



**ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS QUE DETERMINAN
LA PRODUCTIVIDAD DE ECOTIPOS DE ORÉGANO
(*Origanum vulgare* ssp.) DE ARQUITECTURA
CONTRASTANTE**

Vanina Davidenco

Tesis
Para optar al grado Académico de
Doctora en Ciencias Agropecuarias

Córdoba, Febrero de 2015
Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba

**ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS QUE DETERMINAN LA
PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE ORÉGANO (*Origanum spp.*) EN
ECOTIPOS DE ARQUITECTURA CONTRASTANTE**

Vanina Davidenco

COMISIÓN ASESORA DE TESIS

Juan Alberto Argüello
Dr. en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Sur
Director de Tesis
~~~~~

Claudia R.C. Vega  
Dra. Cs. Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata  
Asesora de Tesis  
~~~~~

José Luis Cabrera
Dr. en Química Orgánica, Universidad Nacional de Córdoba
Asesor de Tesis

TRIBUNAL EXAMINADOR DE TESIS

Dra. Paula I. Bima

Dra. Ma. Virginia Luna

Dra. Claudia R.C. Vega

Fecha de defensa formal académica
Febrero de 2015
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba

Agradecimientos

Quisiera expresar mis agradecimientos a las personas que hicieron posible este trabajo:

A mi Director Dr. Juan A Argüello, por haberme abierto las puertas para mi formación académica, brindándome su apoyo para ingresar al campo de investigación, y al mundo de la Fisiología Vegetal.

A mis Asesores, Dr. José Luis Cabrera y Dra. Claudia Vega, por haberme acompañado cada uno desde su campo de acción y por haber sido ejemplo de profesionalismo y dedicación.

A la Dra. A. Mariel Agnese, por enseñarme, predicando con el ejemplo, a querer lo que uno hace, a esforzarse, a ser responsable y dar lo mejor sin mirar a los demás.

A mis Padres, por acompañarme en cada paso, por confiar en mí, por llenarme de su afecto, por ser ejemplo de perseverancia y lucha, por ser incondicionales, por cuidarme y estar siempre conmigo.

A Diego, Vale y Nico, por enseñarme a ser fuerte y que el amor, es la fuerza. Por estar ahí, darme su tiempo y hacerme muy feliz.

A mi abuela Alicia y mi tía Graciela, por ser mis maestras de la vida, por sus historias, por sus sopas, por escucharme y por quererme como lo hacen.

A mi abuela Chola, por ser mi ejemplo de energía, de optimismo, por enseñarme a tener siempre una sonrisa, y a cuidar con celo lo que es preciado, mi familia.

A Tino, por creer en mí, por sus consejos, por ayudarme a sacar lo mejor de mí, por enseñarme a querer, a respetar, a valorar lo importante de la vida, por ser mi guía cuando el camino fue sinuoso.

A Claudia, por haber confiado en mí, por su paciencia, por enseñarme poniendo una vara cada vez más alta, siempre incentivando mis ganas de aprender y progresar.

A mis compañeros de Fisiología Vegetal, Selva por su apoyo, Mari y Erny por su ayuda, consejos y constante aliento, Seba y Mili por su compañía permanente.

A la Dra. Mónica Balzarini, por su ayuda desinteresada en los momentos que más lo necesité.

Al Ing. Cantarero y al Ing. Luque, por su gran colaboración en mis primeras etapas, por su asesoramiento a campo, por abrirme el camino hacia la ecofisiología.

A Milagros, por darme fuerzas, por acercarme un poquito más a Dios, por sus palabras cálidas y las tardes de reflexión que me ayudarán siempre.

A la Dra. Claudia Asensio y al Dr. Enrique Lucini por su colaboración desinteresada en las últimas etapas de mi tesis.

Dedicatoria

A mi familia. Yo soy un poquito de cada uno de Uds. Y mis logros siempre serán los de Ustedes.

A mi Abuela Alicia y a Nico...las dos puntas del ovillo...estando en los dos extremos, los dos me enseñan el camino a seguir.

RESUMEN

El orégano es una de las principales especies dentro del rubro de plantas aromáticas. A pesar de su importancia comercial, aspectos ecofisiológicos tales como su respuesta a variables ambientales que regulan el crecimiento, desarrollo y productividad, han sido escasamente estudiados. El conocimiento de estos mecanismos es fundamental para la selección de prácticas de manejo adecuadas para el uso eficiente y sostenible de los recursos. Los objetivos de esta tesis fueron sentar las primeras bases ecofisiológicas del cultivo de orégano. Para ello dos subespecies de arquitectura contrastante, *O. vulgare* ssp. *vulgare* (“O. Compacto”, rastrero) y *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. (“O. Criollo”, erecto), fueron evaluadas en términos de su respuesta fotoperiódica y en su productividad en biomasa y aceite (AE) realizando dos experimentos. En el experimento 1, se desarrolló una escala fenológica simple que describe los estadios más importantes del ciclo tales como la transición de la etapa vegetativa a reproductiva (V_3), y la plena floración (R_6). Adicionalmente en este experimento se modificó la duración del día durante etapas vegetativas hasta el inicio de la floración, para cuantificar la respuesta fotoperiódica de esta última etapa. Se determinó que “O. Compacto” posee menor requerimiento térmico y, por ende, mayor precocidad en la llegada de la floración. Ante el alargamiento artificial del fotoperiodo, “O. Criollo” fue más sensible manifestando una mayor velocidad de desarrollo que “O. Compacto”. El fotoperiodo extendido generó una menor diferenciación de nudos, menor longitud de tallos, y consecuentemente menor biomasa, siendo estos efectos más marcados en “O. Compacto”. En un segundo experimento, y durante dos años consecutivos, se compararon parámetros productivos del cultivo bajo dos marcos de plantación (MP). Al final del primer ciclo de producción, “O. Compacto” en MP homogéneos (0,35 m x 0,40 m) mostró ventajas en la tasa de crecimiento y dinámica de intercepción de radiación, esto último asociado al porte rastrero de esta subespecie en etapas tempranas de crecimiento. Sin embargo, durante el segundo año de crecimiento, esta combinación de tratamiento tuvo menor eficiencia en el uso de la radiación solar (EUR) y biomasa. Por lo tanto considerando los dos ciclos de producción, el MP homogéneo no presentó ventajas significativas sobre el tradicional (0,70 x 0,20). En cuanto a la partición de asimilados, se evidenciaron diferencias tanto entre año de producción como entre subespecies, siendo el primer año y “O. Criollo” los de mayor partición de asimilados hacia hojas y flores. La producción de AE no fue alterada por el MP, pero sí por la extensión fotoperiódica (mayor bajo fotoperiodo extendido) y la ontogenia del cultivo (mayor en estadio R_6). En términos cuantitativos, “O. Compacto” produjo mayor cantidad de AE que “O. Criollo”. Sin embargo, cualitativamente “O. Criollo” mostró un patrón químico más favorable dado por una mayor proporción de timol y carvacrol, compuestos de interés por brindar mayor aromaticidad y aportar a la calidad organoléptica de la esencia.

PALABRAS CLAVE

Fenología, Respuesta fotoperiódica, Requerimientos de Tiempo Térmico, Eficiencia en el uso de Radiación, Componentes del Rendimiento, Aceite Esencial

ABSTRACT

Oregano is one of the main species worldwide within the category of aromatic herbs. However, despite its commercial importance, little ecophysiological information is available regarding its response to environmental factors that regulate growth, development and productivity. Knowledge about these mechanisms is critical to lead the selection of the most appropriate management practices for an efficient and sustainable use of natural resources. The aims of this thesis were to establish the first ecophysiological basis of oregano crop. For this purpose two subspecies of contrasting architecture, *O. vulgare* ssp. *vulgare* (“O. Compacto”, creeping growth habit) and *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. (“O. Criollo”, erect growth habit) were evaluated in terms of their photoperiodic response, and biomass and essential oil (AE) productivity. Two experiments were conducted. In the Experiment 1, a simple phenological scale was designed, describing the main cycle phenophases, such as vegetative to reproductive transition (V_3) and flowering (R_6). Additionally in this experiment the day-length since vegetative phases up to flowering stage was modified to quantify the photoperiodic response of R_6 . It was found that “O. Compacto” has lower thermal requirement for this phenophase and therefore was more precocious at achieving flowering. Under conditions of artificially extended photoperiod, “O. Criollo” was more sensitive expressing faster development than “O. Compacto”. Also the extended photoperiod decreased node differentiation, stems length, and consequently stems biomass, which further impacted in “O. Compacto”. In a second experiment and during two consecutive years, productive parameters of the crop were compared under two planting frameworks (MP). In a first production cycle, “O. Compacto” under homogeneous MP (0.35 m x 0.40 m) showed advantages in growth rate and radiation interception dynamic, associating this with the creeping growth habit of its early growth stages. However, in a second cycle of production, this treatment combination decreased significantly its production parameters, due to solar radiation use efficiency (EUR) reduction. Hence, considering both production cycles, homogeneous MP did not provided significant advantages over traditional MP (0,70 x 0,20). Regarding biomass partitioning, differences were evident between production cycle and subspecies being “O. Criollo” and the first cycle the cases where the assimilate allocation to leaves and flowers was better. With respect to AE production, the MP did not influence essence yield. However, both photoperiodic extension and crop ontogeny modified AE production, being highest under extended photoperiod and at the R_6 phenophase, respectively. Quantitatively, “O. Compacto” yielded more AE than “O. Criollo”. Nevertheless, qualitatively “O. Criollo” showed a better chemical pattern, due to its greater proportion of thymol and carvacrol, compounds that provide an increased aromaticity to the essence and improve its organoleptic quality.

KEY WORDS

Phenology, Photoperiodic Response, Thermal Time Requirements, Radiation Use Efficiency, Yield Components, Essential Oils

Tabla de Contenidos

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
INDICE DE TABLAS	ix
INDICE DE FIGURAS	xii
Capítulo 1.....	2
Introducción General	2
1.1. El cultivo de Orégano	2
1.2. Ecotipos de orégano	3
1.3. Factores que modulan el desarrollo en orégano.....	5
1.4. Factores que modulan el crecimiento y productividad en orégano.....	6
1.4.1. Acumulación de biomasa	6
1.4.1.1. Intercepción de la radiación	7
1.4.1.2. Eficiencia en el Uso de la Radiación Solar	9
1.4.1.3. Índice de Partición.....	11
1.4.2. Dinámica de producción de Aceite Esencial durante el ciclo del cultivo	12
1.5. Hipótesis	14
1.6. Objetivos	15
Capítulo 2.....	16
Fenología del Cultivo de Orégano	16
2.1. Introducción	16
2.2. Materiales y Métodos.....	18
2.2.1. Material biológico y diseño de experimento.....	18
2.2.2. Determinación Fenológica	20
2.2.3. Análisis estadístico.....	21
2.3. Resultados	24
2.3.1. Descripción Morfológica de las subespecies	24
2.3.2. Descripción de la Escala Fenológica	25
2.3.3. Modelado del desarrollo fenológico	28
2.4. Discusión.....	32
2.4.1. Modelado del desarrollo fenológico	32
2.4.2. Fenofases críticas de <i>Origanum</i> ssp. y requerimiento térmico	33
2.5. Conclusiones	36
Capítulo 3.....	37
Respuesta Fotoperiódica del Cultivo de Orégano	37
3.1. Introducción	37
3.2. Materiales y Métodos.....	39
3.2.1. Material biológico y Diseño Experimental	39
3.2.2. Parámetros evaluados.....	41
3.2.3. Análisis Estadístico	42

3.3.	Resultados y Discusión	43
3.3.1.	Modelado del desarrollo fenológico, respuesta fotoperiódica y su incidencia en los requerimientos térmicos	43
3.3.2.	Respuesta fotoperiódica y su incidencia en la producción de biomasa y Aceite Esencial (AE)	47
3.4.	Conclusiones	51
Capítulo 4.....	52
Anatomía de la transición floral en Orégano en respuesta a variaciones en el fotoperiodo		
4.1.	Introducción	52
4.2.	Materiales y Métodos.....	54
4.2.1.	Material biológico y Diseño Experimental	54
4.2.2.	Evaluación anatómica de las yemas.....	54
4.2.3.	Análisis estadístico.....	55
4.3.	Resultados	56
4.4.	Discusión.....	60
4.5.	Conclusión	62
Capítulo 5.....	63
Bases ecofisiológicas del cultivo de Orégano bajo dos marcos de plantación contrastantes		
5.1.	Introducción	63
5.2.	Materiales y Métodos.....	65
5.2.1.	Material biológico y Diseño Experimental	65
5.2.2.	Variables medidas	66
5.2.3.	Variables calculadas.....	67
5.2.4.	Análisis estadístico.....	68
5.3.	Resultados	69
5.3.1.	La generación de rendimiento en Orégano Compacto y Criollo según diferentes marcos de plantación.	69
5.3.2.	Partición de asimilados según marco de plantación. Eficiencia de distribución hacia órganos cosechables	75
5.3.3.	Captura y Uso de la Radiación en Orégano e influencia del marco de plantación.	81
5.4.	Discusión.....	87
5.5.	Conclusion	93
Capítulo 6.....	95
Productividad de Aceite Esencial del cultivo de Orégano-Enfoque Ecofisiológico-.....		
6.1.	Introducción	95
6.2.	Materiales y Métodos.....	99
6.2.1.	Diseño Experimental.....	99
6.2.2.	Parámetros evaluados.....	99
6.2.3.	Análisis estadístico.....	100
6.3.	Resultados y discusión	101

6.3.1. Dinámica de producción de Aceite Esencial e influencia del marco de plantación sobre el rendimiento de esencia	101
6.3.2. Composición de aceite esencial en dos etapas de la floración: Plena Floración y Floración Tardía utilizando la técnica de CG-MS.....	104
6.4. Conclusiones	117
Capítulo 7.....	119
CONCLUSIONES GENERALES.....	119
7.1. Bases Ecofisiológicas que determinan la productividad del cultivo de orégano	119
7.2. Líneas de investigación presentes y futuras	124
Bibliografía.....	126

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Datos históricos y medios (C1, 2010 y C2, 2011) durante los dos ciclos de crecimiento de subespecies de <i>Origanum</i> en Capilla de los Remedios, Argentina (31 ° 26 'S; 63 ° 49'O). Temperatura media mensual (T °); Radiación incidente media diaria (RI), y Fotoperíodo medio mensual (P).	19
Tabla 2. 2. Escala fenológica de <i>Origanum</i> ssp. y descripción de macroestadios Vegetativos (V) y Reproductivos (R). Fenofases determinadas según estados de madurez de los tallos (<i>MS</i> , desde 0 a 6). <i>MS</i> definidos por los tipos de órganos generados a partir de las yemas de los tallos (hojas, ramificaciones, y estructuras florales) al momento de la observación fenológica.	26
Tabla 2. 3. Parámetros (\pm Error Estandar, EE) del modelo logístico ajustado para la evolución fenológica del macroestadio Reproductivo en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”). Los puntos críticos de la curva R6-i y Pleno-R6 indican el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la plena floración y hasta plena floración, respectivamente.	29
Tabla 2. 4. Parámetros (\pm Error Estandar, EE) del modelo logístico ajustado para la evolución fenológica del macroestadio Vegetativo en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”). El punto crítico de la curva V3-i indica el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la fenofase de transición V3	29
Tabla 2. 5. Bondad de Ajuste de los modelos logísticos ajustados para el estudio de la evolución fenológica reproductiva y vegetativa del cultivo, en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”).	31
Tabla 3. 1. Parámetros del modelo logístico ajustado para la evolución de estadios Reproductivos en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> , bajo condiciones de fotoperíodo extendido. Los puntos críticos de la curva R6-i y Pleno-R6 indican el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la plena floración y hasta plena floración, respectivamente en función del tiempo térmico acumulado.	46
Tabla 3. 2. Parámetros (\pm Error Estándar) del modelo logístico ajustado para la evolución de estadios Vegetativos en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> , bajo condiciones de Fotoperíodo Extendido. El punto crítico de la curva V3-i indica el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la fenofase de transición V3	46
Tabla 3. 3. Bondad de Ajuste de los modelos logísticos ajustados bajo condiciones de fotoperíodo extendido para el estudio de la evolución fenológica reproductiva y vegetativa del cultivo, en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”).	47

Tabla 3. 4. Nudos por Tallo (N°Nd), Biomasa por Tallo (g; B_{Tall}) y Producción de AE (% PS), en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”), según dos condiciones fotoperiodicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE).	48
Tabla 5. 1. Biomasa total promedio (Bt) en 2 ciclos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). DDT son los días desde el transplante, o desde el inicio del rebrote para el ciclo 2.	69
Tabla 5. 2. Dinámica de producción de Biomasa total (Bt) en función del tiempo total (DDTot) durante 2 ciclos de producción para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 x 0,20 y 0,35 x 0,40). Las medias del anava expresan la Biomasa total promedio (Bt).	71
Tabla 5. 3. Pendiente de regresiones lineales obtenidas a partir de la Biomasa en función del tiempo en dos ciclos de producción en dos subespecies de orégano (“Compacto” y “Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	72
Tabla 5. 4. Biomasa máxima producida en momento de floración (B_f) en dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Experimentos conducidos durante dos años en la localidad de Capilla de los Remedios, Córdoba, Argentina.	74
Tabla 5. 5. Índice de partición de hojas (IPh), tallos (IPt) y flores (IPf) en dos ciclos de producción para orégano Compacto y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	75
Tabla 5. 6. Relación hoja+flor/tallo (H+F/T) para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	78
Tabla 5. 7. Radiación interceptada acumulada (%) en 2 años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	81
Tabla 5. 8. Índice de Area Foliar (IAF) promedio del ciclo 2 de producción para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación.	83
Tabla 5. 9. Pendiente de regresiones lineales obtenidas a partir de la Biomasa total (Bt) en función de la RFAi acum. en dos años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	85

Tabla 6. 1. Rendimiento de AE (volumen por unidad de peso fresco) para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m) durante dos ciclos de producción (Ciclo 1, 2011; Ciclo 2, 2012).	102
Tabla 6. 2. Rendimiento de AE promedio de dos ciclos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”). Valores expresados en volumen por 100 g de peso fresco (PFr) y de peso seco (PS).	104
Tabla 6. 3. Análisis cuali y cuantitativo del AE de dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) para dos épocas de cosecha, Plena Floración (PF) y Floración Tardía (FT). Número de componentes (NC), Tiempos de retención (TR), Componentes y Porcentajes de los componentes (> al 1%).....	105
Tabla 6. 4. Antecedentes acerca de los constituyentes principales en orden decreciente de <i>Origanum vulgare</i> L., <i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> , y <i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> en diferentes regiones de producción a nivel mundial.	108

INDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1 Esquema de la arquitectura de la rama floral y disposición de epicastros (Ep) y ramas secundarias (R.2 °) en dos subespecies de <i>O. vulgare</i> : “O. Compacto” (O.CO) y “O. Criollo” (O.CR).....	24
Figura 2. 2. Fases Fenológicas vegetativas para dos subespecies de orégano, <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> “O. Compacto”; <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> Ietsw. “O. Criollo”. V ₀ : vegetativo temprano; V ₁ : vegetativo medio; V ₂ : vegetativo tardío; V ₃ : vegetativo de transición. A, vista 10x; B, vista individual; C, vista de cultivo.....	27
Figura 2. 3. Representación de fases fenológicas reproductivas para dos subespecies de orégano, <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> “O. Compacto”; <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> Ietsw. “O. Criollo”. R ₄ : pre-floración; R ₅ : inicio de floración; R ₆ : plena floración. A, vista 10x; B, vista individual; C, vista de cultivo.	28
Figura 2. 4. Modelo de evolución fenológica de estadios reproductivos en términos de proporción de plantas (PP) en R₆ , ajustado para dos subespecies de Orégano, <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> : “O. Compacto”; <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Ietsw.): “O. Criollo”. Las líneas verticales verticales indican R₆-i (tiempo térmico hacia punto de inflexión de la curva).	30
Figura 2. 5. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Vegetativos en términos de proporción de plantas (PP) en V₃ , ajustado para dos subespecies de Orégano, <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> : “O. Compacto”; <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (Ietsw.): “O. Criollo”. Líneas verticales verticales indican V₃-i (tiempo térmico hacia punto de inflexión de la curva)	30
Figura 3. 1. Experimento 2. Respuesta fotoperiodica de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Ciclo 2. Campo Escuela de la FCA-UNC, Capilla de los Remedios, Córdoba, Argentina.	40
Figura 3. 2. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Reproductivos en términos de proporción de plantas (PP) en R₆ , ajustado en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN) en líneas continuas; y Fotoperiodo extendido (FE) en líneas discontinuas. Experimento 2.....	43
Figura 3. 3. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Vegetativos en términos de proporción de plantas (PP) en V₃ , ajustado en dos subespecies de <i>Origanum vulgare</i> (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Línea continua, FN; Línea discontinua, FE.	44

Figura 3. 4. Tiempo Térmico acumulado ($^{\circ}\text{Cd}$) desde el inicio del ensayo hasta el final del periodo vegetativo (\mathbf{V}_3) y hasta el final del ciclo (\mathbf{R}_6), para dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiodicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Letras distintas dentro de \mathbf{V}_3 y \mathbf{R}_6 indican diferencias estadísticamente significativas entre cada combinación de *fotoperiodo*subespecie*, según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).
45

Figura 3. 5. Evolución de la longitud del tallo (LT, cm) en función de los días desde el trasplante para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos niveles de fotoperíodo (FN, natural; FE, extendido).49

Figura 4. 1. Anatomía del meristema de inflorescencia de *Origanum vulgare* ssp. Br, bracteas del meristema floral; Sp, sepalos; Pt, pétalos; St, Estambres; Gn, gineceo. Barra = 700 μm56

Figura 4. 2. Tiempo térmico acumulado ($^{\circ}\text{Cd}$) hasta la fase fenológica de transición (\mathbf{V}_3) y hasta el meristema en estado de transición floral en función del tiempo térmico acumulado para dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Letras distintas entre momentos de \mathbf{V}_3 indican diferencias estadísticamente significativas entre cada combinación de *fotoperiodo*subespecie*, según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).57

Figura 4. 3. Anatomía de yemas axilares a 24 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 360 $^{\circ}\text{Cd}$, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).58

Figura 4. 4. Anatomía de yemas axilares a 36 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 554 $^{\circ}\text{Cd}$, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).58

Figura 4. 5. Anatomía de yemas axilares a 52 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 864 $^{\circ}\text{Cd}$, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).59

Figura 5. 1. Dinámica de producción de Biomasa total (Bt) a lo largo de dos ciclos de producción para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación

(0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a, Comparación de los 4 tratamientos; b, Detalle de cada tratamiento. Las flechas indican el momento de floración del cultivo.	70
Figura 5. 2. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC) del Ciclo dos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).	73
Figura 5. 3. Biomasa en floración (Bf) producida en dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para el ciclo 2, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).	74
Figura 5. 4. Dinámica de partición durante el ciclo 1 en orégano Compacto y Criollo, bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). IPh, Índice de partición de hojas; IPT. Índice de partición de tallos; IPf, Índice de partición de flores. a , ciclo 1; b , ciclo 2. Las flechas en las figuras indican el momento de máxima producción de biomasa, plena floración (Bf).	76
Figura 5. 5. Dinámica de partición durante el ciclo 2 en orégano Compacto y Criollo, bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). IPh, Índice de partición de hojas; IPT. Índice de partición de tallos; IPf, Índice de partición de flores. Las flechas en las figuras indican el momento de máxima producción de biomasa, plena floración (Bf).	77
Figura 5. 6. Dinámica de la relación hoja+flor/tallo (H+F/T) en dos años de producción en orégano Compacto y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a , Ciclo 1; b , Ciclo 2. Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.	78
Figura 5. 7. Índice de partición de flores (IPf) a partir de la dinámica de producción de Biomasa a lo largo del ciclo 1 para “O. Compacto” bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	79
Figura 5. 8. Índice de partición de flores (IP _f) a partir de la dinámica de producción de Biomasa a lo largo del ciclo 2 para “O. Compacto” y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).	80
Figura 5. 9. Dinámica de interceptación de radiación en 2 años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a Radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi-ac); b , Radiación fotosintéticamente activa interceptada (Ri). Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.	82

Figura 5. 10. Dinámica del Índice de Area foliar (IAF; m ² hoja/m ² suelo) en dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a , IAF promedio de dos ciclos; b , IAF del ciclo 2. Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.	83
Figura 5. 11. Biomasa total (Bt) en función de la RFAi en dos subespecies de orégano en (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a , ciclo 1; b , ciclo 2.	84
Figura 5. 12. Eficiencia en el Uso de la Radiación (EUR) del ciclo 2 de producción para dos subespecies de orégano (O, Compacto y O, Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher (P≤0.05).....	86
Figura 6. 1. Producción de aceite esencial (AE, en %, v/100 g de PF) promedio de dos ciclos de producción en función del estado de madurez (EM) de dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). EM 0 a 3, Fenofases Vegetativas; EM 4, Prefloración; EM 5, Inicio de Floración; EM 6, Plena floración.	101
Figura 6. 2. Componentes del Aceite Esencial de “O. Compacto” en Plena Floración (PF). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.	110
Figura 6. 3. Componentes del Aceite Esencial de “O. Compacto” en Floración Tardía (FT). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.	111
Figura 6. 4. Componentes del Aceite Esencial de “O. Criollo” Plena Floración (PF). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.	112
Figura 6. 5. Componentes del Aceite Esencial de O, Criollo Floración Tardía (FT). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.	113
Figura 6. 6. Composición y cuantificación de componentes mayoritarios del Aceite Esencial de dos subespecies de orégano, “O. Compacto” y “O. Criollo”, en dos épocas de floración, Plena Floración (PF) y Floración Tardía (FT). Los resultados se expresan en porcentaje relativo del total de compuestos presentes.	114


Figura 6. 7. Estructura química de los principales componentes del aceite esencial de orégano.
.....115

Figura 7. 1. Representación esquemática del modelo ecofisiológico de generación de rendimiento del cultivo de orégano. Componentes (cajas rectangulares) y factores que lo modulan (elipses).120

LISTADO DE ABREVIATURAS

AE.....	Aceite Esencial
AF.....	Área foliar (m ²)
ANAVA.....	Análisis de la varianza
B _f	Biomasa en floración (g/m ²)
BP.....	Biomasa por planta (g)
B _{Tall}	Biomasa por tallo (g)
B _t	Biomasa total del cultivo (g/m ²)
C1.....	Ciclo de producción uno
C2.....	Ciclo de producción dos
CO.....	Orégano Compacto
CR.....	Orégano Criollo
DDI.....	Días desde el inicio del ensayo
DDT.....	Días desde el transplante
DW.....	Índice Durbin-Watson
Ep.....	Epicastró
EUR.....	Eficiencia en el uso de la radiación solar (g/MJ)
Exp. 1.....	Experimento 1
Exp. 3.....	Experimento 3
FE.....	Fotoperíodo extendido
FN.....	Fotoperíodo natural
H+F / T.....	Relación hoja+flor/tallo
IAF.....	Índice de área foliar (cm ² hoja/cm ² suelo)
IP.....	Índice de partición de asimilados
IP _f	Índice de partición flor (%)
IP _h	Índice de partición hoja (%)
IP _t	Índice de partición tallo (%)
IR.....	Intercepción de Radiación (%)
LT.....	Longitud de tallo (cm)
M1.....	Momento 1 (24 DDI)
M2.....	Momento 2 (36 DDI)
M3.....	Momento 3 (52 DDI)
MS.....	Estadío de madurez
MS _p	Estadío de madurez por planta
NºNd.....	Número de Nudos

° Cd.....	Grados días
“O. Compacto”.....	Orégano Compacto (nombre vulgar)
“O. Criollo”.....	Orégano Criollo (nombre vulgar)
P.....	Fotoperíodo medio mensual (hs)
PF.....	Plena Floración
PFr.....	Peso Fresco (g)
pleno-R ₆	Plena Floración (°Cd)
pleno-V ₃	Plena transición entre fases vegetativas y reproductivas (°Cd)
PP.....	Proporción de Plantas
r ²	Coefficiente de determinación
R.....	Estadíos Reproductivos
R ₀	Radiación incidente media diaria
R.2°.....	Ramificación secundaria
R ₄	Pre-Floración
R ₅	Inicio de Floración
R ₆	Plena Floración
R _{6-i}	Inicio de plena floración (°Cd)
RFA.....	Radiación fotosintéticamente activa
Ri.....	Radiación fotosintéticamente activa interceptada (%)
RI.....	Radiación solar incidente media diaria
RFAi-ac.....	RFA fotosintéticamente activa interceptada acumulada (MJ/m ² .d)
RMSE.....	Raíz cuadrada del error cuadrático medio
S-E.....	Estadío de semilla/emergencia de plántula
T°.....	Temperatura media mensual
TCC.....	Tasa de Crecimiento del Cultivo (g/m ² .d)
TT.....	Tiempo térmico (°Cd)
UE.....	Unidad experimental
V.....	Estadíos vegetativos
V ₀	Vegetativo Temprano
V ₁	Vegetativo Medio
V ₂	Vegetativo Tardío
V ₃	Vegetativo de Transición
V _{3-i}	Inicio de transición entre fases vegetativas y reproductivas (°Cd)
*.....	Combinación de factores



Aspectos Ecofisiológicos que Determinan la
Productividad del Cultivo de Orégano (*Origanum* spp.) en
Ecotipos de Arquitectura Contrastante

Vanina Davidenco

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. EL CULTIVO DE ORÉGANO

El orégano es una especie perenne que crece espontáneamente en la región europea mediterránea y se destaca como una de las más importantes a nivel mundial dentro del rubro de plantas aromáticas (Kintzios, 2002a). En Argentina, en el año 2008 se estima que la superficie de producción fue de 1952 ha. Según datos de la SAGPYA, Mendoza es la principal provincia productora del país, con un 59 % de la superficie, seguida por Córdoba con el 26 % (SAGPYA, 2008). Si bien existe una gran variedad de ecotipos adaptados a las distintas regiones de producción, los ecotipos “Criollo” y “Compacto” son de los más tradicionales en la región de Córdoba. Su rendimiento medio es de aproximadamente 2000 kg/ha.año, muy lejano a los niveles competitivos internacionales y a los potenciales de la región productora de Traslasierra, del orden de 4000 kg/ha en el primer corte (Suárez y Ojeda, 2007). Estos ecotipos presentan arquitecturas contrastantes que brindan un marco de estudio valioso para la exploración de los patrones ecofisiológicos que caracterizan a la especie.

A pesar de su importancia comercial, aspectos ecofisiológicos del cultivo tales como su respuesta a variables ambientales que regulan el crecimiento, desarrollo y productividad, han sido escasamente estudiados en esta especie, constituyéndose en objeto de investigación. Respecto a la respuesta fotoperiódica de la especie, estudios realizados hasta el momento sugieren que el comportamiento de la floración es diferente según la subespecie. La existencia de variabilidad en los umbrales de inducción a floración, repercuten en el desarrollo y consecuentemente en el crecimiento del cultivo (Davidenco *et al.*, 2012). Asimismo, es necesario profundizar en el estudio de las bases ecofisiológicas que subyacen en la determinación del crecimiento y rendimiento ya que permitiría: i) adecuar prácticas de manejo que mejoren el aprovechamiento de los

recursos por parte del cultivo, ii) entender las posibles interacciones entre subespecies y el marco espacial en el que se orientan, y iii) hacia futuro, orientar programas de mejoramiento y selección de ecotipos más adaptados a las condiciones locales de producción. Este último propósito se manifiesta como una necesidad ya que, incluso actualmente en los países originarios de esta aromática, la producción de orégano proveniente de cultivos es mucho menor que la de poblaciones silvestres, siendo aún una especie subutilizada y con muy pocos cultivares comerciales (Kintzios, 2002a).

1.2. ECOTIPOS DE ORÉGANO

Dentro los cultivares utilizados del género *Origanum*, existe una escasa identificación taxonómica. De hecho, actualmente en nuestro país hay solo un cultivar registrado, el cultivar , “Don Bastías” (Paunero, 2012). Existen también numerosos ecotipos introducidos in vitro (Torres, 2011), pero la especie *Origanum vulgare* L. es una de las más utilizadas en el sistema de producción de aromáticas.

Esta especie es una *Lamiacea* perenne cuyo ciclo agronómico incluye la secuencia brotación-floración-cosecha, la cual se mantiene durante 3 a 5 años según el manejo agronómico de la especie. La floración es el momento óptimo de cosecha ya que es allí cuando la producción de aceite esencial es máximo (Berghold *et al.*, 2008; Lenardis *et al.*, 2006; Yaldiz *et al.*, 2005). El proceso de floración es gradual e indeterminado (Porter, 1967), constituyendo un sistema de ejes abiertos (Rua, 1999) en el cual la yema apical se mantiene en estado vegetativo. Las flores se disponen en inflorescencias compuestas, epicastros formando grupos de a (2) 3, sostenidos por un pedicelo (Xifreda, 1983). Los epicastros forman cimas corimbosas terminales, en donde cada flor está protegida por una bráctea oblongo-elíptica (Rouquaud y Videla, 2000).

Dentro de la especie, las subespecies *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* (orégano “Compacto”) y *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. (orégano “Criollo”) son frecuentemente utilizadas en la región de Traslasierra, y se caracterizan por una buena productividad y adaptación al ambiente.

Entre estas variedades hay diferencias en: i) estructura o porte de planta, siendo las tres primeras tipo rastreras, y el Criollo erecta; ii) en su respuesta agronómica en términos de rusticidad, calidad y productividad (Suárez, 2004; Torres et al., 2010). A su vez estas características pueden relacionarse entre sí e influir unas sobre otras, ya que tanto el porte como el despeje (distancia entre el suelo y la inserción de las 1^o hojas) repercuten en la calidad de la hierba por su mayor o menor susceptibilidad a contaminación con tierra en la práctica de cosecha (Chlodwing y Novak, 1997; Novak et al., 2002; Pank et al., 2002), así como también en la susceptibilidad a enfermedades.

Asimismo, las subespecies “Compacto” (ssp. *vulgare*) y “Criollo” (ssp. *hirtum*) presentan importantes diferencias en el patrón de floración. El primero es una subespecie más temprana y florece a comienzos de verano; su segundo corte en el año es a comienzos de invierno, pero sólo incluye material vegetativo. Por su parte, el orégano Criollo florece a mediados de verano y nuevamente a fines de verano, comienzos de otoño (Suárez, 2004). Esto se constituye en un importante carácter no solo para la selección del material de producción, sino también en la investigación, ya que denota variabilidad en la sensibilidad de inducción a la floración entre las subespecies.

Por otro lado, según el porte del ecotipo es probable que la máxima producción se pueda alcanzar en diferentes marcos de plantación, de modo tal de poder explotar de manera satisfactoria los recursos y maximizar los rendimientos. Así, por ejemplo, en *Origanum silyracum* var *syriacum*, la mayor producción de materia seca se obtiene con densidad de 6 plantas.m⁻² a una distancia entre hileras de 0,60 m, pero dicha producción se reduce considerablemente si se aumenta el espaciamiento a 0,80 m (Marzi, 1997). Normalmente en la región productora de nuestro país los marcos de plantación más utilizados son de 0,7 m entre surcos y 0,20 entre plantas (Torres, 2011), sentando interrogantes acerca de la adaptación de otros posibles marcos de plantación según la arquitectura de la subespecie a utilizar, y que potencie sus características productivas.

Arquitecturas contrastantes de planta brindan un marco de estudio significativo para explorar las estrategias de cada subespecie en la captación de recursos, y así descifrar de qué manera ésta repercute en la dinámica de producción de biomasa, en la

partición hacia órganos vegetativos y reproductivos y en la determinación de calidad del producto cosechado (tanto biomasa como Aceite Esencial).

1.3. FACTORES QUE MODULAN EL DESARROLLO EN ORÉGANO

Los datos fenológicos permiten descifrar las exigencias bioclimáticas de la especie, interpretando la interrelación entre los factores del clima y los acontecimientos ontogénicos del cultivo (Planchuelo-Ravelo, 1989). A pesar del lugar que ocupa el orégano dentro de la producción de aromáticas, tanto a nivel nacional como mundial, no existe una escala fenológica específica para el género. La observación cronológica y sistemática de los diferentes estadios fenológicos nos permite conocer la respuesta de una planta a su entorno ecológico (Arena *et al.*, 1998). A su vez, la división de un ciclo de vida del cultivo en fenofases ayuda a identificar apropiadamente cada etapa de desarrollo y cuantificar los requerimientos térmicos y fotoperiódicos de una especie vegetal. Cabe recordar aquí que el ciclo agronómico del orégano abarca desde la implantación del cultivo por trasplante de esquejes o plantines, hasta la floración, y el esquema corte-brotación-floración se continúa por 3 a 5 años más.

En cuanto a desarrollo, muchos ecotipos de orégano presentarían sensibilidad fotoperiódica diferencial. Como ya se mencionara anteriormente, el “O. Compacto” es una variedad más temprana que el “O. Criollo”, es decir, el primero florece y es cosechado a fines de noviembre, principios de diciembre, y el segundo a fines de diciembre, enero. El O. “Criollo” además posee una segunda floración en abril-mayo (Suárez, 2004). En este sentido, si bien la especie se clasifica como planta de día largo (Circella *et al.*, 1995), no hay estudios sobre las diferencias genotípicas en el proceso de determinación de la floración ante diferencias en la longitud del día.

Podría suponerse también que existen diferentes respuestas en el momento de inducción a la floración entre subespecies frente a la temperatura. Se ha determinado que aumentos en la temperatura durante el periodo brotación-floración, acortan la

longitud de dicha fase (Dudai *et al.*, 1989). Por lo tanto, la diferencia en precocidad entre los genotipos, definida como el tiempo transcurrido entre brotación luego de un corte y plena floración, podrían estar relacionadas con diferentes requerimientos de temperatura y fotoperiodo (Lenardis *et al.*, 2006). Es importante determinar este aspecto fisiológico ya que cuanto menos precoz sea un ecotipo, mayor será el tiempo asignado a la captura de recursos, y mayor puede ser la biomasa acumulada hasta el momento de cosecha (floración). Además, la productividad en esta situación puede ser escalonada en el tiempo, lo cual incide lógicamente en las prácticas de manejo.

Tanto la temperatura como el fotoperiodo y su interacción, generarían cambios en la dinámica de producción de biomasa, ya sea acortando el periodo de acumulación, como también generando modificaciones en el aspecto cualitativo del cultivo. Por otro lado, se desconoce qué sucede con la curva de acumulación de biomasa luego de la inducción a floración. Así, se considera de suma importancia caracterizar el desarrollo de las subespecies de orégano ya que de esta manera se podría decidir acerca de prácticas de manejo que lleven a determinar el momento óptimo de corte conjugando los factores calidad (asociado a floración), con cantidad (considerando el momento dentro de la curva de acumulación de biomasa en que se realiza la cosecha).

