



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana

MÁSTER UNIVERSITARIO EN MEJORA GENÉTICA VEGETAL

Recuperación de ecotipos de zanahoria morada (*Daucus carota* L.) en base a su calidad nutricional y adaptación a cultivo ecológico en el territorio de Villena

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

ALUMNA:

ALICIA SÁNCHEZ SÁNCHEZ

DIRECTOR ACADÉMICO:

ADRIÁN RODRÍGUEZ BURRUEZO

CODIRECTORA:

ANA M^a FITA FERNÁNDEZ

VALENCIA, JUNIO DE 2021

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. Introducción	3
1.1 Importancia económica de la zanahoria	3
1.2 Morfología, fisiología y manejo del cultivo	5
1.3 Taxonomía, origen, domesticación y difusión de la zanahoria	8
1.4 Caracteres de interés en la mejora de la calidad de la zanahoria.....	10
1.5 Aspectos del cultivo ecológico	13
1.6 Tesoro Agroecológico de Villena.....	14
2. Objetivos	17
3. Materiales y métodos	18
3.1 Material vegetal	18
3.2 Condiciones de cultivo	19
3.3 Diseño experimental y preparación de muestras	20
3.4 Análisis de antocianinas	22
3.5 Análisis de azúcares.....	23
3.6 Análisis estadístico y parámetros útiles para la selección en compuestos bioactivos.....	24
4. Resultados y discusión	25
4.1 Morfología de las entradas del primer año.....	25
4.2 Análisis de la varianza general del primer año.....	27
4.3 Estudio de la variación de azúcares en cada fecha de cosecha del año 1	29
4.4 Estudio de la variación de antocianinas en cada fecha de cosecha.....	32
4.5 Correlaciones entre caracteres	35
4.6 Análisis de Componentes Principales.....	39
4.7 Zanahoria morada de Villena en el segundo año.....	42
5. Conclusiones.....	47
6. Bibliografía	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Área cosechada en hectáreas y producción en toneladas de zanahoria y nabo en los diferentes continentes y su porcentaje respecto al mundial en 2018 (FAO, 2021).	4
Tabla 2 Análisis provincial en España de superficie (en hectáreas) y producción (en toneladas) de zanahoria en 2018 (MAPAMA, 2021).....	5
Tabla 3 Relación de las accesiones del primer año utilizadas. De arriba a abajo: código, foto de la accesión, procedencia y tipo de accesión.	18
Tabla 4 Relación de las accesiones del segundo año utilizadas. De arriba a abajo: código, foto de la accesión, procedencia y tipo de accesión.	19
Tabla 5 Descriptores del IPGRI utilizados y sus unidades de medida para la caracterización de la zanahoria morada durante las dos campañas.....	21
Tabla 6 Caracteres morfológicos evaluados en las accesiones de zanahoria del primer año: peso total (PT), peso parte aérea (PA), peso raíz (PR), diámetro raíz (DR), espesor morado (EM), ratio espesor morado/diámetro raíz (EM/DR), diámetro núcleo (DN), longitud raíz (LR), longitud parte aérea (LA), longitud pedicelo (LP) y anchura follaje (AF)	26
Tabla 7 ANOVA general del primer año para el contenido en azúcares sencillos (fructosa, glucosa, sacarosa), azúcares totales, contenido en sólidos solubles (^o Brix), Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales.....	28
Tabla 8 Concentración (g/kg de peso fresco) de los principales azúcares sencillos (fructosa, glucosa y sacarosa), azúcares totales y contenido en sólidos solubles (^o Brix) de las diferentes entradas de zanahoria, en las fecha de cosechas de diciembre 2019 y enero 2020.....	31
Tabla 9 Concentración (µg/g de peso fresco) de las antocianinas Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales de las diferentes entradas de zanahoria, en las fechas de cosecha de diciembre 2019 y enero 2020.	34
Tabla 10 Coeficientes de correlación lineal de Pearson entre los valores medios de las accesiones (n = 10) para los rasgos de composición (expresados en peso fresco) y morfológicos estudiados para los que la correlación fue significativa según la prueba de Bonferroni (P≤0.05). Los rasgos para los que no se obtuvo una correlación significativa se marcan con una "X". Los caracteres analizados son: peso total (PT), peso parte aérea (PA), peso raíz (PR), diámetro raíz	

(DR), espesor morado (EM), ratio espesor morado/diámetro raíz (EM/DR), diámetro núcleo (DN), longitud raíz (LR), longitud parte aérea (LA), longitud pedicelo (LP), anchura follaje (AF), fructosa (F), glucosa (G), sacarosa (S), azúcares totales (AZT), contenido en sólidos solubles (CSS), Anto1 (A1), Anto2 (A2), Anto3 (A3), Anto4 (A4), Anto5 (A5) y antocianinas totales (ANT). 38

Tabla 11 | Coeficientes de correlación entre los rasgos de composición (expresados en peso fresco), los caracteres morfológicos y los dos primeros componentes principales en las accesiones de zanahoria del primer año. Solo se han enumerado las correlaciones con valores absolutos $\geq 0,2$ 40

Tabla 12 | ANOVA general de las accesiones de zanahoria morada de Villena (z2, z3, z4 y z5) de los datos del primer año y el segundo año para el contenido en azúcares sencillos (fructosa, glucosa, sacarosa), azúcares totales, contenido en sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix), Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales..... 43

Tabla 13 | Concentración (g/kg de peso fresco) de los principales azúcares sencillos (fructosa, glucosa y sacarosa), azúcares totales; contenido en sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix); concentración de las antocianinas ($\mu\text{g/g}$ pf de peso fresco) Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales de las diferentes entradas de zanahoria, en el segundo año. 45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Producción en toneladas a nivel mundial de las principales hortalizas en 2018 (FAO, 2021).	3
Figura 2 Producción total de cultivos de zanahoria + nabo a nivel mundial y regional 1961-2018 (FAO, 2021).....	4
Figura 3 Fase vegetativa y generativa del desarrollo de la zanahoria. Adaptada de Linke et al, (2019).	7
Figura 4 Esquema del origen y difusión de la zanahoria por el mundo. Fuente: (Ellison, 2019)	8
Figura 5 Síndrome de domesticación de la zanahoria (domesticación primaria, la domesticación secundaria y la mejora de la zanahoria). Se detallan los cambios fenotípicos en cada etapa. Adaptada de: (Ellison, 2019).....	9
Figura 6 Estructura química de las principales antocianinas presentes en la zanahoria morada: A) cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido) (Cy3XG); B) (cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido) (Cy3XGG); C) (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido) (Cy3XSGG); D) cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido) (Cy3XFGG) y E) cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) (Cy3XCGG). Adaptada de: Tsutsumi et al., (2019).....	12
Figura 7 Evolución por continentes del área (millones de hectáreas) dedicada a la agricultura ecológica 2011-2018 (FIBL-IFOAM, 2021).	13
Figura 8 Superficie europea en hectáreas dedicadas al cultivo ecológico en 2018 (FIBL, 2021).	14
Figura 9 Variedades locales del territorio de Villena: A) Cereza; B) Pimiento blanco y C) Zanahoria morada (Agrícola Villena, 2021).....	16
Figura 10 Parcela experimental de la Cooperativa Agrícola Villena con el cultivo de zanahoria morada.	20
Figura 11 Cromatograma de HPLC que muestra las fracciones de antocianina de zanahoria morada (1) C3XGG; (2) C3XG; (3) C3XSGG; (4) C3XFGG; (5) C3XCGG. Fuente: Tsutsumi et al., (2019).	23
Figura 12 Muestras del licuado de zanahoria morada y naranja de la primera campaña. Fuente: Elaboración propia.	23
Figura 13 Foto de familia de las entradas de zanahoria utilizadas durante el primer año del ensayo	25
Figura 14 Interacción G x F para antocianinas totales y azúcares totales. La línea morada representa la cosecha de diciembre 2019 y la línea naranja representa la cosecha de enero 2020.	28

Figura 15 Gráfico de las accesiones de zanahoria del primer año para los dos primeros componentes principales.....	41
Figura 16 Gráfico de los caracteres morfológicos y analíticos para los dos primeros componentes principales.....	41

RESUMEN

La agricultura ecológica ha adquirido gran importancia en los últimos años. La demanda de productos con mejor calidad organoléptica y nutricional abre la vía a las variedades locales y ecotipos tradicionales. El proyecto Tesoro Agroecológico de Villena constituye una apuesta por la producción ecológica y la recuperación de ecotipos y variedades de cultivos tradicionales, entre ellos la zanahoria morada. El primer objetivo de este trabajo es evaluar una colección de accesiones de zanahoria morada y naranja de agricultores locales y casas de semillas por su calidad organoléptica y nutricional bajo condiciones de cultivo ecológico en el territorio de Villena. Se han determinado los niveles de azúcares y antocianinas por cromatografía HPLC en dos fechas de cosecha. Tras los análisis se llevó a cabo una selección varietal en base a la mejor calidad organoléptica y nutricional y similitud con el ecotipo de zanahoria morada de Villena. El segundo objetivo fue la evaluación de las selecciones de cinco accesiones de zanahoria tradicional morada de Villena pertenecientes a agricultores locales durante el segundo año.

El ANOVA del análisis del primer año reveló una contribución significativa de la variedad, la fecha de cosecha y su interacción para la variación observada en los compuestos químicos estudiados (excepto la fecha de cosecha para fructosa y glucosa). Se encontró una amplia variabilidad en el contenido en azúcares y antocianinas para cada fecha de cosecha y para cada entrada. Tanto en promedio como en la mayoría de las entradas individuales, el contenido en azúcares y antocianinas aumentaba con la fecha de cosecha. Se encontraron correlaciones positivas entre el CSS con el contenido en sacarosa y azúcares totales y el contenido en antocianinas y el espesor morado. En cambio, el contenido en azúcares totales se correlacionó negativamente con el tamaño de la planta. El análisis de componentes principales confirma el perfil distintivo entre la zanahoria morada tradicional de Villena y las demás accesiones y la variación dentro de este grupo. El ensayo del segundo año permitió observar la estabilidad de las accesiones seleccionadas de zanahoria tradicional morada de Villena. De acuerdo con el análisis de variación, el efecto genotipo y el efecto año fueron significativos para los compuestos químicos estudiados (a excepción del año para el contenido en azúcares totales, cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido y cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido) y antocianinas totales). También se confirmó que existía una ligera variación entre las accesiones seleccionadas de zanahoria morada de Villena para el contenido en azúcares y antocianinas. Estos resultados permitirán la selección de accesiones locales de zanahoria morada con mejor calidad, parecidas la ecotipo de Villena y adaptadas al cultivo ecológico en el territorio de Villena.

Palabras clave: agricultura ecológica, zanahoria morada, azúcares, antocianinas.

ABSTRACT

Organic agriculture has become very important in recent years. The demand for products with better organoleptic and nutritional quality opens the way to local varieties and traditional ecotypes. The Tesoro Agroecológico de Villena project is a challenge for organic production and the recovery of ecotypes and varieties of traditional crops, including the purple carrot. The first objective of this work is to evaluate a collection of purple carrot and orange accessions from local farmers and seed companies for their organoleptic and nutritional quality under organic farming conditions in the territory of Villena. The levels of sugars and anthocyanins were determined by HPLC chromatography on two harvest dates. After the analyses, a varietal selection was carried out based on the best organoleptic and nutritional quality and similarity with the purple carrot ecotype of Villena. The second objective was the evaluation of the selections of five accessions of traditional purple carrots from Villena, belonging to local farmers, during a second year.

The ANOVA of the first year analysis revealed a significant contribution of variety, harvest date and their interaction to the variation observed in the chemical compounds studied (except harvest date for fructose and glucose). A wide variability in sugars and anthocyanin content was found for each harvest date and for each entry. Both on average and for most individual entries, sugars and anthocyanin content increased with harvest date. Positive correlations were found between CSS with sucrose and total sugars content and anthocyanin content with purple thickness. In contrast, total sugars content was negatively correlated with plant size. Principal component analysis confirms the distinctive profile between the traditional purple carrot from Villena and the other accessions and the variation within this group. The second year assay allowed observing the stability of the selected accessions of traditional purple carrot from Villena. According to the analysis of variation, the genotype effect and the year effect were significant for the chemical compounds studied (with the exception of year for total sugars, cyanidin-3-(2"-xylose-6-glucose-galactoside) and cyanidin-3-(2"-xylose-6-glucose-galactoside) and total anthocyanins). It was also confirmed that there was a slight variation among the selected accessions of purple carrot from Villena for sugars and anthocyanin content. These results will allow the selection of local accessions of purple carrot with better quality, similar to the ecotype of Villena and adapted to organic cultivation in the territory of Villena.

Keywords: organic culture, purple carrot, sugars, anthocyanins

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia económica de la zanahoria

La zanahoria es uno de los diez cultivos de hortalizas con más importancia económica, en términos de producción, detrás de los tomates, cebollas, pepinos, coles y berenjenas (Figura 1). La zanahoria es el único miembro de la familia Apiaceae que forma parte de las 22 hortalizas más producidas (FAO 2021).

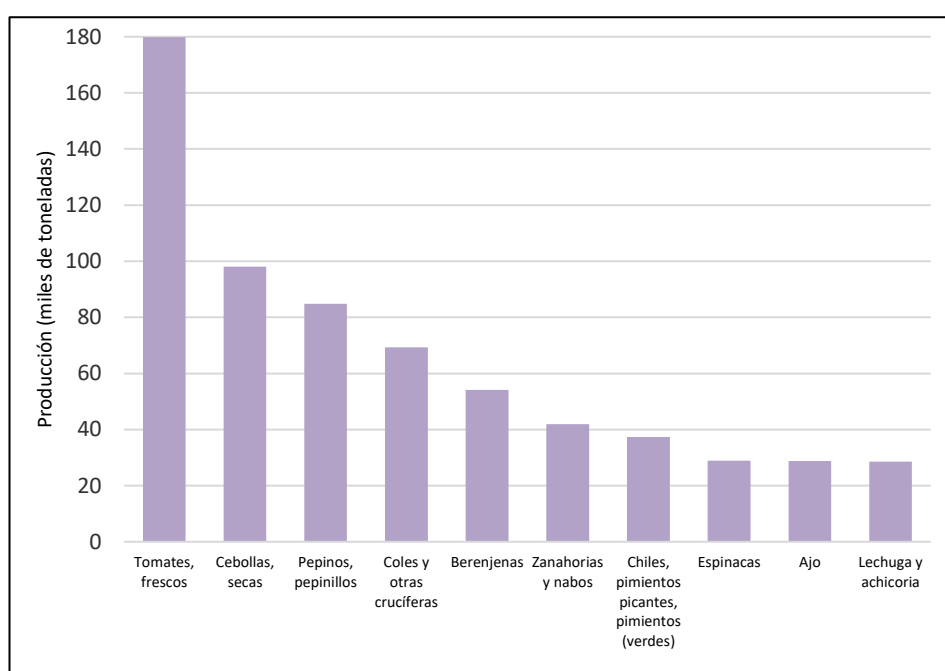


Figura 1 | Producción en toneladas a nivel mundial de las principales hortalizas en 2018 (FAO, 2021).

Desafortunadamente, las estadísticas de la FAO combinan la producción de nabos con zanahoria, como lo hacen con otros cultivos de hortalizas primarias, como la coliflor y el brócoli. En consecuencia, las estadísticas presentadas en las Tablas 1 y Figuras 1 y 2 incluyen los valores combinados para zanahoria y nabo. La zanahoria representa la mayor parte de los valores de producción. En Europa, la producción de nabo a principios de los años 90 fue de menor de un 1% que la zanahoria (Ramchiary & Kole, 2019). En España, la producción de nabo supuso un 2% respecto al total de producción de zanahoria y nabo en 2018 (MAPAMA, 2021).

La producción global de zanahoria ha aumentado constantemente en los últimos 50 años (FAO 2021). Este incremento ha sido especialmente notable en Asia seguido de Europa (Figura 2). Según la FAO en 2018, la producción de zanahoria mundial llegó a 41.904.105 toneladas en 1.100.330 millones de hectáreas. Gracias al desarrollo de nuevos cultivares se puede encontrar zanahoria durante todo el año (Philipp W. Simon et al., 2008).

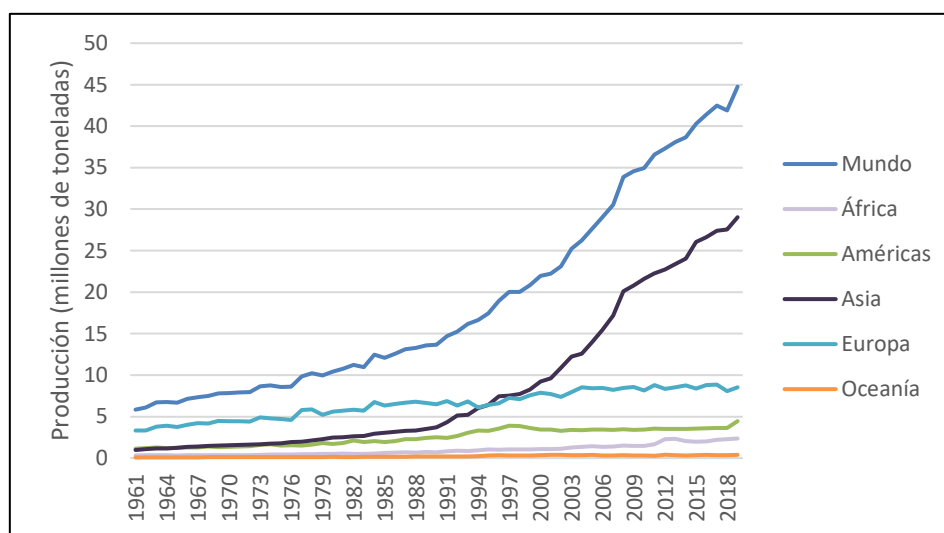


Figura 2 | Producción total de cultivos de zanahoria + nabo a nivel mundial y regional 1961-2018 (FAO, 2021).

