

Genetic and environmental factors influencing garlic anthocyanin pigmentation: a review

Factores genéticos y ambientales que influyen la pigmentación con antocianinas en ajo: una revisión

Cavagnaro P. F.^{1,2*} y Burba J. L.^{1*} (*Ex aequo*)

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); Estación Experimental Agropecuaria (EEA) La Consulta. Ex Ruta Nacional 40 - Km 96, CP: 5567, La Consulta, San Carlos, Mendoza, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Mendoza, Argentina.

*Autores de correspondencia: cavagnaro.pablo@inta.gob.ar, burba.joseluis@inta.gob.ar

Recibido: 31/05/2022

Aceptado: 06/07/2022

ABSTRACT

Cavagnaro P. F. y Burba J. L. (*Ex aequo*). (2022). Genetic and environmental factors influencing garlic anthocyanin pigmentation: a review. *Horticultura Argentina* 41 (106): 103-123.

<http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s18519342/sbyxehaz7>

In some types of garlic (*Allium sativum*), and specifically for the Argentine classification, those that correspond to ecophysiological groups II (pink garlic), IIIa (purple garlic) and IV (red and brown garlic), the presence of an intense coloring, red or purple, in the bulb cataphylls and clove protection leaves, is a highly appreciated quality factor in some markets. This coloring is due to the accumulation of anthocyanins in these tissues. Several factors seem to condition the biosynthesis and accumulation of anthocyanins in garlic bulbs, including the

genotype, biotic- (e.g., attacks by phytopathogens and insects) and abiotic stress (e.g., low temperatures), agricultural practices (e.g., soil fertilization, date of planting, refrigeration of the bulbs prior to planting, and post-harvest storage conditions), as well as climatic and edaphic characteristics (e.g., pH and soil texture). Bibliography on this subject is not abundant, it is mainly published in local journals, and it is not easily accessible. The aim of this review was to compile and critically discuss the available information on the various factors affecting anthocyanin pigmentation in garlic. This information may be of interest to breeders and producers seeking to obtain garlics with intense coloring, to satisfy some markets and consumer preferences.

Keywords: *Allium sativum*, abiotic stress, pigment, phenolic compounds, red garlic.



RESUMEN

Cavagnaro P. F. y Burba J. L. (2022). (*Ex aequo*). Factores genéticos y ambientales que influyen la pigmentación con antocianinas en ajo: una revisión. Horticultura Argentina 41 (106): 103 – 123. <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s18519342/sbyxehaz7>

En algunos tipos de ajo (*Allium sativum*), y concretamente para la clasificación argentina, aquellos que corresponden a los grupos ecofisiológicos II (ajo rosado), IIIa (ajo morado) y IV (ajo colorado y castaño), la presencia de una coloración intensa, roja o morada, en las catáfilas del bulbo y hojas de protección del diente, es un factor de calidad altamente apreciado en algunos mercados. Dicha coloración se debe a la acumulación de antocianinas en estos tejidos. Varios factores parecen condicionar la biosíntesis y acumulación de antocianinas en bulbos de ajo, incluyendo el genotipo, estrés biótico (e.g., ataques de fitopatógenos e insectos) y

abiótico (e.g., bajas temperaturas), prácticas agrícolas (e.g., fertilización de suelos, fecha de plantación, frigerificación de los bulbos previo a la plantación, y condiciones de almacenaje postcosecha), así como características climáticas y edáficas (e.g., pH y textura del suelo). La bibliografía sobre este tema no es abundante, se encuentra principalmente publicada en revistas locales, y no es fácilmente accesible. El objetivo de esta revisión fue compilar y discutir críticamente la información disponible sobre los distintos factores que afectan la pigmentación con antocianinas en ajo. Dicha información puede ser de interés para mejoradores y productores que buscan obtener ajos con intensa coloración, para satisfacer algunos mercados y preferencias del consumidor.

Palabras claves: *Allium sativum*, estrés abiótico, pigmentos, compuestos fenólicos, ajo colorado.

1. Introducción

La pigmentación con antocianinas en bulbos de ajo (*Allium sativum* L.), concretamente en las hojas externas envolventes del bulbo (de aquí en adelante llamadas catáfilas del bulbo) y/o en la hoja de protección del diente o bulbillo (el propágulo básico de multiplicación del ajo), en adelante llamadas catáfilas del diente, es un carácter condicionado por factores genéticos y ambientales. La acumulación de estos pigmentos en los tejidos mencionados conlleva a la aparición de tonalidades rojizas, violetas, moradas y rosadas, bajo diferentes patrones de distribución, desde levemente variegados a coloraciones uniformes en todo el tejido, presentando diferentes intensidades, debido principalmente al contenido de pigmento. En los llamados ajos morados, correspondientes al grupo ecofisiológico (GE) IIIa en la nueva clasificación argentina (Portela, 2013), ajos colorados (GE IVa y IVb) y ajos castaños (GE IVc), la presencia de color intenso es un factor de calidad, apreciado en algunos mercados de exportación del ajo argentino, como es el caso de Brasil. Varios factores parecen condicionar la biosíntesis y acumulación de antocianinas en los bulbos, incluyendo el genotipo, estreses bióticos (e.g., ataques de fitopatógenos e insectos) y abióticos (e.g., bajas temperaturas), prácticas de cultivo (e.g., fertilización, fecha de plantación, frigerificación de los bulbos previo a la plantación, y condiciones de almacenaje postcosecha), así como características climáticas (e.g. temperatura,

humedad) y edáficas (e.g., pH y textura del suelo). Un buen entendimiento sobre como inciden estos factores en la pigmentación permitiría manejar criterios para la elección de cultivares y de prácticas de cultivo que promuevan el desarrollo de color en bulbos y dientes de esta hortaliza. La información disponible en la bibliografía dista de ser completa, y se encuentra –en buena parte– publicada en revistas de divulgación científica de escasa difusión, y no profundiza a nivel mecanístico sobre como inciden estas variables en la producción de pigmentos, a nivel bioquímico o molecular.

El objetivo de esta revisión es analizar críticamente la información disponible sobre los distintos factores que afectan la pigmentación del ajo con antocianinas, que sirva como marco de referencia para planificar futuros estudios sobre este tema.

2. Metodología

Se realizó un análisis de la bibliografía disponible sobre la cadena agroalimentaria del ajo, con especial énfasis en los aspectos de pigmentación con antocianinas, como herramienta de consulta para productores y mejoradores que buscan exaltar este carácter en el ajo, para incrementar su demanda y valor comercial. La presente revisión comprende información generada por la Estación Experimental Agropecuaria La Consulta (en adelante EEA La Consulta), del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de Argentina (en adelante INTA), y en diversos trabajos sobre la temática publicados en revistas nacionales e internacionales. La información recabada fue analizada y discutida críticamente. La misma representa una actualización hasta la fecha del conocimiento disponible en estos medios, sobre antocianinas de ajo.

El trabajo consta de las siguientes secciones: ruta biosintética, estructura molecular, propiedades y cuantificación de las antocianinas y factores que influyen la presencia y contenido de antocianinas en ajo.

3. Ruta biosintética, estructura molecular, propiedades y cuantificación de las antocianinas

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan tonalidades rojas, púrpuras o azules a hojas, flores y frutos de un gran número de especies vegetales. Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas; es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, llamada ‘aglicona’, a la que se le pueden unir diferentes azúcares por medio de enlaces glucosídicos, y ácidos orgánicos alifáticos. De las antocianidinas que actualmente se conocen, las más abundantes en la naturaleza son –en orden decreciente– cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina, cuyos nombres derivan de la especie vegetal de donde se aislaron por primera vez. Los principales azúcares simples que comúnmente se encuentran conformando la estructura de las antocianinas son glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa, arabinosa y –con menor frecuencia– gentobiosa, rutinosa y soforosa (He & Giusti, 2010). A su vez, una amplia variedad de ácidos orgánicos (como, por ejemplo, los ácidos ferúlico, sinapóico, cumárico y malónico, entre otros), puede formar parte de la estructura de estos pigmentos. Las múltiples combinaciones de éstas con los diferentes

azúcares y ácidos orgánicos generan las más de 700 antocianinas descritas en la naturaleza hasta la fecha.