1.4. FACTORES QUE MODULAN EL CRECIMIENTO Y PRODUCTIVIDAD EN ORÉGANO

1.4.1. Acumulación de biomasa

El conocimiento de los factores y mecanismos que determinan el crecimiento y el rendimiento en un cultivo es crítico para lograr una producción eficiente y sostenible, puesto que guían el diseño y la selección de las prácticas de manejo más apropiadas y proporciona la información para el empleo eficiente y adecuado de recursos (Andrade *et al.*, 2005). Para el cultivo de orégano, los factores que modulan la productividad (por ejemplo, la acumulación de biomasa y/o de aceite esencial) pueden ser analizados

usando el marco conceptual del modelo ecofisiológico ampliamente utilizado en otras especies vegetales como en cultivos de granos (Monteith, 1977). En la especie no hay estudios con este abordaje, por lo cual el análisis de los distintos parámetros que constituyen al modelo ecofisiológico permitirán comprender mejor las bases que subyacen la productividad del cultivo. El modelo define al rendimiento según la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \text{RFAi-ac} \times \text{EUR} \times \text{IP}$$

Ecuación 1. 1

donde RFAi-ac: Radiación solar fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el ciclo (MJ/m^2); EUR: Eficiencia en el Uso de la Radiación (g/MJ); IP: Índice de Partición (peso órganos de interés/ peso total).

1.4.1.1. Intercepción de la radiación

La RFAi-ac depende de la cantidad de RFA incidente acumulada durante el ciclo del cultivo (según latitud y época del año) y de la fracción de intercepción de RFA (%). La RFAi-ac es función de: i) el índice de área foliar (IAF) y ii) del coeficiente de extinción luz, K ; estos factores están definidos por la arquitectura de la parte aérea de un cultivo. Según la arquitectura de la especie, la luz puede ser extinguida rápidamente en la superficie foliar o llegar a los estratos más profundos. Tal como fue reportado para otros cultivos, un incremento de la radiación en los estratos inferiores puede resultar en un incremento en el intercambio de CO_2 a nivel de planta e incrementar la producción de biomasa por unidad de superficie (Oker-Blom y Kellomäki, 1982).

Por otro lado es importante alcanzar un IAF tal que intercepte la máxima cantidad de radiación, ya que cuando se logra captar el 95 % de la RFA, la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) se hace máxima (Gardner *et al.*, 1985). En el caso del orégano, se desconocen los parámetros que determinan la óptima intercepción de la

radiación (ej. IAF crítico) y las potenciales diferencias en estrategias que poseerían distintos ecotipos de esta especie para captar la radiación y acumular biomasa. Se podría suponer que la arquitectura ideal de un ecotipo de orégano debería incluir aspectos como alta intercepción de radiación y mejor distribución de la luz en el canopeo para lograr la máxima TCC, de modo que el menor sombreado de estratos inferiores reduzca la tasa de senescencia foliar. Además, según Bandoni (2000) y Dudai *et al.* (1992), la buena exposición a la luz en cada estrato provocaría mayor producción de aceite esencial.

Respecto a la dinámica de producción de biomasa, en poblaciones nativas de *O. vulgare* se observó que cuando avanza la estación de crecimiento las plantas crecen en altura siguiendo un patrón común de respuesta, pero los valores máximos alcanzados son distintos según la altitud de la región, logrando mayores alturas a menor altitud (0,55 m a 200 m s.n.m. y 0,35 m a 1760 m s.n.m; Kodifis *et al.*, 2003). Esto puede deberse a variaciones del régimen térmico y a la oferta de recurso lumínico, agua y nutrientes que tienen lugar en cada ambiente.

Asimismo, dentro de un mismo ambiente, el patrón de crecimiento varía también por las condiciones de manejo del cultivo, factores éstos que modulan el rendimiento en biomasa. Por ejemplo, en Córdoba el ciclo agronómico del orégano implica de 3 a 5 años de producción, con 2 cortes por año (el primero en los meses de verano y el segundo a fines de otoño). Normalmente los mejores rendimientos se producen en el primer corte (Suárez, 2004), lo cual podría explicarse por variaciones en el ambiente en dichas épocas. A pesar de que la tasa de expansión foliar es mayor a mayores temperaturas, y por ende la recuperación de la máxima fracción de intercepción es más rápida luego del corte de verano, esto no llegaría a compensar la pérdida de intercepción de radiación en el periodo que sigue al primer corte, razón por la cual el segundo corte es de menor rendimiento. Se sumaría además la menor oferta lumínica, dado el acortamiento de los días que va produciendo desde enero hasta junio.

Estos resultados demuestran la necesidad de indagar acerca de la interacción de factores ambientales y genotípicos que determinan el rendimiento en biomasa de los ecotipos de orégano.

1.4.1.2. Eficiencia en el Uso de la Radiación Solar

Esta variable es el cociente de la relación entre la biomasa producida y la radiación interceptada acumulada durante el ciclo del cultivo (Sinclair *et al.*, 1999). Es una simplificación de la dinámica de fotosíntesis del canopeo y provee una información muy útil acerca de la producción estacional de biomasa cuando los demás factores son no limitantes (Monteith, 1977). En términos generales, la EUR se relaciona con la temperatura, con la calidad de la luz (directa o difusa) y con el contenido de nitrógeno foliar, ya que todos estos factores modifican la capacidad fotosintética de los cultivos (Peng *et al.*, 1995; Sinclair *et al.*, 1999).

Existe un amplio rango de valores de EUR según la especie, siendo mayor en plantas C₄ (ej. maíz: 3,5 g/MJ), intermedio en no leguminosas y bajo en leguminosas (ej. girasol: 2,2 g/MJ; Goose *et al.*, 1986). Para el cálculo de la EUR normalmente se utiliza la producción de biomasa aérea asumiendo que la producción de raíces es una proporción constante y pequeña de la biomasa total. Sin embargo cultivos perennes como lo es el orégano, también generan órganos de reserva, por lo cual la partición de biomasa hacia éstos órganos además de a las raíces, puede generar cambios en la EUR_{aérea} (Chen *et al.*, 2003; Dolling *et al.*, 2005; Zahid *et al.*, 2003). En alfalfa, la EUR disminuye de 0,90 g/MJ en verano a 0,55 g/MJ en otoño, debido a la partición hacia órganos de reserva (Khaiti y Lemaire, 1992). A su vez, Teixeira *et al.*, (2008) establecieron que la defoliación del cultivo, ya sea por cortes o pastoreo, provoca cambios en la partición de biomasa hacia raíces, siendo este fenómeno el motivo de la estacionalidad de la EUR (valores mayores en primavera que en otoño).

Otro factor que puede incidir en la variación de la EUR en orégano, es que al tratarse de una especie plurianual, se produce variación de la radiación y temperatura a lo largo del año. Así, Collino *et al.* (2005), constataron que en alfalfa existe una temperatura umbral de 21,5°C por debajo de la cual la EUR disminuye, y por encima de la cual se mantiene constante.

Si bien la relación entre la biomasa producida y la radiación interceptada acumulada durante el ciclo se correlacionan estrechamente de manera positiva (Andrade

et al., 1992), diversas situaciones de manejo o ambientales pueden modular la linealidad de la asociación entre estas variables. Así por ejemplo, se ha demostrado en soja que luego de una acumulación de RFA de 400 MJ/m^2 , la relación pasa a ser curvilínea, fenómeno que puede explicarse por la disminución en la EUR que genera un incremento en la densidad (Purcell *et al.*, 2002), o por la etapa del ciclo del cultivo en la cual comienza la senescencia.

La EUR también puede variar entre las etapas dentro de un ciclo, es decir, entre cortes. Este sería un factor que explicaría el mayor rendimiento del primer corte que se le efectúa al orégano respecto al segundo. En esta especie se desconoce el valor de temperatura en el cual la tasa de fotosíntesis es máxima, pero al ser una especie C_3 , se supone que dicho valor ronda en temperaturas templadas. Por ejemplo, en la zona de producción de Villa Dolores, la temperatura promedio hasta el primer corte (junio a diciembre) es de $15.0 \text{ }^\circ\text{C}$, menor que la temperatura promedio desde éste hasta el segundo corte (diciembre a junio, $22.6 \text{ }^\circ\text{C}$), por lo cual la EUR sería mayor en el primer período. Por otro lado podrían encontrarse diferencias en EUR entre los ecotipos y estar asociadas con distinto contenido de N foliar entre los mismos. Este nutriente se correlaciona de manera positiva con la eficiencia de fotosíntesis, y consecuentemente con mayores producciones de biomasa y rendimiento (van Oosterom *et al.*, 2010).

En orégano se desconoce el valor promedio de la EUR, su sensibilidad ante cambios en factores ambientales y de manejo, así como también su evolución en periodos de receso y de reactivación del crecimiento. Por ello, un abordaje acerca de estas nociones resulta necesario para describir el comportamiento del orégano en términos de la utilización del recurso lumínico. Además, dado que en esta especie los ecotipos varían en producción de biomasa y arquitectura (CAEMPA, 2010; Suárez, 2004), es necesario también indagar si la EUR se modifica con el ecotipo y ante cambios en el arreglo espacial entre plantas.

1.4.1.3. Índice de Partición

El rendimiento de un cultivo finalmente es producto de la partición de biomasa hacia el órgano de interés comercial. Para cultivos graníferos, Donald y Hamblin (1976) definieron al índice de cosecha como la relación entre biomasa de grano y el peso seco total. En el caso del orégano, se cosecha tanto material vegetativo como reproductivo (inflorescencias), por lo que este índice de partición se define como la relación entre la biomasa de hojas y órganos florales y la biomasa total.

Comercialmente existen parámetros de importancia que pueden ser definidos como Componentes del Rendimiento, y estos son: i) la biomasa aérea (kg/m^2), ii) el rendimiento de hojas y brácteas florales (kg/m^2), iii) la relación entre este último y el peso seco del tallo, y iv) el porcentaje de aceite esencial (AE) (Chlodwing y Novak, 1997; Pank *et al.*, 2002). Se desconoce cómo la partición está regulada en esta especie y cuáles son los principales destinos (hojas, tallos, inflorescencias, AE) según la etapa del ciclo del cultivo.

En algunos ensayos llevados a cabo con los ecotipos Criollo y Compacto, se llegó a la conclusión de que el “O. Compacto” presenta mejor producción de biomasa seca y fresca, y mayor relación hojas-flores/tallo. Por otro lado, el ecotipo Criollo presentaría valores más altos de producción de AE (CAEMPA, 2010; Torres *et al.*, 2010). Otros antecedentes, sin embargo, mencionan que la subespecie Criollo presenta mayores rendimientos, tanto para el primer como para el segundo corte (Suárez, 2004). Probablemente este contraste de resultados se deba a las diferentes estrategias de producción de biomasa que cada subespecie adquiere frente a cambios en las condiciones ambientales, cambios generados por distintas épocas de corte o por distintas condiciones de manejo (ej. marcos de plantación diferentes).

El conocimiento de la dinámica de la partición de biomasa hacia distintos destinos resulta de gran importancia tanto para mejorar la productividad del cultivo como para su manejo, como ser por ej., el momento óptimo de corte según el objetivo de producción (ya sea para obtención de aceites esenciales, de hojas y flores, etc.).

1.4.2. Dinámica de producción de Aceite Esencial durante el ciclo del cultivo

Un aspecto fundamental cuando se considera la productividad del orégano, es el contenido y tipo de componentes del aceite esencial de los tricomas de sus hojas y órganos florales ya que determinan su calidad como hierba aromática saborizante y medicinal (Ghershenzon *et al.*, 2000). Se define al aceite esencial (AE) como una mezcla compleja de sustancias químicas (50-200) pertenecientes, en su mayoría, al grupo de los terpenos y fenilpropanoides. La cantidad, el tipo y la proporción de estas sustancias pueden cambiar con el genotipo, la ontogenia (Dudai *et al.*, 1992; Gümüşçü *et al.*, 2008) y con el lugar geográfico donde se establezca el cultivo (D'Antuono *et al.*, 2002).

Sin embargo son todavía poco claros los efectos ambientales que explican la variabilidad en la calidad. Se ha demostrado que la acumulación de esencia es mayor cuando la luminosidad es más intensa o de mayor duración (Bandoni, 2000). Respecto a la disponibilidad hídrica, gran parte de los trabajos coinciden en que el rendimiento de esencia aumenta ante condiciones de deficiencia (Marques *et al.*, 2009; Said-Al Ahl *et al.*, 2009). No obstante, el efecto de factores nutricionales sobre la producción de AE es variable, resultando positivo para algunos autores (Said-Al Ahl *et al.*, 2009), negativo para otros (Azizi *et al.*, 2009) y neutro para otros (Karamanos y Sotiropoulou, 2013). Asimismo, la densidad de las plantas en el cultivo también influye en el rendimiento de AE y manejos de altas densidades serían ventajosos tanto en orégano como en otras especies para la producción de AE (Nurzynska-Wierdak y Dzida, 2009; Rao, 2002).

En cuanto a aspectos cualitativos del AE, existe una importante influencia tanto de factores ambientales como geográficos y temporales en la constitución de la esencia, por lo cual la composición es sumamente variable tanto en número de componentes, como en proporción de componentes (Baranauskiené *et al.*, 2013; D'Antuono *et al.*, 2000; Novak *et al.*, 2010; Sellami *et al.*, 2009). La combinación de componentes de la esencia aportan a las características organolépticas de la misma, de allí su importancia en aspectos de calidad. A su vez, timol y carvacrol son dos de los compuestos más

característicos del género, y su presencia incluso es considerada como parámetro de identificación de la esencia en *Origanum heracleoticum* L. (Molteni, 2011). Sin embargo la extensa variabilidad en la composición y proporción de componentes del AE dificulta el esclarecimiento acerca de los parámetros generales que definen a la esencia del orégano. Además, se desconoce el efecto de ciertos aspectos de manejo, como por ejemplo, el momento de cosecha, sobre las características cualitativas de la esencia.

Por lo expuesto anteriormente, una primera aproximación para indagar en los factores que determinan la calidad del orégano, es estudiar la dinámica de la producción de AE a lo largo del ciclo del cultivo, así como también las características cuanti y cualitativas de su esencia en diferentes momentos del ciclo.

Conociendo todos estos aspectos, se podrían definir ideotipos de orégano, que apunten a mejorar las respuestas a condiciones específicas de cultivo, ya sea a mejorar los rendimientos en biomasa a través de la optimización del uso de la radiación, acumulando rápidamente materia seca para destinarla a órganos cosechables, o a priorizar la calidad de dicha biomasa para una mejor producción de AE.

1.5. HIPÓTESIS

En base al análisis precedente, se plantean las siguientes hipótesis:

- a. Las diferencias en las subespecies en cuanto a duración de ciclo de cultivo responden a diferencias en requerimientos térmicos y fotoperiódicos.
- b. “O. Compacto” posee un menor umbral de respuesta para la inducción a la floración, siendo más sensible al fotoperiodo que “O. Criollo”.
- c. La mayor sensibilidad fotoperiódica de “O. Compacto” repercute en un mayor acortamiento del ciclo del cultivo, y consecuentemente en una menor productividad en términos de biomasa producida.
- d. En el cultivo de orégano existen diferencias genotípicas en la dinámica de producción de biomasa asociadas a la arquitectura de las subespecies. Por lo que el porte erecto de “O. Criollo” lo hace más eficiente en la captura y el uso de la radiación solar.
- e. El espaciamiento entre plantas tiene influencia sobre la dinámica de partición de asimilados y consecuentemente sobre la productividad del cultivo.
- f. Arreglos espaciales equidistantes entre plantas aumentan la captura de radiación solar y mejoran la productividad del orégano en términos de acumulación de biomasa y de producción de AE.
- g. Las características cuali-cuantitativas del AE varían según la época de cosecha y difieren entre “O. Compacto” y “O. Criollo”.

1.6. OBJETIVOS

En subespecies de arquitectura contrastante, *O. vulgare* ssp. *vulgare* (“O. Compacto”, de porte rastrero) y *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw (“O. Criollo”, de porte erecto):

- a. Desarrollar una clave fenológica para identificar las fenofases típicas del ciclo del cultivo y modelar el desarrollo, cuantificando diferencias genotípicas en los requerimientos de las fenofases de importancia del ciclo agronómico.
- b. Determinar la respuesta del desarrollo fenológico, producción de biomasa y de aceites esenciales ante cambios en las condiciones de fotoperiodo.
- c. Evaluar los cambios anatómicos de las yemas en estado vegetativo y reproductivo.
- d. Analizar el efecto del marco de plantación (MP) sobre la dinámica de crecimiento del cultivo y los componentes del modelo ecofisiológico de generación de rendimiento (eficiencia de uso de la radiación y partición de asimilados hacia estructuras vegetativas y reproductivas).
- e. Estudiar la dinámica de producción de Aceite Esencial a lo largo del ciclo, (cantidad, tipo y proporción de componentes que lo constituyen) y la incidencia que posee el marco de plantación y la época de floración sobre dichas características.

FENOLOGÍA DEL CULTIVO DE ORÉGANO

2.1. INTRODUCCIÓN

La productividad de los cultivos depende de factores ambientales tales como la temperatura y el fotoperiodo, los cuales influyen en la tasa de crecimiento y la duración de las etapas de crecimiento (Ritchie y NeSmith, 1991). Aspectos ecofisiológicos del cultivo de orégano tales como su fenología, y la interacción con variables ambientales han sido escasamente estudiados. En particular, en esta especie, no hay una escala fenológica específica para la identificación de los distintos estadios de desarrollo, i.e., vegetativo, reproductivo y plena madurez.

Actualmente existe una escala universal, la “BBCH-scale”, que puede ser empleada en cultivos que carecen de escalas fenológicas (Lancashire *et al.*, 1991). A pesar de que este código ha sido adaptado para una gran diversidad de especies como árboles (lichi (*Litchi chinensis* Sonn.), guayaba (*Psidium guajava* L.)), arbustos (grosella (*Physalis peruviana* L.)), y plantas herbáceas como lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Jenni y Bourgeois, 2008; Ramírez *et al.*, 2013; Salazar *et al.*, 2006; Wei *et al.*, 2013), se ha afirmado que el mismo no sería apropiado para determinar las etapas de crecimiento de los cultivos herbáceos perennes (Ciha y Wilhelm, 1997). Por lo tanto, una propuesta alternativa es el desarrollo de un sistema de clasificación fenológica basado en características morfológicas específicas del género *Origanum* tales como presencia de yemas axilares en tallos, y en el patrón de formación de estructuras reproductivas. Una escala fenológica adaptada para *Origanum* podría ser utilizada para explorar la variación genotípica en términos de desarrollo y para guiar el manejo agronómico, es decir, definir momentos de cosecha y propagación y predecir momentos críticos fenológicos como la floración.

La observación cronológica y sistemática de los diferentes estadios fenológicos de un cultivo nos permite conocer la respuesta de una planta a su entorno ecológico (Arena *et al.*, 1998). A su vez, la división de un ciclo de vida del cultivo en estadios fenológicos sirve para identificar apropiadamente la etapa de desarrollo y cuantificar los requerimientos térmicos y fotoperiodicos de una especie vegetal.

Predecir los momentos críticos de un cultivo basado en el tiempo cronológico no proporciona resultados precisos ya que la longitud de los estadios fenológicos está regulada por factores ambientales como la temperatura y el fotoperíodo (Ahmad Nazarudin *et al.*, 2012). Por lo tanto, la determinación precisa de la fenología requiere el uso de modelos basados en el tiempo térmico, es decir, la acumulación de grados días ($^{\circ}$ Cd). Un modelo basado en el tiempo térmico es una herramienta sencilla, ya que se ejecuta con información fácil de obtener a partir de estaciones meteorológicas (Baker y Reddy, 2001). En el orégano, no se han desarrollado modelos de predicción de tiempo térmico, ni se han cuantificado los requerimientos de tiempo térmico para estadios fenológicos críticos.

En particular, la cuantificación de la fenología a través de un modelo matemático basado en tiempo térmico permitiría diferenciar si los cambios en el progreso madurez entre subespecies, pueden ser atribuidos a características del genotipo o a cuestiones de manejo del cultivo. Este enfoque puede ayudar a mejorar las predicciones de las etapas de desarrollo en ambientes con temperatura variable (Miller P. *et al.*, 2001; Stöckle *et al.*, 2003) y caracterizar las bases fisiológicas de progreso madurez de la especie.

Es así que los objetivos del presente capítulo son, i) desarrollar una escala de descripción fenológica simple basada en caracteres morfológicos comunes del género; y ii) construir un modelo de desarrollo fenológico basado en los requisitos térmicos hasta estadios fenológicos críticos, en dos subespecies de orégano de contraste arquitectura.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Material biológico y diseño de experimento

Se trabajó con plantas de dos subespecies de orégano “Compacto” (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare*) y “Criollo” (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw.; (Torres *et al.*, 2012a). Ejemplares de ambas subespecies están depositados en el herbario ACOR (FCA, UNC; código AMP 3482 y AMP 3483, respectivamente). Estos ecotipos son frecuentemente utilizados en la región productora de la Provincia de Córdoba, destacándose por su rusticidad y adaptación al ambiente productivo local (Suárez, 2004).

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados, se realizó el Experimento 1 (Exp. 1) durante dos años sucesivos (dos ciclos), durante septiembre-diciembre de 2010 y septiembre-diciembre de 2011 y bajo sistemas de cultivos diferentes, en el Campo Escuela de la FCA-UNC, situado en la localidad de Capilla de los Remedios (31° 26´S; 63° 49´W, 360 msnm), cuya temperatura media anual es de 17,7°C y régimen de precipitaciones de 794 mm anuales.

Las condiciones climáticas prevalecientes durante el período de evaluación fueron representativas de los registros históricos de la región, a excepción de la radiación solar incidente media, que fue mayor en ambas temporadas. La temperatura promedio fue casi la misma en ambos ciclos de cultivo, y la radiación solar fue mayor en C2 que en C1 (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Datos históricos y medios (C1, 2010 y C2, 2011) durante los dos ciclos de crecimiento de subespecies de *Origanum* en Capilla de los Remedios, Argentina (31 ° 26 'S; 63 ° 49'O). Temperatura media mensual (T °); Radiación incidente media diaria (RI), y Fotoperíodo medio mensual (P).

	SEP	OCT	NOV	DIC	Promedio por Ciclo
T° (°C)					
Histórico ^a	15.0	19.1	21.4	22.8	19.6
Ciclo 1	14.5	16.8	20.2	24.4	19.0
Ciclo 2	16.1	17.7	22.0	23.3	19.8
RI (Mj/m²)					
Histórico ^a	18.8	22.0	25.5	26.0	23.1
Ciclo 1	17.3	24.5	27.0	30.8	24.9
Ciclo 2	21.1	24.1	28.2	30.2	25.9
P (hs)					
Ciclo 1	11.9	12.8	13.6	13.9	13.0
Ciclo 2	12.0	12.8	13.6	14.0	13.1

Para el ciclo uno (C1, 2010), se utilizó material de una colección de plantas madres de un año de edad, situadas en el Campo Escuela de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la U.N.C., provenientes de la zona de producción de orégano de Villa Dolores, localidad de las Tapias. Se transplantaron el 1° de Septiembre de 2010 en macetas de 10 dm³, con sustrato de tierra y vermiculita en igual proporción. Las mismas se mantuvieron bajo condiciones de capacidad de campo durante todo el periodo de ensayo, mediante riegos cada tres días. A fin de uniformar la altura de los tallos a 5 cm, se realizó un corte de emparejamiento cinco días luego del trasplante. En el ciclo dos (C2, 2011), plantines obtenidos por propagación vegetativa fueron transplantados con un marco de plantación de 0,70 m x 0,20 m el 9 de septiembre de 2011. Las plantas fueron regadas mediante riegos por gravedad cada tres días para complementar la oferta de agua por lluvias y evitar el estrés hídrico en el cultivo.

El diseño experimental fue en bloques completamente aleatorizados, con tres repeticiones. Los muestreos se realizaron en tres plantas por unidad experimental (UE).

2.2.2. Determinación Fenológica

Durante C1 se registró la duración de los macro-estadios vegetativos y reproductivos, y se determinaron diferencias entre las subespecies respecto a la transición entre ambos macro estadios. Durante C2, se registró el número de tallos por planta y su estadio de madurez (*MS*) de manera semanal hasta plena floración en tres plantas por unidad experimental (UE), utilizando un sistema de clasificación fenológica desarrollado para alfalfa por Kalu y Fick (1981). Se optó por adaptar esta escala porque la alfalfa tiene varias similitudes con orégano en términos de hábito de crecimiento, ciclo agronómico y manejo de cultivos. La misma reconoce etapas vegetativas, de botón floral, floración y maduración de frutos. En este estudio, la etapa de fructificación no fue registrada porque agronómicamente el ciclo de orégano termina con la cosecha en épocas de floración. Adicionalmente, se agregó una fenofase que incluye el estado de semilla y el periodo de emergencia de plántula (denominada como la etapa S-E), a pesar de que esta especie se propaga generalmente de manera agámica.

Es así que la escala fenológica resultante se basó en los tipos de órganos que se generaron a partir de yemas madre (hojas, ramas y estructuras de la flor). La fenología se determinó en 3 niveles: en tallos, en plantas y en cultivo. La fenofase a nivel tallo se definió con una categoría de estado de madurez (*MS*) desde 0 a 3 (fenofases vegetativas, de V_0 a V_3), y desde 4 a 6 (fenofases reproductivas, R_4 a R_6). El estado fenológico por planta (MS_p) se determinó en base a la categoría de *MS* predominante de sus tallos (concepto de mediana). A nivel de cultivos, el estado fenológico se determinó como el MS_p exhibido por más del 50% de las plantas dentro de cada UE.

Debido a la naturaleza perenne de la especie, los rebrotes generados durante gran parte del ciclo enmascaran el progreso de la madurez del cultivo. Por lo tanto, después de 30 días de crecimiento inicial el MS_p se calculó sin tener en cuenta los brotes que

tenían $MS \leq 1$. Del mismo modo, después de 60 y 80 días a partir del crecimiento inicial, los tallos que tuvieron $MS \leq 2$ y $MS \leq 3$ fueron excluidos, respectivamente.

El tiempo térmico (TT, °Cd) hasta cada MS se cuantificó como la sumatoria de las diferencia entre la temperatura media diaria y la temperatura base del cultivo desde el comienzo del ensayo hasta plena floración. En el caso del orégano, la temperatura base se consideró de 0 °C (Kintzios, 2002a; Lenardis *et al.*, 2006).

2.2.3. Análisis estadístico

Para el estudio del progreso fenológico del orégano, el ciclo se dividió en macroestadios vegetativos y reproductivos. Por lo tanto, la proporción relativa de los tallos en MS 3 y 6 de cada planta en cada UE se representó gráficamente en función de tiempo térmico acumulado. Se describieron curvas de progreso fenológico mediante análisis gráficos, teniendo en cuenta las formas de curva y el inicio de MSp 3 y 6, siendo que MS 3 y MS 6 representan el final de los macroestadios V y R, respectivamente.

Así, la proporción de plantas que llegaron al MSp 3 o MSp 6 se modeló como una variable binomial ajustó en función del tiempo térmico acumulado. Se ajustaron modelos no lineales mixtos (logísticos), adicionando a su vez un factor aleatorio a la pendiente de la evolución fenológica (Ecuación 2. 1),

$$y = 1 / (1 + \beta \exp^{-(\gamma + u) \times TT}) \quad \text{Ecuación 2. 1}$$

donde y es el porcentaje de las plantas en MSp 3 o 6; β es el parámetro relacionado con el tiempo térmico (° Cd) hasta el comienzo del periodo exponencial de madurez; γ es el parámetro relacionado con la tasa de progreso fenológico; u es el efecto aleatorio asociado con la pendiente; y TT es el tiempo térmico acumulado. Los modelos se realizaron mediante el procedimiento PROC NLMIXED en SAS 9.1 (SAS, 2006).

El tiempo térmico acumulado hasta el punto de inflexión de la curva es el momento en donde la proporción de plantas en determinado estado fenológico es de 0.50. En el caso del modelo vegetativo, este punto de inflexión se asoció con el momento de inicio de transición entre fases vegetativas y reproductivas (**V_{3-i}**). El punto de inflexión en el modelo reproductivo indicó el inicio de la plena floración (**R_{6-i}**). Ambos parámetros fueron calculados utilizando la segunda derivada de la función logística (Passos *et al.*, 2012), ecuación 2.2,

$$\mathbf{Inicio\ de\ fenofase} = \frac{\ln(1/\beta)}{-(\gamma + u)} \quad \text{Ecuación 2. 2}$$

La función logística dificulta la predicción de tiempo térmico acumulado hacia la plenitud de la proporción de plantas en una determinada fenofase, esto es, el punto de plateau de la función, debido a que el valor de "x" cuando "y = 1", tiende a infinito (Mischan *et al.*, 2011). Por lo tanto, para estimar el momento de máxima proporción de plantas en cada fenofase, el valor "x" (° Cd) se calculó a partir de la función logística cuando el valor asintótico fue de 0.95 en lugar de 1. En el modelo Vegetativo, este momento se asoció a la transición entre el periodo vegetativo y reproductivo de la mayoría de las plantas (**pleno-V₃**), y en el Reproductivo con la máxima proporción de plantas en plena floración (**pleno-R₆**). Tanto **pleno-V₃** como **pleno-R₆** se calcularon utilizando la ecuación 2.3,

$$\mathbf{Plena\ fenofase} = (\ln(1/(49 * \beta)))/-(\gamma + u) \quad \text{Ecuación 2. 3}$$

Se optó por determinar estos parámetros a través de funciones matemáticas (Ecuación 2. 2 y Ecuación 2. 3) ya que producen un ajuste mejor que la simple interpolación de la curva logística (Paine *et al.*, 2012).

El efecto de la subespecie sobre los parámetros estimados se evaluó mediante la prueba T de Student con un nivel de significancia del 5% (Di Rienzo *et al.*, 2014). Como criterios de bondad de ajuste se calculó la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE) y el coeficiente de correlación de Pearson para medir la fuerza de la asociación entre las proporciones de tallos en V_3 o R_6 observadas y predichas por el modelo.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Descripción Morfológica de las subespecies

Las subespecies difieren en la longitud de los entrenudos de las ramas secundarias (Figura 2. 1), siendo de 2-3 mm en “O. Compacto” y 5-10 mm o mayores en “O. Criollo”. “O. Compacto” exhibió epicastros más cortos y con un menor número de flores que “O. Criollo”. Este patrón de elongación de los entrenudos, junto con la longitud de epicastros genera cimas florales contraídas y compactas en “O. Compacto” y laxa en “O. Criollo” (Figura 2. 1 y Figura 2. 3).

El patrón típico de ramificación de cada subespecie genera un hábito de crecimiento rastrero en “O. Compacto” y erecto en “O. Criollo”. Sin embargo, en las etapas avanzadas de desarrollo, es decir, cuando se produjo la formación de ramas florales, se observó que el carácter de rastrero de “O. Compacto” fue atenuado debido al hábito erecto típico de estas ramas (Figura 2. 3).

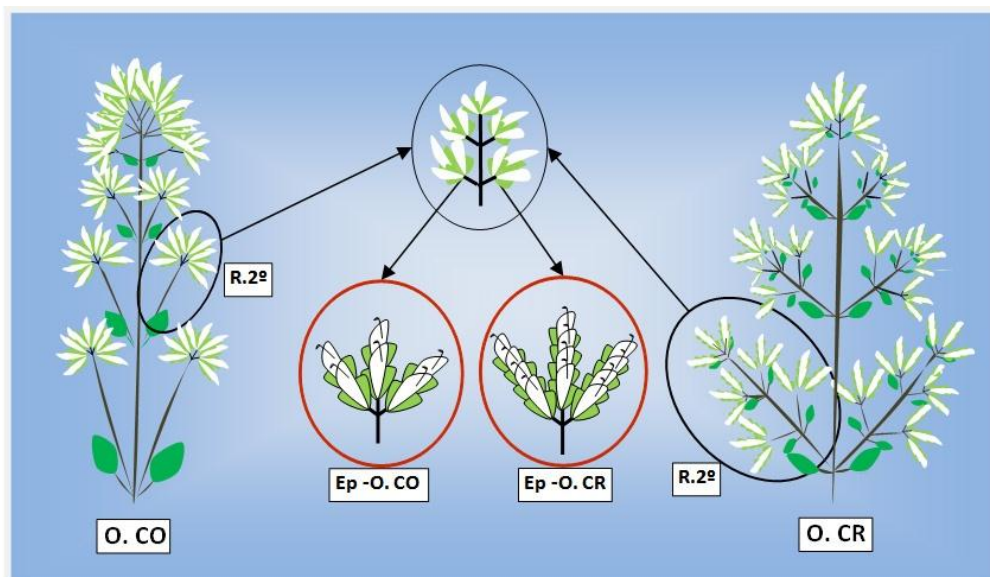


Figura 2. 1 Esquema de la arquitectura de la rama floral y disposición de epicastros (Ep) y ramas secundarias (R.2º) en dos subespecies de *O. vulgare*: “O. Compacto” (O.CO) y “O. Criollo” (O.CR).

2.3.2. Descripción de la Escala Fenológica

En base a las principales etapas del ciclo del cultivo, el mismo se dividió en dos macro-estadios fenológicos: estadios Vegetativos (V) y Reproductivos (R). El progreso de la fenología del cultivo se evaluó calculando *MSp* de manera semanal, el cual se dividió en siete categorías, desde 0 hasta 6 (Figura 2. 1 y Figura 2. 3), según el grado de desarrollo de las yemas axilares del tallo principal. El macro-estadio “V”, abarca los *MS* de 0 a 3, mientras que, el “R”, abarca *MS* de 4 a 6 (Tabla 2. 2). En este estudio, la fenofase de Semilla-Emergencia (S-E) no fue registrada ya que el cultivo se inició a partir de plantines propagados por estacas, método típico de propagación de la especie.

Las fases fenológicas correspondientes a los macro-estadios vegetativo y reproductivo se registraron a nivel de tallo individual y a nivel de cultivo (Figura 2. 2 y Figura 2. 3).

Tabla 2. 2. Escala fenológica de *Origanum ssp.* y descripción de macroestadios Vegetativos (V) y Reproductivos (R). Fenofases determinadas según estados de madurez de los tallos (MS, desde 0 a 6). MS definidos por los tipos de órganos generados a partir de las yemas de los tallos (hojas, ramificaciones, y estructuras florales) al momento de la observación fenológica.

Fenofase	Denominación	Descripción morfológica
S-E	Semilla-Emergencia	Estado de semilla o emergencia a partir de la siembra
V ₀	Vegetativo temprano	Yemas axilares no visibles a lo largo del tallo principal
V ₁	Vegetativo Medio	Al menos dos nudos con yema axilar desarrollada (primer par de hojas de la ramificación secundaria desarrollada) a lo largo del tallo principal
V ₂	Vegetativo Tardío	Al menos dos nudos con ramificación secundaria desarrollada (despegada del eje principal) a lo largo del tallo principal
V ₃	Transición	Presencia de Botón floral apical en el tallo principal
R ₄	Pre-Floración	Presencia de botones florales en al menos 3 ramificaciones secundarias del eje principal
R ₅	Inicio de Floración	Hasta tres ramificaciones secundarias del eje principal con una flor abierta por epicastro
R ₆	Plena Floración	Más de tres ramificaciones secundarias del eje principal con más de una flor abierta por epicastro

Macro-estadio Fenológico		V							
Estado de Madurez	0		1		2		3		
Subespecies	COMPACTO	CRIOLLO	COMPACTO	CRIOLLO	COMPACTO	CRIOLLO	COMPACTO	CRIOLLO	
A									
B									
C									

Figura 2. 2. Fases Fenológicas vegetativas para dos subespecies de orégano, *O. vulgare* ssp. *vulgare* “O. Compacto”; *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. “O. Criollo”. V₀: vegetativo temprano; V₁: vegetativo medio; V₂: vegetativo tardío; V₃: vegetativo de transición. A, vista 10x; B, vista individual; C, vista de cultivo.



















Macro-estadio Fenológico		R					
Estado de Madurez		4		5		6	
Subespecies	COMPACTO	CRIOLLO	COMPACTO	CRIOLLO	COMPACTO	CRIOLLO	
A							
B							
C							

Figura 2. 3. Representación de fases fenológicas reproductivas para dos subespecies de orégano, *O. vulgare* ssp. *vulgare* “O. Compacto”; *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. “O. Criollo”. R₄: pre-floración; R₅: inicio de floración; R₆: plena floración. A, vista 10x; B, vista individual; C, vista de cultivo.

2.3.3. Modelado del desarrollo fenológico

La evolución fenológica de cada macroestadio V y R fue representada adecuadamente para ambas subespecies por modelos logísticos (Ecuación 2. 1). Las subespecies difirieron en el requerimiento térmico hasta el punto de inflexión y de plateau, siendo significativamente menores para “O. Compacto” que para “O. Criollo” ($P \leq 0,05$; Tabla 2. 3 y Tabla 2. 4 y Figura 2. 4 y Figura 2. 5).

Tabla 2. 3. Parametros (\pm Error Estandar, EE) del modelo logístico ajustado para la evolución fenológica del macroestado Reproductivo en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”). Los puntos críticos de la curva **R6-i** y **Pleno-R6** indican el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la plena floración y hasta plena floración, respectivamente.

Parámetros	“O. Compacto”	“O. Criollo”
B	1400.0 \pm 860.0	3180.7 \pm 1914.5
γ	4.506 \pm 0.382	4.700 \pm 0.369
R6-i ($^{\circ}$ Cd)	1607.98 \pm 2.8 $\times 10^{-7}$ b	1718.17 \pm 7.26 a
Pleno-R6 ($^{\circ}$ Cd)	2261.53 \pm 3.9 $\times 10^{-7}$ b	2345.47 \pm 9.91 a

Letras distintas entre columnas indican medias estadísticamente diferentes según Prueba T de Student ($P \leq 0.05$).

Tabla 2. 4. Parametros (\pm Error Estandar, EE) del modelo logístico ajustado para la evolución fenológica del macroestado Vegetativo en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”). El punto crítico de la curva **V3-i** indica el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la fenofase de transición **V3**.

Parámetros	“O. Compacto”	“O. Criollo”
B	67.056 \pm 35.0	699.8 \pm 583.4
γ	4.660 \pm 0.640	6.543 \pm 0.898
V3-i ($^{\circ}$ Cd)	902.5 \pm 8.1 ⁻⁷ b	1001.6 \pm 1.4 ⁻⁶ a

Letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Prueba T de Student ($P \leq 0.05$).

“O. Compacto” requirió menos tiempo térmico (aproximadamente 100 $^{\circ}$ Cd) que “O. Criollo” para comenzar con la fenofase de transición (**V3**; Tabla 2. 4 y Figura 2. 5). En cuanto al desarrollo reproductivo, **R6-i** ocurrió alrededor de 6 días antes en “O. Compacto” (considerando una temperatura media histórica de la región de ≈ 19 $^{\circ}$ C), o 111 $^{\circ}$ Cd antes que en “O. Criollo” (Tabla 2. 3 y Figura 2. 4). Por otra parte, “O. Compacto” requirió una acumulación de 84 $^{\circ}$ Cd menos de “O. Criollo” para alcanzar la plena madurez, representada por **pleno-R6** (Tabla 2. 3). Finalmente, el fin del ciclo de crecimiento en “O. Compacto” ocurrió aproximadamente 4 días antes que el de “O. Criollo” (considerando una temperatura media en el área de estudio de ≈ 23 $^{\circ}$ C durante floración).