Hoy en día la zanahoria se cultiva en todo el mundo con gran adaptación a las zonas templadas de Europa, Asia y América. El continente con mayor extensión de terreno dedicada al cultivo de zanahoria es Asia, donde se encuentra más de la mitad de la superficie total. Dicho continente también es el principal productor, con casi un 65% de la producción mundial. Europa es el segundo en superficie cultivada y en producción total (Tabla 1).

Tabla 1 | Área cosechada en hectáreas y producción en toneladas de zanahoria y nabo en los diferentes continentes y su porcentaje respecto al mundial en 2018 (FAO, 2021).

	Área cultivada (ha)	Porcentaje (%)	Producción (t)	Porcentaje (%)	Rendimiento (t/ha)
África	123807	11,3	2285849	5,5	18,5
Américas	112046	10,2	3628252	8,7	32,4
Asia	626472	56,9	27557944	65,8	44,0
Europa	230599	21,0	8069989	19,3	35,0
Oceanía	7406	0,7	362071	0,9	48,9
Mundo	1100330		41904105		

España es el noveno país productor de zanahoria de la UE, con un 4,7% de la producción total de la Unión Europea en 2018. La superficie cultivada ha disminuido llegando a las 6.500 hectáreas en 2018, con una producción de 384.300 toneladas (FAO, 2021). A nivel interno, la Comunidad Autónoma con mayor producción fue Castilla y León, con 183.988 toneladas en 2018, seguida de Andalucía, Castilla la Mancha, Comunidad Valenciana y Canarias (Tabla 2) (MAPAMA, 2021).

Tabla 2 | Análisis provincial en España de superficie (en hectáreas) y producción (en toneladas) de zanahoria en 2018 (MAPAMA, 2021).

Provincias y Comunidades Autónomas	Superficie total (ha)	Producción (toneladas)
ESPAÑA	6550	382427
Castilla y León	2580	183988
Andalucía	2687	141516
Castilla la Mancha	386	23737
C. Valenciana	154	8724
Canarias	233	7516
La Rioja	71	4629
Galicia	121	2809
Cataluña	131	2454
Navarra	26	2267
Madrid	44	1408
País Vasco	40	1321
R. de Murcia	32	1246
Baleares	43	737
Aragón	1	45
P. de Asturias	1	12
Cantabria	-	-
Extremadura	-	-

1.2 Morfología, fisiología y manejo del cultivo

La zanahoria es una planta herbácea con las hojas dobles o triplemente pinnado-partidas, en roseta y con peciolos largos. Las flores son pequeñas de color blanco o amarillento formando una umbela compuesta que comprende a su vez varias subunidades. La zanahoria presenta automonoecia (flores masculinas y hermafroditas en la misma planta) y protandria en las flores hermafroditas (el estigma madura tras la dehiscencia de las anteras). La fecundación es alógama y entomófila. El fruto es un diaquenio y las semillas son pequeñas y elípticas. El poder

germinativo se conserva durante 3-4 años. El objetivo del cultivo de la zanahoria es la producción de su raíz carnosa. Se trata de un sistema radicular constituido por una raíz pivotante hipertrofiada y raíces laterales relativamente pequeñas. Se observan diferencias de color, tamaño y forma en las distintas variedades. Se pueden encontrar zanahorias naranjas, rojas, moradas e incluso blancas, y además el xilema puede estar pigmentado de forma diferente al floema (Bradeen & Simon, 2007; Linke et al., 2019).

La zanahoria es una planta de ciclo bianual. El primer año de cultivo desarrolla una roseta de hojas. Posteriormente, almacena las reservas en su propia raíz. El segundo año, tras un periodo de frío o vernalización, emite el tallo floral y finalmente produce el fruto (Bradeen & Simon, 2007; Wohlfeiler et al., 2019)

La vernalización consiste en la transición de los meristemos de fase vegetativa a fase reproductiva por la exposición a un periodo de frío. Las zanahorias silvestres son en su mayoría anuales y las zanahorias cultivadas bianuales o de floración tardía (Wohlfeiler et al., 2019). Sin embargo, las zanahorias cultivadas se pueden manipular como cultivo anual en los programas de mejora. Para ello, se siembra en áreas de producción más cálidas, se cosecha y posteriormente se vernaliza en almacenamiento refrigerado durante, al menos, 6 semanas. Luego, la producción de semilla se lleva a cabo en un área más fresca para completar el ciclo en el periodo de un año (Simon et al., 2008).

Las zanahorias son un cultivo de temporada fría con un óptimo de crecimiento de entre 15 y 25°C. Se ha producido una expansión del cultivo de zanahoria a zonas con climas cálidos lo cual indica la continua mejora de este cultivo (Ramchiary & Kole, 2019). Las primeras hojas verdaderas emergen tras una o dos semanas tras la germinación. La elongación del tallo es suprimida durante la fase vegetativa. El engrosamiento de la raíz se da en la sexta o séptima semana tras la germinación. Tras el tratamiento de frío, de forma natural en el campo o en cámaras refrigeradas, se induce la elongación del tallo y la transición a un meristemo floral. Tras la polinización, fertilización y desarrollo de semillas, el ciclo reproductivo termina con la senescencia y declive de la planta (Figura 3) (Linke et al., 2019)

La zanahoria es un cultivo que presenta gran sensibilidad al medio ambiente en el que se desarrolla. Tras la nascencia, no tolera temperaturas altas. Por otro lado, si cuando llegan temperaturas frías, el cultivo tiene las raíces poco desarrolladas estas no llegarán a alcanzar el tamaño adecuado. Su cero vegetativo suele establecerse en 7 °C y su temperatura óptima de crecimiento entre 15 y 18 °C-. Es una planta exigente en humedad. El estrés hídrico puede

inducir la formación de fibrosidades en las raíces que la deprecian y, en caso de alternancia con grandes aportes de agua, resquebrajamiento radicales (Maroto, 2002)

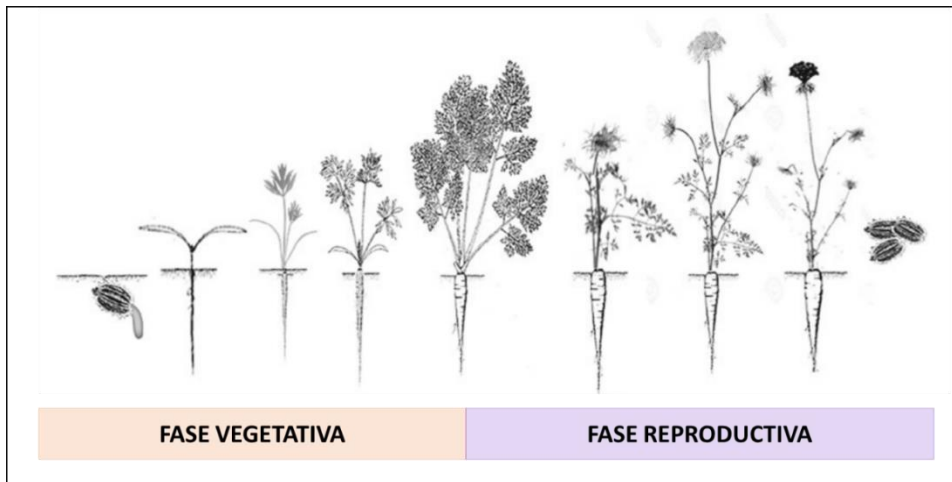


Figura 3 | Fase vegetativa y generativa del desarrollo de la zanahoria. Adaptada de Linke et al, (2019).

Son recomendables los suelos ricos, de textura ligera o media. Los terrenos compactos provocan fibrosidad y menor longitud de las raíces. Es una planta moderadamente tolerante a la acidez ($5,5 < \text{pH} < 6,8$). La zanahoria se considera bastante sensible a la salinidad de suelos y aguas (Gaviola, 2013)

La zanahoria se siembra directamente en campo. El objetivo es posicionar las semillas en el suelo para que germinen rápidamente y minimizando la competencia con las otras plántulas. La densidad de siembra (número de plantas/ha) influye directamente sobre el rendimiento. Con una densidad elevada, la precocidad disminuye y el calibre medio de las raíces baja. Al contrario, una densidad baja facilita la precocidad, la longitud y el calibre. Dependiendo de la variedad y la época de siembra deberemos variar la densidad de siembra que entre 1.500.000 y 1.800.000 semillas/ha (Gaviola, 2013).

La zanahoria no es un cultivo que precise de muchas labores una vez implantado. Con la finalidad de favorecer la aireación del suelo y la eliminación de malas hierbas se pueden dar uno o varios pases entre líneas/lomos, con fresadora o cultivadores (Maroto 2002).

1.3 Taxonomía, origen, domesticación y difusión de la zanahoria

La familia *Apiaceae* (Umbelliferae) engloba 466 géneros y 3820 especies. Es una de las familias más grandes e incluye especies como la chirivía, el hinojo, el apio, la raíz de perejil, el apio nabo, la arracacha y muchas hierbas y especias. La zanahoria pertenece al género *Daucus* y la especie es *Daucus carota* Linn, la más cultivada de esta familia (Bradeen & Simon, 2007; Philipp W. Simon et al., 2008; Spooner, 2019).

Esta familia está bien definida morfológicamente por una serie de caracteres. Sin embargo, las relaciones filogenéticas dentro de la familia de las *Apiaceae* han sido objeto de gran controversia, incluida las relaciones dentro del género *Daucus*. En los últimos años se han hecho estudios moleculares y se ha utilizado la secuenciación de ADN de próxima generación (NGS). Gracias a estos nuevos estudios, se está llevando a cabo una revisión constante para definir y entender el género *Daucus* (Spooner, 2019).

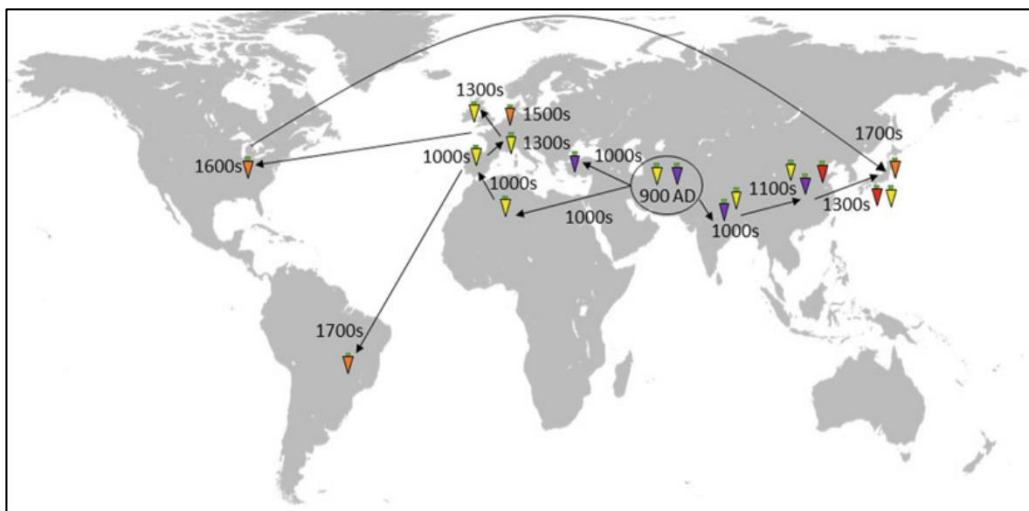


Figura 4 | Esquema del origen y difusión de la zanahoria por el mundo. Fuente: (Ellison, 2019)

El género *Daucus* incluye aproximadamente 20 especies distribuidas por todo el mundo, la mayoría se encuentran en el Mediterráneo. Sin embargo, *Daucus carota* L. tiene su centro de origen en Asia Central (Philipp W. Simon et al., 2008). El uso de zanahoria como cultivo de raíz data de hace 1100 años en Afganistán, centro de diversidad. Las zanahorias moradas y amarillas se difundieron hacia el oeste hasta Siria, África del Norte, la región del Mediterráneo y el Sur de Europa en los siglos XI y XIV. Turquía se considera un centro secundario de diversidad debido a la gran diversidad de tipos que encontramos en la actualidad. La difusión de la zanahoria hacia

el este no está tan bien documentada. Se piensa que primero llegó a China y luego a Japón en el 1700 (Figura 4) (Bradeen & Simon, 2007; Simon et al., 2008; Stolarczyk & Janick, 2011; Ellison, 2019). La zanahoria morada es popular de las regiones del este y la zanahoria amarilla en las regiones del oeste. La zanahoria naranja se describió por primera vez en Europa, fruto de la mejora genética del siglo XVII (Ramchiary & Kole, 2019).

El síndrome de domesticación de la zanahoria supuso un cambio en las características fenotípicas: aumento de carotenoides, antocianinas, contenido en azúcares, pérdida de ramificación lateral de la raíz, crecimiento bianual, aumento del tamaño de la raíz y variación en la forma (Ellison, 2019). El color ha cambiado drásticamente durante la domesticación del cultivo. Las zanahorias silvestres son blancas o amarillo pálido, mientras que las primeras zanahorias domesticadas eran moradas y amarillas (Philipp W. Simon et al., 2008). Tras la domesticación, los caracteres de calidad que se mejoraron fueron el flavor, nutrición, uniformidad, tolerancia a estreses bióticos y abióticos y esterilidad masculina (Figura 5) (Ellison, 2019).



Figura 5 | Síndrome de domesticación de la zanahoria (domesticación primaria, la domesticación secundaria y la mejora de la zanahoria). Se detallan los cambios fenotípicos en cada etapa. Adaptada de: (Ellison, 2019).

Actualmente las zanahorias se dividen en dos grupos, las variedades occidentales, *Daucus carota ssp. sativus var sativus*, en las que predominan las coloraciones rojo-anaranjadas,

y son las que más se comercializan en Europa, y las variedades orientales, *Daucus carotaa ssp. sativus var. atrorubans* Alef., que presentan coloraciones que abarcan del violeta oscuro al amarillo (Xu et al., 2019).

1.4 Caracteres de interés en la mejora de la calidad de la zanahoria

La calidad organoléptica hace referencia a la percepción sensorial por parte del consumidor. Esta impresión viene dada principalmente por el contenido en azúcares, ácidos y volátiles. La calidad nutricional es la capacidad de los alimentos para proporcionar los nutrientes necesarios para una buena salud. En hortalizas como la zanahoria, esta calidad depende de la cantidad y calidad de macronutrientes y micronutrientes. Dentro de la calidad nutricional se encuentra lo que se denomina “calidad nutracéutica”, que se refiere a la presencia de compuestos que confieren beneficios para la salud humana, también llamados compuestos bioactivos. En la zanahoria naranja destaca el contenido en carotenoides, mientras que, en la zanahoria morada, objeto de estudio de este trabajo, destaca el contenido en antocianinas. A continuación, se comentarán los azúcares (calidad organoléptica) y las antocianinas (calidad nutracéutica).

Azúcares

Los carbohidratos o azúcares son moléculas basadas en el carbono y ricas en grupos hidroxilo. Según el grado de complejidad se puede distinguir: monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, polisacáridos y carbohidratos complejos. Los azúcares que contienen un grupo hemiacetal o hemicetal libre se denominan azúcares reductores, por ejemplo, la glucosa y la fructosa. Los azúcares no reductores son aquellos que no pueden oxidarse por agentes oxidantes suaves porque no tienen un grupo hemiacetal libre. La sacarosa es un azúcar no reductor.

Las zanahorias tienen un sabor complejo. Las propiedades organolépticas (de sabor) de la zanahoria se deben principalmente a la presencia de azúcares. El dulzor de este vegetal es un importante indicador de aceptación por parte de la población (Alasalvar et al., 2001).

Los principales carbohidratos que se encuentran en la raíz de la zanahoria son azúcares libres reductores y no reductores (glucosa, fructosa y sacarosa) y algunos carbohidratos complejos. Glucosa, fructosa y sacarosa suponen más del 95% de azúcares libres y el 40-60% de los carbohidratos almacenados en la raíz. El contenido en azúcares reductores y azúcares totales

está influenciado por el genotipo. Se ha encontrado gran variación en germoplasma de zanahoria. Las variedades europeas y americanas tienen un 18% más de azúcares totales que las variedades asiáticas. Además, dicho contenido también está afectado por factores ambientales como el suelo, el agua y el clima (Cavagnaro, 2019).

El contenido total de azúcares en zanahoria varía de un 3 a un 8% donde predomina la sacarosa y en menor medida glucosa y fructosa (Alasalvar et al., 2001). Baranski et al., 2012 observaron que el ratio de azúcares no reductores/ azúcares reductores varía de un 1.1 a un 9.6 con una media de 2.5. Esta gran variación es de gran importancia en los programas de mejora. Para aumentar el sabor de zanahorias de consumo en fresco, se selecciona para un alto contenido de azúcares reductores. En cambio, para chips fritas de zanahoria se prefiere un bajo contenido de azúcares reductores.