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contengan y sus posiciones en el grupo flavilio. Por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de grupos metoxilos provoca la formación del color rojo. El pH del medio en que los ajos se cultivan influye sobre su coloración, virando a tonalidades rojas en medios ácidos y a azules en medios alcalinos (He & Giusti, 2010; Aguilera Ortíz *et al.*, 2011).

La estabilidad química de estos pigmentos está condicionada por factores relacionados a su estructura química y a las condiciones del medio en que se encuentran. Entre los primeros, el nivel de glicosilación y acilación [i.e., la cantidad de azúcares y ácidos alifáticos (grupos acilos) adheridos a la antocianidina], tiene una relación directa con la estabilidad de las antocianinas (Giusti & Wrolstad, 2003; Curaba *et al.*, 2020; Iorizzo *et al.*, 2020; Pérez *et al.*, 2022). Por otro lado, estos pigmentos son más estables cuando se encuentran a bajas temperaturas, en medio ácido y protegidos de la alta intensidad lumínica (Perez *et al.*, 2022). La presencia de ciertos compuestos en el medio en que se encuentran las antocianinas, como por ejemplo, otros compuestos fenólicos no antociánicos (e.g., ácido clorogénico, quercetina, etc.), contribuyen también a su estabilidad mediante un proceso denominado 'co-pigmentación' (Mazza & Brouillard, 1990).

Las antocianinas y otros flavonoides comparten la misma vía biosintética, que deriva a su vez de la ruta fenilpropanoide. La actividad de los diferentes componentes de la ruta de los flavonoides (i.e., genes reguladores y estructurales de la biosíntesis de antocianinas y sus múltiples enzimas y sustratos involucrados resultantes) en las diferentes variantes vegetales determinará el tipo de antocianinas finalmente sintetizadas y sus propiedades biológicas, según su estructura molecular y las condiciones del medio celular en el interior la vacuola, donde se acumulan (Kitamura 2006). En la figura 1 se presenta un esquema general de la ruta de síntesis de los flavonoides en plantas, incluyendo las antocianinas.

3.1. Funciones y propiedades:

Las antocianinas cumplen múltiples funciones en las plantas, incluyendo la de protección contra la radiación ultravioleta, atracción de animales e insectos para la polinización y dispersión de semillas, y atenuación de varios estreses bióticos y abióticos, como sequía, salinidad, daños por heridas, exposición a bajas temperaturas y ataques de fitopatógenos (revisado por Shirley, 1996).

Desde el punto de vista nutricional, el consumo de antocianinas está asociado a numerosos beneficios para la salud, entre los que se incluyen reducción del riesgo de accidentes cardiovasculares (Reis *et al.*, 2016; Krga & Milenkovic, 2019), mejoramiento del metabolismo y la regulación del azúcar en sangre (Belwal *et al.*, 2017; Les *et al.*, 2021), prevención de artritis autoinmune (Min *et al.*, 2015), reducción del riesgo de padecer algunos tipos de cánceres (Lin *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2019; Diaconeasa *et al.*, 2020), reducción de la obesidad y la inflamación sistémica (Lee *et al.*, 2017), y prevención y retraso del deterioro cognitivo y enfermedades neurodegenerativas (Boespflug *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020; Krikorian *et al.*, 2022).

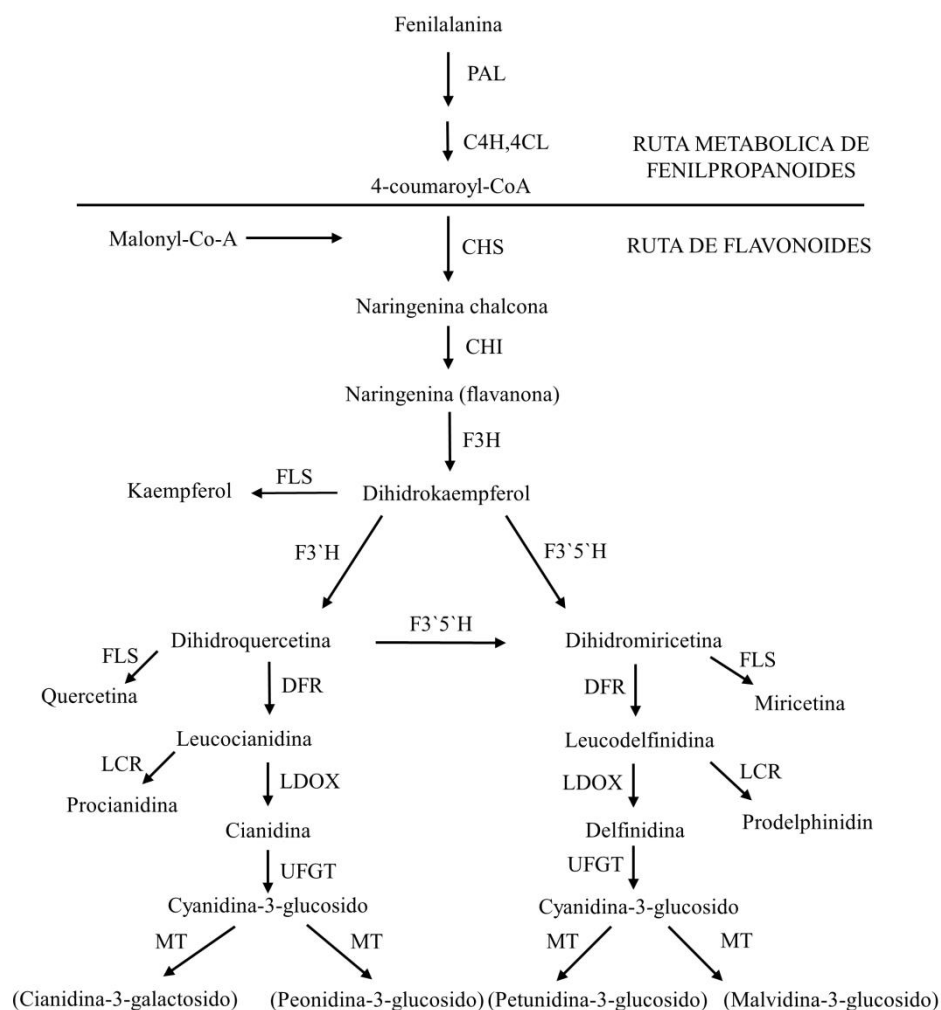


Figure 1: Schematic representation of the anthocyanin biosynthesis pathway. PAL, phenylalanine ammonia-lyase; C4H, cinnamate 4-hydroxylase; 4CL, 4-coumarate CoA ligase; CHS, chalcone synthase, CHI, chalcone isomerase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; FLS, flavonol synthase; F3'H, flavonoid 3'-hydroxylase; F3'5'H, flavonoid 3',5'-hydroxylase; DFR, dihydroflavonol 4-reductase; LDOX, leucoanthocyanidin dioxygenase; UFGT, UDP-glucose-flavonoid 3-O-glucosyl-transferase; MT, methyltransferase (modified from Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