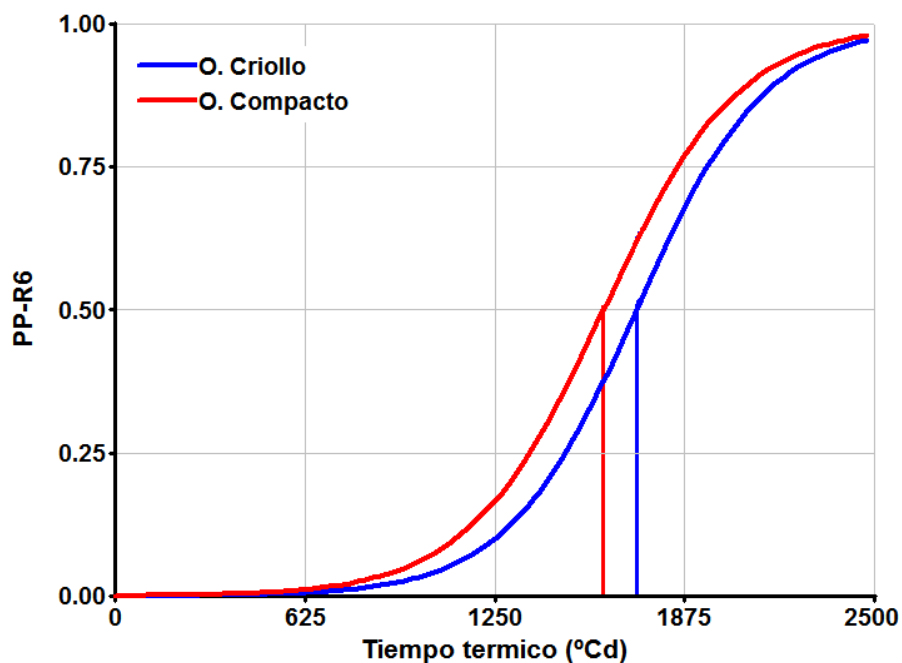


Figura 2. 4. Modelo de evolución fenológica de estadios reproductivos en términos de proporción de plantas (PP) en R_6 , ajustado para dos subespecies de Orégano, *O. vulgare* ssp. *vulgare*: “O. Compacto”; *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Ietsw.): “O. Criollo”. Las líneas verticales indican R_{6-i} (tiempo térmico hacia punto de inflexión de la curva).

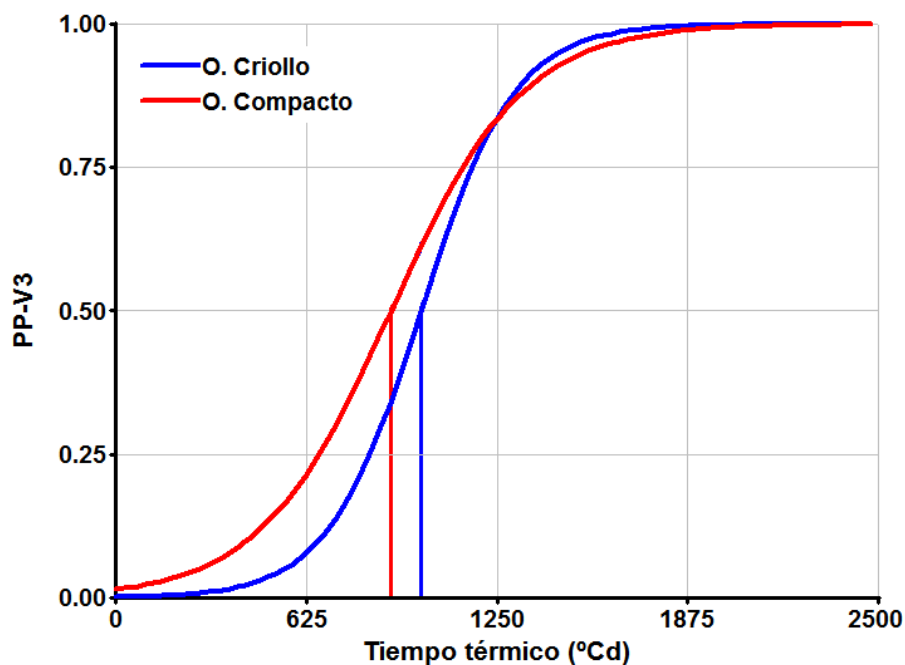


Figura 2. 5. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Vegetativos en términos de proporción de plantas (PP) en V_3 , ajustado para dos subespecies de Orégano, *O. vulgare* ssp. *vulgare*: “O. Compacto”; *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Ietsw.): “O. Criollo”. Líneas verticales indican V_{3-i} (tiempo térmico hacia punto de inflexión de la curva)

El modelo reproductivo mostró un mejor ajuste que el vegetativo, tal como es observado a través de un mayor coeficiente de correlación y un menor RMSE. La regresión entre la proporción de tallos en R_6 estimada vs. observada mostró levemente un mejor ajuste en “O. Criollo” que en “O. Compacto” (Tabla 2. 5).

Tabla 2. 5. Bondad de Ajuste de los modelos logísticos ajustados para el estudio de la evolución fenológica reproductiva y vegetativa del cultivo, en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”).

Criterio de Ajuste	Modelo Reproductivo		Modelo Vegetativo	
	“O. Compacto”	“O. Criollo”	“O. Compacto”	“O. Criollo”
r	0.91	0.96	0,69	0,68
RMSE	0.1151	0.1086	0.1460	0.1515

2.4. DISCUSIÓN

2.4.1. Modelado del desarrollo fenológico

Debido a que en orégano aún no ha sido desarrollada una escala para describir cuantitativamente los estados fenológicos de esta especie, en primer lugar se adaptó un sistema de clasificación usado en alfalfa (Kalu y Fick, 1981). Como cultivo, la alfalfa tiene muchas similitudes con *Origanum* tales como hábito de crecimiento, el rasgo perenne, y los eventos fenológicos claves que definen la calidad de la cosecha y el momento de cosecha (floración). Si bien la escala BBCH (Lancashire *et al.*, 1991) es una alternativa genérica y ha sido adaptada para numerosas especies, diversos aspectos explican las ventajas de utilizar esta escala de alfalfa. En primer lugar, el código BBCH carece de la precisión necesaria para los cultivos perennes herbáceos incluyendo especies que se desarrollan tanto en las estaciones cálidas como frías, pero más importante es que es ineficaz para proporcionar una vinculación cuantitativa con el tiempo térmico, aspecto muy importante si se pretende predecir la fenología para comprender los efectos ambientales y de manejo (Ciha y Wilhelm, 1997). Además, en ciertos cultivos tradicionales, se sugiere utilizar métodos o escalas fenológicas ya ajustadas que se demostraron eficaces o están ampliamente aceptadas y no la escala BBCH. Por lo tanto, una adaptación de la escala de alfalfa es más apropiado utilizar esta nueva escala antes que la readaptación de una escala universal.

Un sistema no destructivo de determinación fisiológica para caracterizar las etapas de desarrollo a través de parámetros cualitativos y cuantitativos (Wang y Engel, 1998) puede ser utilizado para el establecimiento de las bases para futuros estudios ecofisiológicos de la especie así como también para la adaptación de las prácticas de manejo del cultivo y la incorporación de nuevos ambientes para su producción. Este sistema también puede ser útil para cuantificar las diferencias entre los ecotipos al distinguir rasgos genotipo-dependientes (efecto de genotipo) de rasgos ambiente-dependientes (efecto ambiente).

Teniendo en cuenta estos aspectos cruciales, se propone un sistema fenológico particularmente destinado a los cultivos de propagación agámica, en los cuales los estados fenológicos tempranos se determinan unos pocos días después del transplante de los propágulos y los últimos alrededor de plena floración (momento óptimo de cosecha).

Las mayores diferencias morfológicas entre subespecies se evidenciaron principalmente en estructuras de la flor, especialmente en entrenudo y longitud de la epicastro, dos factores que confieren características diferenciales al tipo de la rama floral (Figura 2. 1 y Figura 2. 3). A pesar de estas diferencias marcadas (Torres *et al.*, 2012b), la presente clasificación fenológica incluye la determinación de aspectos simples tales como la observación o no de yemas axilares o presencia de botones florales. Esto hace a esta clave muy versátil para su uso en diferentes ecotipos, basándose principalmente en el progreso del desarrollo de las yemas axilares (Tabla 2. 2).

2.4.2. Fenofases críticas de *Origanum* ssp. y requerimiento térmico

Esta clave también se pudo utilizar para hacer un enfoque cuantitativo y evaluar las diferencias entre las subespecies en relación a los requerimientos térmicos hasta estadios fenológicos críticos. Así, a través de esta escala se estudiaron los requerimientos de tiempo térmico para las fenofases V_3 y R_6 , y se centró en las posibles diferencias entre los genotipos, particularmente en términos de tasa de desarrollo.

El progreso fenológico estuvo representado adecuadamente por un modelo logístico basado en el tiempo térmico. El ciclo más corto y el menor requerimiento térmico tanto de la plena como del inicio de floración en “O. Compacto”, se explicó a través de su llegada más temprana a R_6-i y **pleno- R_6** (Tabla 2. 3), demostrando su mayor tasa de desarrollo respecto a “O. Criollo” (Figura 2. 4).

Determinar a la etapa de transición como fenofase específica V_3 fue de particular interés ya que la misma representa el fin de la etapa vegetativa del cultivo. Esta fenofase

se asocia al momento del ciclo en que la velocidad de madurez comienza a desacelerarse, probablemente debido a que los órganos florales están desarrollándose.

En correspondencia con el menor requerimiento térmico de la fenofase de floración, el cambio anticipado a la etapa reproductiva por parte de “O. Compacto” ($P \leq 0,05$; Figura 2. 5 y Tabla 2. 4), evidencia su mayor precocidad.

Teniendo en cuenta la totalidad de la curva en el modelo reproductivo se puede observar que ambas subespecies comienzan a diferenciarse una de otra con anterioridad al punto de inflexión, aproximadamente a los 900 °Cd en “O. Compacto”, y a los 1100 °Cd en “O. Criollo”, valores similares a los estimados para V_3-i . Por consiguiente, la fenofase de transición V_3 puede ser ya visualizada en el modelo reproductivo.

A pesar de que los parámetros de ajuste del modelo vegetativo fueron adecuados en términos estadísticos, biológicamente el modelo no estima valores correctos respecto al *plateau* de la curva, esto es, la plenitud del estadio V_3 , registrándolo en un momento muy avanzado del ciclo del cultivo, semejante al de inicio de floración. Esto se atribuye a las características propias de la especie en cuanto a su perennidad, lo cual hace que nuevos rebrotes aparecen continuamente hasta en los comienzos del periodo de floración. Además, el corto periodo de desarrollo vegetativo y el gran solapamiento entre crecimiento vegetativo y reproductivo de la especie, dificultó una clara visualización de V_3 en su plenitud. Sin embargo, esto no impidió una adecuada descripción de este macroestadio, habiéndose demostrado claramente las diferencias entre subespecies en cuanto al inicio de la fase V_3 (esto es, V_3-i).

En esta oportunidad, el desarrollo *Origanum ssp.* fue estudiado bajo condiciones naturales de un ciclo de cultivo, desde finales de invierno a principios de verano, con un fotoperíodo medio de 13h (Tabla 2.1). Este género ha demostrado ser sensible al fotoperíodo, como planta de día largo (Circella *et al.*, 1995). En consecuencia, surge la hipótesis de que las diferencias genotípicas halladas en cuanto al requerimiento térmico hacia fenofases críticas podrían estar asociadas a respuestas fotoperiódicas diferenciales. Al respecto, cabe recordar que “O. Compacto” sólo florece una vez, a fines de primavera, mientras que “O. Criollo”, lo hace a mediados de verano y también a fines de esta estación. Esto sugiere que la sensibilidad fotoperiódica y por ende la respuesta

ante la longitud del día varía entre las subespecies, existiendo diferencias en el momento y umbral de inducción a floración. “O. Compacto” sólo se induce una vez y necesita exclusivamente de días alargándose, por lo cual su respuesta fotoperiódica es de tipo cualitativa de día largo. Mientras que “O. Criollo” se vuelve a inducir a fines de verano, es decir, con días aún largos aunque acortándose, por lo cual su respuesta en este caso es de tipo cuantitativa de día largo (Taiz y Zeiger, 2006).

En el capítulo siguiente se profundizará sobre la influencia que tendría el fotoperiodo sobre el requerimiento térmico, pues este enfoque ofrece una herramienta para caracterizar cuantitativamente estos aspectos.

2.5. CONCLUSIONES

En base a observaciones secuenciales de desarrollo del cultivo de orégano y, a pesar de las diferencias en la morfología y duración del ciclo entre subespecies de *Origanum vulgare*, pudo construirse una clave fenológica sencilla. A través de esta clave el ciclo del cultivo puede ser dividido en dos macroestadios (V y R) con sus correspondientes fases fenológicas, desde **V₀** a **V₃**, hasta **R₄** a **R₆**.

El desarrollo fenológico fue adecuadamente determinado a través de modelos de tipo sigmoides, a partir de los cuales se pudieron estimar las fenofases críticas (**V₃** y **R₆**).

El tiempo térmico requerido hasta plena floración (**R₆**) fue menor en “O. Compacto” (2260 °Cd) que en “O. Criollo” (2345 °Cd), confirmando parcialmente lo establecido en las hipótesis iniciales de la presente tesis, esto es, las diferencias genotípicas en cuanto a duración del ciclo del cultivo responden a diferencias en requerimientos térmicos (ver hipótesis a y b, Capítulo 1, pág. 14). Esta precocidad de “O. Compacto” correlacionó con una transición crecimiento Vegetativo/Reproductivo anticipada. A pesar de que los modelos fueron lo suficientemente precisos para predecir los requerimientos de tiempo térmico en todo el ciclo del cultivo, estudios adicionales serían necesarios para explorar si las diferencias entre las subespecies podrían estar relacionadas con una respuesta fotoperiódica genotipo-dependiente. Esto será analizado en el siguiente capítulo.

La formación de una clave fenológica específica para orégano y la modelación cuantitativa de su desarrollo contribuyen a poder estimar rápidamente la madurez y el estado fenológico del cultivo así como también a un mejor entendimiento de los aspectos ecofisiológicos que subyacen el crecimiento y el rendimiento del género *Origanum*.

RESPUESTA FOTOPERIÓDICA DEL CULTIVO DE ORÉGANO

3.1. INTRODUCCIÓN

La calidad de la cosecha en orégano depende exclusivamente de la proporción de órganos florales, ya sea que el objetivo de producción sea para hierba seca como la extracción de su aceite esencial o de extractos (ISO, 1999). Por lo tanto uno de los factores que definen la productividad en orégano es la cantidad de biomasa acumulada hasta el momento de cosecha, y consecuentemente, su partición hacia órganos florales (Lenardis *et al.*, 2006). La temperatura y el fotoperíodo son los principales factores ambientales que determinan la cantidad de biomasa total producida en los cultivos, ya que regulan tanto la tasa de crecimiento como la duración del ciclo de crecimiento (Ritchie y NeSmith, 1991). En el caso de orégano, existe variabilidad intraespecífica en la duración del período brotación-floración (Davidenco *et al.*, 2015; Lenardis *et al.*, 2006). Sin embargo no ha sido constatado si la respuesta tanto a temperatura como a fotoperíodo difiere entre las distintas subespecies.

Asimismo, la calidad del producto cosechado tiene una relación directa con el contenido de aceite esencial, el cual es máximo en floración (Berghold *et al.*, 2008; Kizil *et al.*, 2008; Sellami *et al.*, 2009). Es así que la etapa de floración es una de las etapas que finalmente determinarán la productividad del cultivo, ya sea en términos de rendimiento en biomasa o de aceite esencial.

Los factores que regulan el evento de floración en orégano son poco claros. A pesar de que esta especie ha sido clasificada como planta de día largo (Circella *et al.*, 1995; Dudai *et al.*, 1989), estudios previos manifiestan la existencia de cierta variabilidad tanto en la ocurrencia de la floración (número de veces que se produce en el año), como en el momento de la misma (época) (Davidenco *et al.*, 2015; Suárez, 2004). Esto sugiere que la sensibilidad fotoperiódica y por ende la respuesta ante la longitud

del día varía entre las distintas poblaciones de orégano, por lo cual es necesario profundizar el estudio del proceso de determinación de la floración.

El objetivo de este capítulo es evaluar en dos subespecies tradicionales de orégano, la influencia del fotoperíodo sobre el desarrollo en términos de duración de fases fenológicas críticas, y sobre su productividad de biomasa y aceite esencial.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Material biológico y Diseño Experimental

Al igual que en el Exp. 1 (Capítulo 2), la respuesta fotoperiódica del cultivo se evaluó sobre el mismo material biológico y durante dos años sucesivos de producción (C1 y C2). En este Experimento 2 (Exp. 2) se incluyó el tratamiento de Fotoperiodo como fuente de variación.

A través de la prolongación artificial del fotoperíodo, se evaluó la sensibilidad fotoperiódica y su incidencia en el desarrollo, en la duración de fases fenológicas y en la dinámica de crecimiento. A continuación se detallan los niveles de tratamiento resultantes:

Tratamiento Fotoperíodo: Dos niveles de fotoperíodo, natural (FN) y extendido en seis horas (FE). Estos tratamientos fueron impuestos desde el 7 de septiembre (C1), y 9 de septiembre (C2) con un fotoperíodo actual promedio de 12,5 h. y se prolongaron hasta el 14 de diciembre (C1), y 16 de diciembre (C2), con un fotoperíodo actual promedio de 15,1 h. Para la extensión de las horas de luz, se fijaron dos tubos fluorescentes de baja intensidad en un armazón portátil de acrílico. Dicha estructura se colocó sobre estacas en el suelo a una altura de 90 cm. (Figura 3. 1).



Figura 3. 1. Experimento 2. Respuesta fotoperiodica de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Ciclo 2. Campo Escuela de la FCA-UNC, Capilla de los Remedios, Córdoba, Argentina.

Los tubos fueron conectados a un temporizador que de manera automática reguló el encendido y apagado de las luces. De modo tal de mantener una diferencia de 6 horas con FN, el temporizador fue regulado semanalmente teniendo en cuenta el fotoperíodo actual. Para el C1, las macetas del tratamiento FE fueron colocadas debajo de la estructura lumínica, y en el caso del C2, las plantas fueron transplantadas por fuera de la misma para corregir posibles efectos de carga térmica. La radiación provista por dicha estructura sólo incrementó en un 2% a la radiación solar actual en un día soleado.

Tratamiento Subespecie: i) “O. Compacto” (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare*), y ii) “O. Criollo” (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw.). Estas subespecies presentan diferencias en el patrón de floración.

El diseño experimental fue en parcela dividida con tres repeticiones, donde la parcela principal fue el tratamiento de Fotoperíodo (FN y FE) y la subparcela las subespecies (“O. Compacto” y “O. Criollo”). Las unidades de observación fueron todos los tallos para las variables fenológicas y de biomasa, mientras que para longitud de tallo y número de nudos fue un tallo elegido al azar por planta.

Para el seguimiento fenológico y cálculo de tiempo térmico se utilizó el mismo criterio explicado en el Capítulo 2.

3.2.2. Parámetros evaluados

- a. Fenología: se contabilizó la cantidad de tallos en cada *MS* y se registró semanalmente el *MSp* definiéndolo a través de la categoría de tallos mayoritaria (Ver Capítulo 2).
- b. Tiempo Térmico (TT, °Cd): calculado para las fenofases **V₃** y **R₆**, como la sumatoria de la diferencia entre la T° media diaria y la T base del cultivo (en este caso, 0 °C), a partir del inicio de los registros fenológicos. La temperatura media del sitio experimental fue registrada por una casilla meteorológica ubicada a 200 m del ensayo.
- c. Número de Nudos (N°Nd): Se relevó durante el ciclo 2, en un tallo por planta, en tres plantas por UE a partir del 14 de septiembre y hasta que cada UE llegó hasta **R₆**, con una frecuencia semanal.
- d. Longitud de tallo (LT, cm): Se midió durante el ciclo 1, en cada unidad experimental, en dos tallos elegidos al azar por cada UE, a partir del 14 de septiembre y hasta que cada UE llegó hasta **R₆**, con una frecuencia semanal.
- e. Biomasa total por planta (BP) y por Tallo promedio ($B_{\text{Tal}} = \text{biomasa total de planta/n}^\circ \text{ tallos}$), en gramos de peso seco, medidas en momento de cosecha (**R₆**).
- f. Contenido de AE (% peso seco) se determinaron en plena floración. El aceite esencial se obtuvo mediante destilación por arrastre con vapor de agua (Evans y Trease, 1995; Robbers *et al.*, 1996), utilizando extractores de esencias de acuerdo a los métodos farmacognósticos de Farmacopea Argentina (2003). La cantidad obtenida se midió por lectura del tubo graduado del equipo de destilación.

3.2.3. Análisis Estadístico

Para determinar la evolución fenológica de cada combinación de tratamiento, la proporción relativa de los tallos en *MS* 3 y 6 de cada planta en cada UE se representó gráficamente en función de tiempo térmico acumulado. Curvas de progreso fenológico se describieron mediante análisis gráficos, teniendo en cuenta la forma de las curvas y el inicio de *MS* 3 y 6. Se ajustaron modelos logísticos de la misma manera que lo hecho en el Capítulo 2 (Ecuación 2. 1), de modo tal de comparar el efecto fotoperiódico sobre la evolución de la fenología. El efecto individuo (planta) sobre el modelo de progreso fenológico fue considerado aleatorio y se introdujo en mismo para tener en cuenta la correlación longitudinal en los datos registrados sobre una misma planta, ya que las mediciones fueron repetidas en el tiempo sobre la misma UE. Los tratamientos se compararon a través de los parámetros estimados **V_{3-i}**, **pleno-V₃**, **R_{6-i}**, y **pleno-R₆**, con las mismas funciones que las citadas en el Capítulo 2 (Ecuación 2. 2 y Ecuación 2. 3).

El efecto de la subespecie sobre los parámetros estimados se evaluó mediante ANAVA y para la comparación de medias se utilizó el test LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5% (Di Rienzo *et al.*, 2014). Como criterios de bondad de ajuste de los modelos fenológicos se utilizó la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE) y el coeficiente de correlación de Pearson para medir la fuerza de la asociación las proporciones observadas y predichas por los modelos.

En cuanto a variables de crecimiento, se analizaron a través de ANAVAS según diseño en parcelas divididas. Para la comparación de medias se utilizó el test LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5%. También se realizaron regresiones lineales explicando el crecimiento en función del tiempo a través de la variable LT, para cada condición de fotoperíodo.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Modelado del desarrollo fenológico, respuesta fotoperiódica y su incidencia en los requerimientos térmicos

Bajo condiciones de fotoperiodo extendido, la evolución fenológica de los macro-estadios V y R fue adecuadamente descrita por modelos logísticos (ver Ecuación 2. 1, Capítulo 2). Ambos ecotipos respondieron al aumento del fotoperíodo con la reducción tanto de la longitud de su ciclo como del periodo vegetativo, lo cual se vio reflejado en las curvas de progreso fenológico anticipadas de FE respecto a FN (Figura 3. 2 y Figura 3. 3).

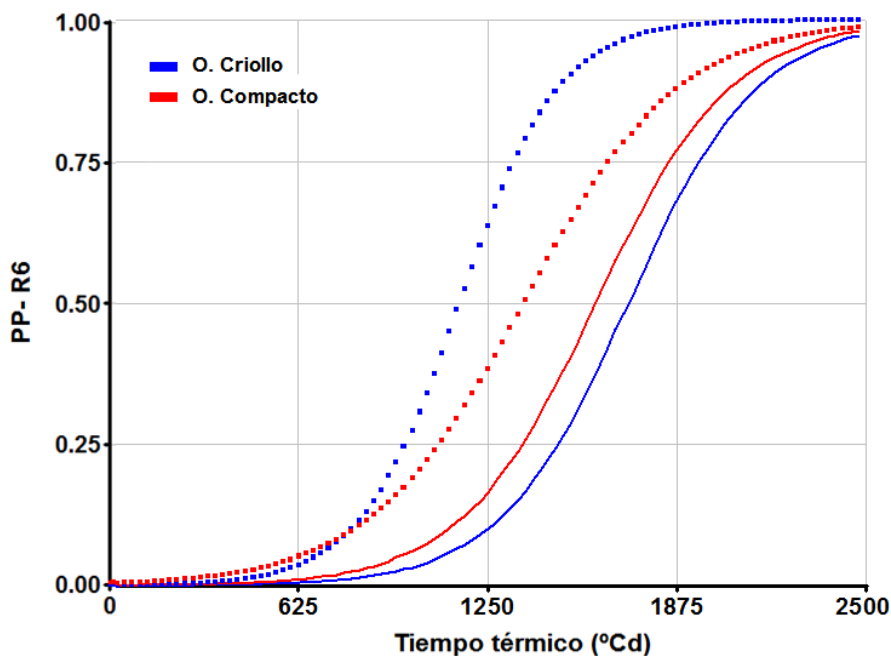


Figura 3. 2. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Reproductivos en términos de proporción de plantas (PP) en R_6 , ajustado en dos subespecies de *Origanum vulgare* ("O. Compacto" y "O. Criollo"), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN) en líneas continuas; y Fotoperiodo extendido (FE) en líneas discontinuas. Experimento 2.

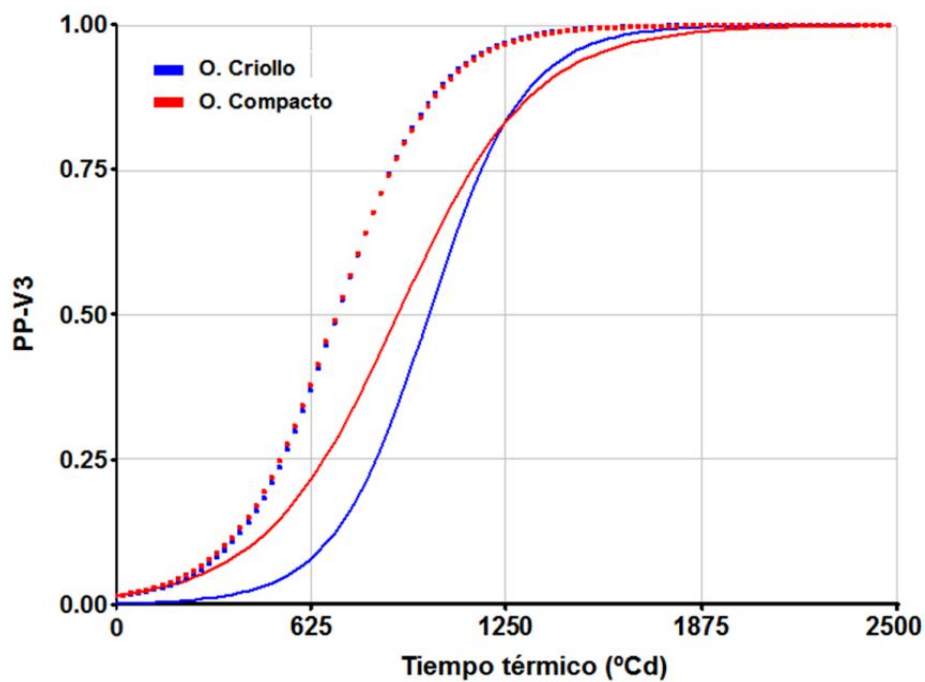


Figura 3. 3. Modelo de Evolución Fenológica de estadios Vegetativos en términos de proporción de plantas (PP) en V_3 , ajustado en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Línea continua, FN; Línea discontinua, FE.

Asimismo, la interacción entre los factores *subespecie* y *fotoperiodo* fue significativa (valor $p < 0.0001$) en la determinación del tiempo térmico, confirmando entonces que si bien ambas subespecies redujeron su requerimiento hacia las fenofases críticas V_3 y R_6 , existió un efecto genotípico diferencial en la magnitud de dicho acortamiento (Figura 3. 4).

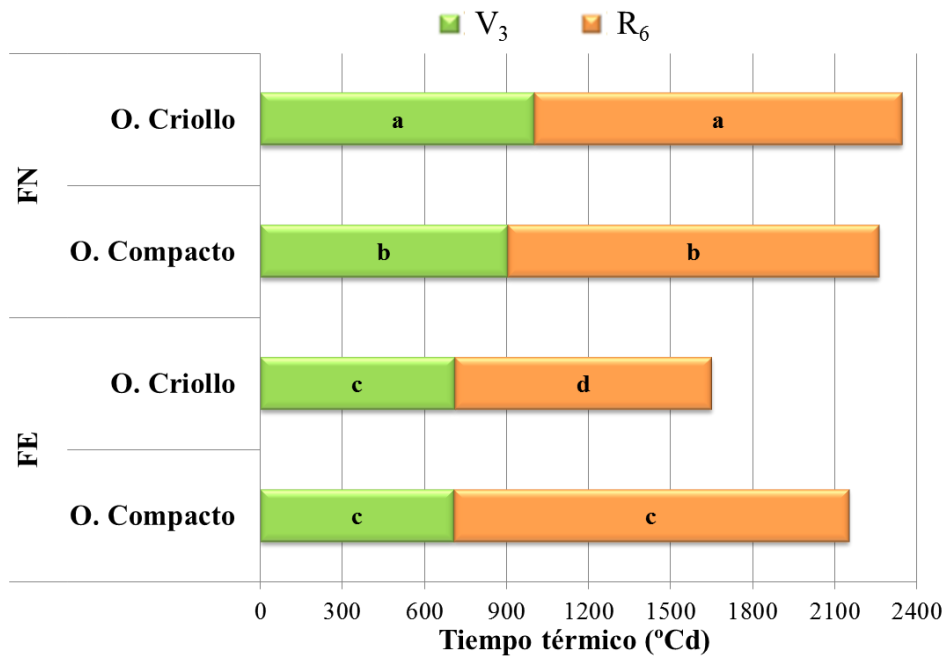


Figura 3. 4. Tiempo Térmico acumulado (°Cd) desde el inicio del ensayo hasta el final del periodo vegetativo (V_3) y hasta el final del ciclo (R_6), para dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiodicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Letras distintas dentro de V_3 y R_6 indican diferencias estadísticamente significativas entre cada combinación de *fotoperiodo*subspecie*, según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

Respecto a los parámetros estimados, “O. Criollo” comenzó la fenofase de plena floración aproximadamente 220 °Cd antes que “O. Compacto” (R_6-i), diferencia que se incrementó al final del ciclo en aproximadamente 500 °Cd (**pleno- R_6** ; Tabla 3. 1). La duración del periodo de crecimiento vegetativo, por el contrario, no detectó diferencias estadísticamente significativas en la respuesta fotoperiódica de cada subespecie (Tabla 3. 2). Aun así, los resultados observados en el modelo reproductivo sugieren que bajo condiciones de Fotoperiodo Extendido, el umbral fotoperiódico de inducción a floración es menor en “O. Criollo” puesto que la magnitud del acortamiento de su ciclo fue considerablemente mayor.

Tabla 3. 1. Parámetros del modelo logístico ajustado para la evolución de estadios Reproductivos en dos subespecies de *Origanum vulgare*, bajo condiciones de fotoperiodo extendido. Los puntos críticos de la curva **R_{6-i}** y **Pleno-R₆** indican el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la plena floración y hasta plena floración, respectivamente en función del tiempo térmico acumulado.

Parámetros	“O. Compacto”	“O. Criollo”
β	214.22 ± 84.6	1203.82 ± 567.7
γ	3.917 ± 0.351	6.125 ± 0.463
R_{6-i}	1387.0 ± 18.6 a	1165.3 ± 11.7 b
Pleno-R₆	2147.9 ± 28.8 a	1649.0 ± 16.6 b

Letras distintas entre columnas indican medias estadísticamente diferentes según Prueba T de Student ($P \leq 0.05$).

Tabla 3. 2. Parámetros (\pm Error Estándar) del modelo logístico ajustado para la evolución de estadios Vegetativos en dos subespecies de *Origanum vulgare*, bajo condiciones de Fotoperiodo Extendido. El punto crítico de la curva **V_{3-i}** indica el tiempo térmico acumulado hasta el comienzo de la fenofase de transición **V₃**.

Parámetros	“O. Compacto”	“O. Criollo”
β	79.98 ± 47.4	93.20 ± 49.5
γ	6.203 ± 0.927	6.392 ± 0.913
V_{3-i}	707.6 ± 6.5 a	714.1 ± 9.7 a

Letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Prueba T de Student ($P \leq 0.05$).

En cuanto al ajuste de los modelos, el modelo reproductivo mostró mejores coeficientes de correlación y menores valores de RMSE que el modelo vegetativo (Tabla 3. 3). Esto puede deberse seguramente a las mismas dificultades que las encontradas en el modelo vegetativo bajo FN, en donde tanto la perennidad de la especie y su continua generación de rebrotes, en combinación con el solapamiento de etapas vegetativas y reproductivas, y el corto periodo de crecimiento vegetativo, dificultaron la estimación de la plenitud del estadio **V₃**.

Tabla 3. 3. Bondad de Ajuste de los modelos logísticos ajustados bajo condiciones de fotoperiodo extendido para el estudio de la evolución fenológica reproductiva y vegetativa del cultivo, en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”).

Criterio de ajuste	Modelo Reproductivo		Modelo Vegetativo	
	“O. Compacto”	“O. Criollo”	“O. Compacto”	“O. Criollo”
r	0.91	0.97	0.54	0.62
RMSE	0.1492	0.1204	0.2109	0.1630

3.3.2. Respuesta fotoperiódica y su incidencia en la producción de biomasa y Aceite Esencial (AE)

Respecto a la productividad en términos de biomasa acumulada y producción de AE, los resultados se expresan en la Tabla 3. 4. La variable biomasa por tallo (B_{Tall}) mostró interacción *subespecie*fotoperiodo* significativa, mientras que para las variables número de nudos por tallo ($N^{\circ}Nd$) y contenido de AE (% en Peso Seco) los efectos genotípicos y fotoperiódicos actuaron de manera independiente, sin interacción entre ambos.

Tabla 3. 4. Nudos por Tallo (N°Nd), Biomasa por Tallo (g; B_{Tallo}) y Producción de AE (% PS), en dos subespecies de *Origanum vulgare* (“O. Compacto” y “O. Criollo”), según dos condiciones fotoperiodicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE).

Análisis de la Varianza	N°Nd	B _{Tallo}	AE
<i>Fotoperiodo</i>	0,006	<0,0001	0.0247
<i>Subespecie</i>	0,012	ns	0.0476
<i>Subespecie * Fotoperiodo</i>	ns	<0,0001	ns
Fotoperiodo			
FN	22 a	1,27 a	2.04 a
FE	26 b	0,64 b	2.67 b
Subespecie			
“O. Compacto”	22 a	0,95	2.62 a
“O. Criollo”	26 b	0,96	2.09 b
Interacción de Tratamientos			
“O. Compacto” * FN	20	1,48 a	2,23
“O. Criollo” * FN	23	1,06 b	1,86
“O. Compacto” * FE	24	0,43 d	3,02
“O. Criollo” * FE	29	0,86 c	2,33

Nota: Letras distintas entre cada combinación de *Subespecie*Fotoperiodo*, indican diferencias estadísticamente significativas según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$), y entre cada factor separado (*Fotoperiodo* o *Subespecie*), según Prueba T de Student ($P \leq 0.05$).

Analizando el proceso de generación de biomasa, bajo FN, “O. Compacto” exhibió mayor B_{Tallo} que “O. Criollo”, pero ante condiciones de FE esta variable se vió reducida en ambos genotipos. En este sentido, “O. Compacto” manifestó dicha disminución en mayor proporción que “O. Criollo”, delatando la interacción significativa entre factores.

Por otro lado, B_{Tallo} está conformado por la sumatoria del número de nudos por tallo, que es indicador de la biomasa de hojas, y la biomasa del tallo propiamente dicho. En este sentido, N°Nd aumentó ante condiciones de FE. Resultados similares se encontraron en otras especies de día largo como trigo y cebada (Cao y Moss, 1989; Slafer *et al.*, 1994), en donde la tasa de aparición de hojas se ve incrementada con el

aumento de las horas de luz. Así, en orégano el filocrono fue menor ante estas condiciones, es decir, presentó menor requerimiento térmico para la aparición de hojas.

En cuanto a las diferencias genotípicas en N°Nd “O. Criollo” diferenció mayor cantidad bajo cualquier condición fotoperiódica, al igual que lo observado por Torres *et al.* (2012b). Por lo tanto si se considera la respuesta fotoperiódica en cuanto a la biomasa de tallo, el mayor valor de B_{Tall} de “O. Criollo” bajo FE se explica por su mayor cantidad de nudos y consecuentemente mayor biomasa de hojas.

Otro de los factores que también explica la acumulación de biomasa es la longitud de los tallos. En el ciclo 1, esta variable también se vio reducida ante condiciones de FE (Figura 3. 5) por lo cual, a pesar de que la prolongación de horas de luz generó una mayor diferenciación de nudos en ambas subespecies, esto no redundó en una mayor biomasa en ninguna de las subespecies bajo tales condiciones.

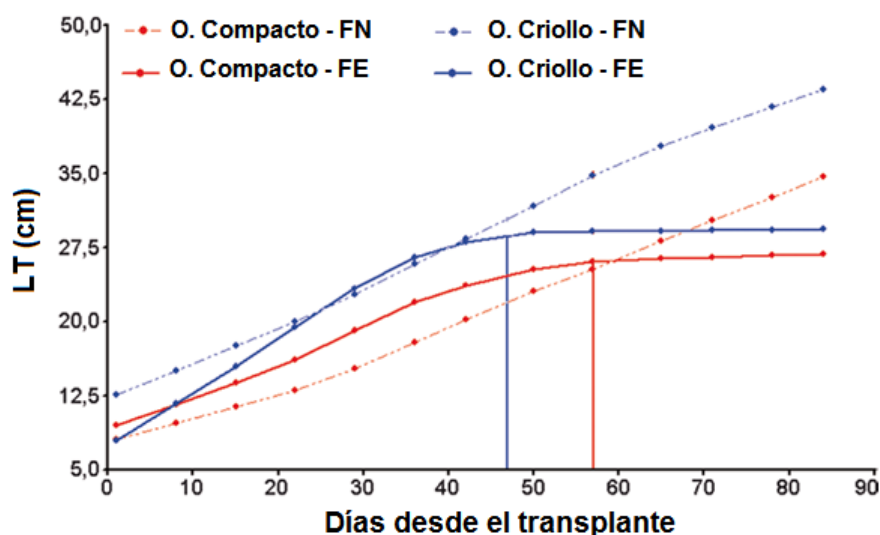


Figura 3. 5. Evolución de la longitud del tallo (LT, cm) en función de los días desde el transplante para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos niveles de fotoperíodo (FN, natural; FE, extendido).

Sumado a esto, el acortamiento del ciclo del cultivo (Figura 3. 4) también explicó la menor B_{Tall} , ya que generó la transición anticipada entre el periodo vegetativo y reproductivo. Rápidamente dichos nudos produjeron flores frenando la elongación de los tallos.

En cuanto a producción de AE, al no haber interacción significativa entre subespecies y fotoperíodo (Tabla 3. 4), el análisis de la variable se analiza considerando al efecto subespecie y fotoperíodo por separado. Es así que “O. Compacto” exhibió mayor contenido (2,6%) que Criollo (2,1%), y ante FE, el contenido de AE aumentó un 30% respecto al FN. Este incremento puede deberse a la mayor proporción de flores por unidad de biomasa, dado que en FE la B_{Tall} siempre fue menor. Además confirma lo sucedido en otras especies como menta, que manifiesta mayor producción de esencia ante incrementos en la longitud fotoperiódica (Fahlén *et al.*, 1997).

