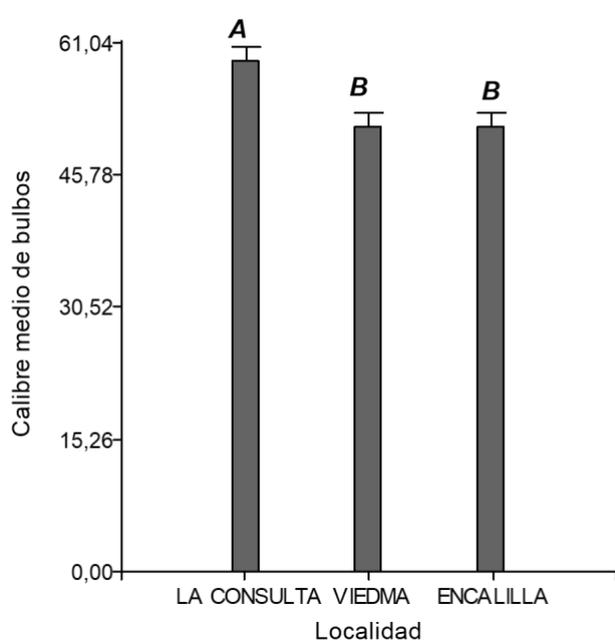


Figura 23: Diferencias entre localidades para el calibre medio de bulbos para el año 2019. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Se puede observar en la Figura 23 que los calibres son mayores para los bulbos de la localidad La Consulta.

3.3.1.2 Peso medio de bulbos totales

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i=1, 2, 3; j=1, 2, 3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ε_{ij} : error experimental

Tabla 11: Tabla de Análisis de la Varianza para el peso medio de bulbos totales, para el año 2019.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	0,30	0,7576
Localidad	2	4,67	0,0899

*gl: grados de libertad.

p valor < 0.05 significativos

La comparación por el cociente de verosimilitud da que el modelo completo difiere de los modelos simplificados, por lo que se acepta el modelo completo y se interpretan a las fuentes de variación como significativas.

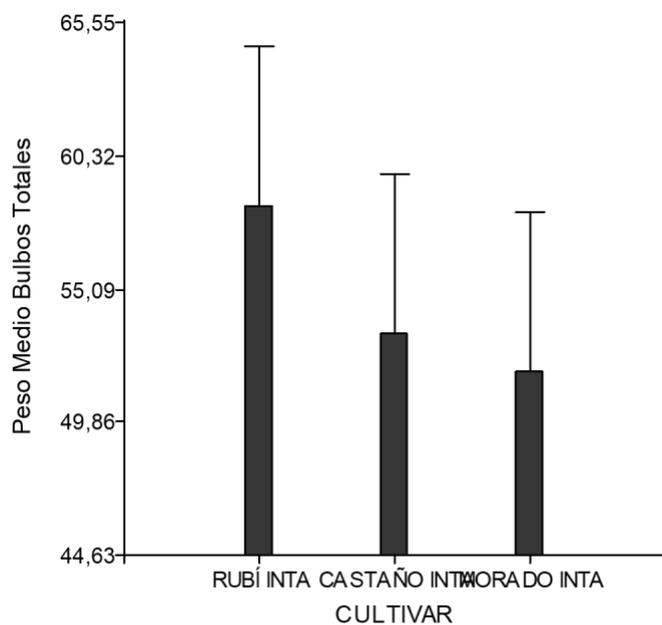


Figura 24: Diferencias entre cultivares para el peso medio de bulbos para el año 2019.

Se observa en la Figura 24 que el peso medio de bulbos para la cultivar Rubí INTA es mayor que para las otras cultivares.

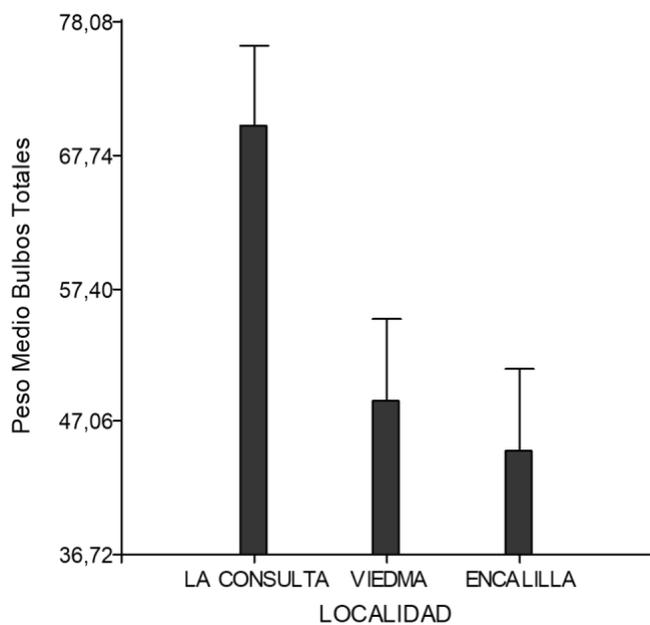


Figura 25: Diferencias entre localidades para el peso medio de bulbos para el año 2019.

En la Figura 25, se puede apreciar una importante diferencia en los pesos medios de bulbos para la localidad de La Consulta, respecto a las otras localidades.

3.3.1.3 Número de bulbos con defectos

Modelo estadístico utilizado

$Y \sim \text{POI}(\mu)$

$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2,3;$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ε_{ij} : error experimental

Tabla 12: Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbos con defectos del año 2019.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	2,96	0,1629
Localidad	2	0,95	0,4604

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

El ANAVA de la Tabla 12, indica que no hay diferencias significativas para el número de bulbos con defectos del año 2019. Además al realizar la selección de modelos utilizando el índice AIC, se elige el modelo que no tiene efectos de la cultivar ni de la localidad.

3.3.2 Bulbillos

3.3.2.1 Color de bulbillos

En el análisis de componentes principales para color del año 2019 (Figura 26), se observa que las variables entre sí se correlacionan de forma similar a las del año 2018, ya que entre h y L hay correlación positiva, pero menor que en el 2017 y ambas variables con c, tienen correlación negativa.

Las observaciones de Castaño INTA se agrupan en puntos cercanos, a diferencia de las otras cultivares que están más dispersas. Esta cultivar tiene colores más amarillos que rojos y más intensos que los años anteriores, son más claros que oscuros.