Figura 1: Esquema general de la ruta de biosíntesis de antocianinas y otros flavonoides. PAL, fenilalanina amonio liasa; C4H, cinnamato 4-hidroxilasa; 4CL, 4-coumarato CoA ligasa; CHS, chalcona sintasa, CHI, chalcona isomerasa; F3H, flavanona 3-hidroxilasa; FLS, flavonol sintasa; F3'H, flavonoide 3'-hidroxilasae; F3'5'H, flavonoide 3',5'-hidroxilasa; DFR, dihidroflavonol 4-reductasa; LDOX, leucoantocianidina dioxigenasa; UFGT, UDP-glucosa-flavonoide 3-O-glucosiltransferasa; MT, metiltransferasa (modificado de Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

3.2. Antocianinas de ajo:

En catáfilas de bulbillos de ajo, los antocianos reportados corresponden a glucósidos de cianidina libres y glucósidos de cianidina unidos a una o dos moléculas de malonato, predominando estos últimos por sobre las formas libres no aciladas (Du & Francis, 1975; Fossen & Andersen, 1997). En la figura 2 se muestra la estructura química de las antocianinas identificadas en catáfilas de dientes de ajo. Sin embargo, en las catáfilas coloreadas del bulbo de un genotipo diferente, no relacionado a los anteriores, se identificaron –además de las antocianinas maloniladas reportadas por Du & Francis (1975) y Fossen & Andersen (1997)- antocianinas aciladas por grupos acetilos, solo o en combinación con grupos malonilos (Dufoo-Hurtado *et al.*, 2013). Concretamente, los nuevos pigmentos identificados fueron ‘cianidina-3-O-(3’’-acetil) glucósido’ y ‘cianidina-3-O-(6’’-malonil acetil) glucósido’.

Tanto la glicosilación (unión de azúcares a la antocianidina) como la acilación con ácidos alifáticos, como los ácidos malónico y acético, confieren mayor estabilidad química a estos pigmentos, evitando así que se degraden en forma excesiva (Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

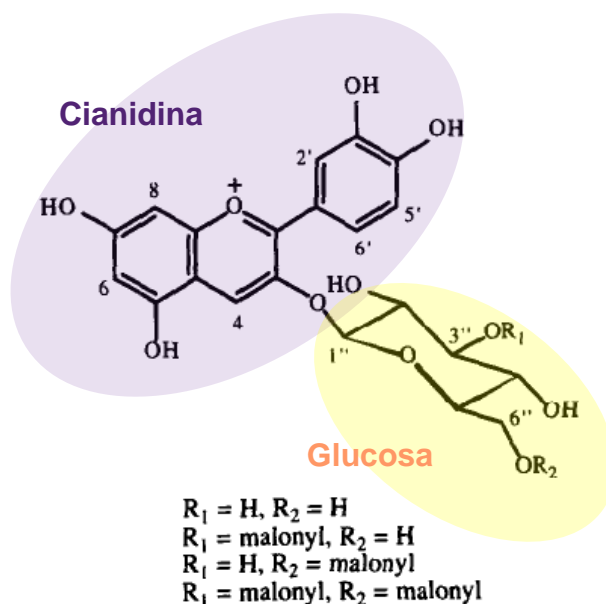


Figure 2: Molecular structure of garlic anthocyanins. Four cyanidin glycosides have been reported in garlic, each of them with varying patterns of substitution with ‘malonic acid’ and/or ‘H’ moieties in the R_1 and R_2 residues of the sugar molecule. Image modified from Fossen & Andersen (1997).

Figura 2: Estructura molecular de antocianinas de ajo. Cuatro glucósidos de cianidina se han descrito en ajo, cada uno con sustituciones en los residuos R_1 y R_2 de la molécula de azúcar por ‘ácido malónico’ y/o ‘H’, de acuerdo a la figura. Imagen modificada de Fossen & Andersen (1997).

Si bien no se han dilucidado aun los mecanismos moleculares ni los genes específicos que regulan la pigmentación del ajo con antocianinas, en cebolla morada (*Allium cepa* L. var. *cepa*) se ha descrito un factor de transcripción MYB que controlaría la expresión de los genes estructurales

de la ruta de antocianinas, necesarios para la biosíntesis y acumulación de estos pigmentos en las catáfilas protectoras (Schwinn *et al.*, 2016). Debido a la cercanía filogenética entre ambas hortalizas del género *Allium*, es posible que genes ortólogos al gen MYB de cebolla tengan un rol similar en ajo. Por otro lado, en otra hortaliza denominada “shallot” (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*), cercanamente relacionada a la cebolla, se han identificado seis genes estructurales de antocianinas como posibles candidatos involucrados en su síntesis (Masuzaki *et al.*, 2006). Cabe mencionar que estas hortalizas (*Allium* spp.), así como también *A. altaicum* y *A. schoenoprasum*, poseen perfiles de antocianinas similares a los del ajo, con fuerte predominancia de glucósidos de cianidina acilados con malonato (Fossen *et al.*, 1996; Masuzaki *et al.*, 2006).

3.3. Identificación y estimación del contenido de antocianinas en ajo:

La forma ideal para la identificación de los distintos pigmentos antociánicos es a través de su análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), acoplado a uno o más espectrómetros de masa. Este método de HPLC-MS/MS permitió identificar los diferentes pigmentos antociánicos en catáfilas de dientes (Fossen & Andersen, 1997) y de bulbos de ajo (Dufoo-Hurtado *et al.*, 2013). Para la cuantificación de los pigmentos individuales se utiliza además un standard de referencia a concentración conocida, que permita estimar, en base a las áreas bajo la curva de los diferentes picos en el cromatograma de HPLC (en comparación con el área bajo la curva del estándar), la concentración de los diferentes compuestos.

Un método más simple y menos preciso de estimación del contenido total de antocianinas es a través de espectrofotometría, como el método de pH diferencial (Giusti & Wrolstad, 2003). Nótese que este tipo de métodos no permite cuantificar ni identificar pigmentos individuales, sino estimar la concentración total de antocianinas en una muestra. Usando esta técnica, Dufoo-Hurtado *et al.* (2013) estimaron el contenido promedio en catáfilas de bulbos de ajo del cultivar ‘Coreano’ al momento de cosecha en 0.103 mg de antocianinas (expresado como equivalentes de cianidina) por gramo de peso seco (mg EC/g ps).

Una forma muy rápida y económica de estimar la intensidad y tonalidad del color en ajo, aunque menos precisa que los métodos analíticos mencionados anteriormente, es a través de comparaciones visuales con una paleta de colores, empleando el *software Freehand 8*, que permite hacer el registro de las proporciones de los componentes CMYK (cian, magenta, amarillo y negro), para lograr una precisa identificación de cada color (Figura 3). Posteriormente a la identificación CMYK de los colores de la mencionada cartilla, se traduce al correspondiente registro de caracterización de datos CMYK estándar de la “*Euroscale*”. Este método ha sido utilizado para caracterizar rápidamente el color de bulbos y dientes de cultivares argentinos de ajo (Nieva *et al.*, 2013).



Figure 3: Color palette used for the characterization of color attributes in garlic bulbs and cloves. Reproduced from Nieva *et al.* (2013).

Figura 3: Cartilla de colores para la caracterización de la coloración en bulbos y “dientes” de ajo. Reproducido de Nieva *et al.* (2013).

4. Factores que influyen la presencia y contenido de antocianinas en ajo

4.1. Genotipo:

Bajo las condiciones de la región andina central de Argentina, los ajos colorados (GE IVa y IVb) no poseen pigmentos en las hojas envolventes del bulbo o dichos pigmentos aparecen con baja intensidad, mientras que sí los tienen en disposición variegada intensa los morados (GE IIIa), y con menor intensidad los blancos (GE IIIb) y castaños (IVc) (Figura 4).



Figure 4: Outer leaves of the garlic bulb with different levels of pigmentation in cultivars of different ecophysiological groups. Image reproduced from Nieva *et al.* (2009).