3.4. CONCLUSIONES

La extensión de las horas de luz a las cuales se expuso el cultivo afectó de manera significativa los parámetros de desarrollo de ambas subespecies de orégano, y de productividad tales como biomasa y rendimiento de aceite esencial.

La respuesta fotoperiódica describió el típico comportamiento de las plantas de día largo ya que, bajo condiciones de fotoperiodo extendido, acortaron el tiempo a floración. Esto tuvo consecuencias en la cantidad de biomasa acumulada, en donde al reducir el tiempo de generación de la misma, su rendimiento fue menor. Entre subespecies, la duración del periodo vegetativo se manifestó similar entre ambas, pero “O. Criollo” anticipó su floración al “O. Compacto” por lo cual exhibió mayor sensibilidad fotoperiódica en cuanto al acortamiento del ciclo.

En cuanto a aspectos productivos, el fotoperiodo extendido generó cambios en el patrón de acumulación de biomasa de distinta magnitud según la subespecie. En tal sentido, “O. Compacto” fue más sensible al fotoperiodo ya que disminuyó en mayor medida su biomasa, como consecuencia de una menor diferenciación de nudos y menor longitud de tallos. Por otro lado, la prolongación de las horas de luz incrementó la producción de AE y el “O. Compacto” produjo mayor cantidad de AE bajo cualquier condición fotoperiódica.

Estos resultados destacan la existencia de variabilidad genotípica en la respuesta fotoperiódica del orégano entre las diferentes subespecies. La hipótesis planteada acerca de la mayor sensibilidad fotoperiódica de “O. Compacto” (ver hipótesis c, Capítulo 1, pág. 14), se rechaza parcialmente puesto que si bien “O. Compacto” sí resultó más sensible en cuanto a los parámetros productivos, “O. Criollo” manifestó un mayor impacto de la extensión fotoperiódica frente al acortamiento del ciclo.

ANATOMÍA DE LA TRANSICIÓN FLORAL EN ORÉGANO EN RESPUESTA A VARIACIONES EN EL FOTOPERIODO

4.1. INTRODUCCIÓN

En orégano existen vacíos de conocimiento respecto al proceso de determinación de la floración. Anatómicamente, los cambios cualitativos que se generan a nivel meristemático en una planta marcan el inicio de la fase reproductiva. En la mayoría de los cultivos la coincidencia de eventos externos con cambios a nivel meristemático no es estricta (Slafer *et al.*, 2003), por lo cual fenológicamente dicho momento no suele ser fácilmente detectado, ya que transcurre un tiempo desde que se diferencia un órgano floral hasta que el mismo se manifiesta externamente (Tooke y Battey, 2010). Además, dicho tiempo responde a factores tanto genéticos como ambientales existiendo también interacción entre ambos (Cárcova *et al.*, 2003; Coupland, 1995). Teniendo en cuenta que la fenología tiene que ver con el calendario de eventos en el ciclo de un cultivo, en orégano, sería de importancia lograr un paralelismo entre caracteres fenológicos y actividad meristemática.

En diversas especies, la caracterización del proceso de diferenciación floral y la duración del mismo, se consideran de interés para llegar a conocer los factores que participan en la iniciación del mismo (Osuna Enciso *et al.*, 2000). En *Prunus*, Buban y Faust (1982), encontraron que el primer síntoma de la diferenciación floral corresponde al aplanamiento del ápice meristemático seguido por la aparición de los primordios de sépalos. Las etapas posteriores del proceso morfogénico consisten en la diferenciación de los restantes ciclos florales, y en muchas especies suele producirse en sentido acrópeto (Esau, 1982; Fahn, 1982; Meza y Bautista, 2005).

La manera en que se produce este proceso de transición define la disposición de las flores sobre las ramas o la extremidad del tallo, y la morfología final de la rama

floral. Al respecto, el género *Origanum*, posee flores en espigas de verticilastros densas, reunidas en epicastros globosos y/o alargados, los cuales conforman inflorescencias de tipo corimbiformes terminales (Mosquero *et al.*, 2005; Rouquaud y Videla, 2000).

En cuanto a los factores que regulan la transición floral, la luz adquiere protagonismo al ser el orégano una especie de días largos (Circella *et al.*, 1995), ya sea de tipo cualitativa (“O. Compacto”) como cuantitativa (“O. Criollo”), como ya se observó en el Capítulo 3. Estas diferencias, manifiestan la existencia de cierta variabilidad en el umbral de inducción de la floración, y con ello se puede inferir que el proceso de formación de las inflorescencias podría diferir entre subespecies.

Así, conocer el momento en que se produce la transición floral considerando como referencia aspectos fenológicos, permitiría caracterizar con mayor precisión a las diferentes subespecies en términos de su sensibilidad fotoperiódica. Por lo cual el objetivo del presente capítulo fue analizar las características específicas del proceso de transición floral en *O. vulgare* ssp. *vulgare* y *O. vulgare* ssp. *hirtum* Ietsw. en términos anatómicos, en respuesta a los cambios fenológicos asociados a variaciones en el fotoperiodo.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Material biológico y Diseño Experimental

Como marco experimental se utilizó el diseño del Exp 2, con la salvedad de que este ensayo sólo se llevó a cabo en el C1. Asimismo, y considerando que el “O. Criollo” florece en dos oportunidades, sólo se estudió la primera inducción a floración, razón por la cual el ciclo es considerado desde septiembre hasta fines de diciembre (fin de 1° floración).

4.2.2. Evaluación anatómica de las yemas

Las yemas fueron evaluadas durante la etapa de crecimiento vegetativo, hasta llegado el momento de inducción a floración. Se recolectaron porciones terminales de los ejes principales a en tres momentos a partir del 14 de septiembre, fecha de inicio del ensayo de fotoperiodo: M1, 24 días desde el inicio del ensayo de fotoperiodo (DDI); M2, 36 DDI; y M3, 52 DDI. Dichos momentos de evaluación anatómica se seleccionaron en base al avance fenológico del tratamiento más precoz (Criollo*FE). Las yemas axilares del meristema de inflorescencia fueron evaluadas, fijadas en FAA (formol: ácido acético glacial: Etanol al 70%, 5:5:90 en volumen). Las yemas se seccionaron en 12 μm , y se confeccionaron preparados permanentes de cortes longitudinales seriados de yemas apicales y axilares utilizando la metodología convencional (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las secciones se tiñeron con Safranina-Azul Astral (Luque *et al.*, 1996). Las observaciones se realizaron a través de microscopio óptico (Zeiss Standar K, Oberkochen, Alemania), y se tomaron microfotografías con una cámara digital (Nikon Coolpix S10, Nikon, Tokio, Japón). Se evaluaron los cambios anatómicos de las yemas en estado vegetativo y reproductivo, y en estado de transición floral.

En cuanto a variables fisiológicas, se midió la duración de los periodos vegetativos y reproductivos en tiempo calendario y tiempo térmico ($^{\circ}\text{Cd}$), siguiendo las

mismas especificaciones que las citadas en el Capítulo 3, así como también el tiempo térmico acumulado hasta el estadio fenológico de transición. Asimismo se registró el tiempo térmico acumulado hasta cada momento de evaluación de yemas.

4.2.3. Análisis estadístico

Datos de tiempo térmico se sometieron a un ANAVA y la comparación de medias se realizó con la prueba LSD de Fisher con un nivel de significancia del 5% (Di Rienzo *et al.*, 2014).

4.3. RESULTADOS

El proceso de transición floral en orégano ocurrió gradualmente en sentido acrópeto, acompañando el desarrollo del meristema de inflorescencia que origina la futura rama floral. Este meristema es de crecimiento indeterminado, produce brácteas, y en sus axilas, meristemas florales, de crecimiento determinado y se repitió a lo largo de la rama floral (Figura 4. 1). El proceso de transición floral se produjo en una dirección acrópeta lo largo del eje de la inflorescencia (Figura 4. 1). Por lo tanto, las yemas basales se encontraron en una fase avanzada de desarrollo, y la yema apical del meristema de la inflorescencia se mantuvo en estado vegetativo.

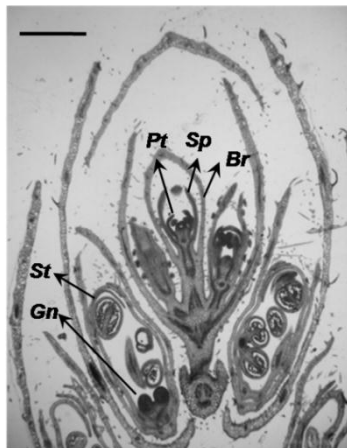


Figura 4. 1. Anatomía del meristema de inflorescencia de *Origanum vulgare* ssp. Br, brácteas del meristema floral; Sp, sepalos; Pt, pétalos; St, Estambres; Gn, gineceo. Barra = 700 μ m.

Anatómicamente la aparición de las piezas periánticas reproductivas ocurrió también en sentido acrópeto. A su vez, no hubo una estrecha coincidencia entre el momento de transición floral (meristemática) y el momento de llegada a la fase fenológica V_3 (de transición); para Compacto*FN, la transición del meristema se anticipó a V_3 , y en los restantes tratamientos fue posterior (Figura 4. 2).

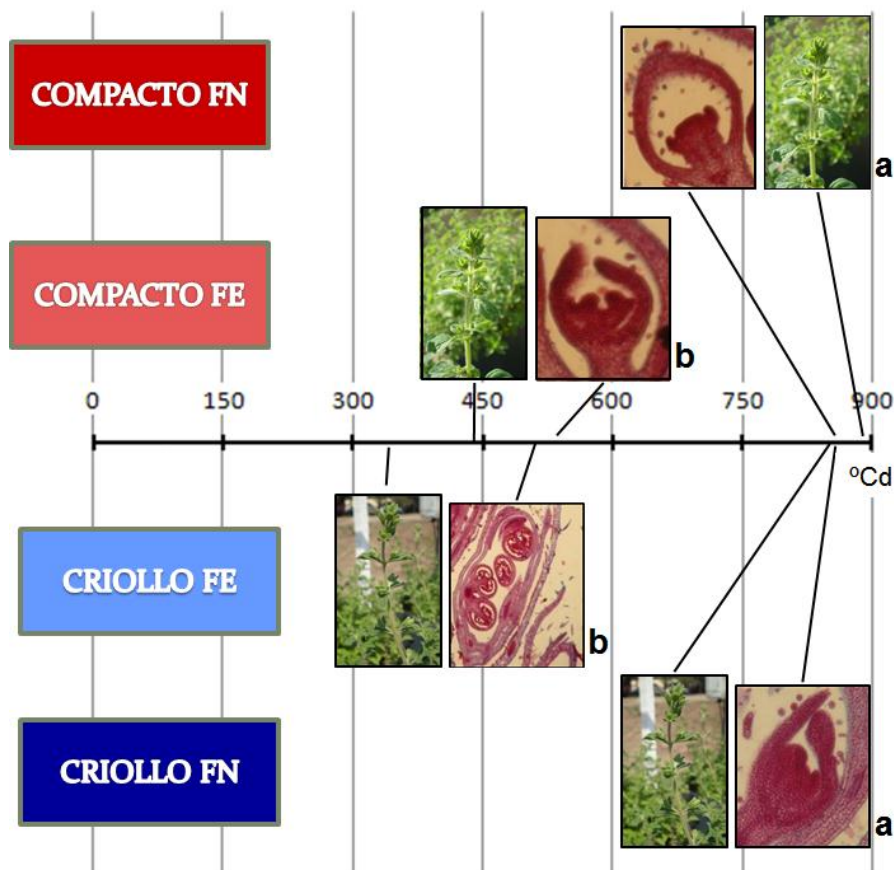


Figura 4. 2. Tiempo térmico acumulado ($^{\circ}\text{Cd}$) hasta la fase fenológica de transición (V_3) y hasta el meristema en estado de transición floral en función del tiempo térmico acumulado para dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo natural (FN), y Fotoperiodo extendido (FE). Letras distintas entre momentos de V_3 indican diferencias estadísticamente significativas entre cada combinación de *fotoperiodo*subspecie*, según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

Sin embargo, respecto al tratamiento fotoperiódico, el análisis anatómico-fenológico, confirmó la mayor respuesta fotoperiódica de “O. Criollo” en condiciones de FE, quien anticipa su transición floral, explicando la mayor precocidad de su ciclo bajo tales condiciones (Figura 4. 2).

El análisis anatómico de las yemas recolectadas 24 DDI mostró que en todos los tratamientos las yemas estaban en fase vegetativa, con un meristema apical en forma de cúpula con primordios de hoja (Figura 4. 3), aunque en el análisis fenológico “O. Criollo” bajo FE ya se había determinado en la fenofase de transición V_3 (Figura 4. 2).

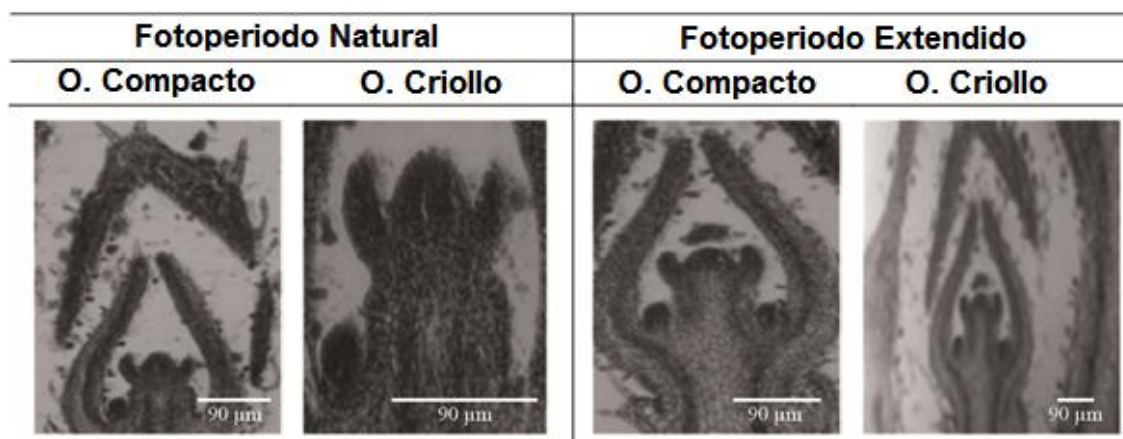


Figura 4. 3. Anatomía de yemas axilares a 24 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 360 °Cd, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).

A los 36 DDI, las yemas bajo FN se mantuvieron en estado vegetativo. Sin embargo bajo FE, ya se observó comienzo de la transición floral en ambas subespecies; en “O. Criollo” esta respuesta fue más pronunciada ya que incluso se observó la formación de los estambres (Figura 4. 4). “O. Compacto” en cambio, presentó el ápice aplanado y los mamelones de los sépalos formados. La transición floral de “O. Criollo” se cumplió de manera anticipada a la de “O. Compacto” y en consecuencia su requerimiento térmico estuvo por debajo de los 554 °Cd (Figura 4. 2).

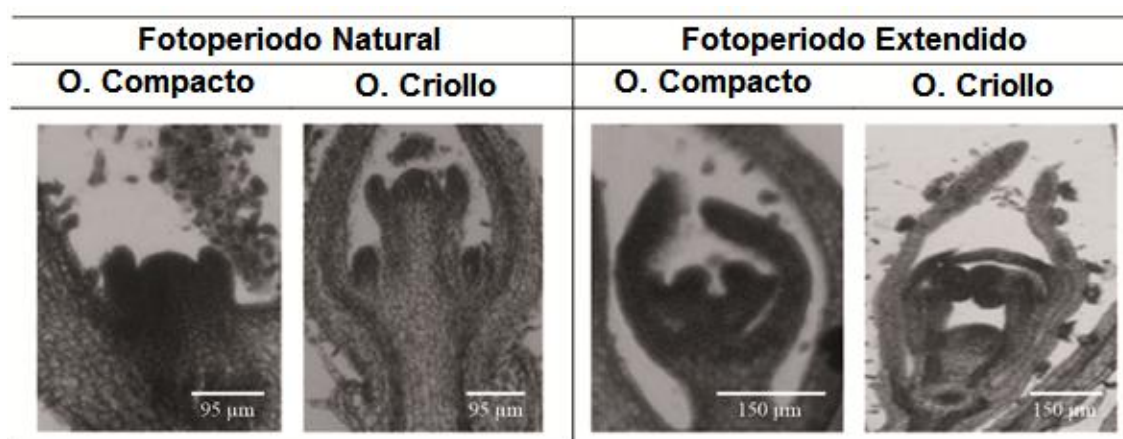


Figura 4. 4. Anatomía de yemas axilares a 36 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 554 °Cd, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).

A los 52 DDI, en ambas subespecies bajo FN, todos los meristemas se encontraron en estado reproductivo, aunque sin llegar a la plena madurez. Es decir, “O. Compacto” mostró el ápice aplanado y “O. Criollo” ya manifestó esbozos de ciclos florales pero sin llegar a la plena madurez (Figura 4. 5). Por lo tanto, la transición floral en condiciones naturales se produjo alrededor de los 864 °Cd para ambas subespecies. En el caso del tratamiento FE, como ya se manifestó en el muestreo anterior, los ápices de ambas subespecies mostraron ciclos florales completos y maduros, siempre con una tendencia de madurez anticipada de “O. Criollo” respecto a “O. Compacto”.

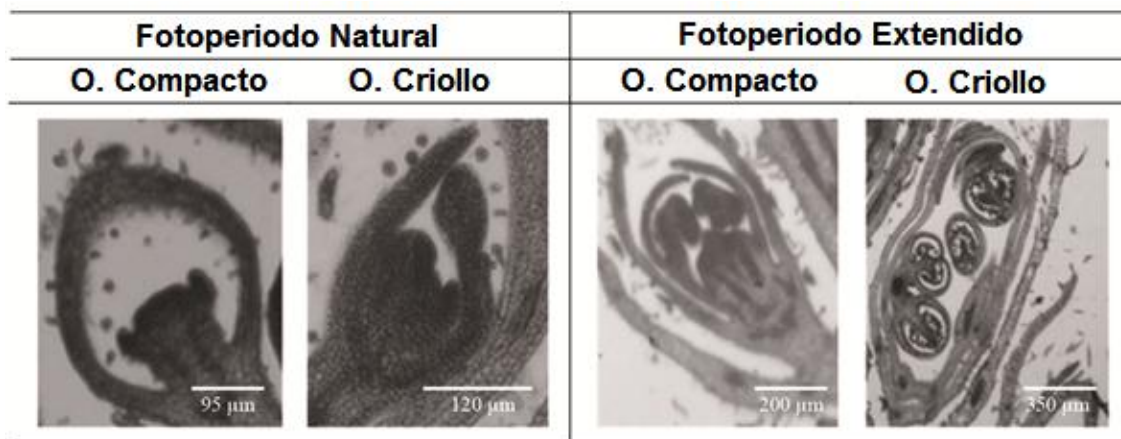


Figura 4. 5. Anatomía de yemas axilares a 52 DDI (días después del inicio del ensayo), con un tiempo térmico acumulado de 864 °Cd, en dos subespecies de Orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”), bajo dos condiciones fotoperiódicas, Fotoperiodo Natural (FN), y Fotoperiodo Extendido (FE).

4.4. DISCUSIÓN

El análisis comparativo entre la fase fenológica de transición (V_3) y el desarrollo de la yema hacia su transición floral mostró diferencias en la sincronización entre la manifestación externa, y el cambio de meristema de vegetativo a reproductivo. En este sentido, en algunos casos la transición floral se retardó con respecto a V_3 , como en “O. Criollo” bajo FE (Figura 4. 2 y Figura 4. 3); en otros casos, el inicio de V_3 fue bastante retrasado con respecto al proceso de transición floral, tal como en “O. Compacto” bajo FN (Figura 4. 2 y Figura 4. 5). Este asincronismo tuvo dependencia con el régimen fotoperiódico y la respuesta diferencial de cada subespecie, y es coherente con la ya reportada complejidad de interacciones genético-ambientales que obstaculizan la definición del proceso de floración (González *et al.*, 2002; Mouradov *et al.*, 2002).

Los primeros estadios de diferenciación floral de las yemas se reconocieron por el alargamiento del eje principal de las mismas tal como se vio en otras especies (Osuna Enciso *et al.*, 2000). En el orégano, el alargamiento del eje principal de la inflorescencia fue acompañado por el comienzo de las ramas florales en los nudos inferiores, para formar ejes secundarios. Esta situación describe un sistema indeterminado (Perreta y Vegetti, 2005), es decir, un sistema de ejes abiertos (Rua, 1999) en el cual la yema apical de la rama floral permanece en estado vegetativo.

Por lo tanto en orégano existe un paso intermedio durante la transición vegetativa hacia reproductiva, que consistió en la formación de un meristema de inflorescencia. Este meristema produce brácteas así como meristemas florales en sus axilas y se multiplica a lo largo de la rama floral (Taiz y Zeiger, 2006). En la axila de cada bráctea se formó un capullo floral, que terminó con la formación de una flor y además el proceso de transición floral se produjo gradualmente a lo largo del eje floral y en dirección acrópeta.

En lo que respecta al análisis anatómico de las yemas, los ápices vegetativos con forma de cúpula, se desarrollan en ápices reproductivos, identificados por la presencia de estambres y carpelos. Las evidencias experimentales aquí presentadas muestran la aparición en sentido acrópeta de los ciclos florales. En primer lugar se desarrollan las piezas del cáliz, luego las de la corola, y por último los estambres y carpelos. En virtud

de ello, el grado de desarrollo de los ciclos florales responde diferencialmente según la condición fotoperiódica.

El fotoperíodo extendido anticipa el proceso morfogénico de transición en toda la extensión de la rama floral para las dos subespecies, lo cual confirma la respuesta del orégano como planta de día largo (Circella *et al.*, 1995; Dudai *et al.*, 1989). Bajo estas condiciones, el desarrollo anticipado de yemas reproductivas de “O. Criollo” respecto a “O. Compacto” (Figura 4. 2) coincide con lo hasta aquí observado respecto al menor requerimiento térmico de esta subespecie para el cumplimiento de ciertas fenofases críticas, confirmando su mayor precocidad en estas condiciones fotoperiódicas. El análisis anatómico permitió a su vez hallar las diferencias genotípicas que no habían podido detectarse estadísticamente con el registro de la fenofase V_3 (ver Capítulo 3, Figura 3. 4).

4.5. CONCLUSIÓN

El proceso de transición floral en el orégano se produce de forma gradual y en dirección acrópeta, mientras que el meristema de la inflorescencia se desarrolla a lo largo de la rama floral. La aparición de piezas periánticas reproductivas también se produce en dirección acropéta y el grado de desarrollo de ciclos florales responde diferencialmente según régimen fotoperiódico al que se somete cada subespecie.

El análisis anatómico-fenológico muestra que “O. Criollo” tiene mayor precocidad que “O. Compacto” bajo fotoperíodo extendido confirmando una mayor respuesta al alargamiento del día, puesto que comienza su proceso de transición floral de manera anticipada a “O. Compacto”.

BASES ECOFISIOLÓGICAS DEL CULTIVO DE ORÉGANO BAJO DOS MARCOS DE PLANTACIÓN CONTRASTANTES

5.1. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los factores y mecanismos que determinan el crecimiento y el rendimiento en un cultivo es crítico para lograr una producción eficiente y sostenible, puesto que guían el diseño y la selección de las prácticas de manejo más apropiadas y proporciona la información para el empleo eficiente y adecuado de recursos (Andrade *et al.*, 2005). Para el cultivo de orégano, los factores que modulan la productividad (por ejemplo, la acumulación de biomasa y/o de aceite esencial) pueden ser analizados usando el marco conceptual del modelo ecofisiológico, ampliamente utilizado en otras especies vegetales como en cultivos de granos (Monteith, 1977), en donde el rendimiento depende de la radiación solar fotosintéticamente activa interceptada acumulada durante el ciclo (RFA_{i-ac}), de la eficiencia en el uso de dicha radiación solar (EUR) y en última instancia de cómo distribuye los asimilados que generó con esa radiación solar, esto es, del índice de partición de asimilados (IP; ver Capítulo 1, Ecuación 1. 1).

Estos tres factores reúnen numerosas variables en su constitución, es decir que el rendimiento del cultivo será descripto por múltiples relaciones de causa- efecto entre la fisiología de la planta y el ambiente del cultivo. Por ejemplo, la cantidad de RFA incidente (según latitud y época del año) y la fracción de intercepción de RFA (%), que, a su vez, estará sujeta a la arquitectura de la parte aérea de un cultivo, definirán la acumulación de radiación. Paralelamente, factores inherentes a la economía del carbono de la especie, tales como la eficiencia fotosintética y la dinámica de generación de biomasa entre los diferentes órganos de la planta, darán como resultado un uso

determinado de dicha radiación solar acumulada, que a su vez dependerá de las condiciones ambientales reinantes (Hall, 1980).

La gran variabilidad de subespecies existentes brinda un marco de estudio óptimo para el estudio de las estrategias que poseerían distintos ecotipos de esta especie para captar la radiación y acumular biomasa, particularmente aquellas subespecies contrastantes en arquitectura, tales como el “O. Compacto” y el “O. Criollo” (Torres, 2011).

El conocimiento de la dinámica de generación de biomasa y distribución de la misma hacia distintos destinos, así como también la eficiencia en el uso de la radiación, resulta de gran importancia tanto para mejorar la productividad del cultivo como para su manejo. Comprender los factores que afectan estos parámetros en cada subespecie permitiría adecuar prácticas de manejo específicas tales como el momento más propicio para la cosecha, contemplando el objetivo de producción, es decir, obtención de aceites esenciales, o de hojas y flores para su uso como hierba.

El objetivo del presente capítulo fue caracterizar variables ecofisiológicas que definen la productividad en términos de acumulación de biomasa, tales como dinámica de crecimiento de cultivo, EUR y partición de asimilados en dos subespecies de orégano cultivados bajo dos arreglos espaciales.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Material biológico y Diseño Experimental

Para llevar a cabo la evaluación de variables que determinan la producción de biomasa ante cambios en la disposición espacial, se realizó el Experimento 3 (Exp. 3) en el Campo Escuela de la F.C.A. de la U.N.C., situado en la localidad de Capilla de los Remedios (31° 30' S, 64° 00' W, altitud 360 m). El material biológico fue obtenido por multiplicación de estacas y consistió en las mismas subespecies citadas en el Capítulo 2. Las plantas fueron transplantadas a campo el 25 de abril de 2011.

Los tratamientos fueron i) dos ecotipos: “O. Compacto”; y “O. Criollo”, y ii) dos arreglos espaciales: Tradicional, de 0,70 m entre surcos y 0,20 m entre plantas; y homogéneo, de 0,35 m entre surcos y 0,40 m entre plantas. Con este último tratamiento, se buscó cambiar la disposición de las plantas para forzar una respuesta en la cobertura del espacio, aprovechando la diferente arquitectura que poseen estas dos subespecies (“O. Compacto”, tipo rastrera; “O. Criollo”, tipo erecta). La densidad de plantas se mantuvo constante (7 plantas/m²).

El diseño experimental fue en parcelas divididas con tres repeticiones, donde el espaciamiento entre líneas es la parcela principal y la subespecie la sub-parcela. Cada unidad experimental fue de 6 m de largo por 3 m de ancho.

Durante dos ciclos consecutivos se caracterizaron la captura y eficiencia en el uso de la radiación modulada por la subespecie y el arreglo espacial, y su impacto sobre la productividad en términos de Biomasa (lo relativo a contenido de Aceite Esencial será presentado en el Capítulo 6 de la presente tesis). Se realizaron 6 muestreos por año de producción según el progreso fenológico del cultivo. En el primer ciclo los muestreos comenzaron el 6 de septiembre de 2011, y en el segundo ciclo el 29 de marzo de 2012.

5.2.2. Variables medidas

- a. Biomasa. En cada muestreo se obtuvo el peso seco de cada tratamiento llevando el material a estufa a 60 °C hasta peso constante. Se calculó en tres formas: i) Biomasa total promedio a lo largo del ciclo, B_t (g MS/m²). ii) Biomasa máxima, B_f (g MS/m²). Biomasa producida en momento de floración, considerándolo como el momento de mayor producción de materia seca. La superficie de muestreo varió entre cada tratamiento, con un rango aproximado de 0,2-0,55 m².
- b. Índice de Partición de Asimilados (IPh, IPt, IPf; %). En cada muestreo, las plantas fueron particionadas en sus fracciones hojas, tallos y flores. La materia seca de cada fracción se determinó secando las muestras a 60 °C hasta peso constante. La partición hacia hojas, tallos y flores se calculó a partir del porcentaje de biomasa de cada fracción, respecto a la biomasa total.
- c. Relación H+F/Tallo: Rendimiento de hojas y brácteas florales. Cociente entre la sumatoria de la biomasa de hojas y brácteas florales (cuando estuvieron presentes), y los tallos. Se estimó para cada muestreo a excepción del último muestreo del año 1, debido a los procesos de senescencia.
- d. Intercepción de Radiación, IR (%). El porcentaje de la radiación fotosintéticamente activa (RFA, 0.5 de la radiación total) interceptada por el cultivo se obtuvo con un sensor cuántico lineal Li-Cor 191 SB (LICOR, Lincoln, Nebraska, USA) conectado a un radiómetro Li-Cor 188. Una vez realizado el trasplante en cada momento de muestreo de biomasa se midió la radiación que atravesó el cultivo (I') e inmediatamente la incidente por encima del mismo (I_0), alrededor del mediodía. Se realizaron 3 pares de mediciones por parcela atravesando perpendicularmente con el sensor a los surcos del cultivo cuidando de no modificar su estructura. El porcentaje de intercepción se calculó como $100 \cdot [1 - (I'/I_0)]$. El porcentaje de intercepción en los días restantes se estimó interpolando linealmente entre mediciones sucesivas.
- e. Área foliar (cm² hoja). Calculada sobre una alícuota de los muestreos, particionando las hojas de los tallos, medida con un integrador de área foliar LI 3000 (Li Cor, Inc., Lincoln, Nebraska, USA). En el ciclo 1 se midió durante los primeros 4 muestreos (desde el 6 de septiembre de 2011 hasta el 8 de diciembre

del mismo año). En el ciclo 2, se midió desde el segundo muestreo (10 de septiembre de 2012) hasta el último (10 de enero de 2013).

5.2.3. Variables calculadas

- f. Tasa de Crecimiento del Cultivo (TCC) (g MS/d). Determinada a través de la pendiente de la regresión lineal entre la biomasa total producida y el tiempo. Esta regresión se realizó utilizando el intervalo de días de los muestreos que integraban a las fases lineales de crecimiento del cultivo.
- g. RFA interceptada acumulada (RFAi-ac) (MJ/m^2). Se midió desde el inicio del período de crecimiento de las plantas. La RFA interceptada por el cultivo ($\text{MJ}/\text{m}^2\cdot\text{d}$) para cada día se calculó como el producto entre la fracción de RFA interceptada y la RFA incidente del día. La radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada se calculó por sumatoria de la radiación fotosintéticamente activa interceptada diaria. Para la transición entre años, a partir del último muestreo se comenzó de nuevo con la sumatoria de la RFA diaria.
- h. Índice de Área Foliar, IAF (m^2 hoja/ m^2 suelo). A partir del AF obtenida, se calculó el AF de toda la superficie muestreada, y IAF se calculó como el cociente entre el AF de la fracción muestreada y la superficie de suelo ocupada por la misma.
- i. Eficiencia de uso de la radiación solar interceptada (EUR: g/MJ). La EUR fue calculada para cada ciclo de crecimiento a través de la pendiente de la regresión lineal entre B_{tot} y la RFAi-ac durante el ciclo de producción, considerando sólo las fases lineales de crecimiento.

Los datos meteorológicos (Temperatura Media, Mínima y Máxima, Radiación global, Humedad Relativa) fueron tomados de una estación agroclimática ubicada a 200 m del experimento.

5.2.4. Análisis estadístico

Las variables fueron analizadas a través de modelos multivariados lineales mixtos. Los factores de clasificación fueron el ciclo agronómico de producción (Ciclo 1 y 2), el MP (abreviado como 0,7 y 0,35), y las subespecies (“O. Compacto” y “O. Criollo”), y se adicionó como factor aleatorio a las repeticiones.

En el caso de aquellas variables en las que interesó evaluar su dinámica, se optó por un análisis de medidas repetidas en el tiempo a fin de poder analizar su evolución a lo largo del ciclo de crecimiento. Por lo tanto se consideró al tiempo, expresado como días desde el transplante (DDT), como covariable. De esta manera se logaron determinar efectos de los tratamientos tanto en la media de la variable, como en su pendiente, teniendo en cuenta la interacción del tratamiento con la variable temporal. Cabe aclarar que los DDT en el ciclo 2 se contabilizaron a partir del 13 de marzo de 2012.

La comparación de medias fue realizada por la prueba LSD de Fisher, con un nivel de significancia de 0,05. Todos los análisis fueron realizados con el software *Infostat* (Di Rienzo *et al.*, 2014).

5.3. RESULTADOS

Las tablas de resultados sólo muestran las medias de las variables en aquellos casos en los cuales el efecto de los tratamientos, o interacciones entre tratamientos, resultaron significativos.

5.3.1. La generación de rendimiento en Orégano “Compacto” y “Criollo” según diferentes marcos de plantación.

La producción de biomasa del cultivo de orégano fue mayor en el ciclo 2 que en el ciclo 1, existiendo una interacción significativa entre ciclo y DDT y entre subespecie y DDT, lo cual describe entonces una dinámica de generación de biomasa particular y diferente entre ciclos y subespecies (Tabla 5. 1).

Tabla 5. 1. Biomasa total promedio (Bt) en 2 ciclos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). DDT son los días desde el trasplante, o desde el inicio del rebrote para el ciclo 2.

	Tratamiento	Bt (g)	ANAVA (valor p)
Ciclo	Ciclo 1	444.6 b	0.0005
	Ciclo 2	588.3 a	
Ciclo * DDT			0.0362
Subespecie * DDT			0.0255

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

Es por ello que la dinámica de generación de biomasa fue analizada a través de curvas de crecimiento (Figura 5. 1, Tabla 5. 2), contemplando a su vez el tiempo transcurrido durante los dos ciclos agronómicos (DDTot). En este contexto, la biomasa promedio producida fue diferente según marco de plantación (mayor en MP de 0,7; Tabla 5. 2), pero la triple interacción MP*Subespecie*DDTot también fue significativa lo cual conduce el análisis hacia la biomasa producida por la combinación de tratamientos. De esta manera en la Figura 5. 1 se puede apreciar, por la ubicación de las

curvas, que “O. Criollo” produce más biomasa promedio que “O. Compacto”, así como también el MP de 0,7 más que el MP de 0,35, sobre todo hacia el final del segundo ciclo productivo.

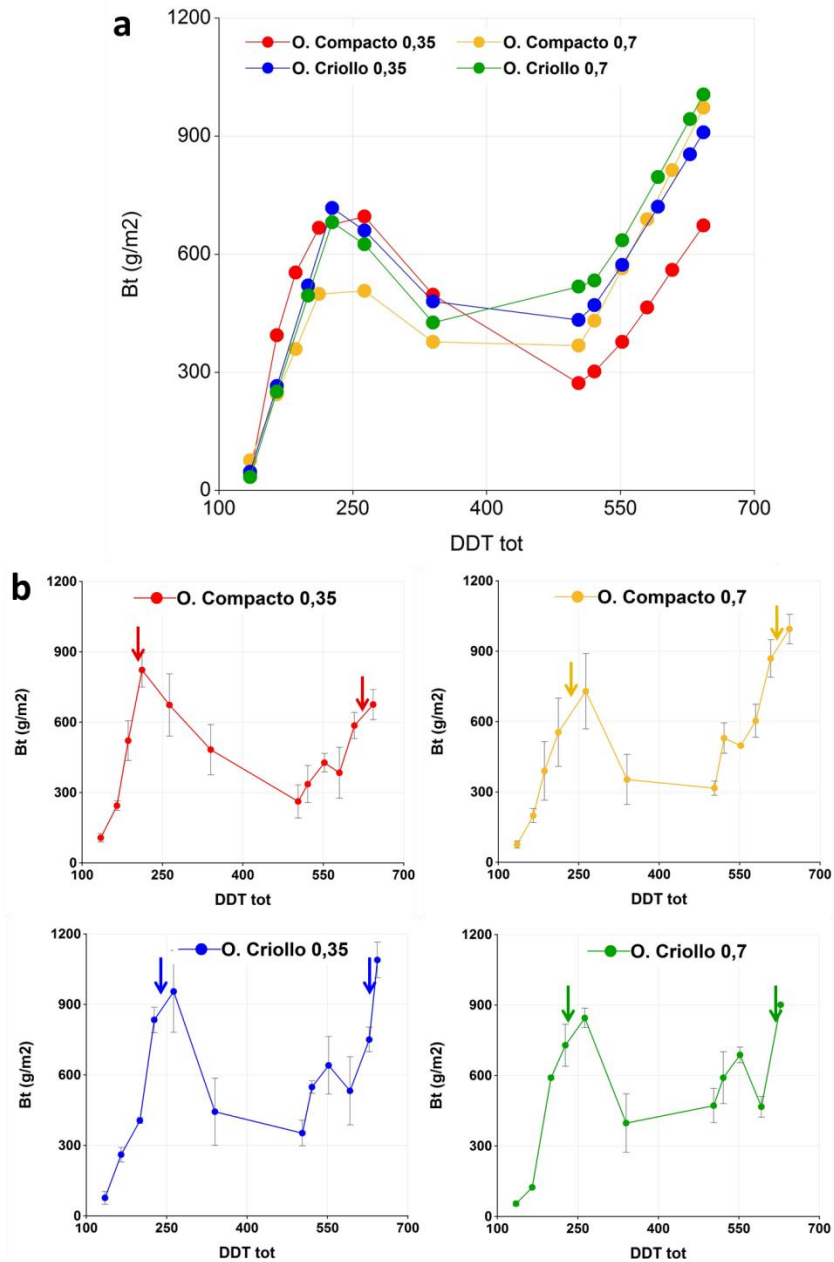


Figura 5. 1. Dinámica de producción de Biomasa total (Bt) a lo largo de dos ciclos de producción para dos subspecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). a, Comparación de los 4 tratamientos; b, Detalle de cada tratamiento. Las flechas indican el momento de floración del cultivo.

Tabla 5. 2. Dinámica de producción de Biomasa total (Bt) en función del tiempo total (DDTot) durante 2 ciclos de producción para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 x 0,20 y 0,35 x 0,40). Las medias del anava expresan la Biomasa total promedio (Bt).

	Tratamiento	Bt (g)	ANAVA (valor p)
MP	0,70 x 0,20	522 a	0.0002
	0,35 x 0,40	513 b	
MP *DDT			0.0001
Subespecie * MP *DDT			0.0479

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

La producción de biomasa de un cultivo puede ser explicada por su tasa de crecimiento (TCC). Tal como se aprecia en la Figura 5. 1, la TCC visualizada como la pendiente de los distintos tramos de la curva, varió entre ciclos de crecimiento y dentro de un mismo ciclo llegando a ser negativa en etapas de transición entre años. Es por ello que se optó comparar tratamientos en términos de la TCC en las fases lineales de cada ciclo de producción.

La TCC varió significativamente entre ciclos, siendo un 50% menor en el ciclo 2 (Tabla 5. 3). Sin embargo la interacción Ciclo*Subespecie*MP destaca que el ritmo de acumulación de biomasa de cada subespecie respondió de manera diferente según el año de producción y el MP en que se encontró (Tabla 5. 3).