Rubí INTA tiene colores más rojos y más intensos en las localidades de Encalilla y Viedma que en La Consulta. Además, mientras más rojos, más oscuros.

Para Morado INTA, las cultivares y las localidades se encuentran muy distribuidas. Hay bulbillos claros y oscuros y son principalmente de colores más rojos y no muy intensos.

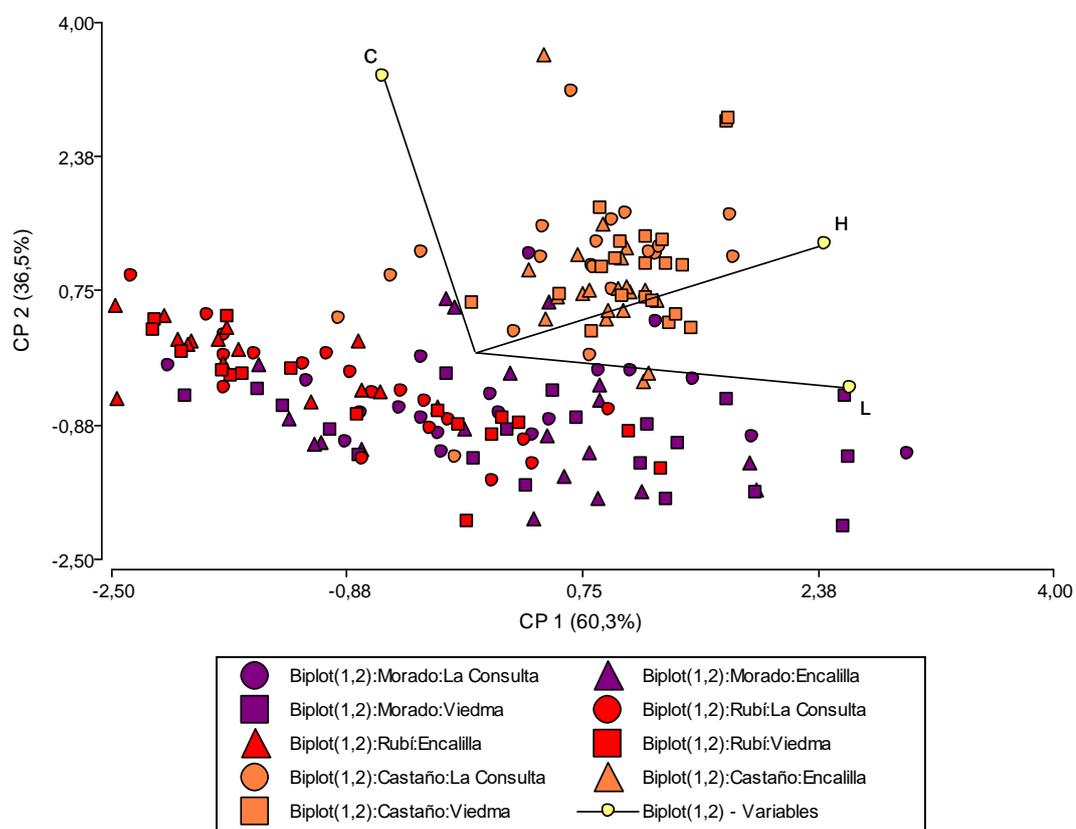


Figura 26: Gráfico de componentes principales para las variables de color L, h y c en bulbillos, para el año 2019.

3.3.2.2 Tamaño de bulbillos

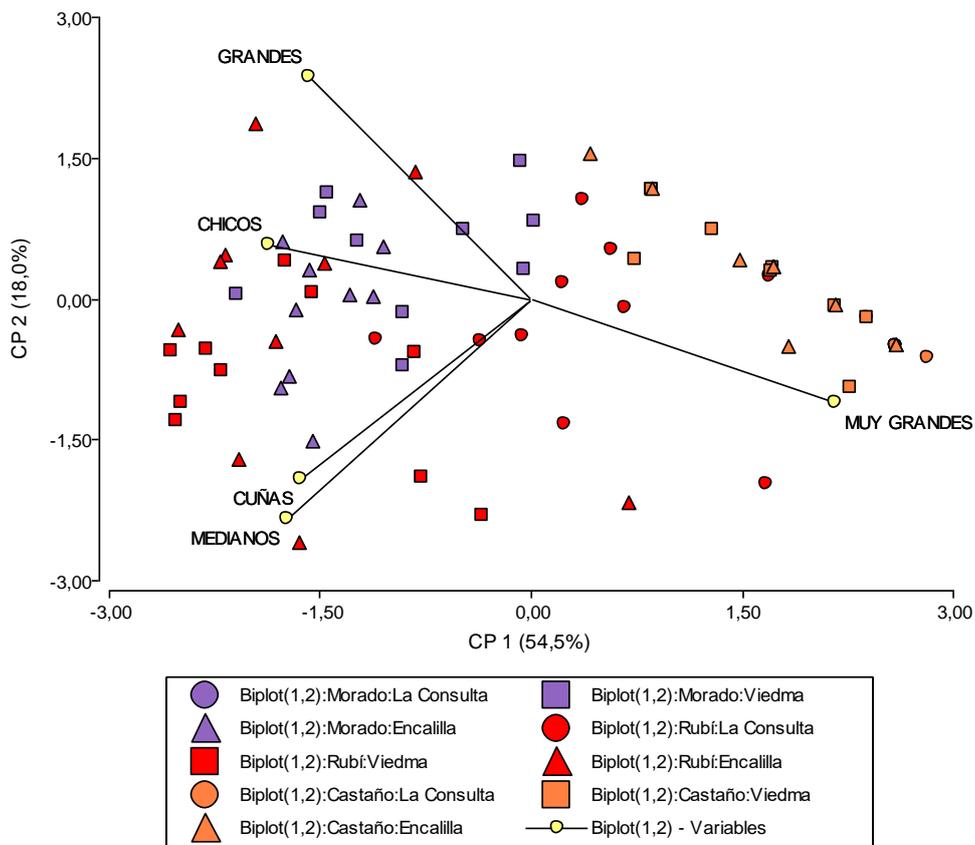


Figura 27: Gráfico de componentes principales para el tamaño de bulbillos para el año 2019.