Antocianinas

Las antocianinas pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos llamados flavonoides. Son responsables de una amplia variedad de colores, desde el rojo hasta el azul y el morado. Se encuentran en flores, frutas y vegetales (Assous et al., 2014; Tsutsumi et al., 2019). En la planta, desempeñan funciones como atracción de insectos polinizadores, protección contra la luz ultravioleta y mejora de tolerancia a estreses abióticos y bióticos (Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

Las antocianinas son utilizadas en la industria alimentaria como colorantes naturales para zumos y otras bebidas. Además, por su alta capacidad antioxidante, pueden tener un efecto antiinflamatorio, mejor visión y un posible papel en la reducción del riesgo de enfermedades coronarias y cáncer (Arscott et al., 2010; Cavagnaro, 2019; Iorizzo et al., 2020; Lee et al., 2011).

Las antocianinas se sintetizan a través de la vía fenilpropanoide, una rama tardía de la vía del ácido shikímico (Herrmann & Weaver, 1999). La estructura química de estos compuestos consiste en un cromóforo central (antocianidina) que varía en el número y las posiciones de los grupos hidroxilo y metilo. Las antocianidinas más comunes en plantas superiores son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina (Davies et al., 2017). Las antocianinas son antocianidinas unidas a restos de azúcares. Estos restos de azúcares pueden estar acilados. La combinación de diferentes antocianidinas, azúcares y ácidos orgánicos da lugar a más de 600 antocianinas naturales (Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

La estabilidad química y la biodisponibilidad de las antocianinas está relacionada con el grado de acilación y glicosilación. Las antocianinas aciladas (AA) son químicamente más estables

por lo que se prefieren para la industria de colorantes naturales. En cambio, las antocianinas no aciladas (ANA) destacan por su mayor biodisponibilidad. Se seleccionan para aumentar el valor nutricional del cultivo ya que influye en los beneficios que porta a la salud humana (Iorizzo et al., 2020).

La zanahoria morada contiene una mayor proporción de AA que ANA (Kammerer et al., 2004). Se ha encontrado gran variación del contenido total de antocianinas y del ratio AA:ANA en distintas líneas de zanahoria morada. Kammerer et al., (2004) evaluaron 15 accesiones e informaron de un rango de 0,5-191 mg/100g de peso fresco (pf) de antocianinas totales. En cambio, Bannoud et al (2018) examinaron 25 accesiones de zanahoria morada, incluyendo poblaciones de polinización abierta y cultivares híbridos, y encontraron un contenido total de antocianinas en un rango de 1-229 mg/100g pf.

Las principales antocianinas en la zanahoria morada son glucósidos de cianidina. Se han encontrado 5 compuestos principales, dos antocianinas no aciladas, cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido) (Cy3XG) y (cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido) (Cy3XGG), y tres antocianinas aciladas (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido) (Cy3XSGG), cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido) (Cy3XFGG), y cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) (Cy3XCGG) (Figura 6) (Tsutsumi et al., 2019).

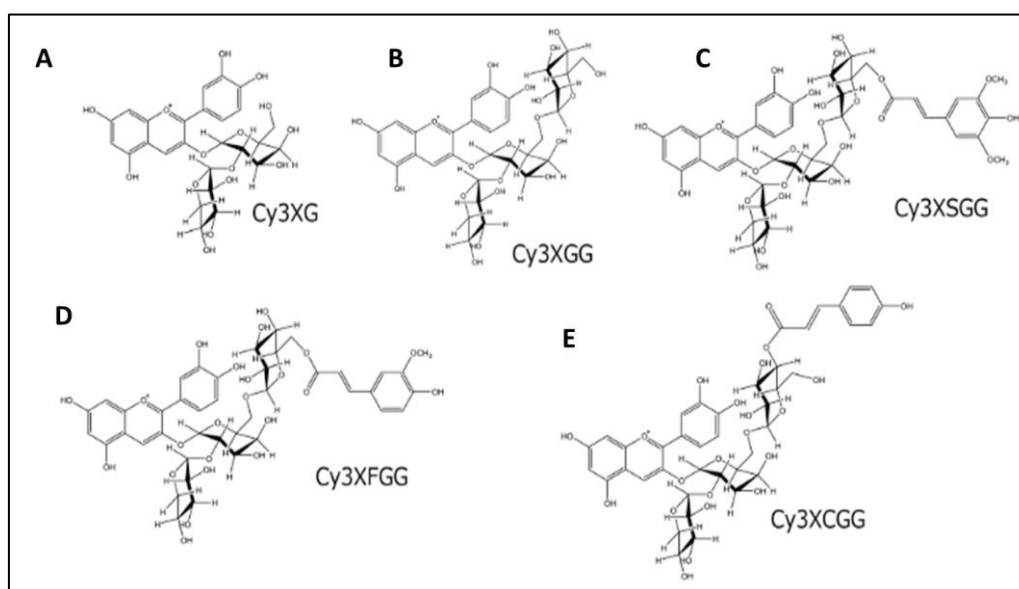


Figura 6 | Estructura química de las principales antocianinas presentes en la zanahoria morada: A) cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido) (Cy3XG); B) (cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido) (Cy3XGG); C) (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido) (Cy3XSGG); D) cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido) (Cy3XFGG) y E) cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) (Cy3XCGG). Adaptada de: Tsutsumi et al., (2019)

El contenido y la proporción relativa de los pigmentos de antocianinas individuales varía entre las accesiones. Según Kammerer et al. (2004) Cy3XFGG fue la antocianina más abundante en 13 de las 15 accesiones evaluadas. Esta variabilidad encontrada en las accesiones de zanahoria morada expone que hay suficiente variabilidad en el germoplasma de zanahoria morada para la selección de materiales con un alto contenido de AA para la producción de colorantes alimentarios y un contenido alto de ANA para incrementar el valor nutricional por ejemplo, para el consumo en fresco (Cavagnaro & Iorizzo, 2019).

1.5 Aspectos del cultivo ecológico

El sector de la agricultura, además de importantes aspectos económicos, tiene una influencia directa en el mantenimiento del medio rural y el medio ambiente. En este sentido, la Conferencia Ministerial de Agricultura OCDE de 2016 identificó como objetivo prioritario la contribución a una producción y uso de recursos sostenibles. Se pretende fomentar una agricultura competitiva, pero a la vez sostenible, de bajos insumos, que obtenga más con menos y funcione en armonía.

La Organización de las Naciones Unidas definió como cultivo ecológico aquel proceso que con medio naturales consigue producir alimentos sin la necesidad de añadir compuestos de síntesis (FAO, 2021). La agricultura ecológica está adquiriendo importancia debido a la concienciación de los ciudadanos e instituciones y órganos de gobierno hacia el cambio climático. Cada vez somos más conscientes de los límites de la capacidad de recuperación de los recursos naturales, el riesgo de empobrecimiento o colapso y la posible pérdida de sus valores (Stopes et al 2010).

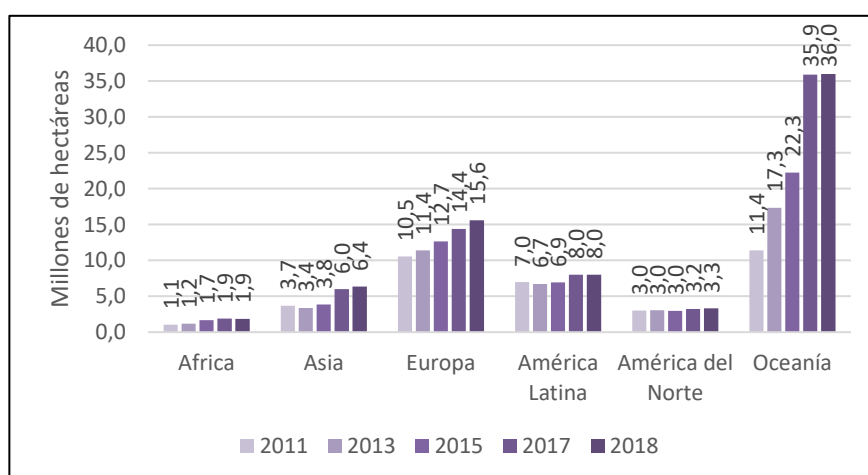


Figura 7 | Evolución por continentes del área (millones de hectáreas) dedicada a la agricultura ecológica 2011-2018 (FIBL-IFOAM, 2021).

La superficie destinada a cultivo ecológico en Europa crece continuamente, ha pasado de 10,5 millones de hectáreas en 2011 a más de 15 millones de hectáreas en 2018 (Figura 7). Este aumento se debe principalmente al apoyo al sector, tanto por los consumidores como de instituciones públicas. De este modo, más del 20% de la superficie ecológica del mundo se localiza en Europa, donde España es el país con mayor superficie destinada, seguida de Francia e Italia (Figura 8). No obstante, España aún se queda lejos en proporción de superficie destinada a cultivo ecológico respecto a la total cultivada (alrededor del 6%) en comparación a otros países del centro y norte de Europa como Austria (19%) o Suecia (16%).

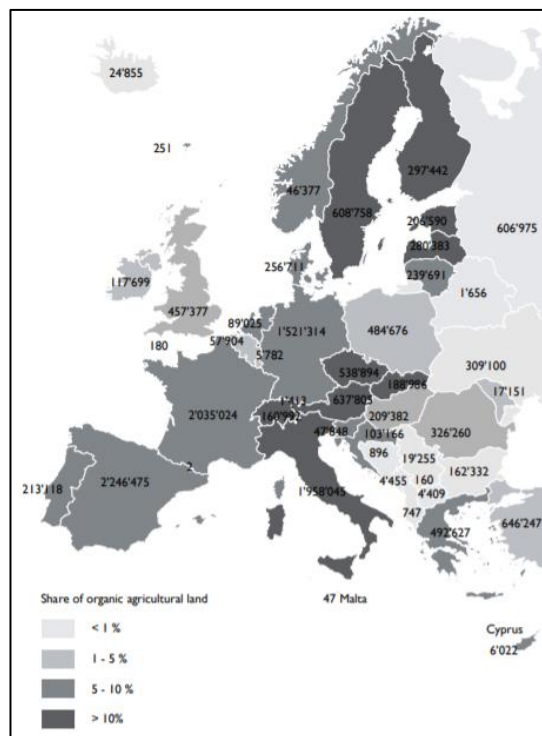


Figura 8 | Superficie europea en hectáreas dedicadas al cultivo ecológico en 2018 (FIBL, 2021).

1.6 Tesoro Agroecológico de Villena

En España, hay territorios en los que la superficie ocupada por agricultura ecológica supera la media nacional, como la Comunitat Valenciana. Para seguir promoviendo el aumento de dicha superficie, se ha llevado a cabo el I Plan Valenciano de Producción Ecológica (2016-2020) cuyo objetivo es alcanzar el 20% de superficie cultivada en el año 2020 (Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient, Canvi Climàtic i Desenvolupament Rural, 2021). En los últimos años, la ciudad de Villena y su entorno agrario ha apostado por la producción ecológica, incentivando y

organizando jornadas y cursos vinculadas a ésta, e incluso dispone de un servicio de asesoramiento municipal (SEAE, 2021; Ayuntamiento de Villena, 2021).

Por otro lado, la producción hortofrutícola de la zona de Villena es representativa a nivel nacional por su adaptación al cambio climático debido a la salinización y desertificación de la zona. A este respecto, la producción ecológica ofrece una gran oportunidad a las variedades locales y ecotipos tradicionales de hortalizas y frutales. En un programa de mejora para adaptación cultivo ecológico, es imprescindible partir de variedades tradicionales, pues es de esperar una mejor respuesta a las condiciones de bajos insumos. Estos materiales son fruto de un proceso, durante generaciones de agricultores, de selección y adaptación a condiciones agroclimáticas locales de bajos insumos, en comparación con aquellas para las que se han seleccionado las modernas variedades F1 (Dwivedi et al., 2016; Fita et al., 2015).

Además, promover el cultivo de variedades tradicionales ayuda indirectamente a proteger la diversidad agrícola, reducir el fenómeno de la erosión genética en las últimas décadas y promover la adaptabilidad a los problemas de producción agrícola como los relacionados con el cambio climático (Rosenzweig et al., 2014; FAO, 2021).

Hoy en día, los consumidores demandan cada vez más productos con mejor calidad organoléptica y nutricional. Se están identificando las variedades tradicionales con mejores características en condiciones ecológicas, incluyendo factores relacionados con el sabor (azúcares, ácidos), el aroma (volátiles con impacto sensorial) y el flavor (combinación de los anteriores durante la masticación), así como el contenido en compuestos bioactivos (Figàs et al., 2015; Rodríguez-Burruezo et al., 2010). De este modo, se relaciona la producción agroecológica con el sabor de lo tradicional, confiriéndole un mayor valor añadido.

Finalmente, promover el uso de ecotipos y materiales locales tradicionales favorece el consumo de proximidad, uno de los pilares de la agricultura sostenible, y además permite a los agricultores diversificar su producción, con unos productos dotados de mayor valor añadido, por los que el consumidor está dispuesto a pagar precios más justos, motivando a nuevas generaciones de agricultores y contribuyendo a mantener el tejido socioeconómico agrario.

En este contexto, la Cooperativa Agrícola Villena es uno de los principales operadores agroalimentarios de la Comunitat Valenciana. Con casi 100 años de historia, 300 socios y decenas de empleados, incluyendo más de 20 técnicos, esta cooperativa provee, entre otros distribuidores, a la mayor cadena de supermercados de España varios productos a nivel nacional, destacando por ser una de las principales comercializadoras de zanahoria (>50.000 t/año) y cereza de España (Agrícola Villena, 2021).

En los últimos años, la cooperativa Agrícola Villena se ha visto cada vez más implicada en la producción agroecológica. De este modo surge el proyecto Tesoro Agroecológico de Villena en colaboración con el Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), como Institución Pública de Investigación, y la Cooperativa Agrícola Villena, como empresa del sector agroalimentario, incentivado a través del Programa Desarrollo rural de la Comunitat Valenciana 2014-2020.

Esta iniciativa constituye una apuesta por la producción ecológica y la recuperación de ecotipos y variedades locales de cultivos tradicionales, en concreto la cereza, la zanahoria morada y el pimiento blanco (Figura 9). El objetivo es seleccionar materiales adaptados a producción ecológica y la cadena de valor, con alto valor añadido por su calidad organoléptica y nutricional y siguiendo un esquema participativo.



Figura 9 | Variedades locales del territorio de Villena: A) Cereza; B) Pimiento blanco y C) Zanahoria morada (Agrícola Villena, 2021)

En las evaluaciones del material vegetal se están considerando caracteres como la productividad en cultivo ecológico, facilidad de manejo y cultivo, calidad visual, aptitud poscosecha y calidad del producto. En el caso de la calidad, se consideran las especificidades y atractivos propios de cada cultivo. En concreto, en zanahoria morada se está poniendo énfasis en el sabor, dulzor, firmeza de la raíz y morfología recta, intensidad del color morado y caracteres de calidad propios (antocianos, vitamina C, perfil de volátiles responsables de aroma y flavor).

2. OBJETIVOS

El objetivo global de este Trabajo de Fin de Máster es evaluar los resultados de un proyecto dirigido a recuperar materiales representativos de zanahoria morada del territorio de Villena. La selección de los mejores materiales se realiza en base a caracteres agronómicos, poscosecha y analíticas para la calidad nutricional y organoléptica del producto, este último punto es el que se evaluará en este trabajo.

En primer lugar, se parte una colección de variedades de zanahoria morada procedentes del banco de germoplasma del COMAV y de agricultores locales y casas de semillas involucradas en esta labor de conservación. Estos materiales fueron cultivados bajo cultivo ecológico en el territorio de Villena durante la campaña de 2019. Entre los parámetros asociados a la calidad de fruto analizados en el laboratorio, destacan el contenido en azúcares y antocianinas.

De este modo se pretende determinar:

- Las diferencias morfológicas en la colección de accesiones de zanahoria utilizando los descriptores más representativos.
- La contribución que los efectos variedad (genotipo), fecha de cosecha y las interacciones entre éstos, pueden tener sobre la variación en glucosa, fructosa, sacarosa, azúcares totales, contenido en sólidos solubles, antocianinas individuales y totales.
- El estudio detallado de cómo la diferencia de un mes en la fecha de cosecha afecta a los niveles de azúcares (individuales y totales) y antocianinas (individuales y totales), tanto en términos generales como a nivel individual.
- Estimar las correlaciones entre los caracteres morfológicos y químicos utilizados en este ensayo para esta colección de accesiones de zanahoria morada y naranja.
- Observar la distribución de estas accesiones mediante un análisis de componentes principales y su correlación con los caracteres morfológicos y químicos utilizados en este ensayo.

Tras este estudio, se pretende seleccionar las mejores accesiones de zanahoria tradicional morada de Villena en base a caracteres agronómicos, adaptación al cultivo ecológico en el territorio de Villena, parecido al ecotipo de Villena y analíticas para la calidad nutricional y organoléptica. Estos materiales seleccionados se sembrarán en la campaña de 2020 para reevaluarlos y observar la estabilidad de los caracteres químicos de interés, azúcares y antocianinas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal




El primer año se evaluaron 10 accesiones pertenecientes a la especie *Daucus carota*. Esta colección abarcó variedades tradicionales de zanahoria morada de agricultores locales del territorio de Villena, y variedades comerciales de zanahoria naranja y morada (Tabla 3).