Tabla 5. 3. Pendiente de regresiones lineales obtenidas a partir de la Biomasa en función del tiempo en dos ciclos de producción en dos subespecies de orégano (“Compacto” y “Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Ciclo	Subespecie	MP	Pendiente	r
1	“O. Compacto”	0,35	9.49 a	0.88
1	“O. Compacto”	0,7	6.39 b	0.62
1	“O. Criollo”	0,35	7.67 ab	0.89
1	“O. Criollo”	0,7	8.11 ab	0.89
2	“O. Compacto”	0,35	2.64 c	0.76
2	“O. Compacto”	0,7	4.41 c	0.82
2	“O. Criollo”	0,35	3.96 c	0.71
2	“O. Criollo”	0,7	3.38 c	0.77
ANAVA				Valor p
Ciclo				0.0001
	Ciclo 1		7.92 a	
	Ciclo 2		3.50 b	
Ciclo * MP * Subespecie				0.0118

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($p \leq 0.05$).

En este contexto, se encontró que durante el primer año de producción “O. Compacto” respondió de manera significativa al MP, aumentando su TCC bajo marcos más homogéneos en espaciamiento. “O. Criollo”, por el contrario, manifestó una tendencia a favor de MP tradicionales, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. En el ciclo 2, a pesar de ser clara la inversión de respuesta en “O. Compacto” respecto al MP, el análisis realizado no permitió discriminar entre tratamientos de subespecie. De esta manera se analizaron los ciclos por separado y en el ciclo 2 sí se detectó una interacción significativa Subespecie*MP (valor $p=0,0417$) que reflejó la respuesta contrastante de “O. Compacto” ante el cambio de MP (Figura 5. 2).

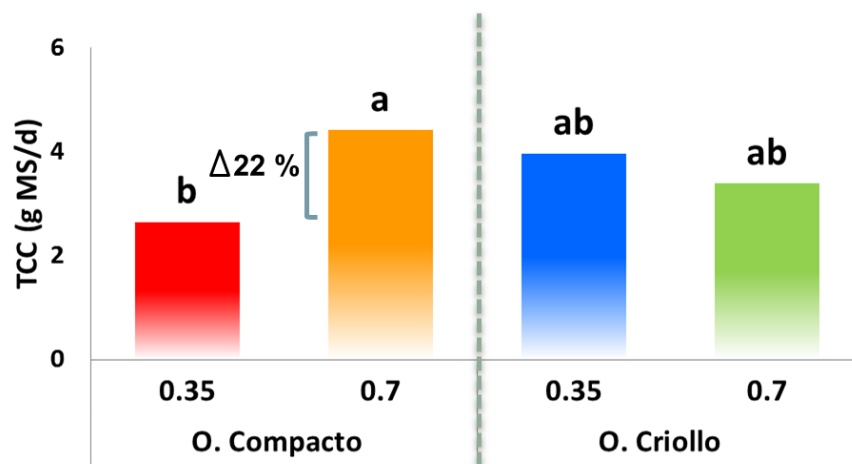


Figura 5. 2. Tasa de crecimiento del cultivo (TCC) del Ciclo dos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

La biomasa máxima generada en momento de floración (B_f) es la variable de mayor interés para este cultivo puesto que define a las subespecies en cuanto a su capacidad productiva, tanto para su uso como hierba como para la producción de esencia. Considerando esto, la B_f se analizó en cada ciclo de producción a los fines de caracterizar a las subespecies. Se observó que en el ciclo 1, no existieron diferencias significativas entre tratamientos, aunque se puede advertir una tendencia de mayor rendimiento en los MP de 0,35 (Figura 5. 3). En cambio en el ciclo 2, sí existieron diferencias significativas tanto en el efecto de la subespecie y el MP, como en su interacción (Tabla 5. 4), por lo cual vale la pena comparar la combinación de los tratamientos (Figura 5. 3).

Tabla 5. 4. Biomasa máxima producida en momento de floración (B_f) en dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Experimentos conducidos durante dos años en la localidad de Capilla de los Remedios, Córdoba, Argentina.

Tratamiento	B_f (g/m ²)	ANAVA (valor p)
Ciclo 1		
MP		ns
Subespecie		ns
Ciclo 2		
MP		0.0016
0,70 x 0,20	1323.5 a	
0,35 x 0,40	881.9 b	
Subespecie		0.0005
O. Criollo	1408.9 a	
O. Compacto	796.5 b	
MP*Subespecie		0.0272

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

De esta manera, O. Criollo*0,7 fue la combinación que más biomasa tuvo a floración, y O. Compacto*0,35 la más baja, existiendo similitudes entre los tratamientos intermedios (Figura 5. 3).

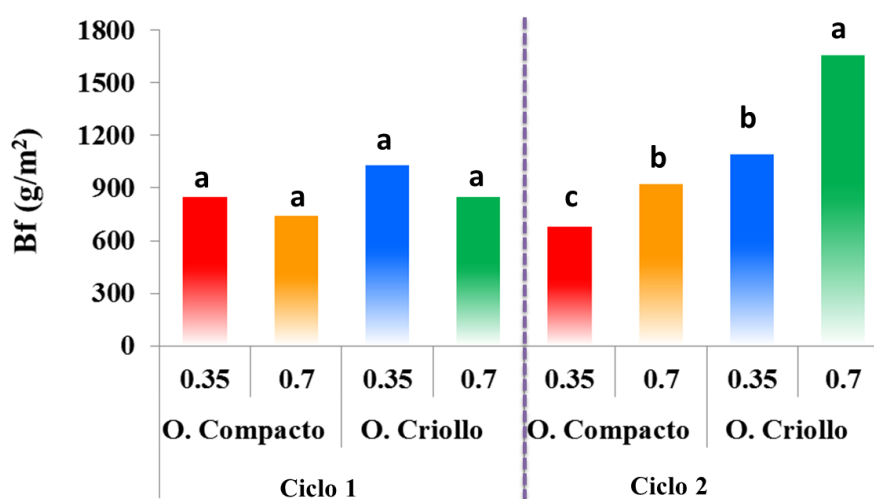


Figura 5. 3. Biomasa en floración (B_f) producida en dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para el ciclo 2, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

5.3.2. Partición de asimilados según marco de plantación. Eficiencia de distribución hacia órganos cosechables

La eficiencia en partición de asimilados se analizó en base a los diferentes órganos que constituyen la planta calculando los índices IP_f , IP_h e IP_t (Tabla 5. 5). En todos los índices de partición hubo un efecto significativo del ciclo y de la interacción Ciclo*Subespecie lo cual implica que la distribución hacia los respectivos órganos de cada subespecie dependió del ciclo de producción. Por otro lado, no se detectaron efectos del MP sobre ninguno de los índices, descartándose entonces una respuesta diferencial de esta especie ante variaciones en el arreglo espacial de las plantas.

Tabla 5. 5. Índice de partición de hojas (IPh), tallos (IPt) y flores (IPf) en dos ciclos de producción para orégano Compacto y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Tratamiento	IP_h (%)	IP_t (%)	IP_f (%)
Ciclo 1	43.6 a	43.0 b	13.4 a
Ciclo 2	32.2 b	62.9 a	5.3 b
1 * "O. Criollo"	43.7 a	42.0 c	14.2 a
1 * "O. Compacto"	43.5 a	44.0 c	12.5 a
2 * "O. Compacto"	34.2 b	60.4 b	6.4 b
2 * "O. Criollo"	30.1 b	65.3 a	4.3 b
ANAVA (valor p)			
Ciclo	<0.0001	0.0001	<0.0001
Subespecie	ns	ns	0.0310
MP	ns	ns	ns
Ciclo * Subespecie	0.0001	0.0174	0.0253
Ciclo * MP	ns	ns	ns
MP * Subespecie	ns	ns	ns
Ciclo * Subespecie * MP	ns	ns	ns
Ciclo * DDT	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Subespecie * DDT	ns	ns	0.0345
Ciclo * Subespecie * DDT	0.0001	ns	0.0153

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

A su vez la interacción Ciclo*Subespecie*DDT también fue significativa tanto para IP_h como IP_f , indicando que la dinámica de partición fue relativa a la combinación entre ciclo y subespecie. Es por ello que se llevó a cabo el análisis por años separados, pero el mismo arrojó resultados similares a los obtenidos previamente, con un efecto significativo de la subespecie y de la interacción subespecie*DDT, por lo cual la dinámica de partición cambia según subespecie, tal como se representa en la Figura 5. 4 y Figura 5. 5. Por lo tanto, se puede descartar al MP como factor influyente en la partición de asimilados, siendo más importante el efecto del año y del genotipo.

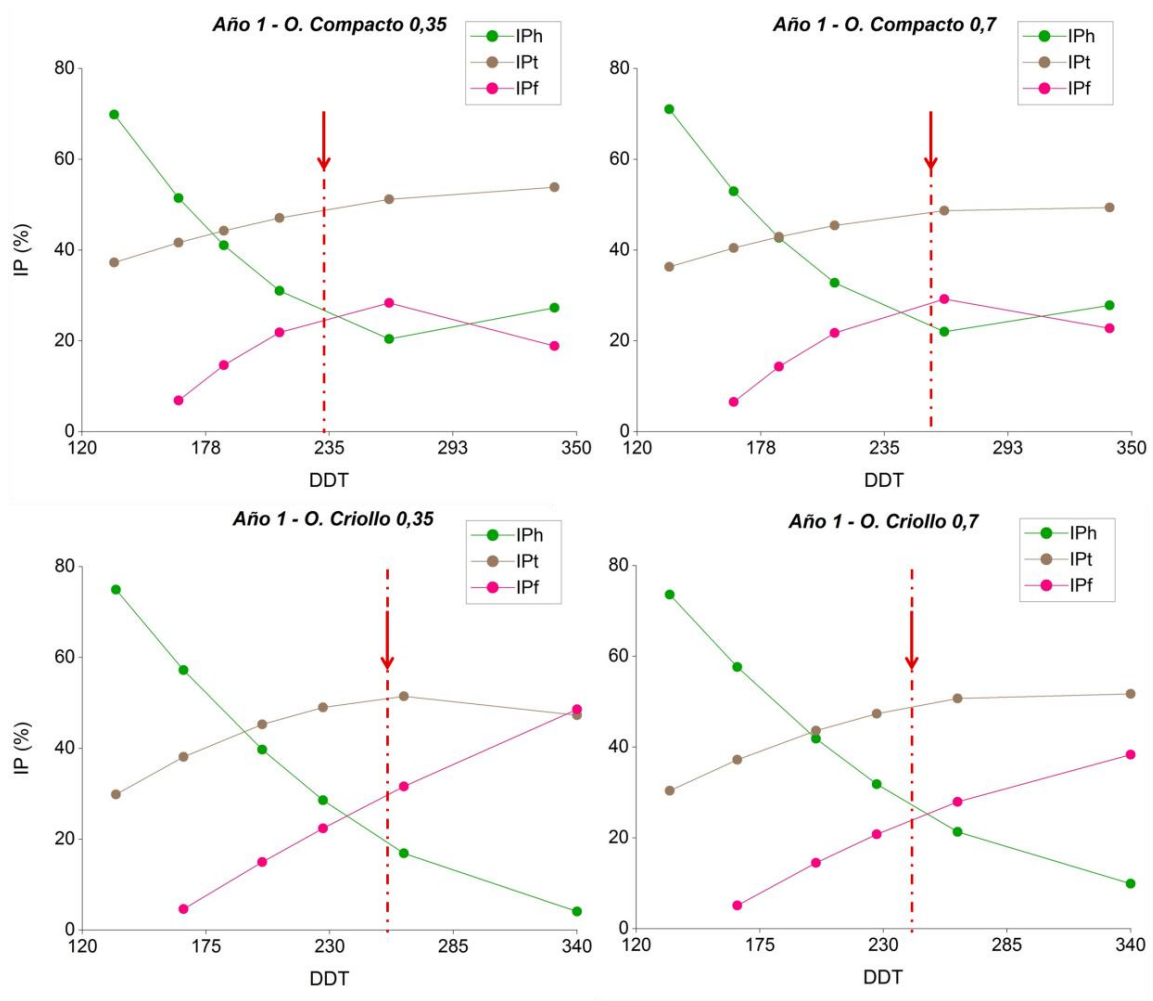


Figura 5. 4. Dinámica de partición durante el ciclo 1 en orégano Compacto y Criollo, bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). IPh, Índice de partición de hojas; IPt, Índice de partición de tallos; IPf, Índice de partición de flores. **a**, ciclo 1; **b**, ciclo 2. Las flechas en las figuras indican el momento de máxima producción de biomasa, plena floración (Bf).

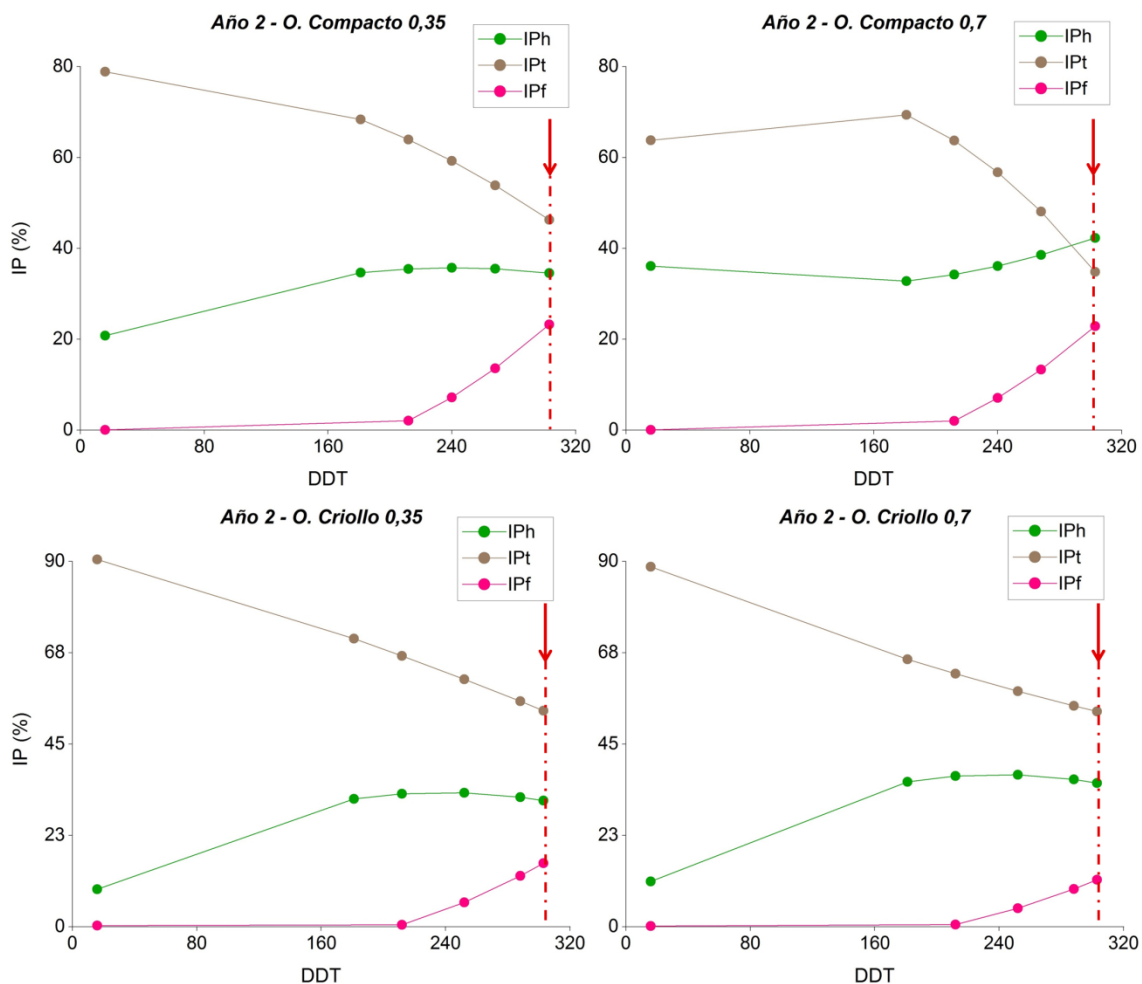


Figura 5. 5. Dinámica de partición durante el ciclo 2 en orégano Compacto y Criollo, bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). IPh, Índice de partición de hojas; IPt, Índice de partición de tallos; IPf, Índice de partición de flores. Las flechas en las figuras indican el momento de máxima producción de biomasa, plena floración (Bf).

En las figuras se observa claramente las diferencias en partición entre años, destinándose asimilados en proporciones similares hacia hojas y tallos en un primer ciclo, mientras que en un segundo año de producción se incrementa la proporción de tallos, con una diferencia mayor para “O. Criollo”.

La variable H+F/T también es de destacada importancia ya que describe cómo el cultivo destina y reasigna sus asimilados hacia los órganos útiles de cosecha, sobre todo cuando el objetivo de producción es la obtención de orégano como hierba aromática. En su análisis se evidenciaron diferencias significativas solamente entre ciclos así como

también en la dinámica de esta variable entre ciclos (interacción Ciclo * DDT significativa; Tabla 5. 6 y Figura 5. 6).

Tabla 5. 6. Relación hoja+flor/tallo (H+F/T) para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Tratamiento	H+F/T	ANAVA (valor p)
Ciclo		<0.0001
Ciclo 1	4.8 a	
Ciclo 2	3.8 b	
Ciclo * DDT		<0.0001

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

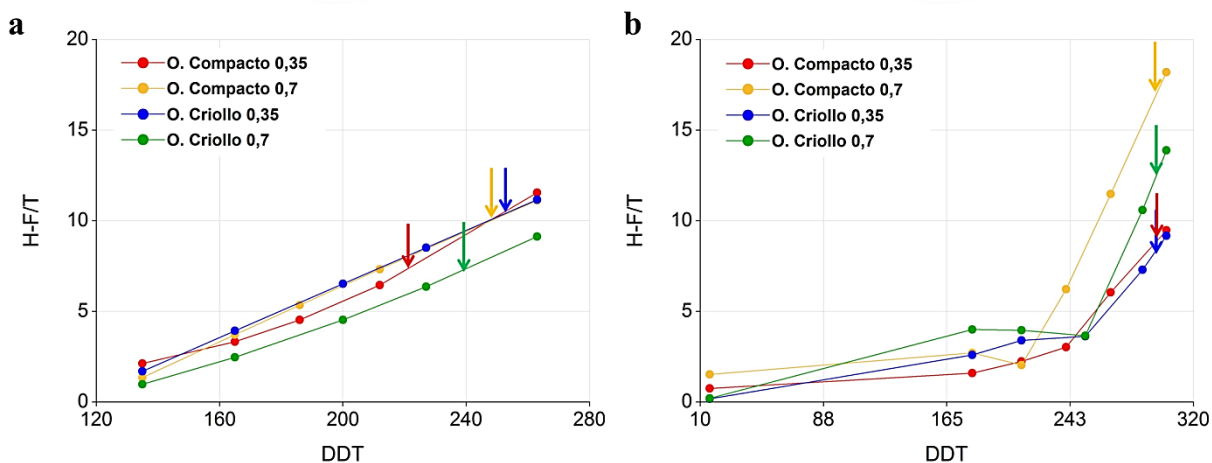


Figura 5. 6. Dinámica de la relación hoja+flor/tallo (H+F/T) en dos años de producción en orégano Compacto y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). **a**, Ciclo 1; **b**, Ciclo 2. Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.

El mejor comportamiento de esta variable en el año 1 es consecuencia de la menor cantidad de tallos producida, y a pesar de no demostrarse efectos significativos ni interacción entre tratamientos, se puede observar una ventaja de los marcos de plantación de 0,7, sobre todo en el ciclo 2.

Cobra importancia aquí el IP_f , ya que es la partición que constituye la materia prima para la extracción de AE. Tal como se observó en la Tabla 5. 5, el IP_f difirió

significativamente entre ciclos (1>2). Sin embargo, analizando el efecto de subespecies dentro de años, si bien los valores de IPf son similares estadísticamente, hay un cruzamiento de comportamiento entre ciclos, con una tendencia a favor de “O. Criollo” para el año uno, y una tendencia a favor de “O. Compacto” para el año 2. Para explorar estas diferencias se analizó la proporción de flores respecto a la biomasa total (Figura 5. 7 y Figura 5. 8). Se puede afirmar que “O. Criollo” presenta una mayor eficiencia de partición, en base al comportamiento en etapas de floración tardía, donde comienza a declinar la biomasa total acumulada y sigue destinando asimilados hacia flores, a diferencia de lo observado en “O. Compacto”.

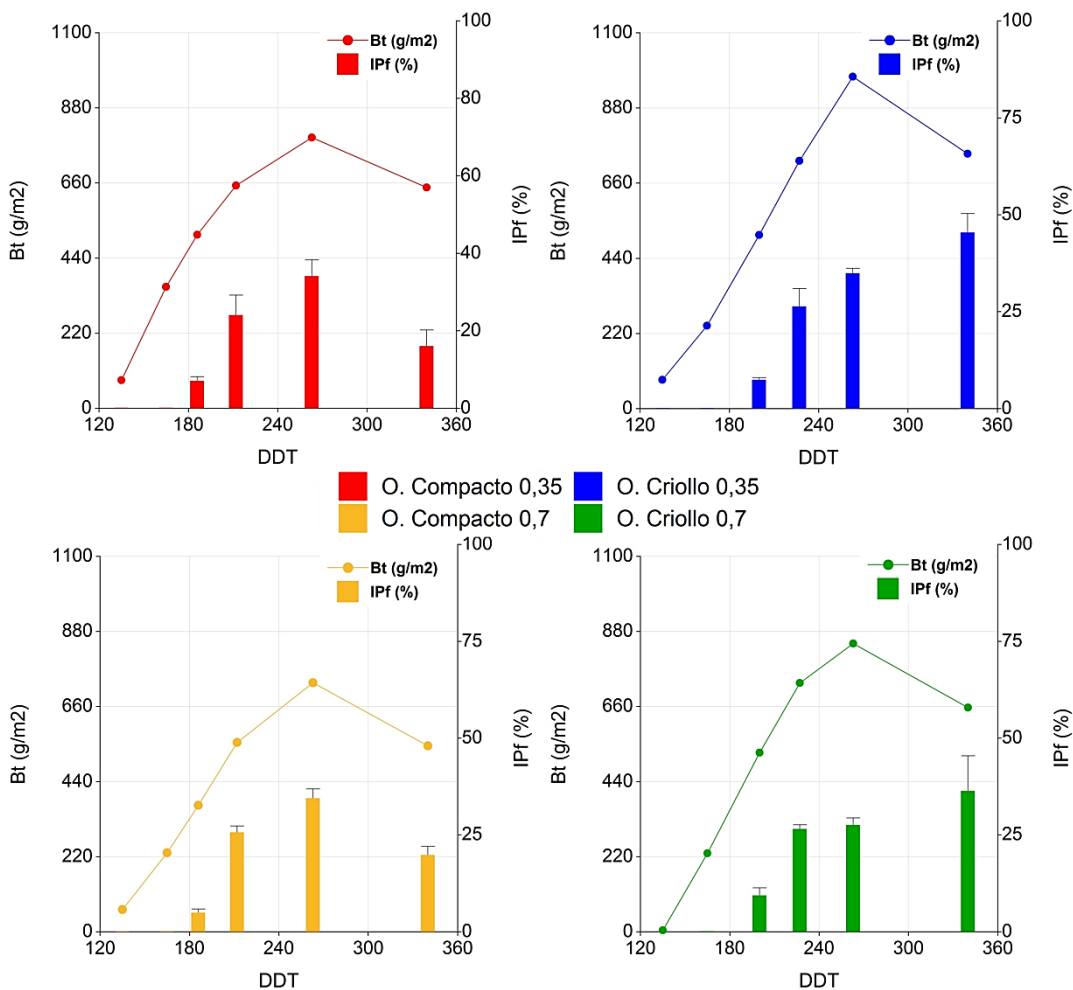


Figura 5. 7. Índice de partición de flores (IPf) a partir de la dinámica de producción de Biomasa a lo largo del ciclo 1 para “O. Compacto” bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

La partición de “O. Compacto” mantuvo la misma tendencia que el patrón de acumulación de biomasa y consecuentemente la distribución de asimilados hacia flores fue menor. El MP no tuvo una marcada influencia en esta última variable, aunque se advirtió un efecto positivo en su valor bajo el MP de 0,70.

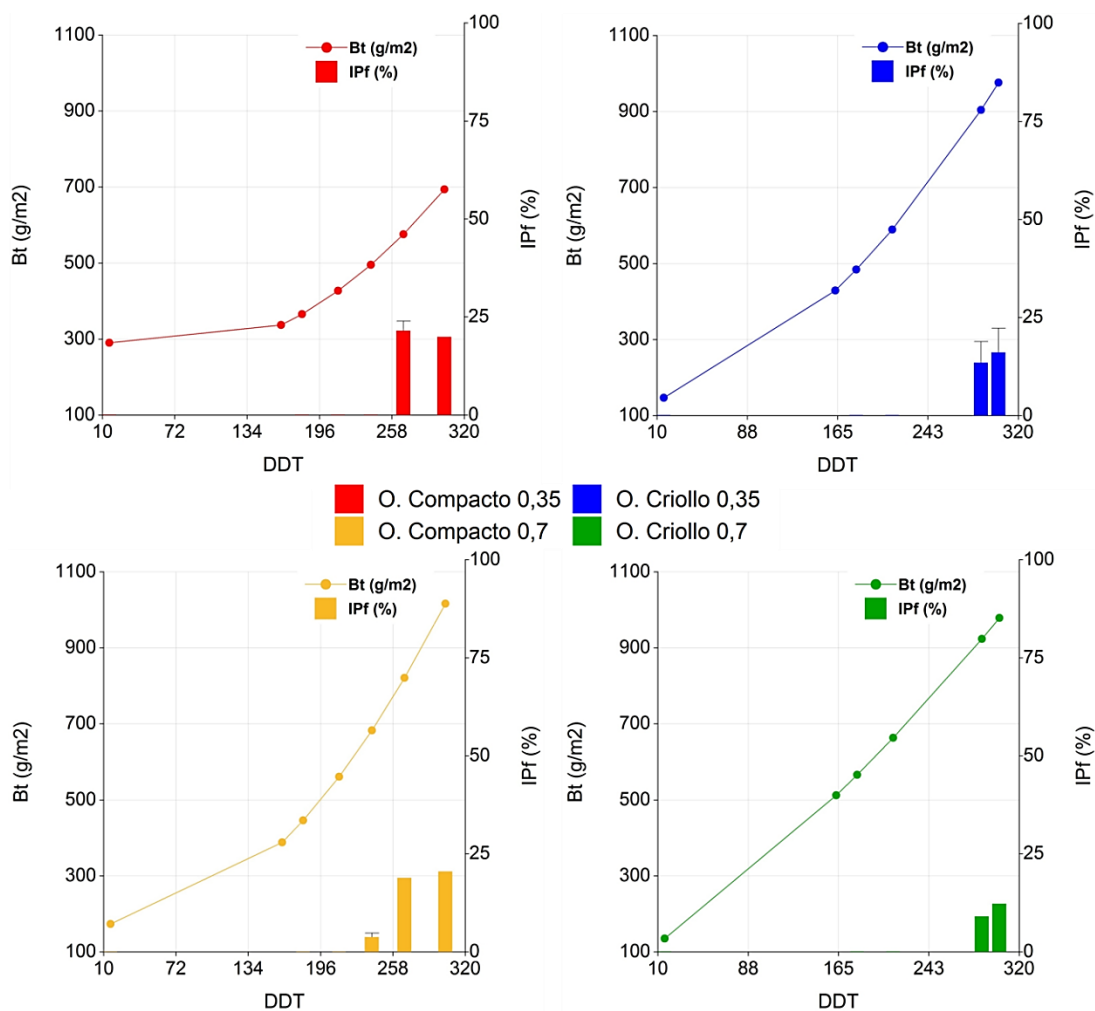


Figura 5. 8. Índice de partición de flores (IP_f) a partir de la dinámica de producción de Biomasa a lo largo del ciclo 2 para “O. Compacto” y Criollo bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Para profundizar los procesos que explican la eficiencia de las distintas subespecies, se analizarán a continuación la capacidad de captura y uso de la radiación.

5.3.3. Captura y Uso de la Radiación en Orégano e influencia del marco de plantación.

Siguiendo el modelo ecofisiológico de determinación de rendimiento, la radiación fotosintéticamente activa interceptada (Ri) es uno de los factores que regula la productividad del cultivo. Esta variable se vio modificada según el ciclo de cultivo, el MP y la subespecie, así como también existió una interacción significativa entre ciclo*DDT, y MP*DDT, lo cual indica que la dinámica de intercepción de radiación también fue diferente entre ciclos de producción y MP (Tabla 5. 7). A la dinámica de intercepción se la puede apreciar en la Figura 5. 9.

En cuanto a la RFAi acumulada, existieron diferencias significativas entre ciclos (2>1), y en la dinámica de esta variable en el tiempo entre ciclo y MP (Figura 5. 9), mostrando una tendencia a favor del MP de 0,35 para el ciclo 1.

Tabla 5. 7. Radiación interceptada (%) en 2 años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Tratamiento	Ri (%)	ANAVA (valor p)
Ciclo		0.0036
Ciclo 2	79.5 a	
Ciclo 1	74.5 b	
MP		0.0274
0,35 x 0,40	80.8 a	
0,70 x 0,20	73.3 b	
Subespecie		0.0261
“O. Criollo”	77.3 a	
“O. Compacto”	76.6 b	
Ciclo * DDT		0.0189
MP * DDT		0.0114

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

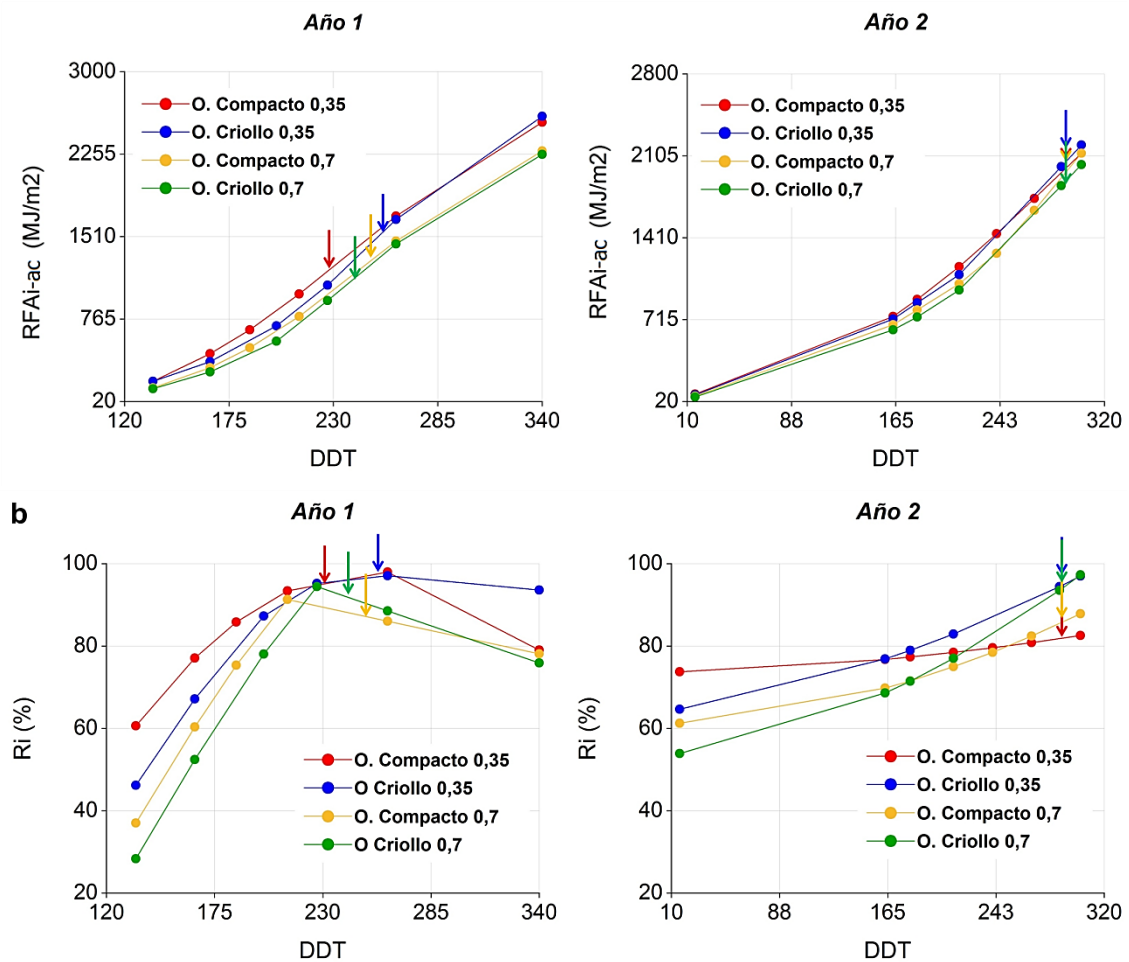


Figura 5. 9. Dinámica de interceptación de radiación en 2 años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). **a** Radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada (RFAi-ac); **b**, Radiación fotosintéticamente activa interceptada (Ri). Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.

Respecto al área foliar (IAF), sólo fue significativa la interacción subespecie*MP*DTT, por lo cual la dinámica de generación de área foliar se vio modificada según combinación de tratamientos (valor $p=0,0332$, Figura 5. 10.a). Al analizar en años separados, sólo el segundo año de producción evidenció diferencias de IAF entre subespecies, y en la interacción con el tiempo (Tabla 5. 8, Figura 5. 10).

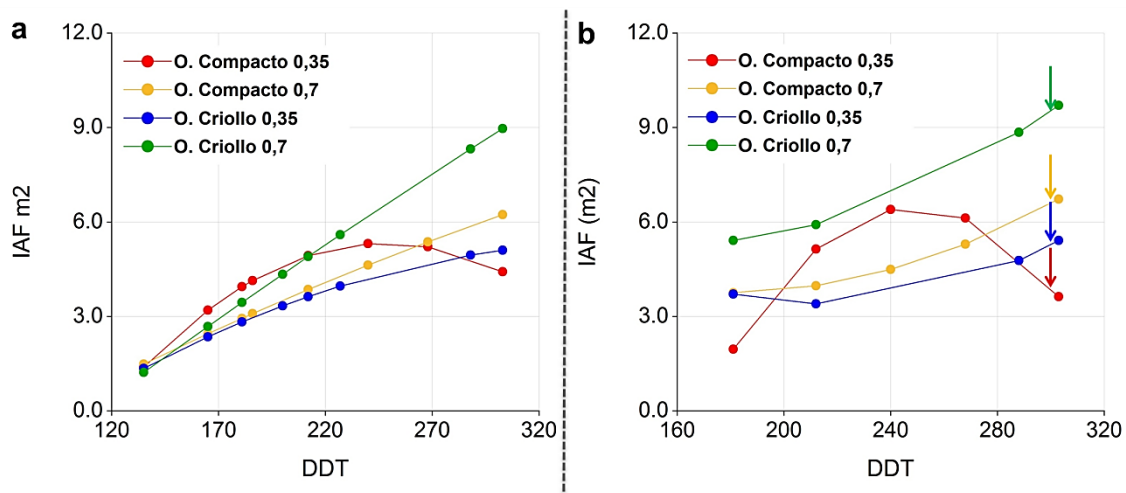


Figura 5. 10. Dinámica del Índice de Area foliar (IAF; m²hoja/m² suelo) en dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). **a**, IAF promedio de dos ciclos; **b**, IAF del ciclo 2. Las flechas indican el momento de plena floración, con colores según tratamiento.

Tabla 5. 8. Índice de Area Foliar (IAF) promedio del ciclo 2 de producción para dos subespecies de orégano (Compacto y Criollo) bajo dos marcos de plantación.

Tratamiento	IAF (m ²)	ANAVA (valor p)
Subespecie		0.0434
“O. Criollo”	5.6 a	
“O. Compacto”	3.9 b	
Subespecie * DDT		0.0251

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

El IAF entonces posicionó al “O. Criollo” como la subespecie con mayor índice, demostrando un efecto de genotipo, a diferencia de lo sucedido con la RFAi-ac en donde no se observaron diferencias entre subespecies, pero si entre años. Además en la Figura 5. 10 también pudo observarse una tendencia a favor de “O. Criollo” bajo MP de 0,7.

Las diferencias en biomasa total producida también están dadas por la eficiencia con la que los cultivos utilizan la RFAi acumulada, es decir, la EUR. Esta variable

pendiente de la regresión entre Bt y RFAi-ac difirió a nivel de ciclos de cultivo así como también en la interacción entre ciclo y MP (Figura 5. 11 y Tabla 5. 9).

La EUR fue significativamente menor en el ciclo 2 y existió un cruzamiento de respuesta respecto al MP puesto que en el primer año el MP de 0,35 surgió como el más eficiente, y en el ciclo dos sucedió lo contrario (Figura 5. 11).

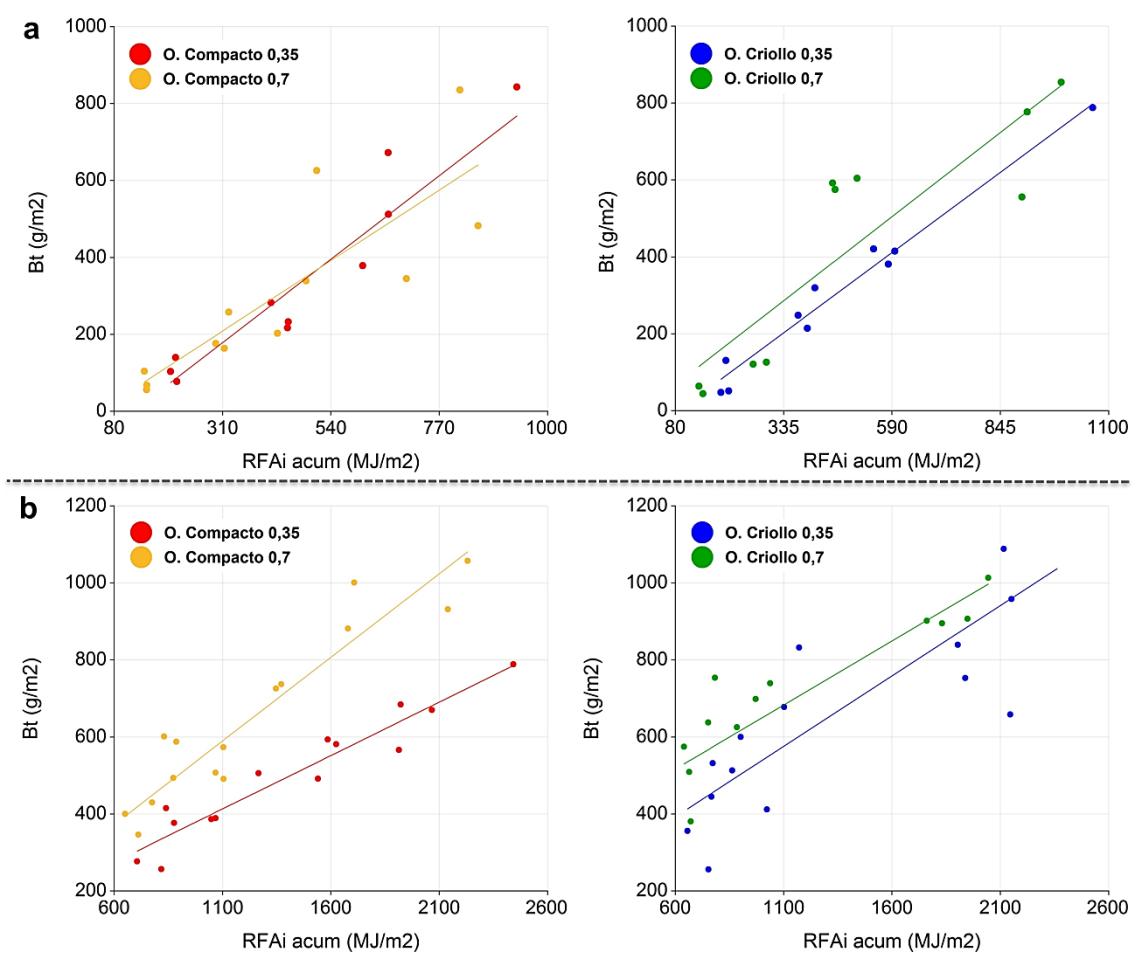


Figura 5. 11. Biomasa total (Bt) en función de la RFAi en dos subespecies de orégano en (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). **a**, ciclo 1; **b**, ciclo 2.