Como se puede observar en el gráfico de componentes principales de tamaño de bulbillos para el año 2019 (Figura 27), los bulbillos muy grandes son de la cultivar Castaño INTA de las 3 localidades. Rubí INTA de la localidad de La Consulta tiene más bulbillos grandes y muy grandes, mientras que el tamaño de los bulbillos de las otras localidades (Encalilla y Viedma), son mayormente chicos. Morado INTA tiene una distribución distinta para cada localidad; en La Consulta hay bulbillos principalmente grandes y muy grandes, en Viedma entre grandes y chicos y en Encalilla hay mayormente chicos, pero también hay grandes y cuñas.

3.3.2.3 Correlación entre color y tamaño de bulbillos

Tabla 13. Análisis de correlación entre el peso total de los bulbillos y los componentes de color L, h y c, para el año 2019.

Variable	R	p-valor
L	-0,17	0,0224
h	-0,07	0,3402
c	0,15	0,0386

p valor<0.05 significativos

r: coeficiente de correlación de Pearson

Mediante el análisis de correlación de Pearson, se observa correlación negativa y significativa ($p<0,05$) para la luminosidad (-0,17) y positiva y significativa ($p<0,05$) para la variable de saturación (0,15); lo cual indica que mientras más grande es el peso del bulbillo, más oscuro y más intenso. La correlación entre el peso de bulbillos y la variable de matiz (h) no resultó significativamente diferente.

3.3.2.4 Número de bulbillos de la hoja fértil 1

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij} \quad i= 1,2, 3; j= 1, 2, 3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

ϵ_{ij} : error experimental

Para el modelo elegido, la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 1 es significativamente diferente entre las cultivares, no entre las localidades, ni en la interacción entre ambas. (Tabla 14) Como se puede observar en la Figura 28, no hay diferencias entre las cultivares Morado INTA y Rubí INTA, pero sí para Castaño INTA.

Tabla 14: Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 1, para el año 2019.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	229,22	<0,0001
Localidad	2	0,88	0,4189
Cultivar*Localidad	4	1,16	0,3346

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

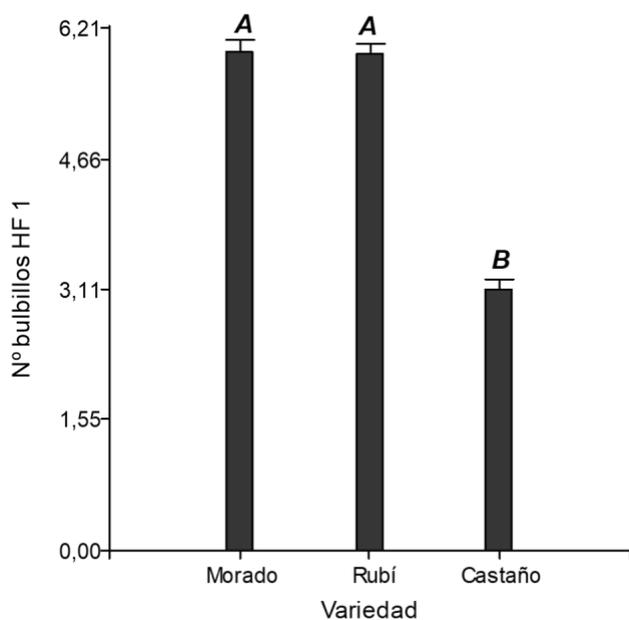


Figura 28: Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 1. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05)

3.3.2.5 Número de bulbillos de la hoja fértil 2

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij} \quad i= 1, 2,3; j= 1, 2, 3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

ϵ_{ij} : error experimental

Tabla 15: Tabla de Análisis de la Varianza para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 2, para el año 2019.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	187,55	<0,0001
Localidad	2	1,29	0,2809
Cultivar*Localidad	4	8,03	<0,0001

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

La Tabla 15 indica que para la cantidad de bulbillos de la hoja fértil 2 del año 2019 hay diferencias significativas en la interacción localidad por cultivar. Luego, en la Figura 29 podemos observar que para las cultivares Castaño INTA y Morado INTA no hay diferencias entre las localidades, mientras que para la cultivar Rubí INTA la localidad de La Consulta presenta menor cantidad de bulbillos para la hoja fértil 2.

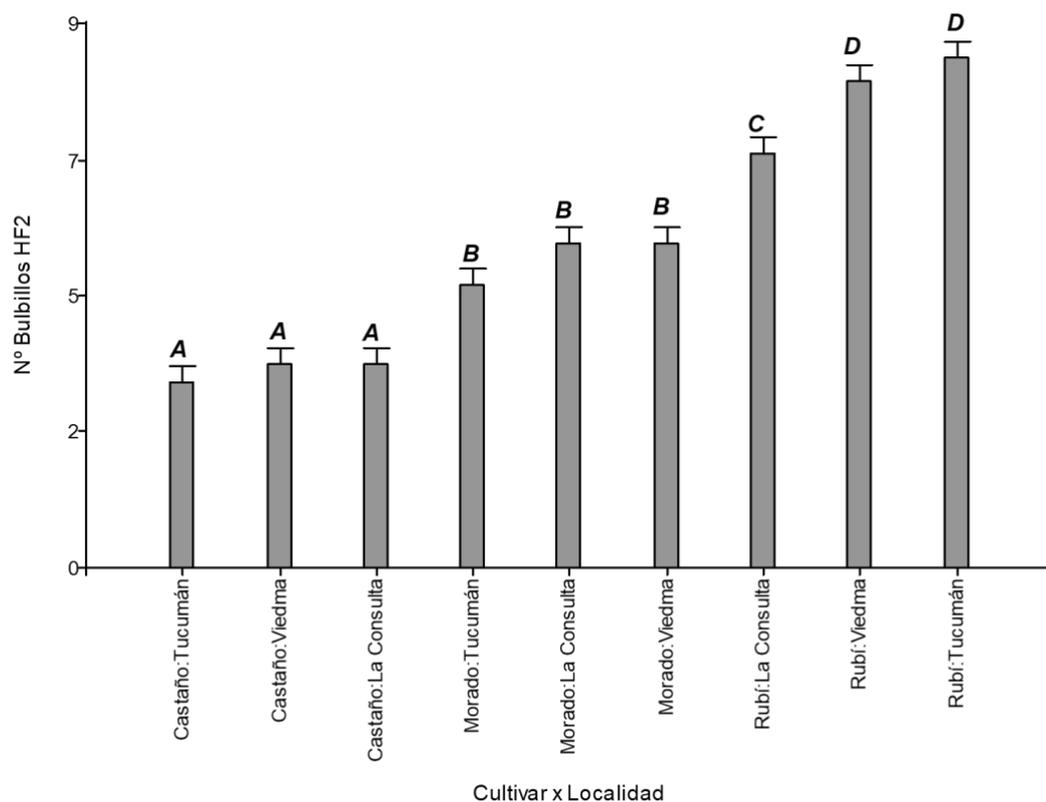


Figura 29: Diferencias entre cultivares, para la variable: número de bulbillos de la hoja fértil 2. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