Tabla 3 | Relación de las accesiones del primer año utilizadas. De arriba a abajo: código, foto de la accesión, procedencia y tipo de accesión.

1	2	3	4
			
Agricultor Zocarra	Agricultor Pepu	Agricultor Zocarra	Agricultor Zanemi/Emilio
Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena
5	6	7	
			
Agricultor Juan Domene	Bolero	Redonda de Paris	
Zanahoria morada de Villena	Zanahoria naranja comercial	Zanahoria naranja comercial	
8	9		10
			
Forraje de Batlle	Pastanegra de sang vermella		Morada de Mascarell
Zanahoria morada comercial	Zanahoria roja comercial		Zanahoria morada comercial

El objetivo del segundo año fue reevaluar las zanahorias moradas de Villena para continuar con el proceso de recuperación del ecotipo de Villena. De este modo, se evaluaron cuatro selecciones de variedades del año anterior y una selección adicional de un agricultor de 2016 (Tabla 4).

Tabla 4 | Relación de las accesiones del segundo año utilizadas. De arriba a abajo: código, foto de la accesión, procedencia y tipo de accesión.

2_2020	3_2020	4_2020
		
Agricultor Pepu semilla 2020	Agricultor Zocarra semilla 2020	Agricultor Zanemi/Emilio semilla 2020
Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena
	5_2020	5_2016
		
	Agricultor Juan Domene semilla 2020	Agricultor Juan Domene semilla 2016
	Zanahoria morada de Villena	Zanahoria morada de Villena

3.2 Condiciones de cultivo

Este trabajo se ha realizado en el campo de ensayo agroecológico certificado por el Comité de Agricultura Ecológica de la Comunidad Valenciana de la Cooperativa Agrícola Villena, ubicado en las proximidades de la Cooperativa (Figura 10).

A principio de julio de 2019 se hizo una siembra directa de las semillas de las diferentes accesiones en el campo de ensayo de la Cooperativa Agrícola Villena. El cultivo se desarrolló mediante manejo agroecológico, supervisado por los técnicos de la cooperativa. Como labores previas, las parcelas fueron labradas y se levantaron caballones. El marco de plantación fue de 1 metro entre filas y 0,5 metros entre plantas de la misma fila. El riego era a manta, cada diez días, a partir de la acequia que bordeaba las parcelas.

En la primera campaña, se cosecharon las zanahorias en diciembre de 2019 y en enero de 2020. Se seleccionaron las zanahorias más representativas para los análisis y para la multiplicación del material. Las zanahorias para la producción de semilla, tras ser seleccionadas, se les cortó la parte aérea, dejando la parte central, y la punta de la raíz, para promover la ramificación. Sin quitar la tierra, se pusieron en caballones anexos. Tras la formación de las flores, se recogieron las semillas y se guardaron para su plantación el año siguiente.



Figura 10 | Parcela experimental de la Cooperativa Agrícola Villena con el cultivo de zanahoria morada.

3.3 Diseño experimental y preparación de muestras

Para el diseño de la parcela experimental se dispuso un modelo de distribución al azar. Cada variedad en cada sistema de cultivo estaba representada por 100-500 plantas (según disponibilidad de semilla), distribuidas en una línea. Adicionalmente, se dispuso una fila de bordura con las plantas sobrantes del trasplante.

Se llevó a cabo la recogida de frutos para los análisis de antocianinas y azúcares. En cada entrada se cosecharon los frutos en estado de madurez durante el mes de diciembre de 2019 y enero 2020 en la primera campaña y en enero de 2021 en la segunda campaña. Se recogieron 2 metros lineales de cosecha.

En el laboratorio, se seleccionaron un número representativo de zanahorias sin grietas ni daños, mínimo 10 individuos por repetición. A continuación, se llevó a cabo la caracterización de la raíz siguiendo los descriptores de zanahoria del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Se eligieron los descriptores más representativos agronómicamente para la zanahoria morada (Tabla 5).

Tabla 5 | Descriptores del IPGRI utilizados y sus unidades de medida para la caracterización de la zanahoria morada durante las dos campañas

Descriptores para zanahoria morada	
Peso total (g)	Espesor morado (mm)
Peso parte aérea (g)	Diámetro del núcleo (mm)
Peso raíz (g)	Longitud parte aérea (cm)
Diámetro raíz (mm)	Longitud pedicelo (cm)
Longitud raíz (cm)	Anchura follaje (corona) (mm)
Color parte aérea	

Una vez caracterizado el material fenotípicamente, se procesaron las muestras y se congelaron hasta su posterior análisis. Se tomó el tercio central de cada zanahoria y se hizo un *bulk* con todas ellas, desechando la parte más apical y la más próxima a la parte aérea. Por cada variedad se hicieron 3 repeticiones. De cada muestra o “bulk” se hicieron 2 procesados diferentes:

- a) Para el posterior análisis de azúcares, se extrajo el zumo de las zanahorias con una licuadora y se guardó en tubos de centrífuga de 1,5ml. Se congeló inmediatamente a -80°C.
- b) Para el análisis de antocianinas, el “bulk” de zanahorias se homogeneizó mediante una picadora. El homogeneizado se guardó en tubos de 100ml que se congelaron inmediatamente a -80°C.

Los análisis se hicieron extensivos a las 10 accesiones del primer año y las 5 accesiones del segundo año, descritas en el apartado 3.1.

3.4 Análisis de antocianinas

El contenido en antocianinas se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (High Performance Liquid Chromatography-HPLC) en base a una modificación del método desarrollado por Tsutsumi et al. (2019).

Para la extracción de las antocianinas, se usaron las muestras homogeneizadas con picadora sin descongelar para evitar la pérdida de antocianinas. En un tubo de centrífuga de 15 ml se pesaron 10 gramos de cada muestra y se añadieron 25 ml de la solución de extracción (metanol con un 10% de ácido fórmico v/v). La muestra se agitó vigorosa y manualmente durante 1 minuto, guardándose a -20 °C durante 24 horas. Al día siguiente, se centrifugó la extracción a 3500 r.p.m. durante 15 minutos. Se filtró el sobrenadante con filtros PTFE a 0,22 µm directamente en viales ámbar de HPLC y se inyectó inmediatamente para evitar la degradación del pigmento. Las extracciones se realizaron por triplicado.

La separación cromatográfica se realizó con una columna Phenomenex C18-polar de longitud 15 x 0,46 cm, y poro interno de 3 µm a temperatura de 35°C. Las fases móviles utilizadas para la separación son: (A) agua ultrapura con un 2% de ácido fórmico (v/v) y (B) metanol grado HPLC. El gradiente utilizado fue el siguiente:

Tiempo (m)	A (%)	B (%)
0	90	10
2	80	20
50	45	55
51	20	80
55	20	80
60	90	10
65	90	10

El flujo se fijó en 0,5 ml / min para todas las muestras. El volumen inyectado fue de 10 µL. El detector utilizado fue de tipo ultravioleta-visible, y la longitud de onda seleccionada fue 520 nm. Mediante este método se obtuvieron cinco antocianinas adecuadamente separadas (Figura 11) (Tsutsumi et al., 2019).

Las muestras se cuantificaron mediante una recta de calibración externa usando como patrón la cianidin-3-o-glucoside (Arscott et al., 2010; Sun et al., 2009). Del resto de antocianinas presentes en zanahoria no existen patrones comerciales. La identificación de picos se hizo comparando los resultados con otros autores (Tsutsumi et al., 2019) y por el tiempo de retención del patrón utilizado en la recta de calibrado. Una vez identificados los picos, se realizaron los

cálculos necesarios para cuantificar el contenido de antocianinas en cada muestra. Se detectaron las antocianinas cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido) (Anto1), cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido) (Anto2), cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido) (Anto3), cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido) (Anto4) y cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) (Anto5).

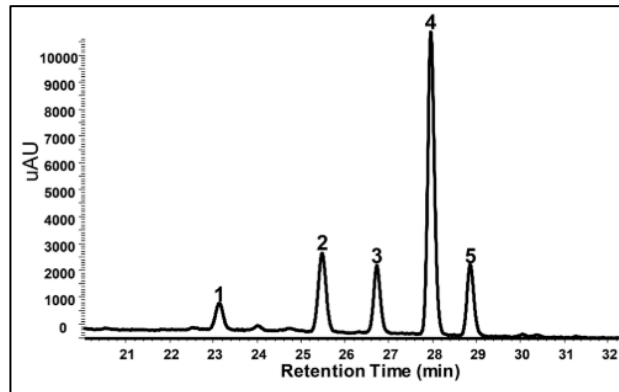


Figura 11 | Cromatograma de HPLC que muestra las fracciones de antocianina de zanahoria morada (1) C3XGG (Anto1); (2) C3XG (Anto2); (3) C3XSGG (Anto3); (4) C3XFGG (Anto4); (5) C3XC GG (Anto5). Fuente: Tsutsumi et al., (2019).

3.5 Análisis de azúcares

La determinación de azúcares se basa en una modificación del método descrito por Navarro et al. (2006). Se descongelaron en nevera las muestras de zumo de zanahoria previamente obtenidas con la licuadora (Figura 12). Se centrifugaron a 10.000 r.p.m. durante 5 minutos y se hizo una dilución 1:3 (v/v) en agua ultrapura. Se agitaron utilizando un vórtex y se centrifugaron la solución a 10.000 r.p.m. durante 5 min. A continuación, las muestras se filtraron directamente a un vial de HPLC con un filtro de 0.20 μm de celulosa regenerada (Phenex, Phenomenex), analizándose inmediatamente.



Figura 12 | Muestras del licuado de zanahoria morada y naranja de la primera campaña. Fuente: Elaboración propia.

La separación e identificación de azúcares se llevó a cabo utilizando una columna Omega Luna Sugar de Phenomenex (150 mm x 4.6 mm, 3 μ m) con precolumna (4 x 3.0 mm) a 40°C. La fase móvil se compuso de acetonitrilo:agua ultrapura 75:25 (v/v) con un flujo isocrático de 0.8 ml / min durante 15 minutos. El volumen de inyección fue 10 μ l. El detector utilizado fue de índice de refracción (IR).

Los azúcares se identificaron comparando sus tiempos de retención con los patrones puros (fructosa, glucosa y sacarosa). La cuantificación de cada compuesto se realizó usando una curva de calibración estándar externa. Además, se llevó a cabo la medición de los °Brix de los zumos de zanahoria. Se midieron usando un refractómetro de mano PAL-BX|ACID F5 Master Kit de Atago (0-30% Brix). Los valores obtenidos se registraron en porcentaje.

3.6 Análisis estadístico y parámetros útiles para la selección en compuestos bioactivos

Los análisis químicos de las muestras de raíces se realizaron en seis o cuatro repeticiones, dependiendo del análisis y la disponibilidad de muestra. Los datos se analizaron mediante el software *Statgraphics Centurion XVII* (StatPoint Technologies, Inc; Warrenton, Virginia, EE. UU.). Se calcularon los valores medios y se obtuvieron sus errores estándar. Las diferencias entre los valores medios se determinaron mediante un análisis de varianza de una vía junto con la prueba de comparación múltiple de Student-Newman-Keuls. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos.

Se calcularon los coeficientes lineales de correlación de Pearson (r) entre pares de rasgos y se evaluó la significancia ($p < 0.05$) de las correlaciones con la prueba de Bonferroni. El análisis de componentes principales (PCA) se realizó para datos de composición estandarizados utilizando distancias euclidianas por pares entre las medias de las accesiones. Se calcularon los valores propios y el porcentaje de varianza para cada componente principal, así como los coeficientes de correlación entre los rasgos de composición y los componentes principales.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Morfología de las entradas del primer año

En primer lugar, se llevó a cabo la caracterización de las accesiones de zanahoria del primer año siguiendo los descriptores más representativos agronómicamente para la zanahoria del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI) (Tabla 5).

Se encontró una gran variabilidad fenotípica para los diez caracteres estudiados. Teniendo en cuenta las características morfológicas evaluadas (peso total, peso de la parte aérea, peso de la raíz, diámetro de la raíz, espesor morado, diámetro del núcleo, longitud de la raíz, longitud de la parte aérea, longitud del pedicelo y anchura de follaje) se observó que las accesiones de zanahoria presentan gran variación (Figura 13).



Figura 13 | Foto de familia de las entradas de zanahoria utilizadas durante el primer año del ensayo

Para el peso total en gramos (PT), el rango varietal estuvo comprendido entre 48,2 g para la entrada z7 y 415,4 g para la entrada z10, siendo el promedio general de 222,8 g. El peso de la parte aérea (PA) tuvo un mínimo de 5 g (z7) y un máximo de 78,2 g (z8) con un promedio general de 35,5 g. Asimismo, para el peso de la raíz (PR) se observó una amplia variabilidad donde el rango de variación estuvo comprendido entre 43,2 g y 364,6 g de la entrada z1 y z7, respectivamente (Tabla 6).

Con respecto al diámetro de la raíz (DR), se obtuvo un promedio de 42,1 mm con un valor mínimo de 31 mm (z6) y un valor máximo de 53 mm (z1). Luego, se midió de forma separada el diámetro del núcleo (DN) y el espesor morado (EM) en las zanahorias moradas. El

DN obtuvo un rango de variación varietal comprendido entre 1,1 mm para la entrada z6 y 3 mm para la entrada z1. Por otro lado, el EM en las zanahorias moradas tuvo un promedio mínimo de 6 mm en la entrada z8 y un promedio máximo de 10,6 mm en las entradas z1 y z2 (Tabla 6).

Con respecto a la longitud de la raíz (LR), el rango de variación varietal tuvo un mínimo de 4,4 cm para la entrada z7 y un valor máximo de 23,8 cm para la entrada z10. La longitud de la parte aérea (LA) tuvo un mínimo de 17,4 cm para la entrada z7 y un máximo de 64,8 cm para la entrada z2. Asimismo, se encontró que la longitud del pedicelo (LP) tuvo un rango de variación varietal entre 1 cm (z6 y z7) y 3,7 cm (z10). Por último, se midió la anchura de follaje (AF) donde el rango de variación entre las entradas estuvo comprendido entre 1,8 mm para la entrada z10 y 15,6 mm para la entrada z1 (Tabla 6).

Tabla 6 | Caracteres morfológicos evaluados en las accesiones de zanahoria del primer año: peso total (PT), peso parte aérea (PA), peso raíz (PR), diámetro raíz (DR), espesor morado (EM), ratio espesor morado/diámetro raíz (EM/DR), diámetro núcleo (DN), longitud raíz (LR), longitud parte aérea (LA), longitud pedicelo (LP) y anchura follaje (AF)

Entrada	PT (g)		PA (g)		PR (g)		DR (mm)		EM (mm)	
	Media	SE ¹	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	409,0	± 20,0 d	44,4	± 3,8 b	364,6	± 18,6 d	53,0	± 2,5 c	10,6	± 0,9 d
z2	267,4	± 40,2 c	30,4	± 6,1 ab	237,0	± 34,4 c	44,4	± 3,2 bc	10,6	± 0,4 d
z3	259,4	± 51,9 c	36,8	± 6,7 ab	222,6	± 46,5 c	42,0	± 4,1 ab	9,4	± 1,0 cd
z4	179,4	± 24,3 bc	37,0	± 8,7 ab	142,4	± 16,5 bc	40,6	± 2,6 ab	8,6	± 0,2 cd
z5	189,0	± 16,6 ab	28,8	± 1,3 ab	160,2	± 16,2 bc	39,6	± 1,5 ab	8,0	± 0,3 c
z6	109,2	± 18,2 ab	7,2	± 1,2 a	102,0	± 17,2 ab	31,2	± 1,4 a	0,0	± 0,0 a
z7	48,2	± 7,2 a	5,0	± 1,3 a	43,2	± 6,2 a	40,2	± 1,9 ab	0,0	± 0,0 a
z8	238,6	± 31,6 c	78,2	± 12,2 c	160,4	± 25,4 bc	37,4	± 2,9 ab	6,0	± 0,5 b
z9	112,2	± 6,4 ab	11,0	± 0,9 ab	101,2	± 5,9 ab	41,0	± 1,1 ab	0,0	± 0,0 a
z10	415,4	± 50,2 d	74,0	± 18,6 c	341,4	± 36,9 d	51,8	± 2,8 c	9,8	± 0,9 cd
Total	222,8		35,3		187,5		42,1		6,3	
Entrada	DN (mm)		LR (cm)		LA (cm)		LP (cm)		AF (mm)	
	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	3,0	± 0,1 c	22,1	± 0,8 ef	51,8	± 2,0 d	2,5	± 0,2 c	15,6	± 0,5 e
z2	2,2	± 0,4 bc	19,3	± 0,6 de	64,8	± 4,0 e	2,3	± 0,3 bc	13,0	± 1,4 de
z3	2,5	± 0,3 bc	18,4	± 1,4 cd	56,0	± 1,4 de	2,4	± 0,4 c	13,8	± 1,4 de
z4	2,2	± 0,3 bc	14,6	± 0,5 b	64,0	± 2,3 e	2,3	± 0,3 bc	13,6	± 1,7 de
z5	2,3	± 0,1 bc	15,8	± 0,7 bc	57,0	± 1,0 de	2,0	± 0,2 bc	11,8	± 0,5 cde
z6	1,1	± 0,1 a	17,8	± 0,7 cd	39,0	± 2,5 c	1,0	± 0,1 a	7,4	± 0,4 b
z7	1,7	± 0,1 ab	4,4	± 0,4 a	17,4	± 1,5 a	1,0	± 0,2 a	8,4	± 1,4 bc
z8	2,6	± 0,1 bc	21,8	± 0,8 ef	53,2	± 2,2 d	2,4	± 0,3c	19,6	± 1,5 f
z9	2,1	± 0,1 bc	13,0	± 0,8 b	27,4	± 1,6 b	1,3	± 0,1 ab	10,4	± 0,5 bcd
z10	2,9	± 0,3 c	23,8	± 1,5 f	59,2	± 2,7 de	3,7	± 0,4 d	1,8	± 0,2 a
Total	2,3		17,1		49,0		2,1		11,5	

¹Error estándar

Las medias ± SE seguidas de la misma letra, dentro de una columna, no son significativamente diferentes (p > 0,05) según la prueba de Student-Newman-Keuls

Las zanahorias moradas tradicionales de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) presentaron variabilidad para los caracteres morfológicos estudiados. Se caracterizaron por tener un PR entre 142 y 365 g y un DR entre 40 mm y 53 mm. El EM fue alto en general, con un rango entre 8 y 10,6 mm. Por otro lado, el DN también fue alto, con un rango comprendido entre 2,3 y 3 mm. La LR obtuvo un rango comprendido entre 14,6 cm y 22,1 cm. La zanahoria morada de Villena se caracterizó por tener una EL alta, entre 52 y 65 cm. En resumen, estos resultados muestran que las accesiones de zanahoria morada tradicional de Villena presentan una ligera variabilidad para los caracteres morfológicos estudiados. A pesar de la variación observada, están dentro del ecotipo, es decir, raíces grandes con forma oblonga, pulpa externa púrpura y núcleo interno blanco (Tabla 6).