Tabla 5. 9. Pendiente de regresiones lineales obtenidas a partir de la Biomasa total (Bt) en función de la RFAi acum. en dos años de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m).

Ciclo	Subespecie	MP	Pendiente	r
1	“O. Compacto”	0,35	0.95 a	0.91
1	“O. Compacto”	0,70	0.75 bc	0.70
1	“O. Criollo”	0,35	0.82 ab	0.98
1	“O. Criollo”	0,70	0.82 ab	0.78
2	“O. Compacto”	0,35	0.25 d	0.88
2	“O. Compacto”	0,70	0.44 cd	0.90
2	“O. Criollo”	0,35	0.37 d	0.72
2	“O. Criollo”	0,70	0.33 d	0.79
ANAVA				Valor p
Ciclo				0,0001
	1		0.79 a	
	2		0.33 b	
Ciclo*MP				0.0195
	1 * 0,35		0.89 a	
	1 * 0,70		0.68 b	
	2 * 0,70		0.36 c	
	2 * 0,35		0.29 c	

Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test DGC ($P \leq 0.05$).

La comparación de EUR a lo largo de los dos años no permitió observar diferencias estadísticamente significativas en el año dos, por lo cual se exploraron las diferencias a través del análisis por años separados. De esta manera, la interacción MP*Subespecie sí fue significativa (valor $p = 0,0137$; Figura 5. 12). En el primer año de producción, sólo O, Compacto se vió favorecido con el MP más homogéneo en términos de la EUR (Tabla 5. 9), pero en el segundo año de producción esta subespecie disminuyó de manera significativa su EUR bajo MP de 0,35, siendo esta vez más ventajoso el MP de 0,7 (Figura 5. 12).

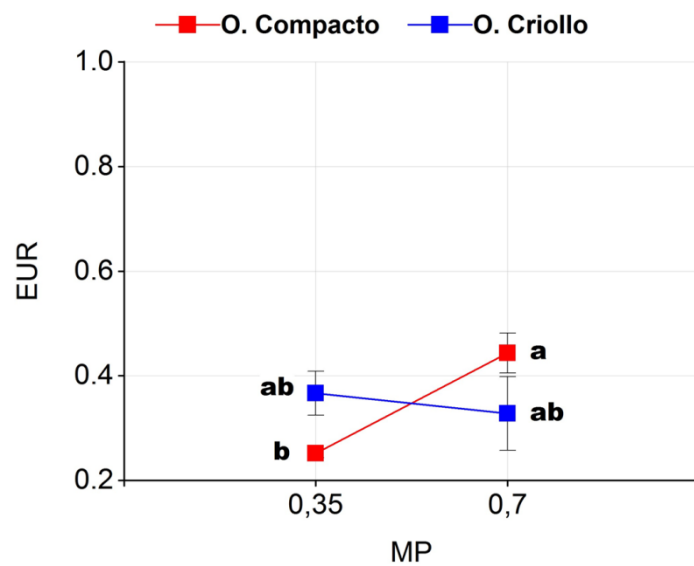


Figura 5. 12. Eficiencia en el Uso de la Radiación (EUR) del ciclo 2 de producción para dos subespecies de orégano (O, Compacto y O, Criollo) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). Para cada tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

5.4. DISCUSIÓN

La producción de biomasa de un cultivo puede ser explicada por el modelo ecofisiológico, que define a la biomasa acumulada como el producto entre la tasa de crecimiento del cultivo (TCC) y la duración del periodo de crecimiento (Hall, 1979). En este estudio, la mayor Bt del cultivo fue observada en el ciclo 2 de crecimiento (Tabla 5. 1), debido al mayor tiempo de acumulación de biomasa y no a una mayor TCC, puesto que esta última disminuyó casi el 50% en el ciclo 2 y respecto al 1 (Tabla 5. 1. y Tabla 5. 3). Dado que existió una estrecha relación entre lo sucedido en el año 1 y 2, la abrupta disminución de TCC se debería a una mayor proporción de tallos en el ciclo 2 (Tabla 5. 5), órganos no fotosintetizantes por excelencia. Esto produjo, en consecuencia, una menor eficiencia fotosintética del cultivo (Tabla 5. 9). Es probable también que los cultivos en el segundo ciclo tengan un mayor costo energético de mantenimiento respecto al primero, puesto que su mayor proporción de tallos incide en el balance fotosíntesis/respiración aumentando la tasa respiratoria en desmedro de la tasa fotosintética (Cannell y Thornley, 2000), de ahí que la TCC resultante sea menor.

Respecto a las diferencias entre tratamientos, y analizando el promedio de los dos ciclos de producción, el cultivo en el MP tradicional (0,70 m x 0,20 m) en ambas variedades produjo mayor Bt (Tabla 5. 2), por lo cual en este sentido no se justificaría el uso de MP de 0,35. Sin embargo, efectuar esta afirmación mediante el análisis de esta sola variable no sería conveniente, dado que la interacción con el tiempo y la subespecie es significativa. Es necesario profundizar el análisis ecofisiológico del proceso de generación de biomasa ya que es relativo al avance del ciclo y al genotipo.

Si bien existió una estrecha correlación entre años, las grandes diferencias tanto de TCC como de EUR entre ciclos diluyen los efectos individuales de los tratamientos. Es por ello que para explicar el proceso de producción de biomasa se interpretaron los resultados de ciclos por separado.

Así, en el ciclo 1 los valores extremos de TCC se observaron en “O. Compacto”, que bajo MP de 0,35 manifestó la mayor TCC. La TCC en “O. Criollo” no difirió significativamente entre MP (Tabla 5. 3). Ahora bien, es oportuno relacionar esta variable con la biomasa máxima en floración (B_f), teniendo en cuenta que la TCC posee

una influencia directa sobre la biomasa producida final de la fase lineal de crecimiento. A pesar de que en este ciclo las diferencias en B_f no fueron significativas entre tratamientos (Tabla 5. 4), en la Figura 5. 3 se observa que la B_f de O. Compacto*0,35 no fue la mayor, pese a tener la más alta TCC. Teniendo en cuenta que la producción de biomasa depende de la RFAi-ac y la EUR (Andrade *et al.*, 1992), lo sucedido hasta aquí puede explicarse porque hasta el momento de plena floración, la RFAi-ac de O. Compacto*35 fue baja en comparación con los tratamientos O.Criollo*0,35 y O. Compacto*0,7 (1223 MJ/m².d; Figura 5. 9). En este sentido, la RFAi-ac tuvo mayor peso en la determinación de la B_f , ya que si se considera la EUR, O. Compacto*35, también tuvo una eficiencia mayor. Es por ello que en un primer ciclo de producción, O. Criollo*0,35 produjo más B_f , ya que presentó una mayor RFAi-ac (1474 MJ/m².d).

En el ciclo 2 de producción en cambio, la B_f fue mayor para los MP de 0,7 y para “O. Criollo” (Tabla 5. 4), siendo la combinación O. Criollo*0,7 la de mejor rendimiento (Figura 5. 3). La base de estos resultados subyace en una mayor TCC (aunque estadísticamente no difiera de los otros tratamientos), pero principalmente a una EUR superior. Esto se manifiesta en más biomasa por unidad de radiación interceptada, patrón que, en este segundo ciclo, se repite para ambas subespecies (Figura 5. 11). Es por ello que la eficiencia de uso del recurso lumínico sería mayor bajo espaciamientos tradicionales. Además, observando el IAF, que es uno de factores de principal importancia en el proceso de intercepción de radiación (Gardner *et al.*, 1985), existió una clara tendencia de mayor IAF bajo MP de 0,7 (Figura 5. 9), lo que también se refleja en un mayor porcentaje de R_i (Figura 5. 10).

Teniendo en cuenta el modelo ecofisiológico de determinación del rendimiento, $Y = R_i \times RUE \times IP$ (Monteith, 1977), es necesario analizar lo sucedido con los demás parámetros que hacen a la productividad de un cultivo, esto es, su eficiencia de partición (IP).

Los diferentes órganos que genera el cultivo de orégano cumplen reconocidas funciones, entre las cuales a las hojas se las destaca por la intercepción de radiación (además de su indiscutible aporte en la generación de biomasa mediante el proceso de fotosíntesis), a los tallos por su carácter de sostén y como generador de la arquitectura de la planta, y a las flores como el órgano principal de cosecha y que le otorga calidad a

la producción. Asimismo la fotosíntesis en numerosos cultivos también es llevada a cabo por estructuras florales, y también por tallos, siempre y cuando éstos permanezcan verdes (Aschan y Pfan, 2003). En este sentido entonces, es fundamental el análisis de la partición de asimilados, de modo tal de explorar las estrategias de producción de biomasa, así como también su eficiencia en la distribución de asimilados hacia órganos de utilidad tanto fisiológico como agronómica.

Tal como se observó en el punto 5.5.2, la partición de asimilados hacia los diferentes órganos de la planta no manifestó efecto diferencial respecto al MP, puesto que ni el efecto aislado del MP, ni la interacción de éste con otros tratamientos (subespecie, ciclo) fueron estadísticamente significativas (Tabla 5. 5). En cambio el efecto de los diferentes ciclos y, su interacción con el genotipo, fue claramente significativo, diferencia impulsada principalmente por el importante aumento en la proporción de tallos en el en el segundo año, en detrimento del IPh y del IPf. Este fue uno de los factores que podría explicar la gran caída en la EUR de un ciclo a otro, ya que la mayor cantidad de biomasa no fotosintetizante (tallos), incrementaría la actividad respiratoria en desmedro de la actividad fotosintética, disminuyendo así la eficiencia fotosintética de la planta (Gardner *et al.*, 1985).

A su vez, observando lo sucedido dentro de cada año, en el primer ciclo no hay diferencias entre subespecies en el IP, pero sí, en el segundo año respecto al IPt, siendo mayor en “O. Criollo”. Esta situación resulta relevante ya que son las hojas y brácteas florales los órganos de importancia productiva (Lenardis *et al.*, 2006), por lo tanto esta especie sería la menos eficiente en cuanto a la distribución de asimilados hacia órganos cosechables. La relación H+F/T, o partición productiva, refleja mejor esta característica y en esta variable, a pesar de no evidenciarse efectos significativos de los tratamientos (Tabla 5. 6), vale la pena destacar que existió una clara influencia del MP sobre todo, en el ciclo 2. Al observar lo que sucedió con la dinámica de esta variable vemos que en este año ambas subespecies se vieron favorecidas bajo MP de 0,7, pero O. Compacto*0,7 marcó una diferencia sustancial respecto a los demás tratamientos (Figura 5. 6). Mientras que en el ciclo 1, no hubo una tendencia a favor de ningún MP, y la partición productiva fue relativa a la combinación MP*subespecie.

Para dar una idea acabada acerca de cuál combinación de subespecies y MP sería la más eficiente en la partición de asimilados, debe analizarse ver lo que sucedió con la partición específica de flores, ya que son estos órganos los que brindan calidad al producto deshidratado, o con más razón, si el objetivo de producción es el aceite esencial (Kizil *et al.*, 2009). Analizando la proporción de flores respecto a la biomasa total, (Figura 5. 7 y Figura 5. 8), independientemente del MP, se puede afirmar una mayor eficiencia de partición del “O. Criollo”, ya que mantiene en aumento la partición a flores en etapas de plena floración y floración tardía. El cultivo en estas etapas, comienza a declinar en biomasa lo cual se atribuye principalmente a la senescencia de hojas. Esto se puede evidenciar analizando exclusivamente el primer ciclo de producción, en donde los muestreos continuaron luego de la llegada al momento de plena floración, a diferencia del segundo en donde la etapa de muestreos finalizó con la plena floración. En el primer año entonces, se observó una disminución de la Ri como consecuencia de los procesos de senescencia y abscisión de hojas (Figura 5. 9). En estas etapas, la biomasa total acumulada disminuyó y también se pudo apreciar que “O. Criollo” sufrió mayor caída de hojas que “O. Compacto” (Figura 5. 4), pero a su vez hay un aumento en la proporción de flores pese a la disminución de biomasa total, bajo cualquier MP (Figura 5. 7). Por todo esto resulta importante destacar que a pesar de que el “O. Compacto” se mostró más eficiente en cuanto a la partición productiva (relación $H+F/T$) en el segundo ciclo, el “O. Criollo” fue el más eficiente en la partición reproductiva. Además, esta característica se mantuvo en los dos ciclos de producción, por lo tanto el “O. Criollo” se presentó no solo como más eficiente sino como más estable en el proceso de partición de asimilados.

En el análisis ecofisiológico del cultivo de orégano resulta fundamental también establecer relaciones de tipo causa-efecto de lo sucedido entre los dos años del ensayo, ya que evidentemente existe una correlación entre ciclos. En el segundo ciclo, tal como se mencionó anteriormente, los muestreos fueron realizados hasta el momento de plena floración, por lo cual no debería existir el proceso de senescencia y caída de hojas ocurrido en el ciclo 1 (Figura 5. 7). Así, en el ciclo 2, si bien la curva de producción de biomasa se mantiene en aumento, pudo advertirse que la proporción de flores de O. Compacto*0,35 presentó una caída incluso antes de llegar a plena floración, lo cual dio

indicio de una baja eficiencia de partición de asimilados hacia órganos útiles de cosecha, tal como fuera discutido en el párrafo anterior (Figura 5. 8). Para explicar esta caída es necesario remitirse también a lo sucedido con las demás variables analizadas, como por ejemplo biomasa total promedio del cultivo (B_t), tasa de crecimiento (TCC), biomasa máxima producida (B_f), intercepción de radiación (R_i), IAF y EUR, todas estas de menor valor para O. Compacto*0,35 en comparación con los demás tratamientos. Teniendo en cuenta que “O. Compacto” se presenta como una subespecie de tipo rastrera, cabría esperar que una disposición más homogénea en el terreno favoreciera a la eficiencia en la captación del recurso lumínico. En este sentido dicha hipótesis pudo ser confirmada, ya que, en el primer ciclo de producción “O. Compacto” bajo MP de 0,35 alcanzó el IAF crítico más rápido (Figura 5. 10). Esto le garantizó que la TCC del cultivo fuera la óptima en el corto plazo (Andrade y Sadras, 2000), y consecuentemente, el cultivo generó biomasa a la mayor tasa, y con la máxima eficiencia. Sin embargo, existieron otros factores que resultaron perjudiciales para esta subespecie: la rápida cobertura del surco generó un denso canopeo y con ello un importante deterioro del aparato fotosintético del cultivo por excesivo sombreado, lo cual se constata en la rápida caída del IAF (Figura 5. 10). Por lo tanto el mayor costo de mantenimiento del cultivo no pudo ser compensado con una mayor tasa fotosintética. De ahí la senescencia anticipada de las plantas en este marco de plantación. Además, esa alta densidad de la canopia también generó un microclima desfavorable para la sanidad del cultivo (Giesler *et al.*, 1996; Krupinsky *et al.*, 2002), razón por la cual este tratamiento fue el que se mostró más susceptible a ataques de hongos, entre otras plagas (datos observados no cuantificados).

Así, el ciclo dos comenzó con plantas menos vigorosas y de ahí que en este tratamiento se vieron reducidas tanto la B_t , la B_f , y la eficiencia de partición durante este último ciclo. Si bien el ciclo dos de producción se caracterizó por una disminución tanto de la TCC como de la EUR en todos los tratamientos, estos dos parámetros, tal como se discutió previamente, están correlacionados y justamente la baja EUR genera una disminución en la TCC por una menor cantidad de MS producida por unidad de luz interceptada (Gardner *et al.*, 1985). Pero, comparativamente, O. Compacto*0,35 manifestó más abruptamente esta caída (Tabla 5. 9). El factor al cual se le atribuyó la

caída de EUR de un año a otro fue la mayor proporción de tallos pero en O. Compacto*0,35 podría existir un factor adicional que explica la más profunda caída de su EUR. Este, sería el excesivo costo energético que imprimió esa alta densidad de canopeo del año uno, que tendría consecuencias sobre la velocidad de deterioro de la canopia, y que finalmente influiría directamente en el estado sanitario al final del ciclo del cultivo. Estos procesos prácticamente no se produjeron bajo MP de 0,7 (Figura 5. 12). Con este marco de plantación se mostró una respuesta claramente favorable de la EUR. Es por ello que para esta subespecie un MP de 0,35 no sería recomendado, puesto que las ventajas que éste otorga en el primer año, resultan contraproducentes para el segundo año de producción.

5.5. CONCLUSION

La eficiencia del uso de la radiación en orégano fue diferente entre subespecies, pero esa diferencia dependió claramente de la edad del cultivo y del marco de plantación. En un primer año productivo, la eficiencia fotosintética fue superior que en el segundo y las subespecies respondieron diferencialmente según el marco de plantación. Mientras “O. Criollo” no manifestó una influencia del MP significativa sobre su eficiencia fotosintética, siendo el factor de espaciamiento no determinante en la definición de la productividad de esta subespecie, “O. Compacto” sí presentó una respuesta diferencial según MP. La arquitectura rastrera de las primeras etapas de desarrollo de “O. Compacto”, en combinación con una disposición en el campo más equidistante entre plantas, le confieren ventajas en un primer ciclo de producción, incrementando de manera significativa la captura y la EUR respecto al MP de 0,7.

Sin embargo, la caída abrupta en la EUR en un segundo año de producción, indicó que un marco de plantación homogéneo repercute en la generación de un microclima adverso a nivel de canopeo que se refleja en una mayor susceptibilidad a enfermedades, comprometiendo el ciclo productivo subsiguiente.

En el presente estudio se hizo énfasis en las estrategias de exploración del recurso lumínico por parte de “O. Criollo” y “O. Compacto”, y si bien no hubo una clara diferenciación entre estas subespecies respecto a la R_i y RFA_i -ac, el patrón de acumulación de biomasa de cada subespecie sí fue diferente. “O. Criollo” sigue priorizando la formación de órganos florales aún en etapas de senescencia y fin de ciclo. Por el contrario en “O. Compacto” la biomasa de flores se pierde tan rápidamente como la de hojas. Estos aspectos influyen de manera importante en el manejo de los tiempos de cosecha, siendo el “O. Criollo” menos exigente que “O. Compacto” en cuanto al momento de cosecha. Además, “O. Criollo” se mostró más eficiente en la distribución de asimilados hacia los diferentes órganos de la planta. Asimismo, el marco de plantación no tuvo un claro efecto en el proceso de partición para ninguna de las subespecies. A pesar de esto, y, considerando que el ciclo agronómico de producción del orégano involucra de 3 a 5 años, el uso de marcos de plantación tradicionales otorga mayor estabilidad en los parámetros productivos para ambas subespecies,

desaconsejando los marcos de plantación más homogéneos. Estos últimos, en el caso del “O. Compacto”, generan un efecto perjudicial en la obtención de rendimientos, y en “O. Criollo” los componentes de rendimiento no se incrementan significativamente.

Los resultados obtenidos en el presente capítulo rechazan parcialmente las hipótesis planteadas acerca de una mayor eficiencia en el uso del recuso lumínico por parte especies de porte rastrero (ver hipótesis d, e y f, Capítulo 1, pág. 14), puesto que una mayor eficiencia pudo verse sólo en un primer ciclo productivo.

En base a los parámetros ecofisiológicos obtenidos, más estudios serán necesarios atendiendo a aspectos de manejo en términos de momentos de cosecha, que de esta manera optimicen la productividad de cada subespecie.

PRODUCTIVIDAD DE ACEITE ESENCIAL DEL CULTIVO DE ORÉGANO -ENFOQUE ECOFISIOLÓGICO-

6.1. INTRODUCCIÓN

El género *Origanum* (tribu *Mentheae*, familia *Lamiaceae*) comprende unas 70 especies, subespecies, variedades e híbridos, que se caracteriza por una gran diversidad morfológica (Kintzios, 2002b). Las especies del género, sus híbridos y subespecies utilizadas especialmente con fines culinarios (“orégano”), son también numerosas y sus características organolépticas se encuentran ligadas al aceite esencial que producen. Es así que desde el punto de vista agronómico, en el cultivo de orégano cobra importancia no solo la productividad de biomasa, sino también el contenido de AE en términos de rendimiento y de los constituyentes químicos que lo conforman ya que estos determinan su calidad olfativa y gustativa como sustancia saborizante (Ghershenzon *et al.*, 2000).

Se define al AE como una mezcla compleja de sustancias químicas pertenecientes, en su mayoría, al grupo de los terpenos y fenilpropanoides. La proporción de estas sustancias pueden cambiar en forma cualitativa y cuantitativa con el genotipo, la ontogenia (Dudai *et al.*, 1992; Gümüşçü *et al.*, 2008) y con el lugar geográfico donde se establezca un cultivo (D’Antuono *et al.*, 2002). Entonces para definir a las distintas variedades existentes en cuanto a su productividad en aceite esencial, es importante determinar tanto el contenido de esencia producido, como los constituyentes químicos que la conforman.

Específicamente *Origanum vulgare* L., es una especie con alta diversidad de caracteres como color de flores, estructura de la hoja, producción de aceites esenciales y proporción de constituyentes de aceites esenciales (AE) (Gavalas *et al.*, 2011). Esta particularidad resulta potenciada dada la gran variabilidad de ecotipos, subespecies y hasta quimiotipos existentes. Es por ello que existen dificultades a la hora definir las

características composicionales de su esencia. Así, por ejemplo, dentro de los constituyentes del AE de *O. vulgare* ssp. *vulgare* se han citado a cariofileno, a sabineno, a β -ocimeno y a 4-terpineol como componentes principales (De Falco *et al.*, 2013; Mockute *et al.*, 2001; Şahin *et al.*, 2004; Sezik *et al.*, 1993). En el caso de *O. vulgare* ssp. *hirtum* en cambio, carvacrol y timol son los componentes principales más citados, demostrando una variabilidad algo menor en este carácter (Adam *et al.*, 1998; Azizi *et al.*, 2009; Veres *et al.*, 2003).

La caracterización de la composición del AE es sumamente importante a la hora de definir la calidad de la esencia. Al ser una especie aromática destinada principalmente a mejorar sensorialmente los productos alimenticios, la calidad está definida principalmente por sus atributos de sabor (atributo constituido por olor, aroma y gusto; Asensio, 2013). Así, esencias ricas en p -cimeno y α -terpineno por ejemplo, tienen aroma herbáceo y cítrico más intenso. Por otra parte, un AE rico en monoterpenos oxigenados como timol, carvacrol, terpineol tiene fuertes notas picantes que se relacionan con el aroma resinoso (Juliani *et al.*, 2007; Giuliani *et al.*, 2008)

Además, si bien tanto para el Código Alimentario Argentino como para las normas internacionales (ISO 7925) sólo se establece como parámetro de calidad un umbral de AE del 1.5 ml de esencia por cada 100 g de peso seco (Xifreda, 2009), en el ámbito de la Unión Europea existe una norma para su uso como aditivo alimenticio. En ella, el contenido porcentual de la suma de sus constituyentes mayoritarios, timol y carvacrol, no debe ser menor al 85% siendo este criterio utilizado como marcador fitoquímico para la identificación de la esencia de orégano (Molteni, 2011).

Los componentes del AE del orégano también son los responsables de su actividad biológica, entre las cuales se destaca la propiedad antimicrobiana de su esencia (Bakkali *et al.*, 2008; Bendahou *et al.*, 2008). Esto es un carácter valioso para la industria alimentaria ya que aporta a la estabilidad de los alimentos así como también a conservar su inocuidad. En este sentido, timol y carvacrol son dos de los principales agentes que otorgan dicha actividad (Helander *et al.*, 1998).

Además, otra de las propiedades más destacadas del AE de orégano es su capacidad antioxidante, atribuida a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos

fenólicos como el timol, el γ -terpineno y el carvacrol (Bakkali *et al.*, 2008; Baratta *et al.*, 1998; García-Pérez *et al.*, 2012). En células vivas, estos inhiben la peroxidación lipídica protegiendo al ADN del daño por radicales hidroxilo; asimismo, en los alimentos, también intervienen atrapando radicales libres, evitando su deterioro en el tiempo (Martínez-Tomé *et al.*, 2001). Si bien la función antioxidante de estos compuestos en los alimentos ha atraído mucha atención en relación con el papel que tiene la esencia en la dieta en cuanto a la prevención de enfermedades, esto se ve limitado teniendo en consideración la variabilidad química con que se presenta y su uso culinario como aromatizante pero no como alimento, lo que lleva a restringir sus aplicaciones industriales. Además, estas últimas son limitadas debido al aroma y sabor que pueden conferir a los alimentos donde se aplicarían, por lo que se requiere de investigación en procesos de deodorización (Moure *et al.*, 2001).

Por todo lo antedicho, la cantidad y tipo de componentes del AE, incluidos los componentes trazas, además de proporcionarle una determinada posición dentro de las normas de calidad existentes, lo definen y distinguen en cuanto a sus características organolépticas (García-Pérez *et al.*, 2012). Por lo tanto es de importancia poder caracterizar las esencias de las dos subespecies en estudio en estos aspectos.

Ahora bien, los efectos ambientales que explican la variabilidad tanto química como de rendimiento del aceite esencial aún son poco claros. Se ha demostrado que la acumulación de esencia es mayor cuando la luminosidad es más intensa o de mayor duración (Bandoni, 2000). Sin embargo existe confusión sobre el efecto de otros factores como disponibilidad hídrica y de nutrientes sobre la producción de esencia en determinadas aromáticas. Por ejemplo, muchos autores establecen que el contenido de aceite esencial aumenta con la mayor disponibilidad hídrica y de nitrógeno (Marques *et al.*, 2009; Said-Al Ahl *et al.*, 2009). Pero por otro lado, Azizi *et al.*, (2009) contradice estos resultados. También se comprobó mayor producción de AE en manejos de cultivo en altas densidades de plantación, tanto en orégano como en otras especies aromáticas (Kizil *et al.*, 2009; Nurzynska-Wierdak y Dzida, 2009; Rao, 2002), aunque en orégano, no se ha determinado con precisión si dicho incremento se debe a mayor cantidad de tricomas por unidad de área foliar o de peso fresco, a una mayor secreción de aceite

esencial por planta, o sólo a una mayor producción de biomasa por unidad de superficie (Kizil *et al.*, 2009; Nurzynska-Wierdak y Dzida, 2009).

Estos antecedentes abren interrogantes acerca de los factores de manejo agronómico que determinan la calidad del orégano desde el punto de vista de la producción de AE. Por lo cual para el presente capítulo se plantean como objetivos: i) determinar la dinámica de producción de AE de dos subespecies de *Origanum vulgare* L. a lo largo del ciclo; ii) evaluar la incidencia que posee el marco de plantación sobre el rendimiento de AE; iii) caracterizar cuali y cuantitativamente la esencia de dichas subespecies; iv) analizar el efecto del momento de floración sobre la composición del AE.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Diseño Experimental

Para cumplir con los objetivos del presente capítulo se utilizaron muestras del Exp. 3, citado en el Capítulo 5, manteniéndose los tratamientos de subespecie (“O. Compacto” y “O. Criollo”), y de marcos de plantación (MP), el tradicional, de 0,70 m entre surcos x 0,20 m entre plantas (abrv. 0,7), y uno de tipo cuadrangular-homogéneo, de 0,35 m entre surcos x 0,40 m entre plantas (abrv. 0,35).

6.2.2. Parámetros evaluados

a. Dinámica de producción de AE

Para estudiar la dinámica de producción de aceite esencial a lo largo de la ontogenia del cultivo se tomaron muestras de material fresco de cada tratamiento mensualmente en el ciclo 1, y en el segundo ciclo sólo en etapas de inicio y de plena floración (R₅ y R₆, según escala descrita en la presente Tesis, Capítulo 2, Tabla 2. 2)

b. Rendimiento de AE

El rendimiento de aceite esencial en cada muestreo se obtuvo en porcentaje de esencia por unidad de peso fresco (ml/ 100 g PFr), mediante destilación por arrastre con vapor de agua (Evans y Dickinson, 2005; Robbers *et al.*, 1996), utilizando extractores de esencias de acuerdo a los métodos farmacognósticos de Farmacopea Argentina 7^a edición (2003). La cantidad obtenida se midió por lectura del tubo graduado del equipo de destilación. El aceite esencial fue luego secado sobre sulfato de sodio anhidro y conservado en frasco oscuro a 4 °C hasta el momento de su procesamiento para el análisis cuali-cuantitativo de sus componentes por cromatografía gaseosa.

c. Análisis cualitativo del AE. Cantidad y proporción de componentes

Se analizaron muestras de material fresco del ciclo 1, en estadios de Plena Floración (PF, R₆) y Floración Tardía (FT), descrito como una etapa posterior de R₆ en 30 días, en donde el cultivo aún en pie, sigue con procesos oxidativos. La técnica de análisis fue por cromatografía gaseosa y espectrometría de masas (CG-EM).

Para la separación de los constituyentes de la esencia se utilizó un cromatógrafo marca Perkin Elmer (Shelton, Conn., U.S.A.) modelo Q 700, acoplado a espectrómetro de masas, equipado con columna capilar DB5 (30 m de largo, 0,25 mm de d.i., 0,25 mm de partícula). El gas portador fue helio, con un flujo fijado en 0.9 mL/min. La energía de ionización (IE) del espectrómetro de masas acoplado fue de 70 ev. Los datos espectrales de masas fueron adquiridos en modo “scan”, desde $m/z = 35$ a $m/z = 450$ (scan time: 0.2 s, inter-scan time: 0.1s). Cada muestra se diluyó con hexano, en una proporción de 5 μ L/100 mL. El volumen de inyección fue de 1 μ L en modo de inyección Split (20 mL/min). La temperatura del inyector fue de 260 °C y la del detector de 280 °C. Se trabajó con temperatura programada: Temperatura inicial de 60°C por 5 minutos, rampa de 5°C/min y Temperatura final de 250 °C por 10 min. La identificación de cada uno de los constituyentes de la esencia se realizó por comparación de su tiempo de retención y el patrón de rompimiento molecular con aquellos encontrados en la base de datos de las Bibliotecas del programa NIST MS Search 2.0. El análisis cuantitativo de los constituyentes se realizó a través de la normalización de áreas de los picos.

6.2.3. Análisis estadístico

El rendimiento de AE fue analizado a través de un modelo multivariado lineal mixto, contemplando como efectos fijos sobre la variable respuesta al ciclo agronómico de producción (Ciclo 1 y 2), el marco de plantación (MP de 0,7 y de 0,35), y la subespecie (“O. Compacto” y “O. Criollo”), y un efecto adicional aleatorio dado por la repetición. Además se analizó al efecto del total de interacciones de los factores fijos sobre el rendimiento de AE, expresadas como Ciclo * MP, Ciclo * Subespecie y sus posibles combinaciones. Para comparación de medias se utilizó la prueba LSD de Fisher, con un nivel de significancia de 0.05. Estos análisis se realizaron con el software *Infostat* (Di Rienzo *et al.*, 2014).

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1. Dinámica de producción de Aceite Esencial e influencia del marco de plantación sobre el rendimiento de esencia

La producción de AE promedio de los dos ciclos agronómicos dependió exclusivamente de la ontogenia del cultivo. Esto se ve reflejado al observar la dinámica de producción de esencia en función del estado fenológico del cultivo (Figura 6. 1), donde el mayor rendimiento correlacionó con la fenofase de floración (según escala desarrollada en la presente tesis, R₆). Esto también fue observado por otros trabajos en diversas especies del género, y en otras especies aromáticas (Arraiza *et al.*, 2009; Berghold *et al.*, 2008). Además, en la Figura 6. 1 puede observarse: i) que la combinación O. Compacto*0,35 manifiesta más rendimiento que el resto de las combinaciones durante la mayor parte de su ciclo agronómico, pero una declinación de la producción de AE hacia el final; ii) una tendencia de mayor producción de esencia del “O. Compacto” y de “O. Criollo” bajo MP de 0,7 hacia el final del ciclo. De allí la importancia de ajustar los tiempos de cosecha.

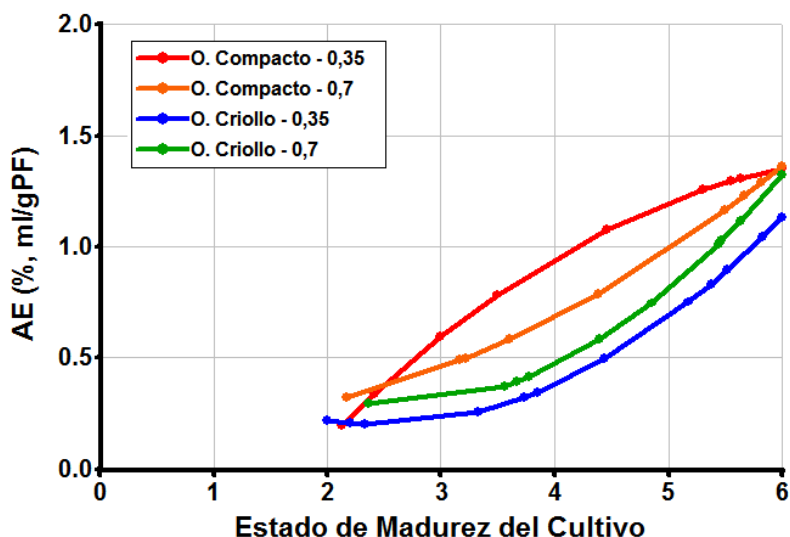


Figura 6. 1. Producción de aceite esencial (AE, en %, v/100 g de PF) promedio de dos ciclos de producción en función del estado de madurez (EM) de dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m). EM 0 a 3, Fenofases Vegetativas; EM 4, Prefloración; EM 5, Inicio de Floración; EM 6, Plena floración.

Teniendo en cuenta específicamente el momento de plena floración y considerando que es el momento de máxima producción de AE (Kizil *et al.*, 2008), se realizó un análisis estadístico del rendimiento de AE para detectar diferencias entre ciclos productivos, marcos de plantación, subespecies y sus correspondientes interacciones. Así, en la Tabla 6. 1 se puede observar que el rendimiento de esencia difirió entre ciclos de producción y subespecies. La interacción de factores Ciclo*Subespecie también fue significativa, es por ello que se muestra el detalle de rendimiento para cada combinación de factores. Por lo tanto el rendimiento de esencia se vio influenciado por esta combinación, siendo significativamente superior para el “O. Compacto” en ciclo 2.

Tabla 6. 1. Rendimiento de AE (volumen por unidad de peso fresco) para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) bajo dos marcos de plantación (0,70 m x 0,20 m y 0,35 x 0,40 m) durante dos ciclos de producción (Ciclo 1, 2011; Ciclo 2, 2012).

Tratamiento	ANAVA (valor p)	AE (% v/Pf)
Ciclo	0.0213	
MP	ns	
Subespecie	0.0003	
Ciclo * Subespecie	0.0519	
Ciclo 2 * “O. Compacto”		1.82 a
Ciclo 1 * “O. Compacto”		1.29 b
Ciclo 2 * “O. Criollo”		1.07 b
Ciclo 1 * “O. Criollo”		1.02 b

Para cada combinación de tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

Por el contrario, el rendimiento de AE no se vio influenciado por el marco de plantación en ninguna de las subespecies (Tabla 6. 1). Esto último sugiere que el espaciamiento entre plantas no impacta en una mayor producción de AE. Sin embargo, los marcos de plantación tradicionales generaron mayor cantidad de biomasa productiva (hojas y flores) (ver Capítulo 5, Figura 5. 6), por lo que, a pesar de no haber encontrado diferencias significativas entre los MP, el mayor rendimiento de AE podría estar más asociado al MP de 0,7.

En cuanto a las diferencias encontradas entre las dos subespecies, las mismas podrían explicarse por la diversificación genotípica que afecta la estructura de sus inflorescencias (ver Capítulo 2, Figura 2. 1). Teniendo en cuenta que el AE es almacenado en los tricomas de los órganos florales, las cimas contraídas y compactas de “O. Compacto” generarían un ambiente de mayor resguardo de dichas glándulas, por lo cual esta subespecie sería menos propicia a la pérdida de AE por volatilización por factores físicos como viento o incluso en la manipulación para la práctica de cosecha.

A su vez, el mayor rendimiento de AE de “O. Compacto” respecto a “O. Criollo” podría explicarse porque el primero manifiesta una mayor proporción de hojas y flores que “O. Criollo”, sobre todo en el ciclo 2 (ver Capítulo 5, Figura 5. 4). Además, en este año el área foliar fue notoriamente inferior en “O. Compacto”, lo cual podría impactar en una mayor cantidad de tricomas por unidad de área foliar, repercutiendo entonces en una mayor concentración de tricomas y consecuentemente, en mayor rendimiento de AE por unidad de peso fresco (ver Capítulo 5, Tabla 5. 8).

Al comparar entre años, el ciclo 2 fue el que presentó mayor rendimiento de esencia, y en este segundo año de producción, “O. Compacto” manifestó un gran deterioro debido al ataque de hongos, trips y mosca blanca, sobre todo en el MP de 0,35. En este sentido, cabe destacar que el AE puede producirse como mecanismo de defensa de la planta. Numerosos trabajos confieren a las esencias propiedades antimicrobianas así como también propiedades de ser repelente para insectos, pudiendo tener un efecto tóxico si se alimentan de ella, o previniendo su oviposición (Isman, 2000; Karpouhtsis *et al.*, 1998; Kordali *et al.*, 2008). Esto podría explicar también la ventaja productiva que se evidenció en el segundo año de producción de “O. Compacto”.

Teniendo en cuenta los parámetros de calidad del orégano para su comercialización, cabe destacar que el contenido de aceite esencial es uno de los atributos más apreciados comercialmente, y en base a este valor la producción puede o no ser colocada en el mercado, tanto nacional como internacional (Xifreda, 2009). En este sentido, el rendimiento de esencia no debe ser inferior a 1.50 ml/100gr sobre base de peso seco del material vegetal (ISO 6571) . En este estudio, el rendimiento de AE se obtuvo sobre base de peso fresco, pero considerando el contenido de humedad de la

muestra, en la Tabla 6. 2 se puede apreciar que ambas subespecies entrarían dentro de los parámetros de calidad para su comercialización.

Tabla 6. 2. Rendimiento de AE promedio de dos ciclos de producción para dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”). Valores expresados en volumen por 100 g de peso fresco (PFr) y de peso seco (PS).