Figura 4: Hojas envolventes del bulbo de ajo con diferente nivel de pigmentación en cultivares de distintos grupos ecofisiológicos. Imagen reproducida de Nieva *et al.* (2009).

La pigmentación con antocianinas en las catáfilas protectoras del diente se observa en ajos rosados (GE II), morados (IIIa), colorados (GE IVa y IVb) y castaños (GE IVc), pero no en ajos blancos (GE IIIa y IIIb) (Burba, 1999; Burba & Lanzavechia, 2013). Existe variabilidad para intensidad y tonalidad de color, tanto en las catáfilas del bulbo como en las de los dientes, entre distintos grupos ecofisiológicos y entre cultivares de cada grupo ecofisiológico (Figura 5). En líneas generales, los ajos del GE IVa y IVb presentan mayor intensidad de color en la catáfilas del diente que los ajos de otros GEs. Por ejemplo, entre los cultivares nacionales, Coral y Rubí acumulan gran cantidad de pigmento y desarrollan colores intensos, Sureño sería un cultivar intermedio, y Castaño acumula algo de pigmento pero rápidamente el color se desvanece y adquiere tonalidades amarronadas (Figura 5). Además de estos ejemplos en cultivares nacionales, existen fuertes evidencias sobre la mayor concentración de pigmentos en ajos colorados “españoles” (tempranos, de bajo rendimiento), que en los colorados “criollos” (tardíos, de altos rendimientos).

El hecho de que no haya relación alguna entre los niveles de pigmentación en las catáfilas del bulbo y las del diente [i.e., ajos con catáfilas del bulbo débilmente coloreados o sin pigmentación alguna pueden tener catáfilas de dientes inténsamente coloreadas (e.g., Coral INTA y Sureño INTA), mientras que en otros ajos se observan catáfilas del bulbo más inténsamente coloreadas pero sus dientes poseen débil coloración (e.g., Morado INTA y Castaño INTA)], sugiere que diferentes genes controlaran la pigmentación con antocianinas en estos dos tejidos.

4.2. Variación de la coloración durante la conservación poscosecha:

Independientemente del genotipo, la coloración de bulbos y dientes de ajo varía durante su conservación y curado en postcosecha. Por ejemplo, la intensidad del color en las hojas protectoras de los bulbillos, aumenta rápidamente en las primeras semanas posteriores a la cosecha, para llegar a un máximo y luego ir perdiendo –gradual y paulatinamente- su intensidad inicial de color en los meses subsiguientes, generalmente virando desde tonalidades rojo intenso a violetas y amarronadas (Figura 6).

Resultados similares fueron reportados en un clon de ajo colorado de Irán, indicando incrementos rápidos del contenido de antocianos a partir de la cosecha, con máximos entre los 14 y 42 días después de cosecha, para después decaer paulatinamente hasta la brotación (Mashayekhi *et al.*, 2015). Es relevante indicar que, bajo las mismas condiciones de manejo postcosecha, los distintos cultivares de ajo presentan diferente estabilidad de la coloración durante la conservación, siendo -por ejemplo- relativamente alta en Coral INTA y muy baja en Castaño INTA (las catáfilas rápidamente evidencian degradación de antocianinas tomando una coloración amarronada). Esto sugiere que existe un componente genético relacionado con la duración y estabilidad del color. Si bien se desconoce la causa de estas variaciones entre los cultivares, es posible que puedan asociarse a: 1) diferencias en la concentración máxima alcanzada del pigmento en las catáfilas (i.e., a mayor concentración inicial de pigmento, menos evidente sería la pérdida progresiva de los mismos durante postcosecha); y/o 2) diferentes proporciones de antocianinas aciladas (AA), de mayor estabilidad química, respecto a las antocianinas no aciladas (ANA) fácilmente degradables. La segunda hipótesis se sustenta en el hecho de que, en varios cultivos que acumulan antocianinas, se ha observado mayor degradación de ANA respecto a sus AA, por condiciones ambientales desfavorables, como altas temperaturas (de Rosas *et al.*, 2022; Pérez *et al.*, 2022).



Figure 5: Variation for color intensity and hue in bulb and clove scales of different garlic cultivars and ecophysiological groups (GE), according to the classification of Portela *et al.* (2013).

Figura 5: Variación para intensidad y tonalidad de pigmentación con antocianinas en catáfilas del bulbo y dientes de ajos correspondientes a diferentes cultivares y grupos ecofisiológicos (GE), de acuerdo a la clasificación de Portela *et al.* (2013).



Figure 6: Time-course variation for color intensity in cloves of the garlic cultivar Coral INTA from harvest day to 60 days after harvest date (DDC), cured in a vertical dryer, at La Consulta, Mendoza.

Figura 6: Evolución de la intensidad de pigmentación en catáfilas de bulbillos del cultivar Coral INTA desde la cosecha hasta 60 días después de cosecha (DDC), bajo condiciones de curado en caballete vertical en La Consulta, Mendoza.

4.3. Estrés biótico. Infección por microorganismos:

En un estudio previo sobre evaluación de fuentes de resistencia contra “moho verde” (enfermedad causada por el hongo *Penicillium allii*) en cultivares argentinos de ajo, se encontraron diferencias significativas para nivel de tolerancia contra esta enfermedad, evaluada a través de variables que median la capacidad de propagación del hongo en bulbillos inoculados con *P. allii* y parámetros de crecimiento de plantas provenientes de dientes-semilla inoculadas previo a la plantación (Cavagnaro *et al.*, 2005). Los cultivares más tolerantes fueron Morado INTA y Castaño INTA. El primero presentó el menor crecimiento del hongo, restringiendo significativamente la producción de esporas, comparado con otros cultivares (Figura 7A). Además, Morado INTA inoculado con *P. allii* tuvo muy baja afectación en sus parámetros de desarrollo de la planta con respecto a su Control sin inoculación, sugiriendo que este cultivar es altamente tolerante. Interesantemente, alrededor de la colonia del hongo, se evidenció una fuerte coloración rojiza, cuyo análisis posterior determinó que se trataban de antocianinas, concretamente glucósidos de cianidina (Cavagnaro *et al.*, 2012). En los dientes de este cultivar, la acumulación de antocianinas se incrementaba con el tiempo, llegando a un máximo a los 8 días después de la inoculación (DDI), para después atenuarse levemente al final de experimento (Figura 7B). Cabe aclarar que la aparición de tal pigmentación se produjo en la hoja de reserva del diente. No se ha dilucidado aún si la presencia de antocianinas circundando la colonia de *P. allii* en el genotipo que más restringía el crecimiento del hongo se deba a un mecanismo activo de defensa contra el avance del patógeno, o simplemente a una respuesta frente al estrés oxidativo producto de la infección fúngica. Esta última hipótesis parece más plausible a la luz de resultados de un trabajo similar reciente donde se observó síntesis de antocianinas alrededor de la colonia de *P. allii* en otros cultivares de ajo que no eran tolerantes a *P. allii* (Salinas & Cavagnaro, 2020). De ser así, la síntesis de estos pigmentos en ajo tal vez cumpla un rol antioxidante frente al estrés oxidativo causado por el hongo.