4.2 Análisis de la varianza general del primer año

El análisis ANOVA del primer año reveló una contribución significativa de la variedades o entrada, la fecha de cosecha y la interacción entre éstos para la variación observada en el contenido en sacarosa, fructosa, glucosa y azúcares totales, CSS (°Brix), Anto1 (cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales, exceptuando la fecha de cosecha para la fructosa y la glucosa (Tabla 7). Esto significa que en este experimento se dieron diferencias significativas entre variedades y entre la fecha de cosecha, con la única excepción mencionada. Asimismo, el efecto significativo de la interacción genotipo (G) x fecha de cosecha (C) implicaría que unas entradas podrían responder de forma más favorable a la fecha de cosecha en diciembre mientras que en otros se daría el caso contrario o no mostrarían variaciones significativas (Figura 14).

Por otro lado, atendiendo al cuadrado medio del ANOVA, se observa que la contribución de cada factor a la variación fue diferente. Así, en glucosa y fructosa, según el valor del cuadrado medio, el genotipo fue el factor que contribuyó en mayor proporción a las diferencias observadas seguido en menor proporción de la interacción G x R (Tabla 7). El valor del cuadrado medio para la sacarosa, los azúcares totales, el CSS (°Brix), Anto1, Anto4 y antocianinas totales situó igualmente el genotipo como factor con mayor proporción en la contribución a las diferencias observadas, seguido en menor proporción por la fecha de cosecha y la interacción G

x R (Tabla 7). En cambio, en las antocianinas Anto2, Anto3, y Anto5, el genotipo fue igualmente el factor que contribuyó en mayor medida a la variación observada seguido de la interacción G x R y por último la fecha de cosecha (Tabla 7).

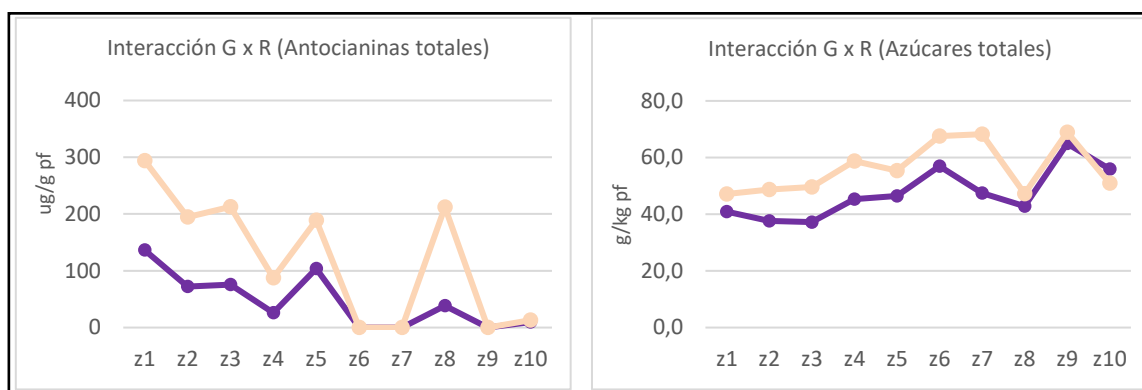


Figura 14 | Interacción G x F para antocianinas y azúcares totales. La línea morada representa la cosecha de diciembre 2019 y la línea naranja representa la cosecha de enero 2020.

Tabla 7 | ANOVA general del primer año para el contenido en azúcares sencillos (fructosa, glucosa, sacarosa), azúcares totales, contenido en sólidos solubles (^ºBrix), Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales.

Efecto	Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Azúcares totales		CSS (^º Brix)	
	g.l. ¹	CM ²	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM
Principales										
Genotipo (G)	9	76,5***	9	115,1***	9	1511,5***	9	649,5***	9	10,1***
Fecha de cosecha (C)	1	0,6 ^{NS}	1	2,5 ^{NS}	1	2100***	1	1890,4***	1	4,2***
Interacción										
G x C	9	19,0***	9	15,5***	9	96,4***	9	112,2***	9	0,1***
Error	88	259,0	88	3,4	88	32,4	88	59,8	52	0,05

Efecto	Anto1		Anto2		Anto3		Anto4		Anto5		Antocianinas totales	
	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM
Efecto principal												
Genotipo (G)	9	375,4***	9	1684,1***	9	2,8***	9	22390,1***	9	67,9***	9	42948,5***
Fecha de cosecha (C)	1	1086,0***	1	5525,7***	1	5,4***	1	32968,1***	1	123,7***	1	91390,6***
Interacción												
G x C	9	119,0***	9	886,1***	9	1,5***	9	3021,7***	9	49,0***	9	8622,0***
Error	52	3,77	52	103,4	52	0,2	52	231,8	52	14,9	52	674,7

¹grados de libertad; ²cuadrado medio

NS, *, ** y *** indican no significativo para una probabilidad p<0,05 y significativo para p<0,05, 0,01 y 0,001, respectivamente, de acuerdo al ratio estadístico F.

Estos resultados ponen de manifiesto la considerable diversidad varietal que encontramos en las variedades analizadas para estos caracteres, así como la influencia de la fecha de cosecha en los análisis realizados. No obstante, es necesario acudir a los datos descriptivos para estudiar más en profundidad dicha variación. A continuación, se ha llevado a cabo un estudio de la variación de azúcares y antocianinas de cada genotipo para cada fecha de cosecha.

4.3 Estudio de la variación de azúcares en cada fecha de cosecha del año 1

En este ensayo, la cantidad y proporción de azúcares en las zanahorias mostró un amplio rango de valores según el genotipo observado (Tabla 8). La sacarosa fue el azúcar predominante en la mayoría de las raíces de zanahoria, exceptuando las entradas z1, z2, z3 y z5 donde la glucosa fue el azúcar predominante con un 37,5%, 38,7%, 38,6% y 38%, respectivamente (Tabla 8). Curiosamente, éstas últimas se corresponden a las zanahorias moradas de Villena. Estos resultados difieren de los encontrados por Alasavar et al. (2001) donde la sacarosa fue el azúcar predominante en las accesiones de zanahoria seguido de glucosa y fructosa. Estas diferencias podrían deberse a que las entradas de zanahoria morada de Villena son variedades tradicionales que no han sido sometidas a programas de mejora.

El contenido de sacáridos individuales y totales en las raíces de todas las entradas en las dos fechas de cosecha se presenta en la Tabla 8. El contenido en azúcares totales estuvo influenciado por la fecha de cosecha, en diciembre hubo un promedio de 46,6 g/kg pf mientras que en enero ascendió a 54,9 g/kg pf. Abundando en estos resultados, las variedades más destacadas para el contenido en azúcares totales fueron z9 (68,9 g/kg pf), z7 (68,3 g/kg pf), z6 (67,6 g/kg pf), y z4 (58,7 g/kg pf) (Tabla 8).

En cuanto a la sacarosa, azúcar predominante en la mayoría de entradas, se ha observado un rango de variación varietal considerable entre 9,7 g/kg pf (z3) y 36,6 g/kg pf (z9) en la fecha de cosecha de diciembre de 2019. En cambio, en la fecha de cosecha de enero de 2020 el rango estuvo comprendido entre 15,8 g/kg pf (z2) y 60,2 g/kg pf (z7). Se observó un aumento en el promedio de sacarosa de una fecha de cosecha a otra, pasando de 20,3 g/kg pf en diciembre a 28,4 g/kg pf en enero. Las entradas con mayores niveles de sacarosa en enero fueron z7 (60,3 g/kg pf), z6 (49,4 g/kg pf), z9 (48,1 g/kg pf) y z4 (30,9 g/kg pf) (Tabla 8). Esto concuerda con estudios anteriores donde el contenido en sacarosa aumentó durante el desarrollo de la zanahoria. La raíz primaria de la zanahoria tiene que sintetizar grandes

cantidades de sacarosa ya que es posible que obtenga la energía mediante la utilización de sacarosa como fuente de carbono y dependa de su escisión en azúcares hexosa (Liu et al., 2018).

Para la glucosa, se ha observado que el rango de variación en la fecha de cosecha de diciembre de 2019 estuvo comprendido entre 5,5 g/kg pf (z7) y 15,3 g/kg pf (z1). En la fecha de cosecha de enero de 2020, el rango tuvo un valor mínimo de 3,7 g/kg pf (z7) y un valor máximo 17,5 g/kg pf (z5) (Tabla 8). En cualquier caso, el promedio en ambas fechas de cosechas fue similar: 13,7 g/kg pf en diciembre y 13,6 g/kg en enero, lo cual confirma que no hubiese diferencias significativas para la fecha de cosecha en el ANOVA de la fructosa (Tabla 7).

Asimismo, la fructosa el rango de variación estuvo comprendido desde 9,5 g/kg de peso fresco (pf) (z4) hasta 16,1 g/kg pf (z10) en la fecha de cosecha de diciembre de 2019. Por otro lado, el rango de variación de la fecha de cosecha en enero de 2020 estuvo comprendido entre 4,3 g/kg pf (z4) y 16,2 g/kg pf (z2). Los promedios en ambas fueron en torno a 12,7 g/kg pf, confirma que la fecha de cosecha no fue significativa (Tabla 8).

Por último, se analizó el contenido en sólidos solubles (CSS) y se expresó como °Brix. El CSS es importante para la aceptación y preferencia del consumidor. El CSS tuvo un rango de variación entre 5,8 (z2) y 9,2 (z9) para la fecha de cosecha en diciembre de 2019. En la fecha de cosecha de enero de 2020 el rango de variación varietal estuvo comprendido entre 5,95 (z2) y 10,1 (z7). Las entradas con mayor CSS en enero fueron z7 (10,1), z9 (9,3) y z6 (9,1) (Tabla 8).

Se sabe que el contenido en azúcares está influenciado por la fecha de cosecha y por la condiciones de crecimiento (Kammerer et al., 2004). En este ensayo, se obtuvieron diferencias significativas entre la fecha de cosecha de diciembre y enero para el contenido en sacarosa, azúcares totales y el CSS, confirmando el efecto fecha de cosecha detectado por el ANOVA. Así, el proceso de maduración de un mes favoreció la acumulación de sacarosa, azúcares totales y CSS en estas accesiones de zanahoria, lo que concuerda con el estudio de Kammerer et al. (2014). Estas variedades mostraron un contenido en azúcares totales y sacarosa más alto en enero que en diciembre, exceptuando a la entrada z10 que tuvo un contenido en azúcares totales ligeramente menor en enero (51 g/kg pf) respecto a diciembre (55,9 g/kg pf) (Tabla 8).

Las variedades tradicionales de zanahoria morada de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) obtuvieron un rango de variación varietal para el contenido de azúcares totales entre 37,2 g/kg pf para la entrada z3 y 46,5 g/kg pf para la entrada z5. Centrándonos en los azúcares sencillos, la fructosa obtuvo un rango de variación varietal entre 9,5 g/kg pf de la entrada z4 y 15,4 g/kg pf de la entrada z5. Para glucosa, el rango estuvo comprendido entre 11,2 g/kg pf (z4) y 17,6 g/kg pf (z5). Asimismo, el rango de variación de la sacarosa tuvo un mínimo de 9,7 g/kg pf de la

entrada z3 y un mínimo de 24,6 g/kg pf de la entrada z4. Por último, el rango de variación del CSS (°Brix) estuvo comprendido entre 5,8 y 7 para la entrada z2 y z4, respectivamente (Tabla 8). Por tanto, las zanahorias moradas de Villena presentan cierto grado de variación varietal para el contenido en fructosa, glucosa, sacarosa, azúcares totales y CSS.

Si nos fijamos en los valores promedio según cada grupo de variedades, es decir, zanahoria tradicional morada de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) y zanahorias comerciales (z6, z7, z8, z9 y z10), la tendencia promedio es superior en las variedades comerciales para los distintos caracteres de azúcares estudiados (Tabla 8). El control genético del contenido en azúcar en zanahoria es un rasgo cuantitativo bajo control poligénico que ha sido ampliamente estudiado (Simon & Goldman, 2006). El sabor dulce se ha considerado un rasgo importante en los programas de mejora de zanahoria durante muchos años, de ahí que en este ensayo las zanahorias comerciales hayan tenido un contenido promedio mayor. Aunque los azúcares no son los únicos que explican la variación en el dulzor de las zanahorias crudas, niveles altos de éstos han sido factores deseables para mejorar la calidad de la zanahoria.

Tabla 8 | Concentración (g/kg de peso fresco) de los principales azúcares sencillos (fructosa, glucosa y sacarosa), azúcares totales y contenido en sólidos solubles (°Brix) de las diferentes entradas de zanahoria, en las fechas de cosecha de diciembre 2019 y enero 2020.

DICIEMBRE 2019										
Entrada	Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Azúcares totales		CSS (°Brix)	
	Media	SE ¹	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	13,5	± 0,7 cd	15,3	± 0,8 bc	12,1	± 0,7 ab	40,9	± 1,8 a	6,1	± 0,1 a
z2	13,2	± 0,8 cd	14,6	± 1,0 bc	9,9	± 0,9 a	37,6	± 2,5 a	5,8	± 0,1 a
z3	13,2	± 0,9 cd	14,4	± 0,9 bc	9,7	± 0,8 a	37,2	± 2,6 a	6,0	± 0,1 a
z4	9,5	± 0,6 ab	11,2	± 0,7 b	24,6	± 1,7 bcd	45,3	± 2,8 a	7,0	± 0,0 c
z5	15,4	± 1,2 d	17,6	± 1,4 c	13,4	± 0,9 ab	46,5	± 3,3 a	6,0	± 0,0 a
z6	11,2	± 0,7 bc	11,8	± 0,7 b	33,9	± 3,0 cd	57,0	± 4,3 ab	8,3	± 0,2 d
z7	7,0	± 0,3 a	5,5	± 0,1 a	34,9	± 17,4 cd	47,4	± 7,5 a	8,9	± 0,2 e
z8	10,9	± 0,6 bc	11,1	± 0,8 b	20,8	± 0,7 ab	42,9	± 1,9 a	6,6	± 0,0 b
z9	14,1	± 2,0 cd	14,2	± 2,0 bc	36,6	± 5,1 d	64,9	± 9,1 b	9,2	± 0,0 f
z10	16,1	± 0,9 d	17,1	± 0,8 c	22,6	± 1,5 abc	55,9	± 3,0 ab	6,9	± 0,1 c
Total	12,6		13,7		20,3		46,6		6,9	

ENERO 2020										
Entrada	Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Azúcares totales		CSS (°Brix)	
	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	15,2	± 0,6 de	15,5	± 0,6 def	16,4	± 0,5 a	47,1	± 1,6 a	6,4	± 0,0 b
z2	16,2	± 0,6 e	16,7	± 0,7 ef	15,8	± 0,4 a	48,7	± 1,4 a	6,0	± 0,1 a
z3	15,0	± 0,5 de	16,3	± 0,7 ef	18,3	± 1,3 ab	49,6	± 1,5 a	6,5	± 0,3 b
z4	13,2	± 0,4 cd	14,6	± 0,5 de	30,9	± 1,9 d	58,7	± 2,5 b	7,7	± 0,0 d
z5	16,1	± 0,9 e	17,5	± 0,8 f	21,7	± 1,9 bc	55,4	± 3,5 ab	6,7	± 0,1 bc
z6	9,1	± 0,5 b	9,0	± 0,5 b	49,4	± 0,5 e	67,6	± 1,3 c	9,1	± 0,0 e
z7	4,3	± 0,4 a	3,7	± 0,3 a	60,2	± 2,4 f	68,3	± 3,1 c	10,1	± 0,1 f
z8	10,9	± 0,2 b	11,5	± 0,2 c	24,8	± 0,4 c	47,3	± 0,5 a	7,2	± 0,1 c
z9	9,7	± 0,4 b	11,2	± 0,4 c	48,1	± 0,7 e	68,9	± 1,3 c	9,3	± 0,2 e
z10	12,9	± 0,5 c	13,7	± 0,5 d	24,4	± 1,0 c	51,0	± 1,5 a	6,9	± 0,0 bc
Total	12,9		13,6		28,4		54,9		7,3	

¹Error estándar

Las medias ± SD seguidas de la misma letra, dentro de una columna, no son significativamente diferentes (p > 0,05) según la prueba de Student-Newman-Keuls.