Subespecie	AE (ml/100 g PS)	% AE (ml/100 g PFr)
“O. Compacto”	3.9	1.5
“O. Criollo”	3.1	1.2

Para cada combinación de tratamiento, letras distintas indican medias estadísticamente diferentes según Test LSD de Fisher ($P \leq 0.05$).

6.3.2. Composición de aceite esencial en dos etapas de la floración: Plena Floración y Floración Tardía utilizando la técnica de CG-MS.

El número de componentes del aceite esencial de cada subespecie en cada época de floración (Plena o Tardía) fue de aproximadamente 16, tomando solamente aquellos picos que se encontraban en un porcentaje mayor al 1% (Tabla 6. 3).

Tabla 6. 3. Análisis cuali y cuantitativo del AE de dos subespecies de orégano (“O. Compacto” y “O. Criollo”) para dos épocas de cosecha, Plena Floración (PF) y Floración Tardía (FT). Número de componentes (NC), Tiempos de retención (TR), Componentes y Porcentajes de los componentes (> al 1%).

Subespecie	Época	NC	TR	Componente	Porcentaje
“O. Compacto”	PF	1	9,547	Sabineno	4.1
		2	9,757	β -mirceno	1.8
		3	10,242	α -terpineno	3.1
		4	10,397	o-cimeno	6.1
		5	10,447	p-cimeno	1.4
		6	10,483	β -felandreno	1.2
		7	11,038	γ -terpineno	2.7
		8	11,638	Trans-Hidrato de Sabineno	31.9
		9	12,498	4-Terpineol	9.2
		10	12,618	α -terpineol	3.8
		11	13,004	Linalol acetato	2.0
		12	13,624	Timol	13.9
		13	13,669	Carvacrol	1.2
		14	14,839	Cariofileno	1.1
		15	15,350	γ -muroleno	1.4
“O. Compacto”	FT	1	9,637	β-pineno	4.4
		2	9,842	β -mirceno	1.8
		3	10,327	α -terpineno	3.1
		4	10,483	o-cimeno	6.4
		5	10,533	Limoneno	1.3
		6	10,568	β -felandreno	1.2
		7	10,958	γ-terpineno	8.3
		8	11,118	Cis- Hidrato de Sabineno	2.6
		9	11,698	Trans-Hidrato de Sabineno	33.0
		10	12,558	4-Terpineol	9.0
		11	12,683	α -terpineol	3.8
		12	12,954	Timol-metil-eter	1.0
		13	13,064	Carvacrol-metil-eter	2.1
		14	13,604	Timol	12.9
		15	13,669	Carvacrol	1.2
		16	14,894	Cariofileno	1.2
		17	15,399	γ -muroleno	1.5
		18	15,510	β -bisaboleno	1.1
“O. Criollo”	PF	1	8,707	α -tujeno	1.3
		2	9,567	Sabineno	3.5
		3	9,797	β -mirceno	2.5
		4	10,277	α -terpineno	3.7
		5	10,432	o-cimeno	7.0
		6	10,478	p-cimeno	2.7

Subespecie	Época	NC	TR	Componente	Porcentaje
<i>Continuación Tabla 6.3</i>					
		7	10,928	γ-terpineno	10.6
		8	11,073	Cis-Hidrato de Sabineno	2.9
		9	11,583	Trans-Hidrato de Sabineno	17.7
		10	12,503	4-Terpineol	8.9
		11	12,618	α -terpineol	1.7
		12	12,703	γ -terpineol	1.4
		13	13,014	Carvacrol-metil-eter	1.4
		14	13,534	Timol	19.5
		15	13,729	Carvacrol	3.3
		16	14,869	Cariofileno	1.9
"O. Criollo"	FT	1	8,757	α -tujeno	1.7
		2	8,907	α -pineno	1.1
		3	9,622	β -pineno	3.7
		4	9,837	β -mirceno	2.7
		5	10,322	α-terpineno	4.2
		6	10,453	ρ-cimeno	4.8
		7	10,513	Limoneno	1.5
		8	10,543	β -felandreno	1.5
		9	10,983	γ-terpineno	12.7
		10	11,118	Cis-Hidrato de Sabineno	3.6
		11	11,648	Trans-Hidrato de Sabineno	22.7
		12	12,443	Borneol	1.2
		13	12,523	4-Terpineol	6.3
		14	13,044	Carvacrol-metil-eter	1.5
		15	13,709	Timol	19.7
		16	13,769	Carvacrol	3.7
		17	14,894	Cariofileno	1.5
		18	15,389	γ -muroleno	1.1

Como ya se mencionara anteriormente, la cantidad total de componentes del AE de las especies aromáticas varía según condiciones geográficas, época de recolección, condiciones climáticas al momento de recolección, genotipo, etc., (Economou *et al.*, 2011; Mockute *et al.*, 2001).

A su vez, esta cantidad también es una variable que muchas veces depende de las características del equipamiento utilizado para la separación de componentes. Así, algunos autores identificaron alrededor de 60 componentes en estas subespecies (D'Antuono *et al.*, 2000), mientras que gran parte de los trabajos han identificado aproximadamente 40 (Azizi *et al.*, 2009; Dambolena *et al.*, 2009). En el presente trabajo

de tesis se identificaron alrededor de 35 constituyentes, considerando los componentes minoritarios y trazas, al igual que lo encontrado por Farías *et al.* (2010), y Mockute *et al.* (2001). En los cromatogramas de cada combinación de tratamiento se encuentran graficados la totalidad de los constituyentes de las esencias, identificando sólo aquellos que son mayoritarios (esto es, cuya proporción supera el 3% del total de componentes; Figura 6. 2, Figura 6. 3, Figura 6. 4 y Figura 6. 5).

Del análisis realizado de cada combinación entre subespecie y época de floración, se desprende que los tratamientos agronómicos ensayados no tienen impacto notable sobre la composición cualitativa de cada una de las esencias ya que mantienen un patrón químico similar, donde hidrato de sabineno, timol, γ -terpineno y 4-terpineol son los componentes mayoritarios para ambas subespecies, habiendo solamente variaciones cuantitativas entre ellas (Figura 6. 6).

Numerosos son los trabajos en donde se informa sobre la composición química de las esencias de estas subespecies, tomando en consideración aquellos componentes mayoritarios y representativos. En ellos es posible observar que no todas presentan patrones químicos similares y que en algunos casos se muestran notoriamente diferentes (Tabla 6. 4).

Tabla 6. 4. Antecedentes acerca de los constituyentes principales en orden decreciente de *Origanum vulgare* L., *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*, y *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* en diferentes regiones de producción a nivel mundial.

Especie	Componentes principales	País	Cita
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Cariofileno, spatulenol D-germacreno y α -terpineol	Turquía	(Şahin <i>et al.</i> , 2004)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Sabineno, beta ocimeno y 4-terpineol	Italia	(De Falco <i>et al.</i> , 2013)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	β -ocimeno, D-germacreno y β -cariofileno	Lituania	(Mockute <i>et al.</i> , 2001)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	ρ -cimeno, oxido de cariofileno, sabineno y γ -terpineno	Hungria	(Veres <i>et al.</i> , 2003)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	carvacrol, γ -terpineno, timol y ρ -cimeno		
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	4-terpineol, β -cariofileno y D-germacreno	Turquía	(Sezik <i>et al.</i> , 1993)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Carvacrol		
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	spathulenol, β -cariofileno, 1,8-cineol y α -terpineol	Bulgaria	(Kula <i>et al.</i> , 2007)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Timol, carvacrol, ρ -cimeno y γ -terpineno	Italia	(Russo <i>et al.</i> , 1998)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Timol, carvacrol, , ρ -cimeno y γ -terpineno	Grecia	(Adam <i>et al.</i> , 1998)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Carvacrol, ρ -cimeno y γ -terpineno	Alemania	(Azizi <i>et al.</i> , 2009)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Trans-Hidrato de sabineno, timol, γ -terpineno y 4-terpineol	Argentina (Mendoza)	(Dambolena <i>et al.</i> , 2009)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i>	Trans-Hidrato de sabineno, timol, γ -terpineno y 4-terpineol	Argentina (Córdoba)	(Asensio, 2013)
<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	Trans-Hidrato de sabineno, timol, 4-terpineol y γ -terpineno		

Así, se puede observar que el aceite esencial de una especie no siempre muestra un único patrón químico, debido seguramente a variaciones edáficas, climáticas, etc. que se conocen afectan cuali y cuantitativamente la composición de un AE. Sin embargo, los resultados del presente trabajo son coincidentes con lo encontrado por Asensio (2013), en la misma región de producción. Asimismo, la importante presencia

de hidrato de sabineno ha sido similar a la encontrada en *Origanum vulgare* ssp. *virens* y *O. vulgare* ssp. *vulgare*, en diversas localidades de Cuyo y La Pampa, Argentina (Dambolena *et al.*, 2009). Por lo tanto se puede establecer que los constituyentes mayoritarios en estas dos subespecies cultivadas en distintas regiones de Argentina, siguen un patrón químico similar. Esto podría ser utilizado como herramienta para asignarle trazabilidad a la esencia, siendo el grupo de constituyentes principales (trans-hidrato de sabineno, timol, γ -terpineno y 4-terpineol), marcadores químicos que permiten identificar el origen geográfico del AE, en este caso, las regiones productoras de Córdoba y Mendoza.

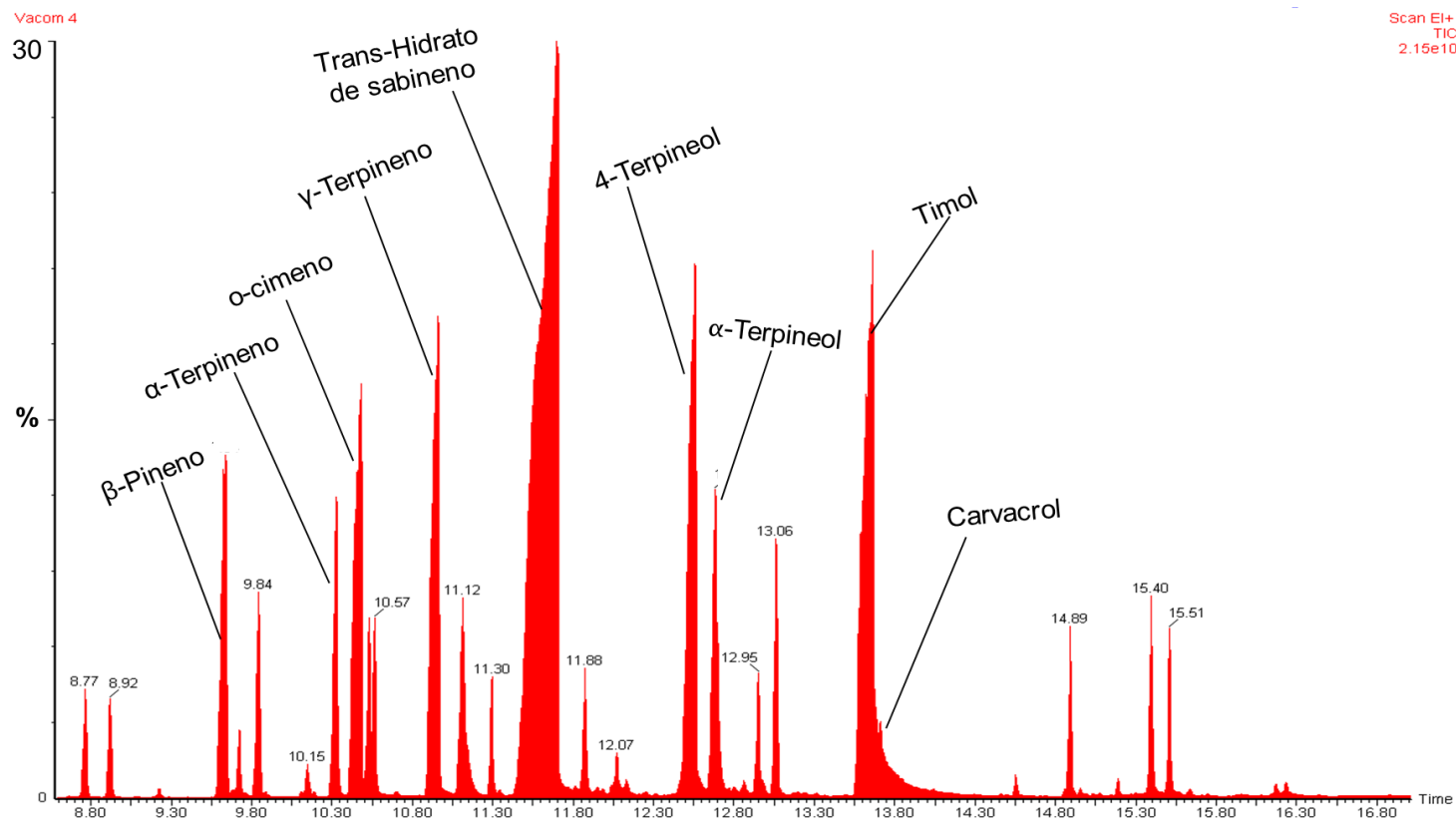


Figura 6. 2. Componentes del Aceite Esencial de “O. Compacto” en Plena Floración (PF). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.

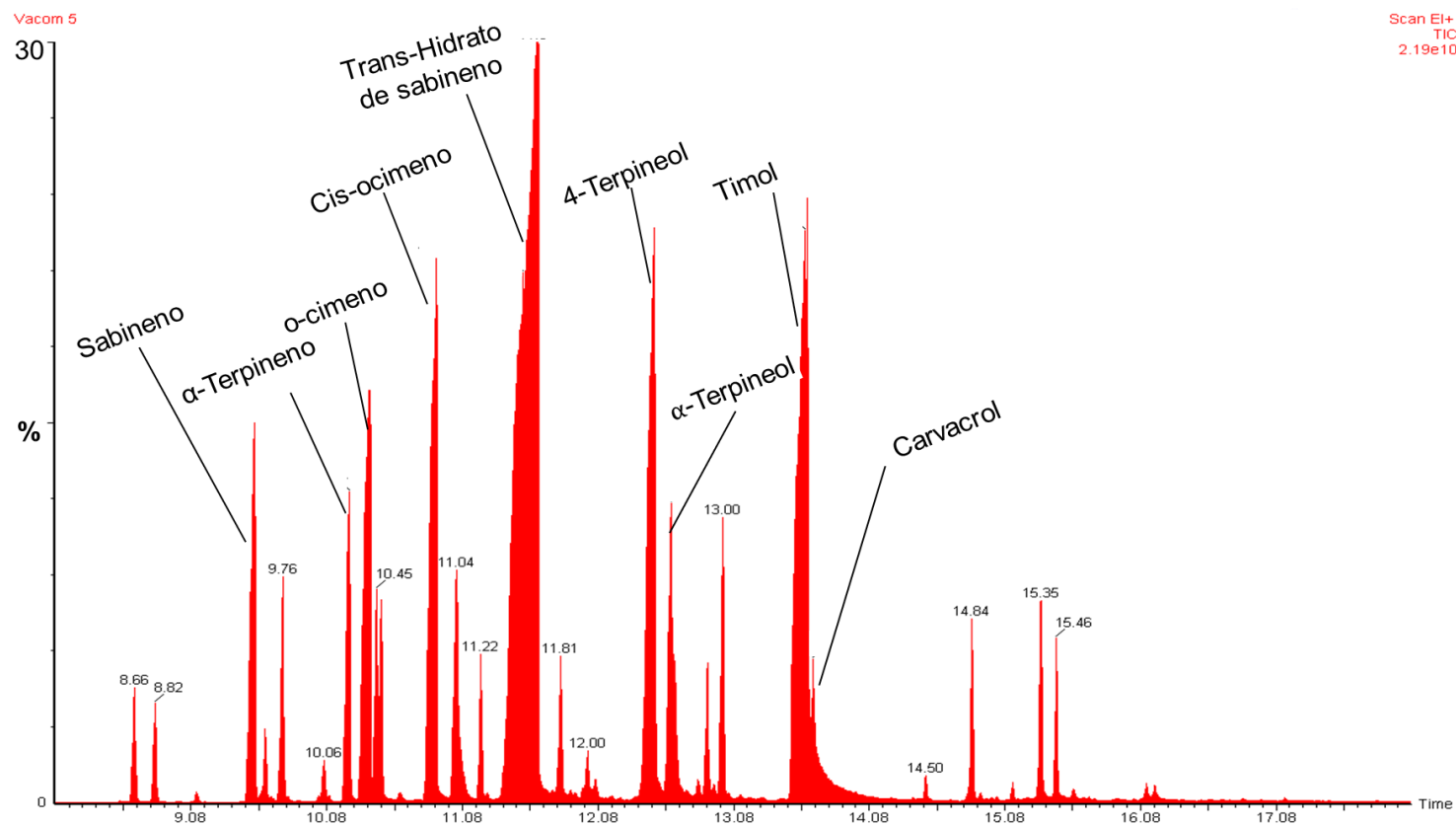


Figura 6. 3. Componentes del Aceite Esencial de “O. Compacto” en Floración Tardía (FT). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.

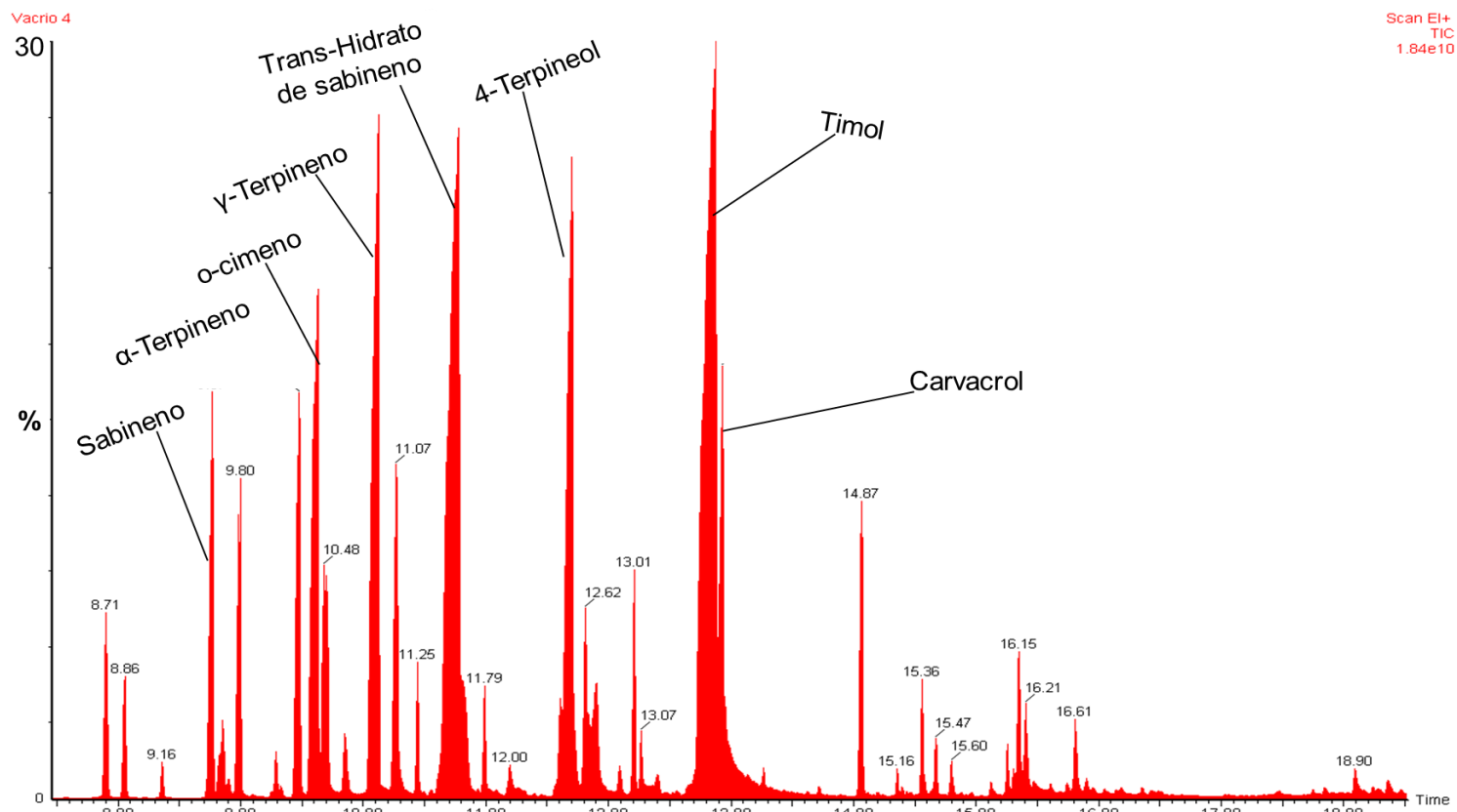


Figura 6. 4. Componentes del Aceite Esencial de "O. Criollo" Plena Floración (PF). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.

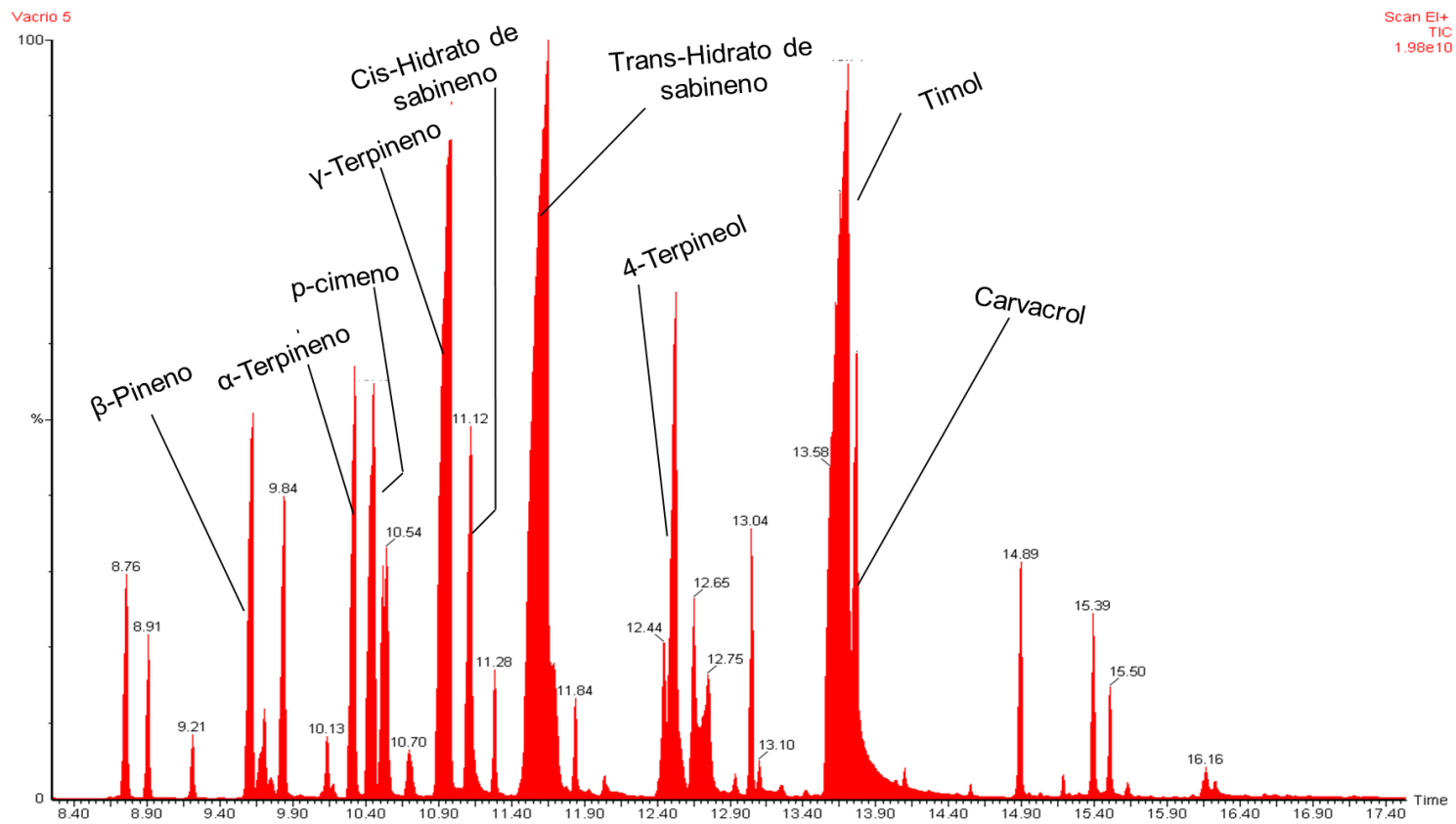


Figura 6. 5. Componentes del Aceite Esencial de O, Criollo Floración Tardía (FT). Los componentes identificados por su nombre constituyen una proporción mayor al 3% de los componentes totales.

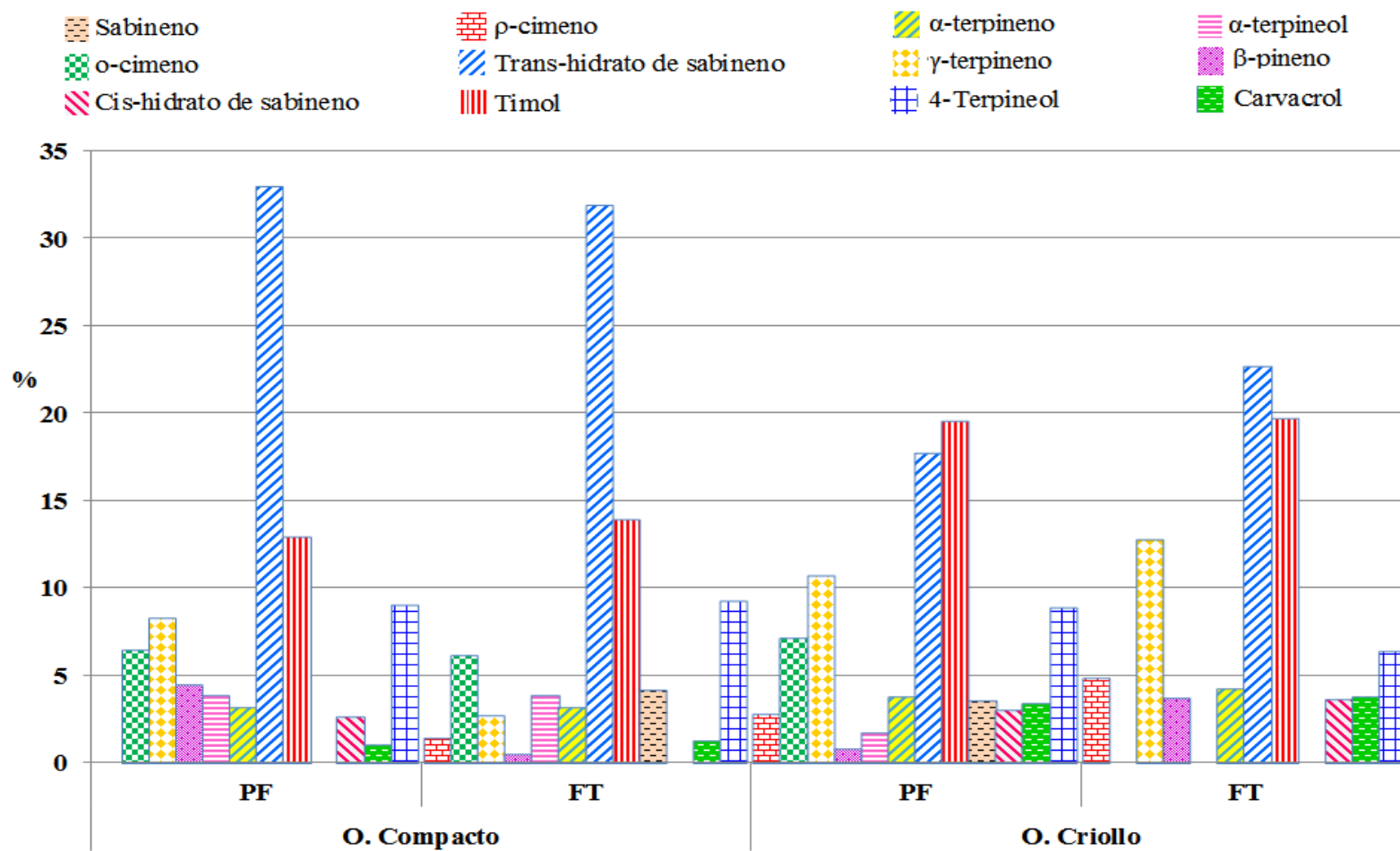


Figura 6. 6. Composición y cuantificación de componentes mayoritarios del Aceite Esencial de dos subespecies de orégano, “O. Compacto” y “O. Criollo”, en dos épocas de floración, Plena Floración (PF) y Floración Tardía (FT). Los resultados se expresan en porcentaje relativo del total de compuestos presentes.

Otro componente que vale la pena destacar por su importancia en orégano es el carvacrol. Cabe destacar que timol y carvacrol son isómeros y por ende, estructuralmente muy similares (Figura 6. 7). Consecuentemente sus tiempos de retención también lo son y es por ello que en el análisis cromatográfico pueden presentarse en un mismo pico, tal como sucedió en el caso de Compacto en PF (Figura 6. 2). Sin embargo, esto no impidió su correcta identificación y cuantificación.

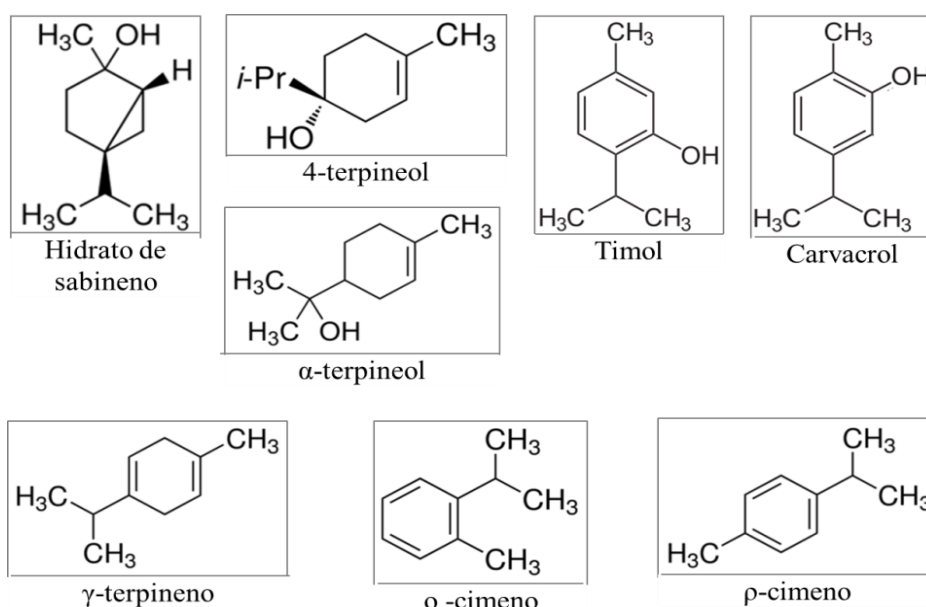


Figura 6. 7. Estructura química de los principales componentes del aceite esencial de orégano.

Cuantitativamente, en las subespecies estudiadas se encontró en baja proporción, al igual que en otros estudios realizados en la región de Córdoba (Asensio, 2013). Sin embargo en muchos trabajos, y por lo mencionado anteriormente, se cuantifica a timol y carvacrol de manera conjunta, considerando el total de compuestos fenólicos (Adam *et al.*, 1998). En este sentido, ambas subespecies poseen un contenido fenólico considerable que aportan a la aromaticidad de las subespecies.

Al comparar entre subespecies se puede advertir una diferencia genotípica en la proporción de los componentes hasta aquí mencionados, siendo el “O. Criollo” el que

manifestó ventajas cuantitativas respecto a timol y carvacrol. Esto tiene implicancia en la aromaticidad de la esencia, ya que estos monoterpenos oxigenados brindan fuertes notas picantes, relacionadas con el aroma resinoso (Juliani *et al.*, 2008). Además, estos compuestos más el γ -terpineno y el cimeno, también inciden en la actividad biológica de la esencia, ya que son de reconocida capacidad antimicrobiana y antioxidante (Bakkali *et al.*, 2008; Bendahou *et al.*, 2008; García-Pérez *et al.*, 2012), y han sido reportados de alta termoestabilidad en su acción antimicrobiana (De Souza *et al.*, 2008), por lo cual el “O. Criollo” podría considerarse de mayor interés en el ámbito de la conservación de alimentos.

Analizando la influencia de la época de cosecha se observó que existieron cambios tanto cualitativos como cuantitativos pero sobretudo en componentes traza, a excepción del el o-cimeno que estuvo ausente en “O. Criollo”*FT pese a constituir una proporción de alrededor del 7% en el resto de los tratamientos. Esta ausencia podría estar relacionada con un incremento en la proporción de su isómero, el ρ -cimeno que pasó del 2,7 % al 4,8 % (Tabla 6. 3 y Figura 6. 6). Igualmente, en términos cuantitativos, no existió un patrón común entre las subespecies en cuanto a la disminución/incremento de un determinado compuesto al cambiar la época de corte, más aún teniendo en cuenta los componentes principales timol, hidrato de sabineno, γ -terpineno y 4-terpineol. Es por ello que se dificulta la predicción de la modificación de algún atributo químico respecto a algunas de estas alternativas de manejo agronómico.

6.4. CONCLUSIONES

Las dos subespecies de *Origanum vulgare* estudiadas produjeron AE a valores de 3.9 a 3.1 ml/100g PS, superiores a los sugeridos por los protocolos de calidad existentes, tanto a nivel nacional como internacional. Asimismo, “O. Compacto” se considera de mayor rendimiento que “O. Criollo”.

Aspectos de manejo como la utilización de marcos de plantación equidistantes (0,35 x 0,40), no tuvieron una clara incidencia sobre el rendimiento de AE, rechazando la hipótesis planteada en el Capítulo 1 (ver hipótesis f, pág. 14). En cambio sí se pudo advertir una correlación positiva entre rendimiento de esencia y producción de hojas y flores del cultivo, más allá de la disposición de las plantas en el campo. Por lo cual toda práctica que favorezca dicha partición, generará ventajas productivas respecto al rendimiento de AE.

En términos cualitativos, el AE de las dos subespecies de orégano analizadas fue similar en cuanto al patrón químico, caracterizándose ambas por la fuerte presencia de hidrato de sabineno, timol, γ -terpineno y 4-terpineol. Estos resultados, al ser coincidentes con otros trabajos de la región productora de Argentina, esto es, Mendoza y Córdoba, brindan una importante información acerca del patrón químico más probable de encontrar en esta región de producción.

El análisis cuantitativo de la proporción de componentes sí muestra diferencias entre subespecies, en donde “O. Criollo” se distingue por su mayor cantidad de timol y carvacrol por lo cual se le atribuye a esta subespecie una mayor aromaticidad. Por lo tanto, en términos de rendimiento de esencia, el “O. Compacto” se muestra más productivo, pero en términos de calidad organoléptica de la esencia, el O, Criollo manifiesta ventajas cualitativas.

En este trabajo también se confirma que la época más propicia de cosecha para aprovechar el rendimiento de esencia es en floración. Dentro de esta etapa fenológica, la época de floración (plena o tardía) no ejerció una marcada influencia en la composición del aceite esencial, aunque sí pudieron advertirse pequeñas variaciones en los componentes traza, aceptando parcialmente la hipótesis planteada (ver hipótesis g,

Capítulo 1, pág. 14). Sin embargo en términos agronómicos, la plena floración muestra ventajas respecto a la floración tardía ya que una demora en la cosecha una vez que ha florecido, repercute en una pérdida de biomasa final obtenida por caída de hojas y desprendimiento natural de órganos florales, además de incrementar el riesgo de ataque de patógenos con la consecuente pérdida de calidad (por ennegrecimiento).

CONCLUSIONES GENERALES

7.1. BASES ECOFISIOLÓGICAS QUE DETERMINAN LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DE ORÉGANO

En el cultivo de orégano era inexistente un marco conceptual basado en la ecofisiología del cultivo hasta el desarrollo de esta tesis. Por primera vez, fueron analizados aspectos de desarrollo y crecimiento, tales como el tiempo térmico necesario para las fenofases críticas del cultivo y la respuesta fotoperiódica de la especie. Asimismo, también fueron estudiadas la influencia del fotoperíodo y de los cambios en el arreglo espacial del cultivo sobre los procesos de generación de biomasa y producción de esencia.

Previo al desarrollo de esta tesis, la especie *Origanum* spp carecía de una clave fenológica específica que sirviera como herramienta base para cuantificar respuestas de la especie en términos de desarrollo y de requerimiento térmico, y para explorar la variación genotípica y el efecto del manejo agronómico sobre el cultivo. Por ello, se desarrolló una clave que permitió dividir el ciclo de producción en dos macroestadios, vegetativos y reproductivos (V y R) y siete fases fenológicas (V_0 a V_3 y R_4 a R_6). A partir de ella, la caracterización de las diferencias genotípicas del orégano en términos ecofisiológicos, pudo ser simplificada.

A continuación se presenta un esquema del modelo ecofisiológico de generación de rendimiento del cultivo de orégano surgido de la presente tesis, en donde se resumen los principales factores que afectan dicho modelo y el nivel al cual éstos intervienen. Posteriormente se discute la dinámica de dicho modelo, así como también las principales variables a tener en cuenta a la hora de describir la ecofisiología del cultivo.