4.4. Factores ambientales:

La pigmentación de la hoja protectora de los dientes de ajo es un factor genético fuertemente influenciado por el ambiente, particularmente la temperatura y la textura de los suelos. Suelos arenosos, por ser más cálidos, particularmente en la última etapa del cultivo, dan como resultados colores de menor intensidad (Burba comunicación personal). Empíricamente sabemos que zonas productoras de ajo en climas fríos y suelos arcillosos, ácidos, son ambientes favorables al desarrollo de colores intensos. Ensayos sobre plasticidad fenotípica de tres cultivares en dos localidades diferentes y alejadas entre sí 85 km (Chacras de Coria y La Consulta) mostraron diferencias de intensidad en la coloración de sus dientes, relacionadas al ambiente, e interacciones ‘genotipo x ambiente’ (Figura 8) (Morales y García Lampasona). En Chacras de Coria los cultivares Gran Fuego y Rubí lograron un color más oscuro e intenso que en La Consulta, mientras que Tempranillo mostró un efecto inverso. Las dos primeras (Colorados “criollos”), fueron seleccionadas en La Consulta, mientras que la tercera (Colorado “español”), se seleccionó en Chacras de Coria. Esto indica una fuerte influencia del ambiente sobre la pigmentación, independientemente de la región donde la variedad fue seleccionada.

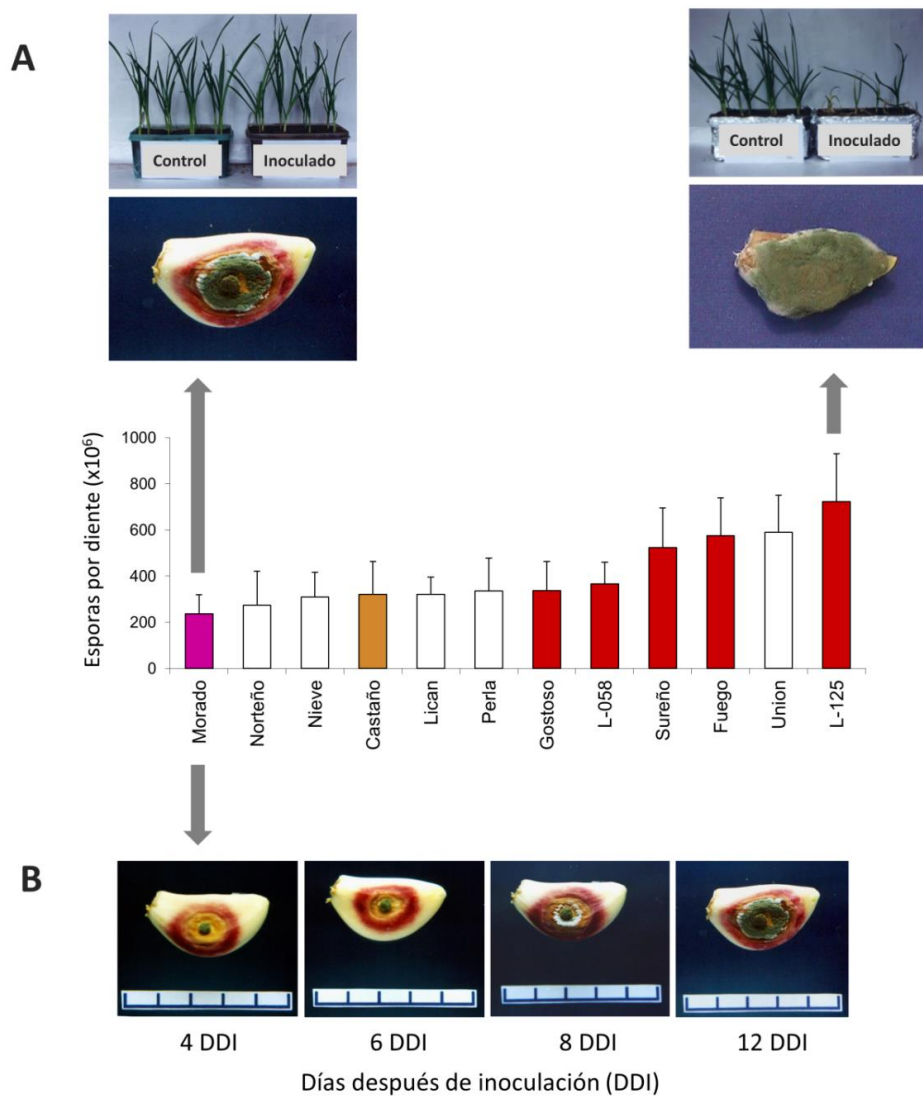


Figure 7: Variation for tolerance against blue mold disease, caused by *Penicillium allii*, in 12 Argentine garlic clones (A). Images above the histogram depict growth of the fungal colony and plant growth parameter as affected by the infection, in the most tolerant (Morado INTA) and most susceptible (L-125) garlic genotypes. Panel B shows time-course variation for anthocyanin pigmentation in cloves of Morado INTA during 12 days after inoculation (DDI). Modified from Cavagnaro *et al.* (2005).

Figura 7: Variabilidad genética en 12 cultivares argentinos de ajo para tolerancia a moho azul, causada por *Penicillium allii* (A). Las imágenes arriba del histograma muestran el crecimiento de la colonia en dientes inoculados con *P. allii* y la afectación por la enfermedad en plantas del cultivar más tolerante (Morado INTA) y más susceptible (L-125). El panel B muestra la evolución en el tiempo de la pigmentación con antocianinas en dientes de Morado INTA inoculados con *P. allii* hasta los 12 días después de la inoculación (DDI). Modificado de Cavagnaro *et al.* (2005).

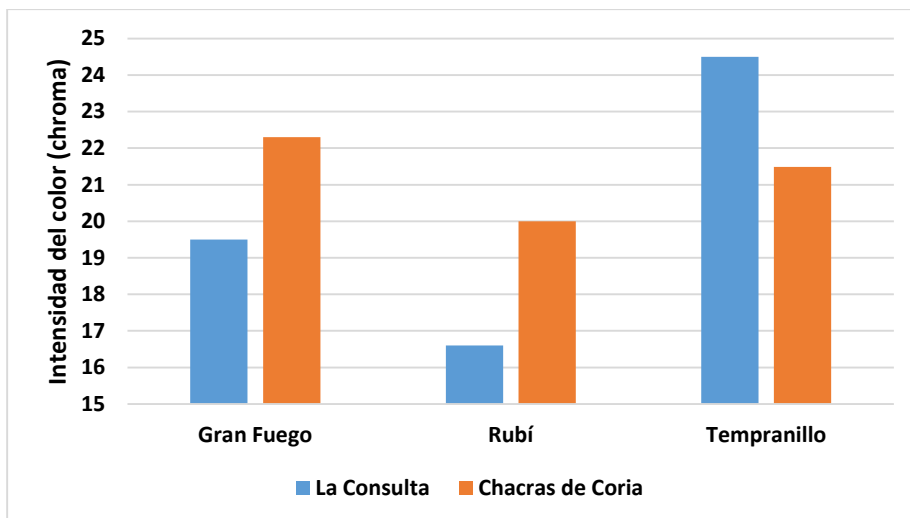


Figure 8: Environmental (location) effect on the intensity of anthocyanin pigmentation in garlic cloves. Reproduced from Morales y García Lampasona (2019).

Figura 8: Efecto del ambiente (localidad) sobre la intensidad de la pigmentación por antocianinas de los dientes de ajo. Reproducido de Morales y García Lampasona (2019).



Figure 9: Influence of high temperatures in the soil on anthocyanin pigmentation in the protective outer scales of the cloves in a red garlic cultivar. Left and right images correspond to garlics grown under untreated (Control) soil and in soil with increased-temperature, respectively. Reproduced from Guiñazú *et al.* (2009).

Figura 9: Efecto de las altas temperaturas sobre la pigmentación de las hojas protectoras de dientes de ajo colorado. Las imágenes izquierda y derecha corresponden a ajos cultivados en suelo sin tratar (Control) y en suelo con temperatura elevada, respectivamente. Reproducido de Guiñazú *et al.* (2009).