En conjunto, estos estudios revelaron la existencia de una variación significativa para el contenido total de azúcar y los azúcares sencillos más abundantes en estas accesiones de zanahoria. Asimismo, se ha observado que la zanahoria morada de Villena presenta un alto contenido en azúcares reductores (glucosa y fructosa) y un menor contenido en sacarosa. Estas entradas de zanahoria serían adecuadas para el consumo en fresco donde se prefieren variedades con un alto contenido de azúcares reductores, ya que el dulzor promedio de glucosa más fructosa es 20% más que la sacarosa (Cavagnaro, 2019).

4.4 Estudio de la variación de antocianinas en cada fecha de cosecha

Las zanahorias moradas tienen, en general, una mayor proporción de antocianinas aciladas (Anto3 (C3XFGG), Anto4 (C3XSGG) y Anto5 (C3XCGG)) que antocianinas no aciladas (Anto1 (C3XGG), Anto2 (C3XG)) (Kammerer et al., 2004). Sin embargo, en estudios anteriores se ha encontrado una variación intraespecífica sustancial para el contenido y la proporción de antocianinas dependiendo del cultivar (Kammerer et al., 2004; Lazcano et al., 2001). En este ensayo, el contenido y la proporción de antocianinas resultó tener una amplia variabilidad entre los materiales estudiados, coincidiendo con el análisis de variación ANOVA previo. Como era de esperar, las zanahorias naranjas y rojas (z6, z7 y z9) no tuvieron antocianinas (Tabla 9).

El contenido en antocianinas totales mostró un amplio rango de valores según la accesión a considerar (Tabla 9). Para la fecha de cosecha de diciembre de 2019, el rango se situó entre 136,3 $\mu\text{g/g pf}$ (z1) y 9,7 $\mu\text{g/g pf}$ (z10). Las entradas de zanahoria morada de Villena a destacar por su contenido en antocianinas fueron z1, z2, z3 y z5, con niveles superiores a 70 $\mu\text{g/g pf}$ de antocianinas totales. Para la fecha de cosecha de enero de 2020, el rango de variación de antocianinas totales estuvo comprendido entre 293,9 $\mu\text{g/g pf}$ (z1) y 13,18 $\mu\text{g/g pf}$ (z10). Del mismo modo, destacan las zanahorias moradas de Villena z1, z2, z3 y z5 con un contenido total de antocianinas superior a 150 $\mu\text{g/g pf}$ (Tabla 9).

El contenido y la proporción relativa de los pigmentos de antocianina individuales varía entre las accesiones. Las antocianinas aciladas Anto4, Anto3 y Anto5 son, en ese orden, los pigmentos acilados más abundantes que se encuentran en estas accesiones de zanahoria morada. Entre los pigmentos no acilados, Anto2 se encuentra generalmente en una concentración más alta que Anto1. El compuesto más abundante fue Anto4, en todas las accesiones y ambas fechas de cosecha, representando en estos materiales el 72-94% del contenido total de antocianinas en la fecha de cosecha de diciembre de 2019 y el 49-85% en

enero de 2020 (Tabla 9). Estos resultados coinciden con los observados en estudios anteriores donde el pigmento acilado Anto4 fue el más abundante en la mayoría de las accesiones analizadas (Kammerer et al., 2004; Montilla et al., 2011).

La antocianina Anto1 en la fecha de cosecha de diciembre obtuvo un rango de variación entre 8,3 $\mu\text{g/g pf}$ y 0,2 $\mu\text{g/g pf}$ en la entrada z1 y z10, respectivamente. En cambio, en la fecha de cosecha de enero hubo un rango de variación varietal entre 29,4 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z1 y 0,6 de la entrada z10 (Tabla 9). En el caso de Anto2, el rango de variación en la fecha de cosecha de diciembre de 2019 estuvo comprendido entre 17,1 $\mu\text{g/g pf}$ y 0,4 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z5 y z10, respectivamente. En la fecha de cosecha de enero de 2020 se obtuvo un rango entre 79.7 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z8 y 1,2 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z10 (Tabla 9).

Centrándonos en los pigmentos acilados, se ha observado que para la antocianina Anto3 hubo un rango de variación varietal comprendido entre 1,4 $\mu\text{g/g pf}$ (z1) y 0 $\mu\text{g/g pf}$ (z10) para la fecha de cosecha de diciembre de 2019. Dicho rango no cambió en la fecha de cosecha de enero, obteniendo una variación entre 1,6 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z3 y 0 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z10 (Tabla 9). Como se ha mencionado anteriormente, la antocianina Anto4 fue la más abundante en este ensayo. En la fecha de cosecha de diciembre de 2019 el rango de variación estuvo comprendido entre 106,9 $\mu\text{g/g pf}$ y 9,1 $\mu\text{g/g pf}$ de las entradas z1 y z10, respectivamente. En enero de 2020 el rango de variación varietal estuvo comprendido entre 214,6 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z1 y 11,2 $\mu\text{g/g pf}$ de la entrada z10 (Tabla 9). Por último, la variación varietal de la antocianina Anto5 en la fecha de cosecha de diciembre de 2019 tuvo un rango entre 3,4 $\mu\text{g/g pf}$ en la entrada z1 y 0 $\mu\text{g/g pf}$ en la entrada z10, mientras que en la fecha de cosecha de enero de 2020 el rango estuvo comprendido entre 17,5 $\mu\text{g/g pf}$ en la entrada z8 y 0,1 $\mu\text{g/g pf}$ en la entrada z10 (Tabla 9).

Los valores medios del contenido en antocianinas totales para la fecha de cosecha en diciembre de 2019 y enero de 2020 fueron diferentes, con un promedio de 51,5 $\mu\text{g/g pf}$ y 133,6 $\mu\text{g/g pf}$, respectivamente. Dicho resultado volvió a confirmar el efecto de la fecha de cosecha que se detectó en el ANOVA (Tabla 7). Asimismo, a nivel de entrada individual también se observó una amplia variabilidad según la fecha de cosecha. Este resultado concuerda con la interacción G x F que se detectó en el ANOVA (Tabla 7). En el caso de las antocianinas totales, todos los materiales evaluados mostraron unos niveles superiores en la fecha de cosecha de enero de 2020, llegando a duplicar su contenido en antocianinas totales (Tabla 9). Este incremento relativo a la fecha de cosecha un mes después fue variable dependiendo de la entrada considerada. En este sentido, se encontraron desde casos en los que el nivel de antocianinas totales fue ligeramente superior en la fecha de cosecha de enero de 2020 (e.g. z10)

hasta otros casos en los que el incremento debido a la diferente fecha de cosecha fue superior al 300% (e.g. z7, z4 y z3) (Tabla 9).

Tabla 9 | Concentración ($\mu\text{g/g}$ de peso fresco) de las antocianinas Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales de las diferentes entradas de zanahoria, en las fechas de cosecha de diciembre 2019 y enero 2020.

DICIEMBRE 2019												
	Anto1		Anto2		Anto3		Anto4		Anto5		Antocianinas totales	
Entrada	Media	SE ¹	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	8,3	$\pm 0,6$ c	16,2	$\pm 1,7$ c	1,4	$\pm 0,3$ b	106,9	$\pm 5,9$ c	3,4	$\pm 0,3$ c	136,3	$\pm 6,8$ c
z2	5,8	$\pm 1,5$ bc	4,1	$\pm 0,9$ ab	0,1	$\pm 0,1$ a	60,7	$\pm 9,0$ b	1,4	$\pm 0,6$ a	72,1	$\pm 12,1$ b
z3	4,7	$\pm 0,8$ b	6,5	$\pm 1,8$ b	0,3	$\pm 0,3$ a	62,4	$\pm 10,4$ b	1,8	$\pm 0,6$ ab	75,8	$\pm 13,7$ b
z4	0,5	$\pm 0,3$ a	4,7	$\pm 1,1$ ab	0,1	$\pm 0,1$ a	20,5	$\pm 5,0$ a	0,3	$\pm 0,2$ b	26,0	$\pm 6,5$ a
z5	6,6	$\pm 0,5$ bc	17,1	$\pm 2,0$ c	1,3	$\pm 0,3$ b	77,0	$\pm 10,1$ b	1,6	$\pm 0,4$ ab	103,7	$\pm 12,2$ b
z6	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ ab	0,0	$\pm 0,0$ a
z7	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a
z8	1,0	$\pm 0,3$ a	8,5	$\pm 1,5$ b	0,2	$\pm 0,2$ a	28,0	$\pm 3,9$ a	1,0	$\pm 0,2$ a	38,7	$\pm 5,9$ a
z9	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ ab	0,0	$\pm 0,0$ a
z10	0,2	$\pm 0,2$ a	0,4	$\pm 0,3$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	9,1	$\pm 2,9$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	9,7	$\pm 3,3$ a
Total	3,0		6,4		0,4		40,5		1,1		51,4	

ENERO 2020												
	Anto1		Anto2		Anto3		Anto4		Anto5		Antocianinas totales	
Entrada	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z1	29,4	$\pm 1,9$ d	41,2	$\pm 2,5$ b	1,4	$\pm 0,1$ ab	214,6	$\pm 15,0$ e	7,3	$\pm 0,3$ a	293,9	$\pm 19,3$ d
z2	23,1	$\pm 1,7$ c	28,7	$\pm 2,1$ ab	1,2	$\pm 0,2$ ab	139,2	$\pm 7,3$ d	2,3	$\pm 0,3$ a	194,6	$\pm 10,3$ c
z3	21,6	$\pm 1,7$ c	34,1	$\pm 5,1$ ab	1,6	$\pm 0,3$ b	150,7	$\pm 6,4$ d	4,5	$\pm 0,5$ a	212,5	$\pm 11,7$ c
z4	6,3	$\pm 0,9$ b	15,3	$\pm 1,2$ ab	0,8	$\pm 0,3$ ab	63,9	$\pm 9,5$ b	1,0	$\pm 0,1$ a	87,3	$\pm 11,7$ b
z5	18,5	$\pm 1,2$ c	39,3	$\pm 7,7$ b	1,3	$\pm 0,4$ ab	125,7	$\pm 6,3$ cd	4,1	$\pm 0,8$ a	189,0	$\pm 5,7$ c
z6	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a
z7	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a
z8	8,3	$\pm 0,8$ b	79,7	$\pm 18,3$ c	2,9	$\pm 0,6$ c	104,0	$\pm 11,7$ c	17,5	$\pm 7,9$ b	212,3	$\pm 38,3$ c
z9	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	0,0	$\pm 0,0$ a
z10	0,6	$\pm 0,4$ a	1,2	$\pm 0,4$ a	0,0	$\pm 0,0$ a	11,2	$\pm 6,6$ a	0,1	$\pm 0,1$ a	13,2	$\pm 7,2$ a
Total	10,8		26,6		1,0		89,9		4,1		133,6	

¹Error estándar

Las medias \pm SD seguidas de la misma letra, dentro de una columna, no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) según la prueba de Student-Newman-Keuls.

Las variedades tradicionales moradas de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) tuvieron un rango de variación varietal en enero para el contenido de antocianinas totales entre 87,3 y 293,9 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z4 y z1, respectivamente (Tabla 9). Centrándonos en las concentraciones individuales de cada antocianina, Anto1 tuvo un rango de variación varietal entre 6,3 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z4 y 29,4 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z1. Para Anto2, el rango estuvo comprendido entre 15,3 $\mu\text{g/g}$ pf (z4) y 41,2 $\mu\text{g/g}$ pf (z1). Asimismo, el rango de variación de Anto3 tuvo un valor mínimo de 0,8 $\mu\text{g/g}$ pf de la entrada z4 y un valor máximo de 1,6 $\mu\text{g/g}$ pf de la entrada z3.

La antocianina más abundante, Anto4, tuvo un rango de variación varietal en la zanahoria de Villena comprendido entre 63,9 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z4 y 214,6 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z1. Por último, el pigmento acilado Anto5 tuvo un rango entre 1 y 7,3 $\mu\text{g/g}$ pf para la entrada z4 y z1, respectivamente (Tabla 9). Estos resultados indican que hay cierta variabilidad para el contenido y la proporción de las antocianinas analizadas entre las accesiones de zanahoria morada tradicional de Villena. La entrada z4 fue la menos rica en antocianinas de entre todas las zanahorias tradicionales moradas de Villena.

En conjunto, estos datos indican que existe variabilidad entre las accesiones analizadas de zanahoria morada para el contenido y la proporción de antocianinas. En el caso de las zanahorias tradicionales moradas de Villena, también se encontró variabilidad. La entrada z4 fue la menos rica en antocianinas de entre todas. Sería interesante aumentar la proporción de antocianinas, y por tanto proporción morada, en las zanahorias para incrementar la atracción hacia el consumidor por su color y explorar nuevos usos como colorantes industriales o la elaboración de *sticks* de zanahoria como alimento de cuarta generación. Asimismo, el aumento del contenido en antocianinas conllevaría un aumento del valor nutricional, en especial para consumo en fresco.

4.5 Correlaciones entre caracteres

Se obtuvieron correlaciones lineales significativas de acuerdo con la prueba de Bonferroni con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ (Tabla 10). Se detectaron correlaciones significativas tanto positivas como negativas entre los caracteres morfológicos y químicos analizados en las accesiones de zanahoria del primer año.

En primer lugar, la tabla 10 muestra que los caracteres morfológicos están correlacionados positivamente entre ellos. Este resultado sugiere que la selección de accesiones de zanahoria de esta colección con un tamaño de parte aérea mayor, tendrán también una raíz más grande. Esto nos permitiría seleccionar en etapas tempranas de crecimiento por la parte aérea y sólo tener que extraer la raíz cuando esté en su fecha de cosecha óptima.

En este estudio se observó una correlación positiva y alta entre la fructosa y la glucosa. Por otra parte, la sacarosa se correlacionó negativamente con glucosa y fructosa (Tabla 10). Este resultado es consistente ya que la sacarosa es un disacárido formado por glucosa y fructosa, su síntesis es la unión de estos dos monosacáridos. Además, la correlación positiva entre glucosa y

fructosa encontrada en este estudio confirma que la asociación entre glucosa y fructosa que se encuentran en concentraciones equimolares en la zanahoria como bien han demostrado Rygg (1945) y Simon et al. (1980).

Como ya se mencionó en la revisión de la literatura científica reflejada en la introducción, el contenido de azúcar influye fuertemente en el sabor de la zanahoria, en concreto con el dulzor, rasgo de calidad importante asociado con las preferencias del consumidor con respecto al grado organoléptico. Se observó una correlación positiva y significativa del CSS ($^{\circ}$ Brix) con la sacarosa. En cambio, el CSS se correlacionó negativa y significativamente con fructosa y glucosa (Tabla 10). Estos resultados indican que el CSS está determinado principalmente por el contenido en sacarosa, mientras que la glucosa y la fructosa lo disminuyen. La medición del CSS ($^{\circ}$ Brix) puede ser útil para una selección rápida de materiales en función de su contenido de azúcares totales y sacarosa en programas de mejora.

Sorprendentemente, se observó que el contenido en azúcares totales estaba correlacionado positivamente con el contenido en sacarosa, pero no se encontraron correlaciones significativas con fructosa y glucosa (Tabla 10).

Por otro lado, el contenido de azúcares totales, sacarosa y el CSS están correlacionados negativamente con el peso total, el peso de la raíz, longitud de la raíz, diámetro del núcleo, longitud pedicelo, longitud parte aérea (Tabla 10). Puede sugerirse que cuanto mayor sea el tamaño de la raíz, menos concentrados están los azúcares en ésta.

Los resultados de este estudio de correlaciones muestran que el contenido en sacarosa y azúcares totales está correlacionado negativamente con el contenido en antocianinas, tanto individuales como totales (Tabla 10). Estos datos explicarían que, en el análisis de variación previo, las accesiones de zanahoria morada tuviesen un contenido menor en sacarosa en comparación con las accesiones de zanahoria naranja. Sin embargo, estos datos deben ser interpretados con cautela puesto que la correlación no es muy alta. En investigaciones futuras, sería interesante analizar el contenido en carotenoides y observar si está correlacionado con azúcares, así como ampliar el número de accesiones analizadas de zanahoria morada y naranja.