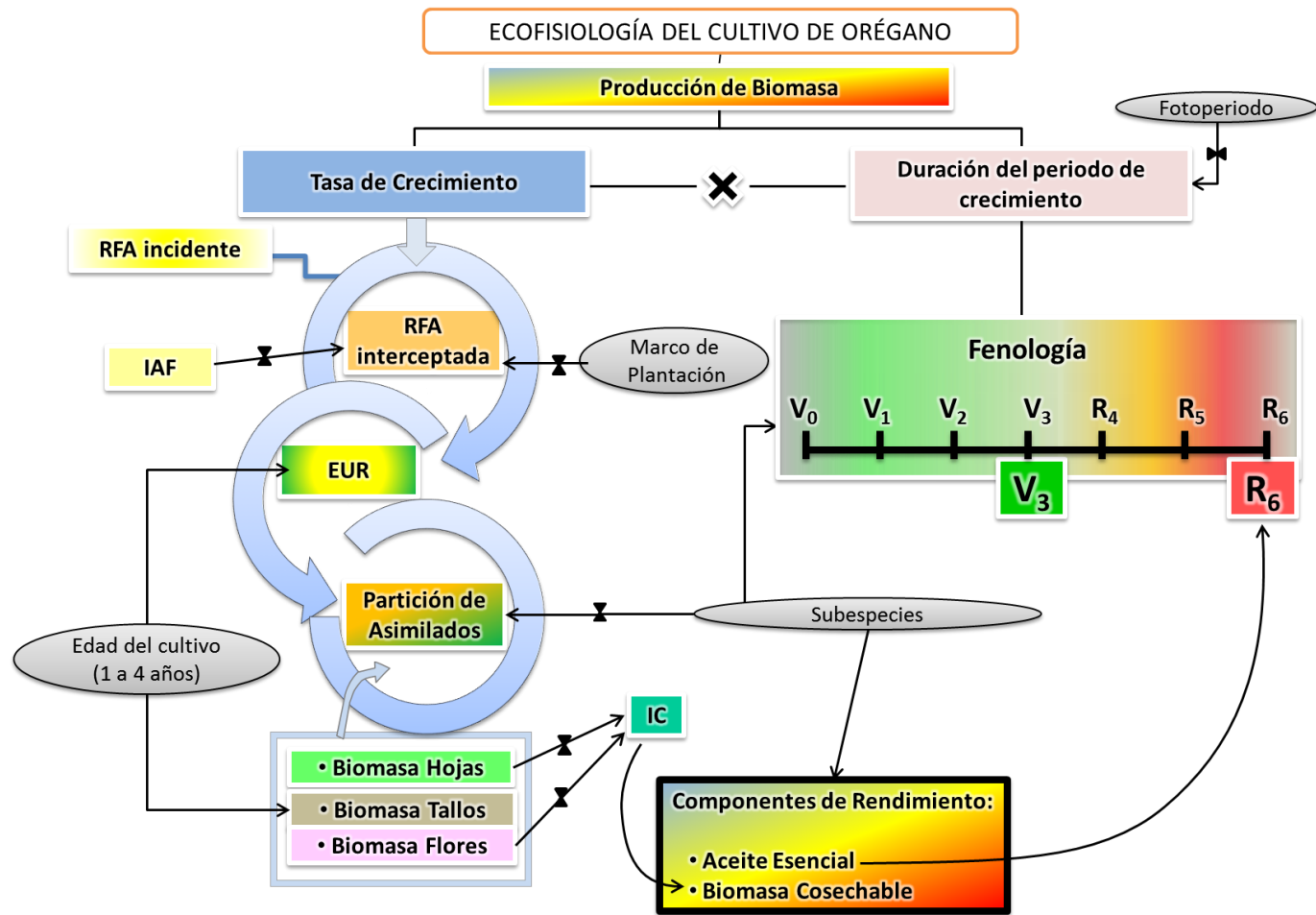


Figura 7. 1. Representación esquemática del modelo ecofisiológico de generación de rendimiento del cultivo de orégano. Componentes (cajas rectangulares) y factores que lo modulan (elipses).

Las diferencias entre “O. Compacto” y “O. Criollo” en cuanto al desarrollo fenológico se fundan básicamente en el requerimiento térmico hacia fenofases críticas V_3 (fenofase de transición) y R_6 (plena floración), siendo menores en “O. Compacto”. De allí se explica la mayor precocidad del ciclo de esta subespecie respecto a “O. Criollo”, visualizado tanto en tiempo calendario, como en tiempo térmico.

El requerimiento térmico diferencial de las subespecies respondió al típico comportamiento de las plantas de día largo. Bajo fotoperiodo extendido, ambas subespecies acortaron el tiempo a floración. Sin embargo, si bien la duración del periodo vegetativo fue similar entre ambas, “O. Criollo”, manifestó una mayor sensibilidad fotoperiódica, anticipando la floración en mayor medida que “O. Compacto”. El análisis anatómico-fenológico a su vez, comprobó la transición floral más temprana en “O. Criollo” bajo condiciones de fotoperíodo extendido. Es así, que en orégano, el efecto del fotoperiodo genera una respuesta genotipo-dependiente sobre la duración del ciclo.

La anticipación de las fenofases críticas (V_3 y R_6) tuvo consecuencias en la cantidad de biomasa acumulada hacia el final del ciclo, por lo cual los parámetros de productividad del cultivo de orégano, tales como biomasa y rendimiento de aceite esencial se vieron reducidos, siendo dichos efectos más acentuados en “O. Compacto”. Por el contrario, la prolongación de las horas de luz incrementó el rendimiento de esencia en ambas subespecies. Es probable que la mayor proporción de flores por unidad de biomasa explique esta respuesta, pero futuras investigaciones son necesarias para profundizar en el mecanismo subyacente.

Tampoco existían antecedentes bibliográficos acerca de aspectos como la dinámica de intercepción de la radiación solar, la eficiencia fotosintética del cultivo y sus consecuencias sobre la generación del rendimiento y su calidad. En esta tesis, se encontró que la eficiencia del uso de la radiación dependió de la edad del cultivo, siendo superior durante el primer año productivo. Probablemente, la mayor cantidad de biomasa verde fotosintetizante, particularmente hojas, explique dicha respuesta. Las diferencias en la EUR entre subespecies se hicieron visibles cuando se modificó el marco de plantación. “O. Criollo” no modificó su EUR ante cambios del marco de

plantación. En contraste, “O. Compacto” mejoró su EUR ante espaciamientos equidistantes entre plantas (0,35 x 0,40 m), pero este efecto desapareció durante el segundo año de producción. La menor EUR durante el segundo año de producción de O. Compacto*0,35 explicó la menor productividad del cultivo bajo dicho marco de plantación. Es probable que el microclima generado por la alta densidad del canopeo resultara adverso en términos de susceptibilidad a enfermedades (aspectos observados pero no cuantificados) o haya inducido una senescencia anticipada. Por otro lado, más estudios son necesarios para valorar si la EUR es afectada por el momento de corte. En esta tesis, el cultivo fue cosechado por completo al final del ciclo de crecimiento (no en floración) y es probable que dicho manejo haya alterado el rebrote que típicamente inicia en verano, luego del primer corte de floración.

Otro de los componentes del modelo ecofisiológico tiene que ver con las estrategias de intercepción del recurso lumínico. En este sentido, marcos de plantación homogéneos incrementaron la intercepción de la radiación solar en las primeras etapas del ciclo del cultivo respecto a MP tradicionales. Sin embargo, en etapas ontogénicas avanzadas del ciclo, no hubo una clara diferenciación entre MP ni subespecies respecto a Ri y RFAi-ac. Es probable que al comienzo del ciclo de crecimiento, la plasticidad del cultivo para cubrir el surco haya sido baja, por lo cual un MP homogéneo favoreció a una más rápida ocupación de los espacios, alcanzando más tempranamente el IAF crítico que el MP tradicional. Pero una vez que el cultivo llegó al IAF crítico, el MP fue indistinto en la intercepción de la radiación. Es probable que una vez alcanzado el IAF crítico, la productividad dependa más de parámetros de eficiencia fotosintética.

En virtud de lo anterior, sería de gran interés agronómico indagar si prácticas que aumenten la eficiencia fotosintética pueden posicionar al MP de 0,35 como el más productivo. En este estudio, el marco de plantación no tuvo un claro efecto sobre el patrón de distribución de asimilados (índice de partición) en ninguna de las subespecies, por lo cual se rechaza la hipótesis planteada en este sentido (pág. 14, e). En cambio, sí hubo diferencias entre subespecies, siendo el “O. Criollo” el más eficiente. Mientras “O. Criollo” siguió priorizando la formación de órganos florales aún en etapas de senescencia y fin de ciclo, en “O. Compacto” la biomasa de flores disminuyó tan

rápidamente como la de hojas. Estos resultados resaltan la necesidad de ajustar en forma precisa los momentos de cosecha de cada subespecie.

El estudio de la generación de rendimiento utilizando diferentes MP, permitió explorar las diferencias entre subespecies en sus parámetros productivos en relación con la arquitectura de la planta. La hipótesis planteada al inicio de esta tesis respecto a los beneficios de un MP homogéneo (pág. 14, f) se acepta parcialmente, ya que si bien el espaciamiento equidistante aumentó la captura de radiación, no mejoró los parámetros productivos (rendimiento de biomasa ni producción de AE). El cambio en el diseño del arreglo espacial del cultivo abrió nuevos interrogantes, ya que se encontraron fuertes interacciones entre variables (IAF, Ri y RFAi-ac, ontogenia, partición. Son necesarios más estudios para indagar si los parámetros de eficiencia una vez alcanzado el IAF crítico pueden mejorarse a través de prácticas como la fertilización y sobretodo del manejo de los tiempos de cosecha.

La producción de AE es uno de los atributos de calidad más importantes en orégano, y en este sentido ambas subespecies produjeron rendimientos de AE superiores a los sugeridos por los protocolos de calidad existentes, tanto a nivel nacional como internacional. Sin embargo, en este estudio se demostraron diferencias genotípicas en el rendimiento de esencia a favor del “O. Compacto”. Por el contrario, el AE de “O. Criollo” muestra ventajas cualitativas respecto a su aromaticidad, dada por una mayor proporción de timol y carvacrol en su composición respecto a “O. Compacto”. En cuanto al manejo agronómico para la producción de AE, prácticas como la utilización de marcos de plantación equidistantes o la selección de épocas de cosecha variables dentro del período de floración, no tuvieron incidencia significativa sobre el rendimiento de AE, ni sobre los aspectos cualitativos de la esencia, respectivamente.

Finalmente, la fuerte influencia del ciclo de producción en la mayoría de los componentes del rendimiento de orégano amerita una profundización de los estudios para establecer mejor las causas y atender a mejorar los parámetros de producción a lo largo del ciclo agronómico del cultivo.

7.2. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN PRESENTES Y FUTURAS

En el presente trabajo de Tesis, se han generado nuevos conocimientos acerca de la economía del carbono del cultivo de orégano, haciendo énfasis en la captura y uso de radiación, y en la respuesta fotoperiódica de la especie y su impacto en los parámetros productivos. Fruto de este trabajo, surgieron hasta el momento las siguientes publicaciones:

- ✿ Davidenco V., C. R. C. Vega, y J. A. Argüello. 2012. Respuesta fotoperiódica en *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* y ssp. *hirtum* Ietsw. Impacto sobre su desarrollo y crecimiento. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo 44(1):1-12.
- ✿ Davidenco V., L. Seisdedos, S. B. Núñez, y J. A. Argüello. 2014. Floral transition in *Origanum vulgare* L.: Anatomical analysis across phenological stages in response to different photoperiodic regimes. Chilean Journal of Agricultural Research 74(3):349-354.
- ✿ Davidenco V., C. R. C. Vega, M. B. Piccardi, y J. A. Argüello. 2015. Development in *Origanum* ssp.: A simple phenological scale to determine thermal time requirements to critical reproductive events. Scientia Horticulturae, En prensa, Febrero de 2014.

Los aspectos referentes a los parámetros productivos que constituyen el modelo ecofisiológico, y la influencia del marco de plantación, están siendo procesados para próximas publicaciones.

Asimismo, de estos resultados, se desprenden futuras líneas de investigación, que permitirán completar los conocimientos sobre la ecofisiología del cultivo de orégano:

- ✿ Evaluar el impacto de determinadas estrategias de manejo, tales como fertilización, riego, cortes de limpieza, etc., estableciendo como hipótesis que dichas prácticas mejorarían la EUR en los años subsiguientes de producción, y con ello aumentaría el vigor de las plantas luego del receso invernal, su sanidad y consecuentemente su vida útil productiva.
- ✿ Evaluar la dinámica de partición de asimilados en respuesta a un manejo intensivo de dos cortes por ciclo, haciendo énfasis en el patrón de ramificación y ocupación del espacio y en la calidad del producto cosechado. Las subespecies que florezcan en los dos cortes tendrán la ventaja en cuanto a calidad de la cosecha (flores), pero la que sólo florezca uno, tendrá mayor productividad en términos de biomasa (hojas), y mayor longevidad (vida útil del cultivo).
- ✿ Profundizar en los factores que inciden en el rendimiento de AE focalizando en la distribución y densidad de tricomas glandulares. El estudio indirecto de la densidad de tricomas glandulares como componente del rendimiento del AE, daría mayor exactitud a la comprensión de la influencia que tienen las condiciones ambientales variables (por ej., condición hídrica y nutricional).
- ✿ Evaluar el efecto de la condición nutricional sobre la productividad del cultivo, estudiando en profundidad la economía de los nutrientes, se podrían sentar bases para un uso más eficiente tanto del recurso hídrico como del lumínico.
- ✿ Evaluar el efecto de la condición hídrica sobre los parámetros de eficiencia del cultivo, siendo que el factor hídrico es una de las limitantes principales en el sistema productivo de la provincia de Córdoba.

BIBLIOGRAFÍA

Adam K., A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras, y M. Arsenakis. 1998. Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(5):1739-1745.

Ahmad Nazarudin M. R., F. Y. Tsan, O. Normaniza, y Y. Adzmi. 2012. Phenological growth stages of the golden penda tree (*Xanthostemon chrysanthus*). *Annals of Applied Biology* 161(1):12-15.

Andrade F. H. y V. O. Sadras. 2000. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. EEA INTA Balcarce- Facultad de Ciencias Agrarias UNMP. Bs.As.

Andrade F. H., V. O. Sadras, C. R. C. Vega, y L. Echarte. 2005. Physiological determinants of crop growth and yield in maize, sunflower and soybean. Their application to crop management, modeling and breeding. *Journal of Crop Improvement* 14:51-101.

Andrade F. H., S. A. Uhart, G. G. Arguissain, y R. A. Ruiz. 1992. Radiation use efficiency of maize grown in a cool area. *Field Crops Research* 28:345-354.

Arena M., G. Vater, y P. Peri. 1998. Propagación y producción de *Berberis* en la Patagonia Austral. Page 73 pp. in Informe Técnico., EEA Santa Cruz.

Arraiza M. P., M. P. Andrés, C. Arrabal, y J. V. López. 2009. Seasonal variation of essential oil yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown in castilla - la Mancha (Central Spain). *Journal of Essential Oil Research* 21(4):360-362.

Aschan G. y H. Pfanz. 2003. Non-foliar photosynthesis – a strategy of additional carbon acquisition. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 198(2):81-97.

Asensio C. M. 2013. Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva. Tesis Doctoral. Córdoba, Argentina, Córdoba. 227 pp.

Azizi A., F. Yan, y B. Honermeier. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products* 29(2-3):554-561.

Baker J. T. y V. R. Reddy. 2001. Temperature Effects on Phenological Development and Yield of Muskmelon. *Annals of Botany* 87(5):605-613.

Bakkali F., S. Averbeck, D. Averbeck, y M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46(2):446-475.

Bandoni A. 2000. Aspectos agronómicos en la producción de especies aromáticas. En: *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. Bandoni, (ed) Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Bs. As. 103-130.

Baranauskienė R., P. R. Venskutonis, E. Dambrauskienė, y P. Viskelis. 2013. Harvesting time influences the yield and oil composition of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and ssp. *hirtum*. *Industrial Crops and Products* 49(0):43-51.

- Baratta M. T., H. Dorman, S. G. Deans, A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, y G. Ruberto. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 13(4):235-244.
- Bendahou M., A. Muselli, M. Grignon-Dubois, M. Benyoucef, J.-M. Desjobert, A.-F. Bernardini, y J. Costa. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry* 106(1):132-139.
- Berghold H., S. Wagner, M. Mandl, A. Thaller, M. Müller, M. Rakowitz, S. Pasteiner, y H. Boechzelt. 2008. Yield, content and composition of the essential oil of five Oregano strains (*Origanum vulgare* L.) depending on the developmental stage. *Journal of Medicinal & Spice Plants* 13(1):36-43.
- Buban T. y M. Faust. 1982. Flower bud induction in apples: internal control and differentiation. *Horticultural Review* 4:174-202.
- CAEMPA. 2010. Orégano. *Especies botánicas e híbridos Cultivados en Argentina*. Vol. 2010.
- Cannell M. G. R. y J. H. M. Thornley. 2000. Modelling the Components of Plant Respiration: Some Guiding Principles. *Annals of Botany* 85(1):45-54.
- Cao W. y D. N. Moss. 1989. Daylength Effect on Leaf Emergence and Phyllochron in Wheat and Barley. *Crop Science* 29(4):1021-1025.
- Cárcova J., L. G. Abeledo, y M. L. Pereyra. 2003. Análisis de la generación del rendimiento: crecimiento, partición y componentes. En: *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo*. Satorre E. H., Benech Arnold R. L., Slafer G. A., De la Fuente E. B., J. Miralles, M. E. Otegui, y R. Savin., (eds). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Buenos Aires. Argentina.
- Ciha A. J. y W. W. Wilhelm. 1997. Letter to the Editor. *Crop Science* 37(4):1039-1040.
- Circella G., C. Franz, J. Novak, y H. Resch. 1995. Influence of day length and leaf insertion on the composition of marjoram essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* 10(6):371-374.
- Collino D. J., J. L. Dardanelli, M. J. D. Luca, y R. W. Racca. 2005. Temperature and water availability effects on radiation and water use efficiencies in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45:383-390.
- Coupland G. 1995. Genetic and environmental control of flowering time in *Arabidopsis*. *Trends in Genetics* 11(10):393-397.
- Chen W., B. Bellotti, M. J. Robertson, Z. Biao Nan, y Y. Shen. 2003. Performance of APSIM-Lucerne in Gansu, north-west China. En: "Solutions for a better environment" Proceedings of the 11th Australian Agronomy Conference. A. S. o. Agronomy, (ed) (www.regional.org.au/au/asa/2003/c/7/chen.htm). Geelong, Victoria.
- Chlodwing F. y J. Novak. 1997. Breeding of origanum species. En: *Oregano. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. 14. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi, (ed). CIHIEAM Valenzano, Bari, Italy. 34-48
- D'Antuono L. F., G. C. Galletti, y P. Bocchini. 2000. Variability of Essential Oil Content and Composition of *Origanum vulgare* L. Populations from a North

Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy). *Annals of Botany* 86(3):471-478.

D'Antuono L. F., C. Galletti Guido, y P. Bocchini. 2002. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. population from a North Mediterranean Area (Liguria Region, Northern Italy). *Annals of Botany* 86:471-478.

D'Ambrogio de Argüeso A. C. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

Dambolena J. S., M. P. Zunino, E. I. Lucini, R. Olmedo, E. Banchio, P. J. Bima, y J. A. Zygadlo. 2009. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(2):1115-1120.

Davidenco V., C. R. C. Vega, y J. A. Argüello. 2012. Respuesta fotoperiódica en *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* y ssp. *hirtum* Ietsw. Impacto sobre su desarrollo y crecimiento. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo* 44(1):1-12.

Davidenco V., C. R. C. Vega, M. B. Piccardi, y J. A. Argüello. 2015. Development in *Origanum* ssp.: A simple phenological scale to determine thermal time requirements to critical reproductive events. En prensa, febrero de 2015.

De Falco E., E. Mancini, G. Roscigno, E. Mignola, O. Tagliatela-Scafati, y F. Senatore. 2013. Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under Different Growth Conditions. *Molecules* 18(12):14948-14960.

De Souza E. L., T. L. M. Stamford, E. D. O. Lima, J. M. Barbosa Filho, y M. O. M. Marques. 2008. Interference of heating on the antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 28(2):418-422.

Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, y C. W. Robledo. 2014. InfoStat, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar/>

Dolling P. J., M. J. Robertson, S. Asseng, P. Ward, y R. A. Latta. 2005. Simulating lucerne growth and water use on diverse soil types in a Mediterranean-type environment. *Aust. J. Agric. Res.* 56:503-515.

Donald C. M. y J. Hamblin. 1976. The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Advances in Agronomy* 28:361-405.

Dudai N., E. Putievsky, D. Palevitch, y H. Halevy. 1989. Environmental factors affecting flower initiation and development in *Majorana syriaca* L. (*Origanum syriacum* var. *syriacum*). *Israel Journal of Botany* 38:229-239.

Dudai N., E. Putievsky, U. Ravid, D. Palevitch, y H. Halevy. 1992. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as affected by environmental condition and flowering. *Physiologia Plantarum* 84:453-459.

Economou G., G. Panagopoulos, P. Tarantilis, D. Kalivas, V. Kotoulas, I. S. Travlos, M. Polysiou, y A. Karamanos. 2011. Variability in essential oil content and composition of *Origanum hirtum* L., *Origanum onites* L., *Coridothymus capitatus* (L.) and *Satureja thymbra* L. populations from the Greek island Ikaria. *Industrial Crops and Products* 33(1):236-241.

Esau K. 1982. Anatomía de las plantas con semilla. Ed. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina.

Evans R. C. y T. A. Dickinson. 2005. Floral ontogeny and morphology in *Gillenia* ("Spiraeoideae") and subfamily Maloideae C. Weber (Rosaceae). *International Journal of Plant Sciences* 166(3):427-447.

Evans W. C. y G. E. Trease. 1995. Tratado de Farmacognosia. 13ª ed. México (DF).

Fahlén A., M. Welander, y R. Wennersten. 1997. Effects of Light-Temperature Regimes on Plant Growth and Essential Oil Yield of Selected Aromatic Plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73(1):111-119.

Fahn A. 1982. Anatomía Vegetal. Ediciones Pirámide S.A. Madrid, España.

Farías G., O. Brutti, R. Grau, P. Di Leo Lira, D. Retta, C. van Baren, S. Vento, y A. L. Bandoni. 2010. Morphological, yielding and quality descriptors of four clones of *Origanum* spp. (Lamiaceae) from the Argentine Littoral region Germplasm bank. *Industrial Crops and Products* 32(3):472-480.

Farmacopea Argentina. 2003. Ministerio de Salud de la Nación. Secretaría de políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias. ANMAT, INAME. Vol. Vol. I. Séptima Edición. Argentina.

García-Pérez E., C.-Á. Fernando Francisco, J. A. Gutiérrez-Urbe, y S. García-Lara. 2012. Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 3(2):339-353.

Gardner F. P., R. B. Pierce, y R. L. Mitchel. 1985. Physiology of crops plants. Iowa State University Press. USA 327

Gavalas N. P., K. L. Kalburttji, S. Kokkini, A. P. Mamolos, y D. S. Veresoglou. 2011. Ecotypic variation in plant characteristics for *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* populations. *Biochemical Systematics and Ecology* 39(4):562-569.

Ghershenzon J., M. E. McConkey, y B. C. R. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiology* 122:205-213.

Giesler L. J., G. Y. Yuen, y G. L. Horst. 1996. The microclimate in tall fescue turf as affected by canopy density and its influence on brown patch disease. *Plant Disease* 80(4):389-394.

González F. G., G. A. Slafer, y D. J. Miralles. 2002. Vernalization and photoperiod responses in wheat pre-flowering reproductive phases. *Field Crops Research* 74:183-195.

Gosse G., C. Varlet-Grancher, R. Bonhomme, M. Chartier, J. M. Allirand, y G. Lemaire. 1986. Production maximale de matiere seche et rayonnement solaire intercepté par un couvert vegetal. *Agronomie* 6:47-56.

Gümüşçü A., A. Ipek, E. O. Sarihan, B. Gürbüz, M. D. Kaya, y N. Arslan. 2008. Effects of diurnal and ontogenetic variability on essential oil composition of oregano (*Origanum vulgare* var. *hirtum*). *Asian Journal of Chemistry* 20(2):1290-1294.

Hall A. J. 1979. Los componentes fisiológicos del rendimiento de los cultivos. in Proc. Primera Jornada de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria organizada con la Bolsa de Cereales de Buenos Aires en adhesión al 125º aniversario de su fundación (6 de septiembre de 1979).

Hall A. J. 1980. Los componentes fisiológicos del rendimiento de los cultivos. Rev. Facultad de Agronomía. 1((1)):73-86.

Helander I. M., H.-L. Alakomi, K. Latva-Kala, T. Mattila-Sandholm, I. Pol, E. J. Smid, L. G. Gorris, y A. von Wright. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(9):3590-3595.

I.S.O. 1984. Spices, condiments and herbs - Determination of volatile oil content. ISO 6571:2008, Geneva.

Isman M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection 19(8):603-608.

ISO. 1999. International Organization for Standardization. Oregano. Vol. 2010. <http://www.iso.org.iso>.

ISO/FDIS. 7925. 1999. Dried oregano (*Origanum vulgare* L.) - Whole or ground leaves - Specifications. Final Draft International Standard. CH: International Organisation for Standardization. Geneva.

Jenni S.y G. Bourgeois. 2008. Quantifying phenology and maturity in crisphead lettuce. HortTechnology 18(4):553-558.

Juliani H. R., F. N. Biurrun, A. Koroch, A. De Carli, J. A. Zygodlo, J. Janick, y A. Whipkey. 2007. The production of native and exotic herbs, medicinal and aromatic plants in Argentina. Issues in new crops and new uses.

Juliani H. R., J. E. Simon, C. Quansah, E. Asare, R. Akromah, D. Acquaye, J. Asante-Dartey, M. L. Mensah, T. C. Fleischer, y R. Dickson. 2008. Chemical diversity of *Lippia multiflora* essential oils from West Africa. Journal of Essential Oil Research 20(1):49-55.

Kalu B. A.y G. W. Fick. 1981. Quantifying Morphological Development Of Alfalfa For Studies Of Herbage Quality. Crop Science 21(2):267-271.

Karamanos A. J.y D. E. K. Sotiropoulou. 2013. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. Industrial Crops and Products 46:246-252.

Karpouhtsis I., E. Pardali, E. Feggou, S. Kokkini, Z. G. Scouras, y P. Mavragani-Tsipidou. 1998. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(3):1111-1115.

Khaiti M.y G. Lemaire. 1992. Dynamics of shoot and root growth of lucerne after seeding and after cutting. European Journal of Agronomy 1: 241-247.

Kintzios S. E. 2002a. The genera *Origanum* and *Lippia* (Medicinal and aromatic plants-industrial profiles). Vol. 25. Agricultural University of Athens. Athens, Greece.

Kintzios S. E. 2002b. Profile of the multifaceted prince of the herbs. . En: Oregano – The Genera *Origanum* and *Lippia*. S. E. Kintzios, (ed) Taylor & Francis. London pp. 3-8.

Kizil S., A. Ipek, N. Arslan, y K. M. Khawar. 2008. Effect of different developing stages on some agronomical characteristics and essential oil composition of Oregano (*Origanum onites*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 36(1):71-76.

Kizil S., A. Ipek, N. Arslan, y K. M. Khawar. 2009. Some agronomical characteristics and essential oil content of oregano (*Origanum onites* L.) as

Influenced by planting densities. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 12(2):172-180.

Kofidis G., M. Bosabalidis, y M. Moustakas. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare* L.). *Annals of Botany* 92:635-645.

Kordali S., A. Cakir, H. Ozer, R. Cakmakci, M. Kesdek, y E. Mete. 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology* 99(18):8788-8795.

Krupinsky J. M., K. L. Bailey, M. P. McMullen, B. D. Gossen, y T. K. Turkington. 2002. Managing Plant Disease Risk in Diversified Cropping Systems. *Agronomy Journal* 94(2):198-209.

Kula J., T. Majda, A. Stoyanova, y E. Georgiev. 2007. Chemical composition of *Origanum vulgare* L. essential oil from Bulgaria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 10(3):215-220.

Lancashire P. D., H. Bleiholder, T. V. D. Boom, P. LangelÜDdeke, R. Stauss, E. Weber, y A. Witzemberger. 1991. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* 119(3):561-601.

Lenardis A. E., A. Gil, y C. Morvillo. 2006. "Orégano". En: *Cultivos Industriales*. 1 ed. E. B. De la Fuente, A. Gil, P. I. Jiménez, A. G. Kantolic, M. Lopez Pereira, E. L. Ploschuk, D. M. Sorlino, M. P. Vilariño, D. F. Warsner, y L. B. Windaver, (eds). Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. R.A

Luque R., H. C. Sousa, y J. E. Kraus. 1996. Estudio comparativo dos métodos de coloração de Roeser (1972) modificado e Kropp (1972) visando a substituição do Azul de Astra por Azul de Alciação 8 GS ou 8 GX. *Acta Botanica Brasilica* 10(2):199-212.

Marques P. A. A., L. B. Filho, y C. P. Santos. 2009. Growth, essential oil production and gas exchange in oregano affected by different irrigation depth. *Ciencia Rural* 39(6):1888-1892.

Martínez-Tomé M., A. M. Jiménez, S. Ruggieri, N. Frega, R. Strabbioli, y M. A. Murcia. 2001. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *Journal of Food Protection*® 64(9):1412-1419.

Marzi V. 1997. Agricultural practices for orégano. En: *Oregano. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. 14. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano. S. Padulosi, (ed). CIHEAM. Valenzano, Bari, Italy. 61-67.

Meza N. y D. Bautista. 2005. Fenología de la floración en dos variedades de níspero. *Agronomía Tropical* 55:203-215.

Miller P., Lanier W., y B. S. 2001. Using Growing Degree Days to Predict Plant Stages. Montana State University. Extension Service. USA.

Mischan M. M., S. Zambello de Pinho, y L. R. Carvalho. 2011. Determination of a point sufficiently close to the asymptote in nonlinear growth functions. *Scientia Agricola* 68:109-114.

Mockute D., G. Bernotiene, y A. Judzentiene. 2001. The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry* 57(1):65-69.

Molteni R. 2011. EURL Evaluation report on "oregano essential oil" (*Origanum heracleoticum* L.). European Union Reference Laboratory for feed additives (EURL-FA).

Monteith J. L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B*(281):277–294.

Mosquero M., M. Angeles, R. Juan, y J. E. Pastor Díaz. 2005. Morfología y anatomía de núculas de *Origanum* L.(Lamiaceae) del suroeste de España. *Anales de Biología*.

Mouradov A., F. Cremer, y G. Coupland. 2002. Control of Flowering Time: Interacting Pathways as a Basis for Diversity. *The Plant Cell Online* 14:111-130.

Moure A., J. M. Cruz, D. Franco, J. M. Domínguez, J. Sineiro, H. Domínguez, M. a. José Núñez, y J. C. Parajó. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* 72(2):145-171.

Novak J., C. H. Bitsch, F. Pank, J. Langbehn, y C. H. Franz. 2002. Distribution of the cis-sabinene hydrate acetate chemotype in accessions of marjoram (*Origanum majorana* L.) *Euphytica* 127:69-74.

Novak J., B. Lukas, y C. Franz. 2010. Temperature influences thymol and carvacrol differentially in *Origanum* spp. (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research* 22(5):412-415.

Nurzynska-Wierdak R. y K. Dzida. 2009. Influence of plant density and term of harvest on yield and chemical composition of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 8(1):51-61.

Oker-Blom P. y S. Kellomäki. 1982. Effect of angular distribution of foliage on light absorption and photosynthesis in the plant canopy: Theoretical computations. *Agricultural Meteorology* 26(2):105-116.

Osuna Enciso T., E. M. Engleman, A. E. Becerril Román, R. Mosqueda Vázquez, M. Soto Hernández, y A. Castillo Morales. 2000. Iniciación y diferenciación floral en mango "manila". *Agrociencia* 34(5):573-581.

Paine C. E. T., T. R. Marthews, D. R. Vogt, D. Purves, M. Rees, A. Hector, y L. A. Turnbull. 2012. How to fit nonlinear plant growth models and calculate growth rates: an update for ecologists. *Methods in Ecology and Evolution* 3(2):245-256.

Pank F., C. Vender, L. V. Niekerk, W. Junghanns, J. Langbehn, W. D. Blüthner, J. Novak, y C. H. Franz. 2002. Combining ability of *Origanum majorana* L. Strains-agronomical traits and essential oil content: results of the field experiment series in 1999. *Journals of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 9(2/3):31-44.

Passos J. R. d. S., S. Z. d. Pinho, L. R. d. Carvalho, y M. M. Mischán. 2012. Critical points in logistic growth curves and treatment comparisons. *Scientia Agricola* 69:308-312.

Paunero I. E. 2012. Mejoramiento genético en plantas aromáticas. in *Proc. XXXV Congreso Argentino de Horticultura.*, Corrientes, Argentina.

Peng S. B., K. G. Cassman, y M. J. Kropff. 1995. Relationship between leaf photosynthesis and nitrogen content of field-grown rice in tropics. *Crop Science* 35:1627–1630.

Perreta M. y A. Vegetti. 2005. Patrones estructurales en las plantas vasculares: una Revisión. *Gayana. Botánica* 62(1):9-19.

- Planchuelo-Ravelo A. M. 1989. Sistema de observaciones fenológicas y fenométricas para la calibración de modelos fisiológicos de rendimiento. *Rev. Fac. Agronomía* 9(1-2):99-108.
- Porter C. L. 1967. *Taxonomy of Flowering Plants*. Vol. 2º Ed. W.H. Freeman, California. San Francisco USA.
- Purcell L. C., R. A. Ball, J. D. Reaper, y E. D. Vories. 2002. Radiation Use Efficiency and Biomass Production in Soybean at Different Plant Population Densities. *Crop Science* 42:172–177.
- Ramírez F., G. Fischer, T. L. Davenport, J. C. A. Pinzón, y C. Ulrichs. 2013. Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) phenology according to the BBCH phenological scale. *Scientia Horticulturae* 162:39-42.
- Rao B. R. R. 2002. Biomass yield, essential oil yield and essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* species) as influenced by row spacings and intercropping with cornmint (*Mentha arvensis* L.f. *piperascens* Malinv. ex Holmes). *Industrial Crops and Products* 16(2):133-144.
- Ritchie J. T. y D. S. NeSmith. 1991. Temperature and crop development. En: *Modeling Plant and Soil Systems*. J. Hanks y J. T. Ritchie, (eds). ASA, CSSA, SSSA Publ. Madison. WI, USA. pp. 5-29.
- Robbers J. E., M. K. Speedie, y V. E. Tyler. 1996. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Maryland, USA.
- Rouquaud E. y M. Videla. 2000. Oréganos de Mendoza (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo* 32(2):23-32.
- Rua G. H. 1999. *Inflorescencias. Bases teóricas para su análisis*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires. Argentina.
- Russo M., G. C. Galletti, P. Bocchini, y A. Carnacini. 1998. Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(9):3741-3746.
- SAGPyA. 2008. Informe de Coyuntura Mensual - Octubre 2008. Hierbas Aromáticas y Especies. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/especies>.
- Şahin F., M. Güllüce, D. Daferera, A. Sökmen, M. Sökmen, M. Polissiou, G. Agar, y H. Özer. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 15(7):549-557.
- Said-Al Ahl H. A. H., E. A. Omer, y N. Y. Naguib. 2009. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. *International Agrophysics* 23(3):269-275.
- Salazar D. M., P. Melgarejo, R. Martínez, J. J. Martínez, F. Hernández, y M. Burguera. 2006. Phenological stages of the guava tree (*Psidium guajava* L.). *Scientia Horticulturae* 108(2):157-161.
- SAS. 2006. SAS Institute/STAT release 8.2, Cary, NC, USA.
- Sellami I. H., E. Maamouri, T. Chahed, W. A. Wannas, M. E. Kchouk, y B. Marzouk. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Industrial Crops and Products* 30(3):395-402.

Sezik E., G. Tümen, N. Kirimer, T. Özek, y K. Baser. 1993. Essential oil composition of four *Origanum vulgare* subspecies of Anatolian origin. *Journal of Essential Oil Research* 5(4):425-431.

Sinclair T. R., R. C. Muchow, y L. S. Donald. 1999. Radiation Use Efficiency. En: *Advances in Agronomy*. Academic Press 215-265.

Slafer G. A., D. J. Connor, y G. M. Halloran. 1994. Rate of leaf appearance and final number of leaves in wheat: effects of duration and rate of change of photoperiod. *Annals of Botany* 74(5):427-436.

Slafer G. A., D. J. Miralles, R. Savin, E. M. Whitechurch, y F. G. González. 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en trigo. En: *Producción de granos. Bases funcionales para su manejo*. Satorre E. H., Benech Arnold R. L., Slafer G. A., De la Fuente E. B., J. Miralles, M. E. Otegui, y R. Savin., (eds). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía. Buenos Aires, R.A.

Stöckle C. O., M. Donatelli, y R. Nelson. 2003. CropSyst, a cropping systems simulation model. *European Journal of Agronomy* 18(3-4):289-307.

Suárez D. y M. Ojeda. 2007. Ensayos de fertilización en orégano. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. ISSN 1666-6720. Boletín N° 15.

Suárez D. A. 2004. Ensayo comparativo de rendimiento de nueve variedades de orégano en Las Tapias, Departamento San Javier, Córdoba. In: *Boletín Proyecto Frutihortícola /EEA Manfredi/ No. 10*, p.1-4, ISSN 1666-6720.

Taiz L. y E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology*. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA.

Teixeira E. I., D. J. Moot, y H. E. Brown. 2008. Defoliation frequency and season affected radiation use efficiency and dry matter partitioning to roots of lucerne (*Medicago sativa* L.) crops. *European Journal of Agronomy* 28(2):103-111.

Tooke F. y N. H. Battey. 2010. Temperate flowering phenology. *Journal of Experimental Botany* 61(11):2853-2862.

Torres L. E. 2011. Caracterización y evaluación de genotipos de orégano cultivados en las principales zonas de producción de Argentina. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. 123 pp.

Torres L. E., P. C. Brunetti, C. Baglio, P. G. Bauzá, A. G. Chaves, Y. Massuh, S. F. Ocaño, y M. S. Ojeda. 2012a. Field Evaluation of Twelve Clones of Oregano Grown in the Main Production Areas of Argentina: Identification of Quantitative Trait with the Highest Discriminant Value. *ISRN Agronomy*. doi:10.5402/2012/349565.

Torres L. E., P. C. Brunetti, C. Baglio, P. G. Bauzá, A. G. Chaves, Y. Massuh, S. F. Ocaño, y M. S. Ojeda. 2012b. Field Evaluation of Twelve Clones of Oregano Grown in the Main Production Areas of Argentina: Identification of Quantitative Trait with the Highest Discriminant Value. *International Scholarly Research Notices Agronomy* 2012:10.

Torres L. E., A. G. Chaves, G. Barboza, P. Brunetti, J. A. Bustos, Y. Massuh, S. Ocaño, N. Castillo, y M. S. Ojeda. 2010. Evaluation of the agronomic performance and taxonomic characterization of four clones of oregano (*Origanum* sp.). *Molecular Medicinal Chemistry* 21:91-93.

- van Oosterom E. J., A. K. Borrell, S. C. Chapman, I. J. Broad, y G. L. Hammer. 2010. Functional dynamics of the nitrogen balance of sorghum: I. N demand of vegetative plant parts. *Field Crops Research* 115:19–28.
- Veres K., E. Varga, Á. Dobos, Z. Hajdú, I. Máthé, É. Németh, y K. Szabó. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare ssp.vulgare* L. and *O. vulgare ssp.hirtum* (Link) letsvaart. *Chromatographia* 57(1-2):95-98.
- Wang E. y T. Engel. 1998. Simulation of phenological development of wheat crops. *Agricultural Systems* 58(1):1-24.
- Wei Y. Z., H. N. Zhang, W. C. Li, J. H. Xie, Y. C. Wang, L. Q. Liu, y S. Y. Shi. 2013. Phenological growth stages of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) using the extended BBCH-scale. *Scientia Horticulturae* 161:273-277.
- Xifreda C. 1983. Sobre oréganos cultivados en Argentina. *Kurtziana* 16:133 - 148.
- Xifreda C. 2009. Protocolo de Calidad para Orégano Argentino. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Alimentos Argentinos. Argentina. Resolución 76/2009.
- Yaldiz G., N. Sekeroglu, M. Özgüven, y M. Kirpik. 2005. Seasonal and diurnal variability of essential oil and its components in *Origanum onites* L. grown in the ecological conditions of Çukurova. *Grasas y Aceites* Vol. 56(Fasc. 4):254-258.
- Zahid S. M., B. W., A. McNeill, y M. J. Robertson. 2003. Performance of APSIM-Lucerne in South Australia. En: "Solutions for a better environment". Proceedings of the 11th Australian Agronomy Conference. Australian Society of Agronomy. ISBN 0-9750313-0-9. Web site www.regional.org.au/au/asa. Geelong, Victoria.