3.3.2.6 Número total de bulbillos

Modelo estadístico utilizado

$$Y \sim N(\mu, \sigma)$$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad i=1, \dots, 3; j=1, \dots, 3;$$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

$\alpha\beta_{ij}$: interacción entre la “i-ésima” cultivar y la “j-ésima” localidad;

ε_{ij} : error experimental

Tabla 16: Tabla de Análisis de la Varianza para el número total de bulbillos para el año 2019. Valores de F y probabilidades.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	518,64	<0,0001
Localidad	2	3,12	0,0495
Cultivar*Localidad	4	5,51	0,0006

*gl: grados de libertad.
p valor<0.05 significativos

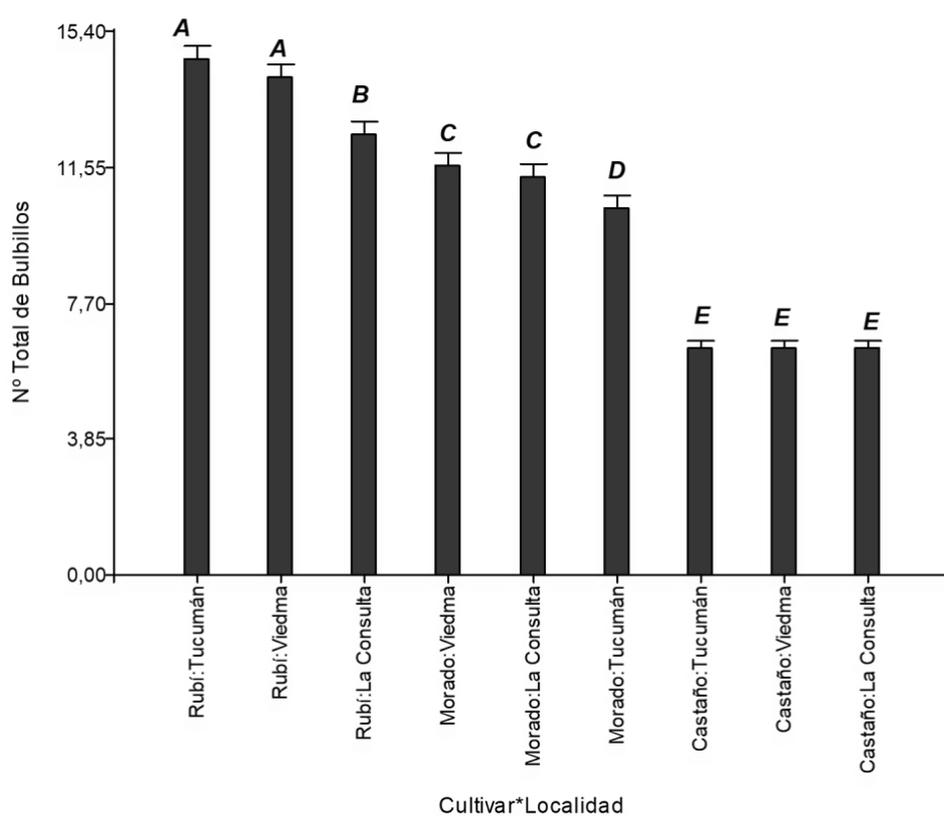


Figura 30: Diferencias entre cultivares, para la variable: número total de bulbillos. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05)

Para el número total de bulbillos, hay interacción localidad por cultivar (Tabla 16). En el caso de Rubí INTA la cantidad de bulbillos es menor en La Consulta que en las otras

localidades. En Morado INTA es menor en Encalilla que en las otras localidades y en Castaño INTA no hay diferencias entre las localidades (Figura 30).

3.3.2.7 Número de bulbillos con defectos

Modelo estadístico utilizado

$Y \sim \text{POI}(\mu)$

$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad i= 1,\dots,3; j= 1,\dots,3;$

Donde:

μ : media general;

α_i : efecto de la “i-ésima cultivar”;

β_j : efecto de la “j-ésima” localidad;

ε_{ijk} : error experimental

Tabla 17: Tabla de Análisis de la Varianza para el número de bulbillos con defectos para el año 2019. Valores de F y probabilidades.

Fuente de variación	gl	F	p-valor
Cultivar	2	4,18	0,0185
Localidad	2	4,71	0,0115

*gl: grados de libertad.

p valor<0.05 significativos

Para el número de bulbillos con defectos del año 2019, no se observan diferencias en la interacción cultivar por localidad, pero sí diferencias para esos efectos por separado. (Tabla 17).

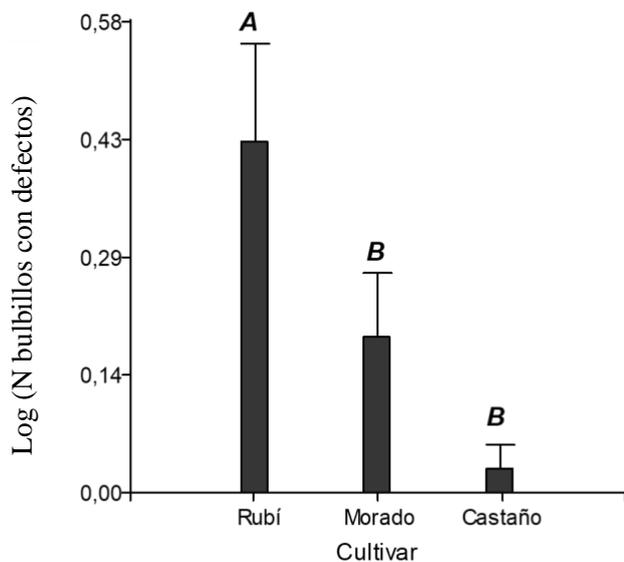


Figura 31: Diferencias entre cultivares, para la variable: logaritmo del número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Para el número de bulbillos con defectos, la diferencia es significativamente mayor para la cultivar Rubí INTA (Figura 31) y significativamente mayor para la localidad de La Consulta (Figura 32).