En cuanto a las antocianinas, podemos observar que los pigmentos individuales están correlacionados positiva y significativamente con las antocianinas totales (Tabla 10). Esto tiene sentido ya que si aumenta la concentración de cada una de ellas aumentará la concentración de antocianinas totales. Por otro lado, si nos fijamos en el espesor morado, encontramos una correlación positiva de $r=0,6$ con anto1, Anto4 y el contenido total de antocianinas (Tabla 10). Estos resultados deben ser comentados dado que se esperarían correlaciones más altas y

positivas entre el espesor morado y las antocianinas. Para calcular de forma más objetiva la correlación entre el espesor morado y el contenido en antocianinas, se obtuvo el ratio Espesor morado/Diámetro de la raíz (EM/DR). Curiosamente, las correlaciones con las antocianinas totales e individuales fueron iguales (Tabla 10). Una posible explicación para estos resultados es el método analítico utilizado, ya que se midieron a partir de un triturado de zanahoria morada donde se incluía tanto parte blanca como morada y puede que en alguna repetición no fuera homogéneo. Así, para obtener unas correlaciones más altas se debería mejorar el método de análisis de antocianinas utilizando sólo la parte morada de las zanahorias.

Otra implicación de la correlación positiva entre el espesor morado y el contenido en antocianinas es que podría predecirse la concentración de estos compuestos de forma visual aproximada por la intensidad del color y la cobertura de los tejidos de la raíz con color púrpura. Por lo tanto, las accesiones con tejidos de floema y xilema de color púrpura oscuro tenderían a tener la concentración más alta de antocianina, mientras que las accesiones pigmentadas solo en las capas más externas de las células del floema tendrían menor contenido de pigmento. Los exámenes visuales pueden ser útiles para una selección rápida de materiales en función de su contenido de pigmento total de la raíz.

Tabla 10 | Coeficientes de correlación lineal de Pearson entre los valores medios de las accesiones (n = 10) para los rasgos de composición (expresados en peso fresco) y morfológicos estudiados para los que la correlación fue significativa según la prueba de Bonferroni ($P \leq 0.05$). Los rasgos para los que no se obtuvo una correlación significativa se marcan con una "X". Los caracteres analizados son: peso total (PT), peso parte aérea (PA), peso raíz (PR), diámetro raíz (DR), espesor morado (EM), ratio espesor morado/diámetro raíz (EM/DR), diámetro núcleo (DN), longitud raíz (LR), longitud parte aérea (LA), longitud pedicelo (LP), anchura follaje (AF), fructosa (F), glucosa (G), sacarosa (S), azúcares totales (AZT), contenido en sólidos solubles (CSS), Anto1 (A1), Anto2 (A2), Anto3 (A3), Anto4 (A4), Anto5 (A5) y antocianinas totales (ANT).

	PT	PA	PR	DR	EM	EM/DR	DN	LR	LA	LP	AF	F	G	S	AZT	CSS	A1	A2	A3	A4	A5	ANT	
PT		0,75	0,96	0,8	0,75	0,79	0,56	0,79	0,61	0,82	X	0,33	0,36	-0,41	-0,28	-0,49	0,38	0,25	X	0,42	X	0,39	
PA			0,53	0,42	0,45	0,69	0,39	0,67	0,55	0,82	0,31	X	X	-0,34	-0,35	-0,38	X	X	X	X	X	X	X
PR				0,84	0,76	0,75	0,55	0,76	0,58	0,75	X	0,4	0,4	-0,38	X	-0,46	0,52	0,27	0,24	0,52	X	0,48	
DR					0,57	0,78	0,33	0,38	0,28	0,65	X	0,24	0,24	X	X	-0,27	0,43	X	X	0,39	X	0,36	
EM						0,59	0,95	0,6	0,82	0,62	X	0,63	0,63	-0,65	-0,38	-0,75	0,6	0,34	0,38	0,65	X	0,6	
EM/DR							0,43	0,5	0,47	0,76	0,34	0,42	0,42	-0,57	-0,53	-0,58	0,42	0,37	X	0,44	X	0,45	
DN								0,51	0,83	0,5	X	0,62	0,62	-0,71	-0,45	-0,81	0,52	0,33	0,41	0,61	X	0,56	
LR									0,67	0,69	X	0,44	0,44	-0,64	-0,64	-0,6	X	0,38	0,35	0,35	0,33	0,39	
LA										0,63	X	0,75	0,75	-0,79	-0,59	-0,81	0,46	0,33	0,36	0,48	X	0,47	
LP											X	0,4	0,4	-0,6	-0,59	-0,61	X	X	X	X	X	X	
AF												X	X	-0,38	0,39	-0,36	0,55	0,72	0,75	0,65	0,49	0,72	
F													0,98	-0,49	X	-0,63	0,55	0,29	0,26	0,52	X	0,48	
G														-0,54	X	-0,67	0,5	0,26	0,27	0,5	X	0,46	
S															0,86	0,84	-0,36	X	-0,29	-0,48	X	-0,42	
AZT																0,55	X	X	X	X	X	X	
CSS																	-0,47	-0,28	-0,32	-0,57	X	-0,51	
A1																		0,62	0,59	0,95	0,37	0,92	
A2																			0,85	0,7	0,89	0,84	
A3																				0,73	0,75	0,81	
A4																					0,5	0,98	
A5																						0,95	
ANT																							

X = no significativo ($P < 0,05$)



4.6 Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales (PCA) se realizó con los datos de composición estandarizados utilizando distancias euclidianas por pares entre las medias de las accesiones. El primer y segundo componente del PCA representaron, respectivamente, el 64,6% y el 15,9% de la variación total entre las medias de las accesiones.

La primera componente principal (PC1) se correlacionó positivamente con el contenido en sacarosa, azúcares totales y CSS ($^{\circ}$ Brix), y negativamente con el peso total, el peso de la raíz, el espesor morado, la longitud de la raíz, el diámetro del núcleo, la longitud de la parte aérea, la longitud del pedicelo, el contenido en fructosa, glucosa, anto1, Anto2, Anto3, Anto4 y antocianinas totales (Tabla 11). La segunda componente principal (PC2) se correlacionó positivamente con la anchura de follaje, el CSS, el contenido en Anto2, Anto3, Anto5 y antocianinas totales, y negativamente con el peso total, el peso de la raíz, el diámetro de la raíz y la longitud de la parte aérea (Tabla 11).

Las zanahorias moradas (z1, z2, z3, z4, z5, z8 y z10) se agruparon en el lazo izquierdo de la gráfica, con valores negativos del PC1 y valores positivos del PC2, exceptuando z10 que tuvo valores negativos para PC2. Las zanahorias naranjas y rojas (z6, z7 y z9) presentaron valores positivos para el PC1 y se agruparon en la parte derecha de la gráfica (Figura 15). El análisis de PCA multivariado confirmó la división de esta colección de zanahorias en dos conjuntos: zanahorias moradas y zanahorias naranjas. Este resultado concuerda con la bibliografía donde se dividen en dos grupos: las variedades occidentales (*Daucus carota ssp. sativus var sativus*) en las que predominan las coloraciones rojo-anaranjadas y las variedades orientales (*Daucus carotaa ssp. sativus var. atrorubans* Alef.) que presentan coloraciones que abarcan del violeta oscuro al amarillo (Xu et al., 2019).

Asimismo, este análisis reveló que existe una gran variación en el perfil de composición entre las accesiones de zanahoria morada, que presentan una amplia gama de valores en el segundo componente. Las accesiones de zanahoria morada de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) se agrupan en valores similares del segundo componente. En cambio, las zanahorias moradas comerciales tienen valores diferentes, destacando z10 que se aleja aún más del grupo de zanahorias moradas de Villena (Figura 15).

Tabla 11 | Coeficientes de correlación entre los rasgos de composición (expresados en peso fresco), los caracteres morfológicos y los dos primeros componentes principales en las accesiones de zanahoria del primer año. Solo se han enumerado las correlaciones con valores absolutos $\geq 0,2$.

	Primer componente principal	Segundo componente principal
Peso total (g)	-0,24	-0,21
Peso parte aérea (g)		
Peso raíz (g)	-0,23	-0,23
Diámetro raíz (mm)		-0,24
Espesor morado (mm)	-0,25	
Longitud raíz (cm)	-0,20	
Diámetro del núcleo (mm)	-0,22	
Longitud parte aérea (cm)	-0,23	
Longitud pedicelo (cm)	-0,21	-0,29
Anchura follaje (mm)		0,42
Fructosa (g/kg)	-0,21	
Glucosa (g/kg)	-0,21	
Sacarosa (g/kg)	0,26	
Azúcares totales (g/kg)	0,24	
CSS (°brix)	0,26	
Anto1(µg/g)	-0,22	
Anto2 (µg/g)	-0,20	0,33
Anto3 (µg/g)	-0,21	0,32
Anto4 (µg/g)	-0,23	
Anto5 (µg/g)		0,34
Antocianinas totales (µg/g)	-0,24	0,23

La Figura 16 nos muestra que, con excepción de CSS, azúcares totales y sacarosa, todas las demás variables analizadas están en el mismo lado del PC1. Tal situación supone que la mayoría de las variables están correlacionadas positivamente entre ellas, si para una accesión, una variable toma un valor fuerte, todas las demás variables toman un valor fuerte. La superposición de las representaciones gráficas del análisis de PCA de las accesiones y las variables da una visión más completa, con las precauciones de interpretación adecuadas, sugiriendo qué variables son responsables de la proximidad entre puntos. Se observa, por ejemplo, que el contenido en sacarosa, azúcares totales y CSS se sitúa cerca de las accesiones de zanahoria naranja y roja (z6, z7 y z9) (Figura 15 y 16). En cambio, las demás variables analizadas se sitúan en el lado opuesto junto con las accesiones de zanahoria morada (z1, z2, z3, z4, z5, z8 y z10). Por tanto, estos dos grupos se separaron por el contenido en sacarosa, azúcares totales y CSS (estas tres variables se correlacionaron en el análisis de correlaciones previo) (Figura 15 y 16). También se observó que los caracteres de contenido en antocianinas,

individuales y totales, se agruparon en valores negativos de PC1 y positivos de PC2, junto con las zanahorias moradas de Villena (z1, z2, z3, z4 y z5) y la zanahoria morada comercial z8. Curiosamente, la zanahoria morada comercial z10 se situó alejada de este grupo (Figura 15 y 16). Estos factores podrían explicar la baja concentración de antocianinas encontrada en los estudios de variación previos del apartado 4.4.

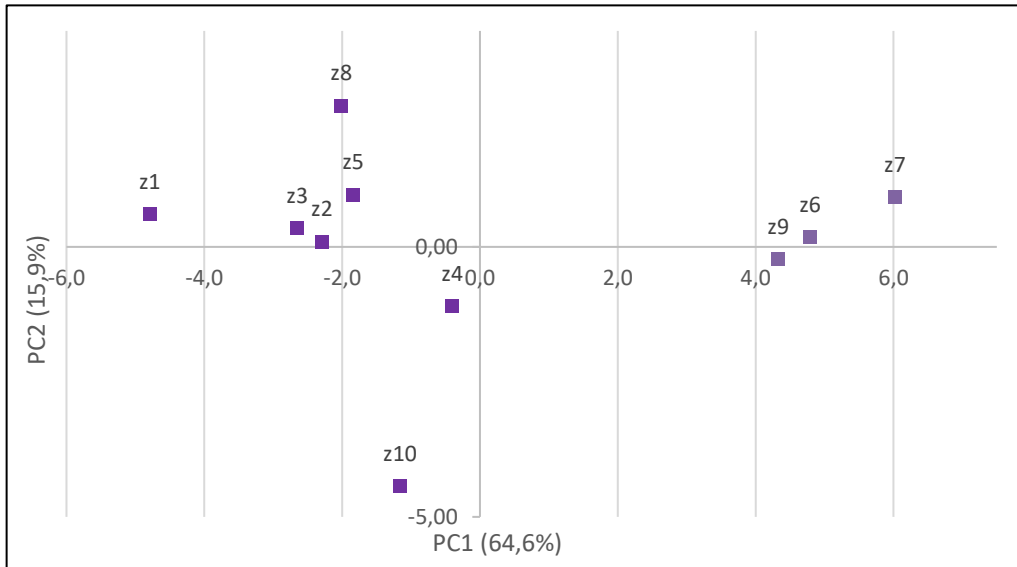


Figura 15 | Gráfico de las accesiones de zanahoria del primer año para los dos primeros componentes principales

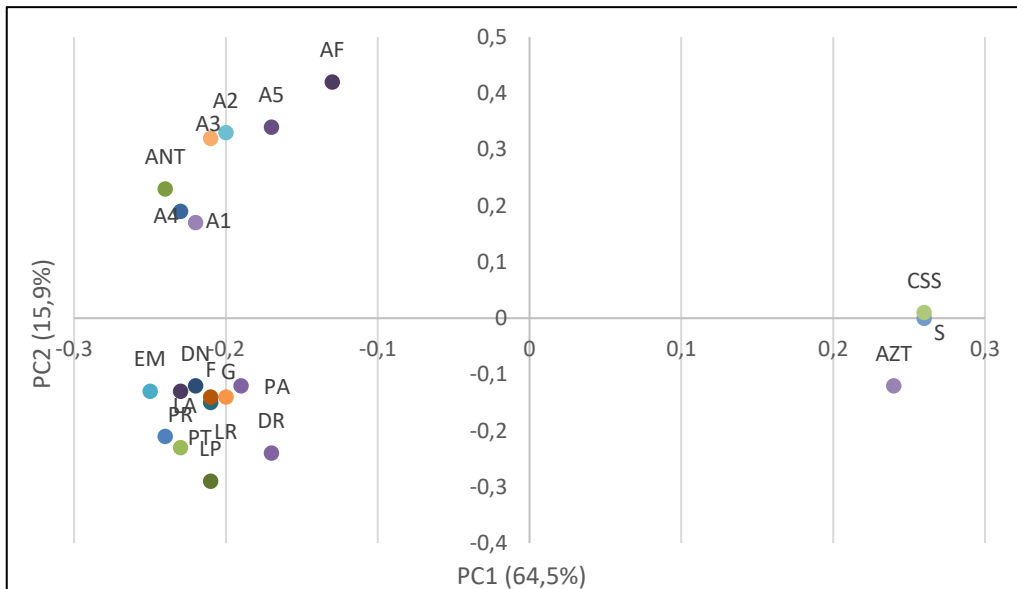


Figura 16 | Gráfico de los caracteres morfológicos y analíticos para los dos primeros componentes principales.

4.7 Zanahoria morada de Villena en el segundo año

Teniendo en cuenta la similitud al ecotipo de zanahoria morada de Villena, una buena adaptación a las condiciones agroclimáticas, la caracterización nutricional del primer año y darles una preponderancia a los materiales de agricultores locales, se seleccionaron, de forma participativa con los agricultores, cuatro de las cinco zanahorias moradas de Villena ensayadas el año anterior (z2, z3, z4 y z5). Para evaluar su estabilidad se sembraron el segundo año en las mismas condiciones del primer año, explicadas en Materiales y Métodos.

El análisis ANOVA de las zanahorias z2, z3, z4 y z5, cultivadas ambos años y con fecha de cosecha en enero, reveló una contribución significativa del genotipo (G) para la variación observada en el contenido en contenido en sacarosa, azúcares totales, CSS (^oBrix), Anto1 (cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales. En cambio, la contribución del efecto Año (A) fue significativa sólo en el contenido en fructosa, glucosa, sacarosa, CSS, Anto3, Anto4 y Anto5. El efecto significativo de la interacción G x A implicaría que unas entradas podrían responder de forma más favorable el primer año mientras que en otros se daría el caso contrario o no mostrarían variaciones significativas. La interacción G x A fue significativa en el contenido de glucosa, sacarosa, CSS, anto1, Anto2, Anto3, Anto4 y Anto5. El efecto de la interacción G x A fue pequeño en la mayoría de los casos. Este resultado sugiere que el efecto año ha castigado y ha favorecido a todas las accesiones prácticamente por igual.

Por otro lado, atendiendo al cuadrado medio del ANOVA, se observa que la contribución de cada factor a la variación fue diferente. En el contenido en fructosa, el factor que contribuyó en mayor proporción a la variación observada fue el año, seguido del efecto del genotipo. En el caso de la glucosa y sacarosa, se encontraron resultados algo distintos. El factor año mostró una contribución significativamente mayor en la variación observada seguido en menor medida por el factor genotipo, y finalmente, por la interacción entre ambos. En contraste, para azúcares totales el efecto del genotipo fue el único que tuvo un efecto significativo en la variación observada. Por último, en el caso del CSS, se observó una contribución significativa del año, seguido del genotipo, y finalmente la interacción G x A.

En el análisis de las antocianinas, podemos observar que el valor del cuadrado medio para las antocianinas no aciladas, Anto1y Anto2, situó al genotipo como factor con mayor

proporción en la contribución a las diferencias observadas, seguido en menor medida de la interacción G x A. En el caso de las antocianinas aciladas, Anto3, Anto4 y Anto5, se encontraron resultados algo distintos. Según el valor del cuadrado medio, el genotipo fue el factor que contribuyó en mayor proporción a las diferencias observadas en estos compuestos, seguido en menor proporción del año y, por último, de la interacción G x A, exceptuando Anto3 donde el año fue el factor que menos contribuyó a la variación observada. La variación en el contenido de antocianinas totales estuvo determinada únicamente por el genotipo.

Tabla 12 | ANOVA general de las accesiones de zanahoria morada de Villena (z2, z3, z4 y z5) de los datos del primer año y el segundo año para el contenido en azúcares sencillos (fructosa, glucosa, sacarosa), azúcares totales, contenido en sólidos solubles (^oBrix), Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales.