Las condiciones de cultivo y de conservación postcosecha también influyen sobre la pigmentación del ajo con antocianinas. Experiencias previas han demostrado que ajos producidos, asoleados o conservados a temperaturas relativamente altas pierden substancialmente el color. Lo

mencionado anteriormente fue demostrado por Guñazú *et al.* (2009) a través de un ensayo donde se evaluó el efecto del calentamiento artificial del suelo, obteniendo impactantes resultados en ajos colorados. En la figura 9 se puede observar que los ajos cultivados en suelo cálido perdieron totalmente su pigmentación.

4.5. Factores productivos y prácticas culturales:

4.5.1. Relación entre rendimiento e intensidad del color:

En un estudio previo (Burba *et al.*, 1999) se observó una fuerte correlación negativa ($R^2=0.97$) entre el rendimiento potencial de la variedad (en kg/ha) y la intensidad de los pigmentos en los dientes de ajo (Figura 10). En dicho estudio se evaluaron 27 variedades de ajo colorado, encontrándose que mientras mayor era el potencial de rendimiento, menor intensidad de color tenían las hojas de protección de los dientes. Esto quiere decir que las variedades más productivas tienden a tener menor concentración de antocianinas.

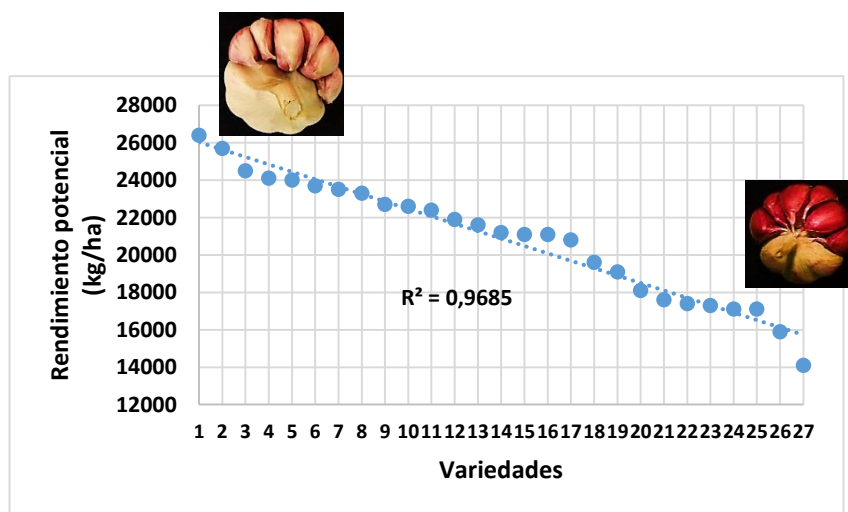


Figure 10: Relationship between yield potential of garlic cultivars and intensity of anthocyanin pigmentation in their cloves scales. Reproduced from Burba *et al.* (1999).

Figura 10: Relación entre el potencial de rendimiento de las cultivares de ajo y la intensidad de la pigmentación antocianina en las catáfilas de los dientes. Reproducido de Burba *et al.* (1999).

4.5.2. Fertilización:

En un trabajo previo se evaluó el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la intensidad de coloración del ajo colorado, a través de análisis con colorímetros de precisión capaces de medir el coeficiente de color, la intensidad y tonalidad del mismo. Los ensayos se realizaron sobre cultivares INTA, a cinco niveles de adición de nitrógeno entre 0 kg/ha y 300 kg/ha (Lipinski & Gaviola, 2005; Gaviola & Lipinski, 2008). Los resultados indican, en general, que a mayor dosis de nitrógeno es mayor el coeficiente de color pero menor su intensidad y tonalidad. Estos resultados son coincidentes con la relación inversa planteada anteriormente entre rendimiento e intensidad de color (Burba *et al.*, 1999; Figura 10). En orden creciente, las variedades con mayor intensidad de color fueron Fuego, Sureño y Rubí. En otras especies también se ha visto que niveles altos de nitrógeno afectan negativamente la síntesis y acumulación de antocianinas

(Lipinski & Gaviola, 2005; Gaviola & Lipinski, 2008). Respecto al efecto de otros nutrientes sobre la pigmentación con antocianinas en ajo, si bien no se han realizado experimentos específicos tendientes a evaluar esta hipótesis, parecería –en base a la práctica empírica- que, para las condiciones de cultivo en Mendoza, no hay relación alguna entre la fertilización con potasio y otros nutrientes y la intensidad de color del ajo así cultivado (Burba, comunicación personal).

4.5.3. Frigorificación de la semilla de ajo:

La exposición a bajas temperaturas (menores a 5-6 °C) de la semilla de ajo previo a su plantación también tiene influencia sobre la síntesis y acumulación de antocianinas. Esta práctica es llamada “frigorificación” y busca aumentar la precocidad y adelantar la cosecha, con el inconveniente de que resulta en menor rendimiento con respecto a su potencial. Experiencias locales realizadas en la EEA La Consulta del INTA, demostraron que la frigorificación de ajos morados, produce un anticipo de la bulbificación y una mayor intensidad del color en las catáfilas externas del bulbo (Figura 11, panel superior) y en la de los dientes (datos no mostrados). El acondicionamiento de la "semilla" a 5 °C durante 5 semanas, además de acortar el ciclo del cultivo y disminuir el crecimiento de las plantas, aumentó la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides totales en las hojas externas del bulbo en ~300 %, con respecto a sus respectivos controles sin frigorificación (Soto *et al.*, 2013). Por otro lado, experiencias locales indican que la interacción entre el enfriamiento artificial de las “semillas” y las bajas temperaturas ambientales durante el cultivo, también aumenta –mediante un efecto sinérgico- la concentración de flavonoides y antocianinas en catáfilas del bulbo (Burba *et al.*, 2005).

Similares resultados fueron reportados por Dufoo-Hurtado *et al.* (2013), quienes acondicionaron ajos del cultivar ‘Coreano’ a 5 °C previo a su plantación en una localidad de México, y compararon el contenido de antocianinas en catafilas de bulbos en ajos frigorificados y ajos sin enfriamiento (Control). A los 122 días (~4 meses) de cultivo, los ajos frigorificados tuvieron un contenido medio de antocianinas totales de 1,156 mg EC/g ps, mientras que en los ajos sin tratamiento de frío el contenido fue significativamente menor (0.892 mg EC/g ps). De la misma forma, al momento de cosecha, los ajos frigorificados (158 días después de la siembra) tuvieron un contenido medio de 0.380 mg EC/g ps, mientras que al momento de la cosecha de los ajos sin tratamiento de frío (200 días desde la siembra) el contenido medio de antocianinas fue substancial y significativamente menor (0.103 mg EC/g ps). En la figura 11 (panel inferior) se ilustran resultados de este ensayo a los 4 meses de cultivo (Fig. 11 A-B) y al momento de cosecha (Fig. 11 C-D).

La frigorificación de los dientes "semilla" también alteró el perfil de antocianinas durante el desarrollo del bulbo y en la cosecha. Dichos cambios metabólicos fueron precedidos por incrementos significativos en la expresión de genes estructurales de la ruta flavonoide, como la fenilalanina amoniaco liasa (PAL) y una glicosiltransferasa (UFGT) encargada de la glicosilación de antocianinas, que aumentaron sus niveles de expresión 6 y 2 veces, respectivamente, comparado con la de los ajos sin tratar (Dufoo-Hurtado *et al.*, 2013).



Figure 11: Effect of low-temperature conditioning of “seed” cloves on anthocyanin pigmentation in garlic outer bulb scales. The upper image corresponds to results from INTA La Consulta, Mendoza, comparing a cold-treated (left plant) and an untreated (right plant) sample of purple garlies. The lower image is from cv. Coreano, cultivated in Aguascalientes, Mexico; showing pigmentation in cold-treated (Figs. A and C) and untreated garlies (Figs. B and D) sampled four months after planting (Figs. A and B) and at harvest time (Figs. C and D). Reproduced from Dufoo-Hurtado *et al.* (2013).