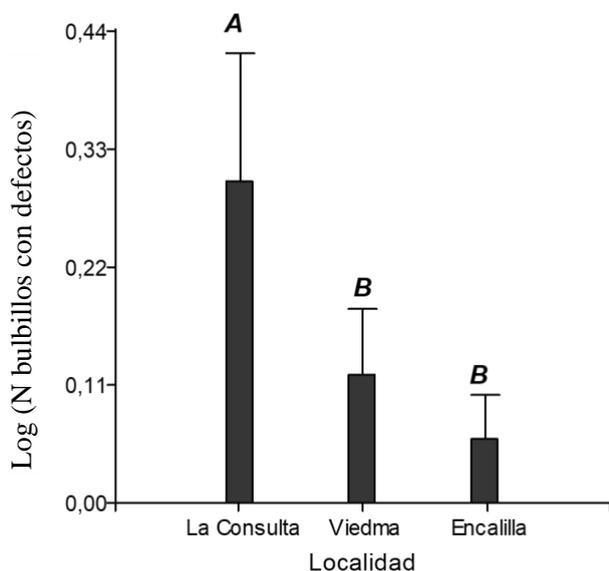


Figura 32: Diferencias entre localidades, para la variable: logaritmo del número de bulbillos con defectos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

3.4 Discusión

Aunque las condiciones de cultivo en este año fueron las mismas para todos los tratamientos, se encontraron diferencias significativas en los **calibres de bulbos enteros** de una misma cultivar y en **peso medio de bulbos** de las distintas localidades, siendo los de La Consulta mayores. Esto concuerda con los resultados de Giménez (2016), donde una cultivar presenta pesos medios de bulbos progresivamente mayores en cada año de cultivo *ex vitro*. El ambiente, ya sea distintas localidades o forma de propagación del cultivo, repercute en el peso medio de bulbos, aunque se haya uniformizado el lugar de cultivo. Se observa que Rubí INTA tuvo mayores pesos de bulbos al homogeneizar el lugar de cultivo.

Si bien la pigmentación de catáfilas de bulbos y bulbillos de ajo es una característica que aún requiere análisis, el **color** es fuertemente afectado por el ambiente, independientemente de la región donde la variedad fue seleccionada (Morales y García Lampasona, 2019). Es por esto que las cultivares estudiadas en este trabajo muestran distintos matices e intensidades, según la localidad y el año, aunque todas tengan la misma procedencia.

Los resultados de correlación entre tamaño y color de bulbillos, difieren de los descritos en el Capítulo 2, y de lo sugerido por Burba *et al.* (1999). Se sugiere que se encontró esta diferencia ya que los análisis de los años 2017 y 2018, fueron realizados en bulbillos con muchos años de cultivo en un determinado lugar, sin embargo en las evaluaciones de la cosecha 2019, los ajos tenían distintas procedencias y el cambio de ambiente puede haber interferido en la expresión de los genes relacionados con el color de las catáfilas (Morales y García Lampasona, 2019).

Rubí INTA, al igual que en Capítulo 2, presentó mayor cantidad de **bulbillos con defectos**, lo que vuelve a sugerir que podría ser una característica propia de la cultivar. Además, las diferencias encontradas nuevamente entre las localidades parecerían indicar que el ambiente afectará la cantidad de bulbillos con defectos.

Una vez uniformizado el lugar de cultivo para los bulbillos, las diferencias observadas en el capítulo anterior desaparecieron para el número de **bulbillos de la hoja fértil 1**, lo que indicaría que es una variable definida por la interacción entre la cultivar y el ambiente de cultivo, sin ser afectada por la localidad de origen.

Por otro lado, las diferencias se mantuvieron para las interacciones localidad por cultivar para el número de **bulbillos de la hoja fértil 2** y para el **número total de**

bulbillos. Resultaría interesante comprobar si estas variaciones morfológicas persistentes son características adquiridas en el epigenoma heredables de una generación a otra, como plantean Johannes F. *et al.* (2009), Akimoto *et al.* (2007), Boyko *et al.* (2010), Verhoeven *et al.* (2010).

Respecto a las cultivares, al uniformizar el lugar de cultivo Rubí INTA y Morado INTA, continuaron mostrando diferencias morfológicas entre las localidades de origen; mientras que Castaño INTA no. Sería de gran valor poder comprobar si esta cultivar presenta algún mecanismo de reinicio de su epigenoma y las otras cultivares no.

Finalmente, los resultados sugieren que las interacciones plásticas genotipo-ambiente pueden resultar en una liberación de variación heredable en un ambiente nuevo (Hermisson y Wagner, 2004, y Fierst, 2011).

3.5 Conclusiones

Al uniformizar el lugar de cultivo, las diferencias se mantuvieron para el número de bulbillos de la hoja fértil 2 y para el número total de bulbillos en las interacciones localidad por cultivar. También se observaron diferencias en el calibre y peso de bulbos enteros según la localidad de procedencia y en el color de las catáfilas de los bulbillos. Estas variables de estudio validan la hipótesis específica 2.

Por el contrario, el número de bulbillos de la hoja fértil 1, rechaza la hipótesis planteada, ya que las diferencias entre localidades de procedencia y entre la interacción entre la cultivar y la localidad, desaparecieron al plantar los ajos en La Consulta. Sólo se mantuvieron las diferencias entre las cultivares.

Para la mayoría de las variables estudiadas, las diferencias encontradas por venir de lugares distintos persistieron, indicando que responden a la “memoria” del ajo según el lugar donde fue cultivado durante varios ciclos de cultivo. Por el contrario, el número de bulbillos de la hoja fértil 1, parece ser el carácter más plástico estudiado en este trabajo de tesis, ya que al cambiarlo de ambiente el primer año modifica su expresión.