Figura 11: Efecto de la frigorificación de los dientes "semilla" de ajo sobre la pigmentación con antocianinas en las catáfilas externas del bulbo. La imagen superior corresponde a los resultados del INTA La Consulta, Mendoza, comparando una muestra de ajos morados frigorificados (planta izquierda) y no tratados con frío (planta derecha). La imagen inferior es del cultivar Coreano producido en Aguascalientes, México, mostrando la pigmentación en ajos tratados con frío (Figs. A y C) y no tratados (Figs. B y D) muestreados cuatro meses después de la plantación (Figs. A y B) y al momento de la cosecha (Figs. C y D). Reproducido de Dufoo-Hurtado *et al.* (2013).

Coincidente con estudios previos, en una publicación reciente de Herrera *et al.* (2021), trabajando con ajos colorados mexicanos cuyos bulbillos fueron frigorificados a 2°C por diferentes periodos de tiempo (0-60 días) previo a la siembra, se reportaron incrementos significativos del contenido de antocianinas y fenoles totales en las catáfilas de los dientes de bulbos provenientes de dientessemilla conservados en frío por 60 días. Además, estos autores señalan que la fecha de siembra no afectó significativamente el contenido de estos compuestos.

4.5.4. Fecha de plantación:

La fecha de plantación para los cultivares argentinos en la región central de país, es una variable poco elástica (si se pretende no afectar negativamente los rendimientos), y condicionada por el grupo ecofisiológico al que pertenecen. Sin embargo, experiencias locales sugieren que

variaciones menores en las fechas de plantación no modifican significativamente la pigmentación con antocianinas en bulbos de ajo al momento de cosecha (Burba, comunicación personal). Similares observaciones han sido reportadas para ajos colorados mexicanos (Dufo-Hurtado *et al.*, 2013).

5. Conclusiones

Múltiples factores -genéticos, ambientales y culturales- parecen afectar la pigmentación de los bulbos de ajo con antocianinas. Entre los factores que promueven el desarrollo de coloraciones intensas y comercialmente atractivas, se encuentran (1) la correcta elección del genotipo/cultivar (preferentemente de ajos colorados del GE IVa y IVb), como Coral y Rubí, (2) la aplicación de frío a la “semilla” previo a la plantación (frigorificación), (3) la presencia de inviernos fríos y primaveras frescas durante el cultivo, (4) el cultivo en suelos arcillosos y ácidos, y (5) las temperaturas relativamente bajas de conservación en la etapa de postcosecha.

Por el contrario, factores como excesiva fertilización nitrogenada durante el cultivo, la ocurrencia de inviernos y primaveras cálidas, suelos sueltos y cálidos, y temperaturas elevadas durante el secado en postcosecha, están asociados a una baja intensidad de la coloración del bulbo.

Aún se desconocen las bases bioquímicas y genéticas que controlan este carácter fenotípico en el ajo. A futuro deberían diseñarse experimentos enfocados a identificar los genes involucrados en la producción de antocianinas en catáfilas de bulbos y dientes de esta hortaliza. Seguidamente, deberían estudiarse los distintos factores examinados en esta revisión, que afectan la biosíntesis y acumulación de antocianinas, usando una aproximación mecanicista. Es necesario entender sobre cuales genes, con qué intensidad y dirección (i.e., promoviendo o reprimiendo su expresión), y bajo qué combinación particular de condiciones actúan dichos factores. Esta información permitiría orientar –con alto poder predictivo- programas de mejoramiento y cultivos para la obtención de ajos con intensa coloración antociánica en sus bulbos, lo cual facilitaría el acceso del ajo argentino a mercados y consumidores internacionales que aprecian dicho carácter en esta hortaliza de amplio consumo mundial.

6. Conflicto de intereses

Los autores declaran que este trabajo no presenta conflicto de intereses.

7. Bibliografía

Aguilera Ortíz, M.; Reza Vargas, M. Del C.; Chew Madinaveitia, R. G. & Meza Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOTecnia*, 12, 2, 16-22.

Belwal, T.; Nabavi, S. F.; Nabavi, S. M. & Habtemariam, S. (2017). Dietary anthocyanins and insulin resistance:

When food becomes a medicine. *Nutrients*, 9, 10, 1111.

Boespflug, E. L.; Eliassen, J. C.; Dudley, J. A.; Shidler, M. D.; Kalt, W.; Summer, S. S.; Stein, A. L.; Stover, A. N. & Krikorian, R. (2018). Enhanced neural activation with blueberry supplementation in mild cognitive

- impairment. *Nutritional Neuroscience*, 21, 4, 297-305.
- Burba, J. L. (1991). Caracterización de cultivares y tipos clonales de ajo obtenidos e introducidos en Argentina. En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, p. 76-79.
- Burba, J. L.; Lanzavechia, S. (2013). Ficha de cultivares de ajos argentinos. En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, Volumen 2, p. 56-84.
- Burba, J. L.; Lanzavechia, S. & Ocañas, R. (1999). Relación entre el rendimiento potencial y el color de "dientes" en ajo "colorado". En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, p. 63-64.
- Burba, J. L.; Cánovas, L. & Lanzavechia, S. (2005). Efecto de la frigo inducción controlada de ajo "semilla" sobre la producción comercial de la cv. Morado INTA. En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, p. 103-104.
- Cavagnaro, P. F.; Camargo, A.; Piccolo, R. J.; Garcia Lampasona, S.; Burba J. L. & Masuelli, R. W. (2005). Resistance to *Penicillium hirsutum* Dierckx in garlic accessions. *European Journal of Plant Pathology*, 112, 195-199.
- Cavagnaro, P. F.; Salinas Palmieri, M. C. & Marfil, C. (2012). Anthocyanin accumulation in garlic cv. Morado induced by *Penicillium* infection and exposure to abiotic stressors. XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mar del Plata, Argentina.
- Cavagnaro, P. F. & Iorizzo, M. (2019). Carrot anthocyanins. Diversity, genetics and genomics. Chapter 15. *En* Simon, P. W.; Iorizzo, M.; Grzebelus, D.; & Baranski, R. (Eds.). *The Carrot Genome*. Vol. 60: Compendium of Plant Genomes (Series Ed. Kole C.). Springer-Verlag: Heidelberg, Dordrecht, London, New York, Tokyo. Pp. 261-277.
- Curaba, J.; Bostan, H.; Cavagnaro, P. F.; Senalik, D.; Mengist, M. F.; Zhao, Y.; Simon, P. W. & Iorizzo, M. (2020). Identification of an SCPL gene controlling anthocyanin acylation in carrot (*Daucus carota* L.) root. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1770.
- De Rosas, I.; Deis, L.; Baldo, Y.; Cavagnaro, J. B. & Cavagnaro, P. F. (2022). High temperature alters anthocyanin concentration and composition in grape berries of Malbec, Merlot, and Pinot Noir in a cultivar-dependent manner. *Plants*, 11, 926.
- Diaconeasa, Z.; Știrbu, I.; Xiao, J.; Leopold, N.; Ayvaz, Z.; Danciu, C.; Ayvaz, H.; Stănilă, A.; Nistor, M. & Socaciu, C. (2020). Anthocyanins, vibrant color pigments, and their role in skin cancer prevention. *Biomedicines*, 8, 9, 336.
- Du, C. T. & Francis, F. J. (1975). Anthocyanins of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Science*, 40, 1101-1102.
- Dufoo Hurtado, M. D.; Zavala Gutiérrez, K. G.; Cao, C. M.; Guevara González, R. G.; Torres Pacheco, I.; Vázquez Barrios, M. E.; Rivera Pastrana, D. M. & Mercado Silva, E. M. (2013). Low-temperature conditioning of "seed" cloves enhances the expression of phenolic metabolism related genes and anthocyanin content in 'Coreano' garlic (*Allium sativum*) during plant development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 44, 10439-10446.