3.6 Bibliografía

- AKIMOTO, K., KATAKAMI, H., KIM, H.J., OGAWA, E., SANO, C.M., WADA, Y., SANO, H. 2007. Epigenetic Inheritance in Rice Plants, *Annals of Botany*, Volume 100, Issue 2, August 2007, Pages 205–217, <https://doi.org/10.1093/aob/mcm110>.
- ANGERS, B., CASTONGUAY, E., MASSICOTTE, R. 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: How to deal with unpredictable conditions until the next Generation and after. *Molecular Ecology* 19:1283-1295.
- BASTOW, R., MYLNE, J.S., LISTER, C., LIPPMAN, Z., MARTIENSSEN, R.A., DEAN, C. 2004. Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* 427:164-167.
- BECKER C., HAGMANN J., MÜLLER J. et al. 2011. Spontaneous epigenetic variation in the *Arabidopsis thaliana* methylome. *Nature* 480, 245–249 <https://doi.org/10.1038/nature10555>.
- BOSSDORF, O., RICHARDS, C.L., PIGLIUCCI, M. 2008. Epigenetics for ecologists. *Ecology Letters* 11:106–115.
- BOYKO, A., BLEVINS, T., YAO, Y., GOLUBOY, A., BILICHAK, A., *et al.* 2010. Transgenerational Adaptation of *Arabidopsis* to Stress Requires DNA Methylation and the Function of Dicer-Like Proteins. *PLOS ONE* 5(3): e9514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009514>
- BURBA, J. L., LANZAVECHIA, S., OCAÑAS, R. 1999. Relación entre el rendimiento potencial y el color de “dientes” en ajos “colorados”. En: CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO (6°, Mendoza, Argentina, 1999). Mendoza, INTA EEA La Consulta, EEA La Consulta, p. 63-64.
- BURBA, J.L.; LANZAVECHIA, S., LÓPEZ, A. y PORTELA, J.A. 2010. Procedimiento para el montaje y la conducción de Unidades Demostradoras de la Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA). PO 3.1.2. Revisión 2012. En: BURBA, J.L. (Ed.). 2013. Manual de Procedimientos Operativos para la Producción, Empaque, Comercialización e Industrialización de Ajo. La Consulta, Mendoza, AR. INTA Estación Experimental Agropecuaria La Consulta. (Proyecto Ajo/INTA Doc. 107).
- BURBA, J.L., LANZAVECHIA S. Y OCAÑAS R. 2019. Relación entre el rendimiento potencial y el color de “dientes” en ajos “Colorados”. En: CURSO TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO, VI. Mendoza, 23 al 26 de junio, Mendoza, INTA EEA La Consulta. p. 63-64. (Proyecto Ajo/INTA).

- CUBAS, P., VINCENT, C., COEN, E. 1999. An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature* 401:157-161.
- DOWEN, R.H., PELIZZOLA, M., SCHMITZ, R.J., LISTER, R., DOWEN J.M., NERY J.R., DIXON J.E., ECKER J.R. 2012. Widespread dynamic DNA methylation in response to biotic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 109:2183-2191.
- FENG, S. H., JACOBSEN S.E., and REIK, W. 2010. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science* 330:622–627.
- FIELDES, M.A., AMYOT, L.M. 1999. Epigenetic control of early flowering in flax lines induced by 5-azacytidine applied to germinating seed. *Journal of Heredity* 90:199–206.
- FIERST, J.L. (2011), A history of phenotypic plasticity accelerates adaptation to a new environment. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 1992-2001. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02333.x>
- FINNEGAN, E.J., PEACOCK, W.J., DENNIS, E.S. 1996. Reduced DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* results in abnormal plant development. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93:8449–8454.
- GAO, L. X., GENG, Y. P., LI, B., CHEN, J. K., y YANG, J. 2010. Genome-wide DNA methylation alterations of *Alternanthera philoxeroides* in natural and manipulated habitats: implications for epigenetic regulation of rapid responses to environmental fluctuation and phenotypic variation. *Plant Cell Environ.* 33:1820–1827.
- GIMENEZ, M.D. 2016. Caracterización fenotípica, citogenética, genética y epigenética de plantas de ajo en distintas etapas posteriores al cultivo de meristemas. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Probiol, Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias, Mendoza, Argentina. 112p.
- GIMENEZ, M.D., GARCÍA LAMPASONA, S. 2018. Before-after analysis of genetic and epigenetic markers in garlic: A 13-year experiment, *Scientia Horticulturae*, Volume 240, Pages 23-28, ISSN 0304-4238, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.044>.
- HE, Y.H., AMASINO, R.M. 2005. Role of chromatin modification in flowering time control. *Trends Plant Sciences* 10:30-35.
- HERMISSON, J., WAGNER G. P., 2004. The Population Genetic Theory of Hidden Variation and Genetic Robustness, *Genetics*, Volume 168, Issue 4, 1 December Pages 2271–2284, <https://doi.org/10.1534/genetics.104.029173>
- HERRERA, C.M., BAZAGA, P. 2010. Epigenetic differentiation and relationship to adaptive genetic divergence in discrete populations of the violet *Viola cazorlensis*. *New Phytologist* 187: 867–876.

- HERRERA, C.M., BAZAGA, P. 2013. Epigenetic correlates of plant phenotypic plasticity: DNA methylation differs between prickly and nonprickly leaves in heterophyllous *Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae) trees. *Botanical Journal of the Linnean Society* 171:441–452.
- JOHANNES, F., PORCHER, E., TEIXEIRA, F.K., SALIBA-COLOMBANI, V., SIMON, M., AGIER, N., BULSKI, A., ALBUISSON, J., HEREDIA, F., AUDIGIER, P., D. BOUCHEZ, D., DILLMANN, C., GUERCHE, P., HOSPITAL, F., y COLOT, V. 2009. Assessing the impact of transgenerational epigenetic variation on complex traits. *Plos Genet.* 5:e1000530.
- LANZAVECHIA, S. 2017. Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo. En: CURSO TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO, XV. Mendoza, 30 al 1 de setiembre, Mendoza, INTA EEA La Consulta. p. 45-52. (Proyecto Ajo/INTA). Publicado además en: Agro de Cuyo, INTA Centro Regional Cuyo.
- LATZEL, V., ALLAN, E., SILVEIRA, A.B., COLOT, V., FISCHER, M., BOSSDORF, O. 2013. Epigenetic diversity increases the productivity and stability of plant populations. *Nat Commun.* doi:10.1038/ncomms3875 WOS:000328029800001.
- MASSICOTTE, R., WHITELAW, E., y ANGERS, B.. 2011. DNA methylation A source of random variation in natural populations. *Epigenetics* 6:422–428.
- MORALES, A. y GARCÍA LAMPASONA, S. 2019. Evaluación de la plasticidad fenotípica del color de bulbillos en cultivares de ajo colorado. En: CURSO/TALLER SOBRE PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN E INDUSTRIALIZACIÓN DE AJO (16°, Mendoza, Argentina, 2019). Mendoza, INTA EEA La Consulta, EEA La Consulta, p. 51-54
- MÜLLER, G.B. 2010. Epigenetic innovation. En: Pigliucci, M., Müller G.B. (Eds), *Evolution the extended synthesis*, pp. 307–328. The MIT Press, Cambridge, MA, Estados Unidos.
- PORTELA, J.A y LUCERO, C.C. 2013. Tecnologías “costo cero” para el cultivo de ajo. En: 100 temas sobre producción de ajo. 3. INTA EEA La Consulta, La Consulta, Mendoza, pp 48-76.
- RICHARDS, C. L., SCHREY, A.W., y PIGLIUCCI, M. 2012. Invasion of diverse habitats by few Japanese knotweed genotypes is correlated with epigenetic differentiation. *Ecol. Lett.* 15:1016–1025.
- RICHARDS, E.J. 2006. Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7:395-401.
- ROBERTSON, M., RICHARDS, C. 2015. Non-genetic inheritance in evolutionary theory- the importance of plant studies. *Non-Genetic Inheritance* 2:3-11.

- SCHMITZ, R.J., SCHULTZ, MD., LEWSEY, MG., O'MALLEY, RC., URICH, MA., LIBIGER, O., SCHORK, NJ., ECKER, J.R.. 2011. Transgenerational epigenetic instability is a source of novel methylation variants. *Science*. 334:369–373.
- SHEA, N., PEN, I., y ULLER, T. 2011. Three epigenetic information channels and their different roles in evolution. *J. Evol. Biol.* 24:1178–1187.
- VERHOEVEN, K. J. F., VAN DIJK, P. J., y BIERE, A. 2010. Changes in genomic methylation patterns during the formation of triploid asexual dandelion lineages. *Mol. Ecol.* 19:315–324.
- WHITELAW, N.C., WHITELAW, E. 2006. How lifetimes shape epi- genotype within and across generations. *Human Molecular Genetics* 15:131–137.
- ZHANG, Y-Y., FISCHER, M., COLOT, V., BOSSDORF, O. 2013. Epigenetic variation creates potential for evolution of plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 197: 314–322.
- ZHAO, Y, ZHOU, D.X. 2012. Epigenomic Modification and Epigenetic Regulation in Rice. *Journal of Genetics and Genomics*. 39(7):307–15. doi: 10.1016/j.jgg.2012.02.009 WOS:000306738400003. PMID: 22835977.

CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES GENERALES

Si bien se observaron diferencias en el comportamiento de las diferentes cultivares, en líneas generales, variables morfológicas como el **calibre de bulbos enteros**, **peso medio de bulbos**, **color de los bulbillos** y el **número de bulbillos de la hoja fértil 2** y **número total de bulbillos** presentaron diferencias entre los lugares de cultivo y las mismas permanecieron una vez que se uniformizó el ambiente (posteriormente en La Consulta).

Por el contrario, el **número de bulbillos de la hoja fértil 1** mostró diferencias entre las localidades, pero estas diferencias desaparecieron al uniformizar el lugar de cultivo, demostrando que es una característica que dependerá del estímulo del ambiente en donde son cultivadas.

Además, otras variables como **número de bulbos y bulbillos con defectos**, parecen no responder a estímulos del ambiente al no presentar variabilidad según las zonas de cultivo.

En este trabajo se trabajó únicamente con análisis morfológicos, aunque sería de mucho interés poder comparar las características morfológicas encontradas con análisis moleculares para describir la variabilidad epigenética, empleando la metodología *Methylation Sensitive Amplified Polymorphism* (MSAP) como se encuentra descrito en Xiong *et al.* (1999), o bien utilizar alguna de las otras técnicas más modernas y eficaces.

La contribución original de este trabajo es aportar información sobre los efectos del ambiente sobre los genotipos. Cuando se considera la elaboración de un programa de selección clonal, este debe referenciarse siempre al punto geográfico de obtención, advirtiendo que la cultivar obtenida tendrá ciertas características para ese lugar y que no necesariamente serán estables en otros ambientes de cultivo.

Al demostrarse que, cuando el genotipo regresa al punto geográfico de obtención, las características anato-morfológicas se mantienen, es posible detectar zonas de buena aptitud semillera.

4.1 Bibliografía

XIONG, L.Z., XU C.G., SAGHAI – MAROOF, M.A., y ZHANG, Q. 1999. Patterns of cytosine methylation in an elite rice hybrid and its parental lines, detected by a methylation sensitive amplification polymorphism technique. *Mol Gen Genet* 261: 439446.

ANEXO

Procedimiento para el montaje y la conducción de Unidades Demostradoras de la Red Nacional de Difusión de Cultivares de Ajo (RENDICA)

METODOLOGÍA

1. MUESTREAR SUELO

- En el mes de diciembre calcular la superficie necesaria para el montaje de la Unidad Demostradora del año siguiente e imaginar en el terreno un retículo de 20 m x 20 m
- Cuando el suelo esté húmedo tomar en cada punto del cuadrado del retículo una muestra de suelo eliminando el rastrojo de la superficie y cavar con pala o barreno hasta 30 cm de profundidad y colocar el contenido en un balde.
- Cada 10 muestras mezclar el suelo y embolsar en polietileno 3 muestras de 1,00 kg cada uno y enviar respectivamente a los laboratorios de suelo (para análisis de Nitrógeno, Fósforo y Potasio), nematología (para análisis de *Ditylenchus dipsaci*) y fitopatología (para análisis de *Sclerotium* sp). Cada muestra debe estar perfectamente identificada con una tarjeta.
- Con los resultados de los análisis (debe arrojar cero de nematodos y cero de podredumbre blanca), tomar decisiones sobre el terreno a utilizar en cuanto a fertilización y sanidad futura atendiendo al dictamen de los laboratorios.