- Fossen, T. Y. & Andersen, O. M. (1997). Malonated anthocyanins of garlic *Allium sativum* L. Food chemistry, 58, 215-217.
- Fossen, T.; Andersen, Ø. M.; Øvstedal, D. O.; Pedersen, A. T. & Raknes, Å. (1996). Characteristic anthocyanin pattern from onions and other *Allium* spp. Journal of Food Science, 61, 703-706.
- He, J. & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. Annual Review of Food Science and Technology, 1, 163-187.
- Gaviola, S. & Lipinski, V. M. (2008). Effect of nitrogen fertilization on yield and color of red garlic (*Allium sativum*) cultivars. Ciencia e Investigación Agraria, 35, 57-64.
- Guiñazú, M.; Cirrincione, M.; Cavagnaro, B.; & Loyola, P. (2009). Efecto del aumento de la temperatura del suelo en distintas etapas del ciclo de cultivo de ajo colorado. En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, p. 74-75.
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. Biochemical Engineering Journal, 14, 217-225.
- Herrera, M. D.; Servín-Palestina, M.; Reveles-Hernández, M. & Zegbe, J. A. (2021). Garlic cloves (*Allium sativum* L.) conditioned at low temperatures and planting dates enhance the polyphenolic content of garlic cataphylls. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 25, 100316.
- Iorizzo, M.; Curaba, J.; Pottorff, M.; Simon, P. W. & Cavagnaro, P. F. (2020). Carrot anthocyanin genetics: status and perspectives to optimize applications for the food colorant industry. Genes, 11, 906.
- Kitamura, S. (2006). Transport of flavonoids: From cytosolic synthesis to vacuolar accumulation. En: The Science of Flavonoids. Springer; New York, NY, USA, pp. 123-146.
- Krga, I. & Milenkovic, D. (2019). Anthocyanins: from sources and bioavailability to cardiovascular-health benefits and molecular mechanisms of action. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67, 7, 1771-1783.
- Krikorian, R.; Skelton, M. R.; Summer, S. S.; Shidler, M. D. & Sullivan, P. G. (2022) Blueberry supplementation in midlife for dementia risk reduction. Nutrients, 14, 8, 1619.
- Lee, Y. M.; Yoon, Y.; Yoon, H.; Park, H. M.; Song, S. & Yeum, K. J. (2017). Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. Nutrients, 9, 10, 1089.
- Les, F.; Cásedas, G.; Gómez, C.; Moliner, C.; Valero, M. S. & López, V. (2021) The role of anthocyanins as antidiabetic agents: from molecular mechanisms to *in vivo* and human studies. Journal of Physiology and Biochemistry, 77, 1, 109-131.
- Lin, B. W.; Gong, C. C.; Song, H. F. & Cui, Y.-Y. (2017). Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer. Brithish Journal of Pharmacology, 174, 1226-1243.
- Lipinski, V. M. & Gaviola, S. (2005). Color de "dientes" en ajos colorados afectados por tratamientos con nitrógeno. En: Curso/Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, EEA La Consulta, p. 115-116.
- Mashayekhi, K.; Mohammadi Chiane, S.; Mianabadi, M.; Ghaderifar, F. & Mousavizadeh, S. J. (2015). Change in carbohydrate and enzymes from harvest

- to sprouting in garlic. *Food science and Nutrition*, 4, 370–376.
- Masuzaki, S.; Shigyo, M. & Yamauchi, N. (2006). Complete assignment of structural genes involved in flavonoid biosynthesis influencing bulb color to individual chromosomes of the shallot (*Allium cepa* L.). *Genes and Genetic Systems*, 81, 4, 255-63.
- Mazza, G. & Brouillard, R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29, 1097–1102.
- Min, H. K.; Kim, S-M.; Baek, S-Y.; Woo, J. W.; Park, J. S.; Cho, M. L.; Lee, J.; Kwok, S. K.; Kim, S. W. & Park, S. H. (2015). Anthocyanin extracted from black soybean seed coats prevents autoimmune arthritis by suppressing the development of Th17 cells and synthesis of proinflammatory cytokines by such cells, via inhibition of NF- κ B. *PLoS ONE*, 10, e0138201.
- Morales, A. & García Lampasona, S. (2019). Evaluación de la plasticidad fenotípica del color de bulbillos en cultivares de ajo colorado. En: Curso/Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. Mendoza, INTA EEA La Consulta, EEA La Consulta, p. 51-54
- Nieva, M.V.; Román, L.; Césarís, R. M.; Calderón, L. & Pacaccio, C. (2013). Identificación de forma y color para la diferenciación de cultivares monoclonales de ajo. Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. En: 100 Temas sobre producción de ajo. Mendoza, Argentina. Ediciones INTA. INTA EEA La Consulta, Volumen 2, p. 48-55
- Perez, M. B.; Da Peña Hamparsomian, M. J.; Gonzalez, R. E.; Denoya, G. I.; Dominguez, D. L. E.; Barboza, K.; Iorizzo, M.; Simon, P. W.; Vaudagna, S. R. & Cavagnaro, P. F. (2022). Physicochemical characteristics, degradation kinetics and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts of purple carrots, compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 387, 132893.
- Portela, J. A. (2013). Crecimiento y desarrollo de la planta de ajo. En: Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. En: 100 Temas sobre producción de ajo. Mendoza, Argentina. Ediciones INTA. INTA EEA La Consulta, Volumen 3, p. 8-35.
- Reis, J. F.; Monteiro, V. V.; de Souza Gomes, R.; do Carmo, M. M.; da Costa, G. V.; Ribera, P. C. & Monteiro, M. C. (2016). Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. *Journal of translational medicine*, 14, 1, 315.
- Salinas, M. C. & Cavagnaro, P. F. (2020). *In vivo* and *in vitro* screening for resistance against *Penicillium allii* in garlic accessions. *European Journal of Plant Pathology*, 156, 173-187.
- Schwinn, K. E.; Ngo, H.; Kenel, F.; Brummell, D. A.; Albert, N. W.; McCallum, J. A.; Pither-Joyce, M.; Crowhurst, R. N.; Eady, C. & Davies, K. M. (2016). The Onion (*Allium cepa* L.) R2R3-MYB gene *MYB1* regulates anthocyanin biosynthesis. *Frontiers in plant science*, 7, 1865.
- Shirley, B. W. (1996). Flavonoid biosynthesis: “New” functions for an “old” pathway. *Trends in Plant Science*, 1, 377–382.
- Soto, V. & Galmarini, C. (2013). Polifenoles en ajo y su relación con la actividad antioxidante. Curso Taller Sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo. En: 100 Temas sobre producción de ajo. Mendoza,

Argentina. Ediciones INTA. INTA EEA
La Consulta, Volumen 5, p. 91-97.
Zhang, Y.; Meng, Q.; Yin, J.; Zhang, Z.;
Bao, H. & Wang, X. (2020).
Anthocyanins attenuate
neuroinflammation through the
suppression of MLK3 activation in a
mouse model of perioperative
neurocognitive disorders. *Brain
Research*, 1726, 146504.

Zhao, X.; Feng, P.; He, W.; Du, X.; Chen,
C.; Suo, L.; Liang, M.; Zhang, N.; Na,
A. & Zhang, Y. (2019). The prevention
and inhibition effect of anthocyanins on
colorectal cancer. *Current
Pharmaceutical Design*, 25, 46, 4919-
4927.

Horticultura Argentina es licenciado bajo
Licencia Creative Commons Atribución-No
Comercial 2.5 Argentina.