2. ARAR Y CORREGIR NIVELES

- Si fuese necesario rastrar para picar el rastrojo, arar con cincel y corregir desniveles.
- Preparar acequias y desagües futuros

3. INCORPORAR ESTIERCOL (ENGUANAR)

- Si fuese necesario incorporar en diciembre guano de cabra, vaca, caballo o gallina ponedora (no utilizar cama de pollo), a razón de aproximadamente 10 t/ha (1 kg/m²).
- Surcar y regar

4. SOLARIZAR

- Para asegurarse mayor sanidad en el cultivo se puede solarizar aplicando una lámina de polietileno transparente sobre el terreno húmedo durante 45 días (entre enero y febrero).

5. SURCAR – REGAR – RASTRAR

- Una semana antes de la fecha de plantación se deberá surcar y regar con una gran lámina para asegurar humedad de pre plantación.
- Rastrar y sellar el suelo con riel o rolo de listones
- Surcar el mismo día de la plantación a 55 cm ó 60 cm entre líneas

6. ACONDICIONAR SEMILLA

- El material destinado a la plantación, que deberá estar seco, limpio, desinfectado con Fosforo de Aluminio y evaluado de la campaña anterior (ver punto 17), se separa para cada ensayo.

7. DESGRANAR–DESINFECTAR

- El desgrane se realizará manualmente entre 7 y 10 días antes de la fecha de plantación.
- Se seleccionarán los dientes por tamaño y se determinará el peso de los mismos para cada ensayo.
- La desinfección (optativa) se realizará por “embarrado” o inmersión.

8. PLANTAR

La plantación se deberá realizar preferentemente con IVD de 50 % para Morados y Blancos y 75 % para Colorados y Castaños.

Época

- Plantar Blancos Tempranos y Morados en la 4ª semana de febrero
- Plantar Violetas y Blancos Tardíos en la 2ª semana de marzo
- Plantar Castaños y Colorados en la 2ª semana de abril

Densidad

- Plantar a “diente clavado” con el ápice hacia arriba a 0,55 m a 0,60 m entre líneas
- Plantar 10 dientes/metro lineal para ECR, Colección y Selección
- Plantar 12 a 15 dientes/metro lineal para multiplicación

9. APLICAR HERBICIDAS

En pre emergencia (después del primer riego, antes que brote el ajo)

- Preparar una mezcla de 10 litros de:
 - AFALON – LOROX (linuron 50 %) 65 g
 - HERBADOX (pendimetalin 33 %) 200 ml
 - AGUA 10 L
- Realizar la aplicación luego de 2 o mas riegos
- Asegurar pulverizada de 1/4 de litro (250 ml), de producto preparado por cada 10 m²
- Asegurar que no se riegue durante no menos de 4 días luego de la aplicación

En pos emergencia a la salida del invierno (setiembre u octubre) consultar o utilizar alguna de las alternativas del Anexo 5.

10. REGAR

- Asegurar riego por surco cada 5 días entre Febrero y Abril (6 riegos/mes)
- Asegurar riego por surco cada 10 días entre Mayo y Agosto (3 riegos/mes)
- Asegurar riego por surco cada 5 días entre Setiembre y Diciembre (6 riegos/mes)

11. FERTILIZAR

- Aplicar solamente Urea como fuente de Nitrógeno y hasta un máximo de 8 hojas
- Aplicar 90 kg/ha (450 g por surco de 100 m) cuando el ajo tenga 3 hojas
- Aplicar 120 kg/ha (600 g por surco de 100 m) cuando el ajo tenga 4 a 5 hojas
- Aplicar 140 kg/ha (700 g por surco de 10 m) cuando el ajo tenga 6 o 7 hojas

12. CONTROLAR PLAGAS

Trips

- Controlar en el otoño solamente cuando supere 30 insectos/planta
- Preparar una mezcla de 10 litros de:
 - DECIS (cipermetrina 25 %) 5 ml
 - AGUA 10 L

Eriófidos

- Controlar solamente con abundancia de plantas “enrulladas”
- Preparar una mezcla de 10 litros de:
 - AZUFRE MOJABLE (80 %) 100 g
 - AGUA 10 L

Gusanos cortadores

- Controlar solamente cuando aparezcan los daños _ Preparar una mezcla de 10 litros de:
 - LORSBAN (clorpirifos 58 %) 40 ml
 - AGUA 10 L

13. CONTROLAR ENFERMEDADES (Mancha púrpura y Roya)

- Controlar a partir de agosto la aparición de “puntos blancos” o “puntos naranja”
- Preparar una mezcla de 10 litros de:
 - CONSIST (triazol + trifloxistrobin 75%)..... 10 mL
 - AGUA 10 L

14. DEPURAR (roguing)

- Eliminar plantas fuera de tipo cuando sea indicado
- Realizar recuento de plantas perdidas
- Enviar a laboratorio plantas sospechosas
- Colocar las plantas eliminadas en tambores y luego quemar o enterrar

15. DESCANUTAR

- Eliminar varas florales de Morados y Blancos Asiáticos en octubre y de Colorados y Castaños en noviembre

16. COSECHAR

- Cosechar ajos blancos tardíos y violetas cuando solo le queden 7 hojas verdes
- Cosechar ajos morados, blancos tempranos, colorados y castaños cuando solo le queden 5 hojas verdes
- Arrancar y llevar (en menos de 2 horas), a secar bajo sombra

17. SECAR

- Secar a la sombra durante 30 días pos cosecha _
- Cortar “rama”, raíces y pelar
- Desinfectar con Fosfuro de Aluminio a razón de:
 - 1 pastilla (57 % FF) cada 5 bolsas de 25 kg
 - 1 comprimido (60 % FW) cada 1 bolsa de 25 kg
 - 3 pastillas (57 % FF) por m³ de depósito
- Almacenar a la sombra

18. EVALUAR

- Calibrar bulbos manualmente
- Separar defectos