Efecto	Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Azúcares totales		CSS (^o Brix)	
	g.l. ¹	CM ²	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM
Principales										
Genotipo (G)	3	20,2*	3	34,6***	3	293,1***	3	430,1***	3	2,4***
Año (A)	1	126,7***	1	428,5***	1	1442,2***	1	36,2 ^{NS}	1	3,2***
Interacción										
G x A	3	11,2 ^{NS}	3	34,3***	3	39,5***	3	63,2 ^{NS}	3	1,1***
Error	40	6,3	40	5,8	40	8,7	40	43,2	32	0,1

Efecto	Anto1		Anto2		Anto3		Anto4		Anto5		Antocianinas totales	
	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM	g.l.	CM
Efecto principal												
Genotipo (G)	3	1119,0***	3	864,2***	3	2,9***	3	13173,5***	3	11,4***	3	30214,4***
Año (A)	1	119,2 ^{NS}	1	178,0 ^{NS}	1	2,4***	1	16882,1***	1	39,9***	1	1642,28 ^{NS}
Interacción												
G x A	3	230,7**	3	644,2**	3	2,5***	3	2297,5***	3	3,7***	3	9513,5 ^{NS}
Error	32	74,8	32	170,1	32	0,3	32	684,5	32	0,6	40	5916,6

¹grados de libertad; ²cuadrado medio

NS, *, ** y *** indican no significativo para una probabilidad p<0,05 y significativo para p<0,05, 0,01 y 0,001, respectivamente, de acuerdo al ratio estadístico F.

En resumen, estos resultados muestran que existe diversidad varietal en las entradas analizadas para estos caracteres. Se ha llevado a cabo la evaluación de cuatro accesiones de zanahoria morada de Villena durante dos años, lo cual permite tener en cuenta la variación ambiental. Los datos obtenidos muestran que, para la mayoría de los análisis, el efecto año ha sido significativo. Estos resultados posiblemente se deban a que las condiciones agroclimáticas han tenido que ser diferentes, a pesar de haberse cultivado en las mismas condiciones y el mismo diseño experimental ambos años. Este estudio confirma que el contenido en azúcares

está influenciado por el medio ambiente como demostró Simon P.W. (1985). Asimismo, el contenido en antocianinas en la zanahoria morada parece también estar influenciado por el medio ambiente.

A continuación, se llevó a cabo un análisis de la variación de azúcares y antocianinas de cada genotipo del ensayo realizado el segundo año, es decir, de las accesiones z2, z3, z4, z5-16 y z5-20. Se agregó a este análisis de variación la entrada z5-16 que se corresponde con un genotipo de la zanahoria 5 guardada por el agricultor desde hace años. Se quiere observar si entre la selección de zanahoria 5 del año anterior (5-20) y la del agricultor guardada (5-16) hay diferencias significativas.

Las zanahorias moradas de Villena tuvieron un promedio de azúcares totales de 50,7 g/kg pf con un rango de variación varietal de 57,9 g/kg pf y 41,1 g/kg pf para la entrada z4 y z3, respectivamente. Los azúcares reductores, fructosa y glucosa, supusieron el mayor porcentaje de los azúcares totales, entre un 70-80%. La sacarosa fue el azúcar minoritario en todas las entradas. Estos resultados coinciden con los observados en el ensayo del año anterior.

Para el contenido en fructosa, no se observaron diferencias significativas entre las diferentes entradas con un promedio general de 18 g/kg pf. Curiosamente, en el ANOVA sí hubo un efecto significativo del genotipo, aunque la contribución fue poco significativa ($p < 0,05$). En cambio, en sí se observaron diferencias significativas para el contenido en glucosa entre las entradas, con un rango de variación varietal con un máximo 25,1 g/kg pf (z5-20) y un mínimo de 18 g/kg pf (z3 y z5-16). Por tanto, sí se observaron diferencias entre la entrada z5-16 y z5-20. Asimismo, en el caso de la sacarosa, el rango estuvo comprendido entre 15 g/kg pf para la entrada z4 y 7,4 g/kg pf para la entrada z3. No se encontraron diferencias significativas entre la entrada z5-16 y z5-20. Por último, el CSS ($^{\circ}$ Brix) obtuvo un rango de variación varietal entre 7,8 y 6,4 para las entradas z4 y z5-16. En este caso, no se observaron diferencias significativas entre las entradas z5-16 y z5-20 para el CSS.

Al igual que lo que ocurría con el contenido en azúcares, el contenido en antocianinas resultó tener variabilidad entre los materiales de zanahoria morada de Villena, coincidiendo con el análisis de variación previo (Tabla 12). Las antocianinas totales obtuvieron un rango de variación varietal comprendido entre 225,7 μ g/g pf (z5-16) y 64,1 para la entrada z4 y z5-20. Se observaron diferencias significativas entre las entradas z5-16 y z5-20, posiblemente debido al método de cuantificación de estas antocianinas. Como se ha explicado anteriormente, la medición de estos compuestos se hace con el triturado de zanahoria donde hay tanto parte blanca como morada. Se intenta que sea lo más homogéneo posible, pero puede no ser así.

Centrándonos en las antocianinas de manera individual, se encontró un rango de variación para Anto1 con un máximo de 37,6 µg/g pf para la entrada z2 y un mínimo de 6,6 µg/g pf para la entrada z4. Para Anto2, el rango de variación estuvo comprendido entre 40,6 µg/g pf de z2 y 12,2 µg/g pf de z5-20. Asimismo, los valores de Anto3 variaron de 2,2 µg/g pf (z2 y z5-16) hasta 0 µg/g pf (z5-20). La antocianina más abundante fue Anto4, igual que el año anterior. En este caso, el valor máximo de Anto4 fue de 155,9 µg/g pf (z5-16) y el valor mínimo fue 41,2 µg/g pf (z5-20). Volvemos a observar diferencias significativas entre las entradas z5-16 y z5-20. Por último, el rango de Anto5 estuvo comprendido entre 8,4 µg/g pf de z5-16 y 0,3 µg/g pf de z4.

Tabla 13 | Concentración (g/kg de peso fresco) de los principales azúcares sencillos (fructosa, glucosa y sacarosa), azúcares totales; contenido en sólidos solubles (°Brix); concentración de las antocianinas (µg/g pf de peso fresco) Anto1(cianidin-3-(2''-xilosa-6-glucosa-galactósido), Anto2 (cianidin-3-(2''-xilosa-galactósido), Anto3 (cianidin-3(2''-xilosa-6''-sinapoil-glucosa-galactósido), Anto4 (cianidin-3-(2''xilosa-6''-feruloil-glucosa-galactósido), Anto5 (cianidin-3-(2''-xilosa-6''(4-coumaroil)-glucosa-galactósido) y antocianinas totales de las diferentes entradas de zanahoria, en el segundo año.

Entrada	Fructosa		Glucosa		Sacarosa		Azúcares totales		CSS (°Brix)	
	Media	SE ¹	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z2	19,3	± 2,0 a	21,8	± 1,8 ab	8,7	± 0,7 a	49,8	± 4,5 ab	7,4	± 0,1 b
z3	15,8	± 1,5 a	18,0	± 1,2 a	7,4	± 0,3 a	41,1	± 2,9 a	7,3	± 0,1 b
z4	18,6	± 0,6 a	24,2	± 0,5 b	15,0	± 1,2 c	57,9	± 1,5 b	7,8	± 0,2 c
z5-16	16,8	± 0,7 a	18,0	± 1,0 a	13,0	± 1,0 bc	47,3	± 2,6 ab	6,4	± 0,1 a
z5-20	19,9	± 0,6 a	25,1	± 1,0 b	11,8	± 0,7 b	56,7	± 2,1 b	6,7	± 0,1 a
Total	18,0		21,4		11,2		50,7		7,1	

Entrada	Anto1		Anto2		Anto3		Anto4		Anto5		Antocianinas totales	
	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE	Media	SE
z2	37,6	± 7,7 b	40,6	± 10,6 b	2,2	± 0,4 b	121,3	± 20,3 b	0,9	± 0,3 a	202,7	± 38,5 b
z3	29,2	± 3,2 b	34,0	± 3,9 ab	0,5	± 0,1 a	105,7	± 10,5 b	2,0	± 0,3 a	171,4	± 17,6 b
z4	6,6	± 1,4 a	13,4	± 2,7 a	0,2	± 0,1 a	43,6	± 8,1 a	0,3	± 0,1 a	64,1	± 12,2 a
z5-16	27,0	± 5,8 b	32,2	± 7,3 ab	2,2	± 0,4 b	155,9	± 26,9 b	8,4	± 1,9 b	225,7	± 41,5 b
z5-20	10,2	± 2,5 a	12,2	± 3,1 a	0,0	± 0,0 a	41,2	± 7,3 a	0,5	± 0,2 a	64,2	± 13,0 a
Total	22,1		26,5		1,0		93,5		2,4		145,6	

¹Error estándar

Las medias ± SD seguidas de la misma letra, dentro de una columna, no son significativamente diferentes (p> 0,05) según la prueba de Student-Newman-Keuls

Este estudio de la estabilidad de las accesiones de zanahoria morada tradicional de Villena destaca varias accesiones por su composición nutricional. La accesión z4 contenía 57,9 g/kg pf de azúcares totales, que es mayor que la cantidad promedio de estos compuestos en las accesiones de zanahoria morada de Villena. Un mayor contenido en azúcares le aporta mayor sabor dulce y por tanto mayor calidad organoléptica, en especial para el consumo en fresco. Además, la accesión z2 y z5-16 son las más ricas en antocianinas totales, contienen 202,7 y 225,7 µg/g pf, respectivamente. Destacan por el contenido en antocianinas no aciladas, por lo que

serían útiles para la producción de colorantes alimentarios si se aumentara la proporción de morado. Uno de los usos de la zanahoria morada de Villena es la elaboración de encurtidos. Gracias a la alta proporción de ANA los pigmentos tienen una mayor estabilidad química que les permite durar en el tiempo en condiciones como encurtidas. Todas estas accesiones de variedades locales no han sido utilizadas en el desarrollo de cultivares modernos por lo que pueden ser material susceptible para mejorar el valor nutricional a través de programas de mejora.

5. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados, podemos decir:

- De acuerdo con el análisis de variación de la colección de variedades locales y comerciales en el ensayo del primer año, el efecto variedad (genotipo) y fecha de cosecha fueron significativos para los compuestos químicos estudiados (a excepción de la fecha de cosecha para el contenido en glucosa y fructosa), así como sus interacciones. Asimismo, el efecto genotipo fue el que contribuyó en mayor proporción a la variación observada.
- Tanto en promedio como en la mayoría de las entradas individuales, el contenido en azúcares (individuales y totales) y antocianinas (individuales y totales) aumentaba con la fecha de cosecha. A pesar de esta tendencia promedio, la presencia de interacciones genotipo X fecha de cosecha destacadas, permitiría la selección de entradas con niveles altos para una fecha de cosecha específica u otra.
- En el presente experimento se evidenció una gran diversidad varietal para azúcares y antocianinas. En este sentido se encontraron amplios rangos de variación entre entradas para cada fecha de cosecha. Destacaron las entradas de zanahoria tradicional morada de Villena para el contenido en glucosa y fructosa, así como el contenido en antocianinas.
- El estudio de correlaciones permitió detectar qué caracteres estaban relacionados. Esto permitió identificar que el CSS está determinado principalmente por el contenido en sacarosa, la relación positiva entre el contenido en antocianinas y el espesor morado y la correlación negativa entre el contenido en azúcares y el tamaño de la raíz.
- El análisis de componentes principales agrupó las accesiones de zanahoria tradicional morada de Villena respecto a las demás. Este grupo ha mostrado perfiles de composición distintos al resto de accesiones (variedades comerciales de zanahoria naranja y roja). Destacaron por su contenido en fructosa y glucosa y en antocianinas, tanto individuales como totales.
- El ensayo del segundo año permitió observar la estabilidad de las accesiones seleccionadas de zanahoria tradicional morada de Villena. De acuerdo con el análisis de variación, el efecto genotipo y el efecto año fueron significativos para los compuestos químicos estudiados (a excepción del año para el contenido en azúcares totales, Anto1, Anto2 y antocianinas totales). También se confirmó que existía una ligera variación entre las accesiones seleccionadas de zanahoria morada de Villena para el contenido en azúcares y antocianinas.
- Nuestro estudio es de interés para la mejora de las variedades tradicionales de zanahoria morada de Villena, ya que proporciona información sobre las diferencias entre accesiones

de Agricultores locales relacionados con la calidad organoléptica y nutracéutica. Estos resultados permitirán la selección de accesiones locales de zanahoria morada con mejor calidad, parecidas al ecotipo de Villena y adaptadas al cultivo ecológico en el territorio de Villena.

6. BIBLIOGRAFÍA

Agrícola Villena. 2021. <http://www.agricolavillena.es/>. (Consultado el 01/07/20)

Alasalvar, C., Grigor, J. M., Zhang, D., Quantick, P. C., & Shahidi, F. (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1410–1416. <https://doi.org/10.1021/jf000595h>

Arscott, S. A., Simon, P. W., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Anthocyanins in purple-orange carrots (*Daucus carota* L.) Do not influence the bioavailability of β -Carotene in young women. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2877–2881. <https://doi.org/10.1021/jf9041326>

Assous, M. T. M., Abdel-Hady, M. M., & Medany, G. M. (2014). Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2014.06.001>

Ayuntamiento de Villena. 2021. <https://www.villena.es/>. (Consultado 01/07/20)

Banead, F.; Da Peña Hamparsomián, J.; Insani, M.; Chamorro, V.; Pazos, A.; Pérez, M.B.; Yildiz, M.; Iorizzo, M.; Simon, P.W.; Cavagnaro, P.F. Assessment of genetic diversity for root anthocyanin composition and phenolic content in purple carrots. In Proceedings of the II International Symposium on Carrot and Other Apiaceae, Cracow, Poland, 19–22 September 2018

Baranski, R., Allender, C., & Klimek-Chodacka, M. (2012). Towards better tasting and more nutritious carrots: Carotenoid and sugar content variation in carrot genetic resources. *Food Research International*, 47(2), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.006>

Bradeen, J. M., & Simon, P. W. (2007). Carrot. *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, 5, 161–184

Cavagnaro, P. F. (2019). *Genetics and Genomics of Carrot Sugars and Polyacetylenes* (pp. 295–315). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_17

Cavagnaro, P. F., & Iorizzo, M. (2019). *Carrot Anthocyanin Diversity, Genetics, and Genomics*. 261–277. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_15

César Gaviola, J. (2013): Manual de producción de zanahoria. Argentina, Estación Experimental Agropecuaria La Consulta. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient, Canvi Climàtic i Desenvolupament Rural. 2021. <https://agroambient.gva.es/es>. (Consultado 01/07/20)

Davies, K. M., Schwinn, K. E., & Gould, K. S. (2017). Anthocyanins. In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (Vol. 2, pp. 355–363). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00229-X>

Dwivedi, S. L., Ceccarelli, S., Blair, M. W., Upadhyaya, H. D., Are, A. K., & Ortiz, R. (2016). Landrace Germplasm for Improving Yield and Abiotic Stress Adaptation. In *Trends in Plant Science* (Vol. 21, Issue 1, pp. 31–42). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.10.012>

- Ellison, S. (2019). *Carrot Domestication*. 77–91. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_5
- FAO. Consulta de datos estadísticos. <http://www.fao.org/economic/ess/ess-publications/ess-yearbook/fao-statistical-yearbook-2011/es/> y <http://faostat3.fao.org/> (Consultado 20/05/20)
- Figàs, M. R., Prohens, J., Raigón, M. D., Fita, A., García-Martínez, M. D., Casanova, C., Borràs, D., Plazas, M., Andújar, I., & Soler, S. (2015). Characterization of composition traits related to organoleptic and functional quality for the differentiation, selection and enhancement of local varieties of tomato from different cultivar groups. *Food Chemistry*, *187*, 517–524. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.083>
- Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J., & Vicente, O. (2015). Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: A new paradigm for increasing food production. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 6, Issue NOVEMBER, p. 978). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00978>
- Herrmann, K. M., & Weaver, L. M. (1999). The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Biology*, *50*, 473–503. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.473>
- Iorizzo, M., Curaba, J., Pottorff, M., Ferruzzi, M. G., Simon, P., & Cavagnaro, P. F. (2020). Carrot anthocyanins genetics and genomics: Status and perspectives to improve its application for the food colorant industry. *Genes*, *11*(8), 1–36. <https://doi.org/10.3390/genes11080906>
- Kammerer, D., Carle, R., & Schieber, A. (2004). Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. *European Food Research and Technology*, *219*(5), 479–486. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0976-4>
- Lazcano, C. A., Yoo, K. S., & Pike, L. M. (2001). A method for measuring anthocyanins after removing carotenes in purple colored carrots. *Scientia Horticulturae*, *90*(3–4), 321–324. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(00\)00248-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00248-X)
- Lee, E. J., Yoo, K. S., & Patil, B. S. (2011). Total carotenoid, anthocyanin, and sugar contents in sliced or whole purple (cv. Betasweet) and orange carrots during 4-week cold storage. *Horticulture Environment and Biotechnology*, *52*(4), 402–407. <https://doi.org/10.1007/s13580-011-0227-0>
- Linke, B., Alessandro, M. S., Galmarini, C. R., & Nothnagel, T. (2019). *Carrot Floral Development and Reproductive Biology*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_3
- Liu, Y. J., Wang, G. L., Ma, J., Xu, Z. S., Wang, F., & Xiong, A. S. (2018). Transcript profiling of sucrose synthase genes involved in sucrose metabolism among four carrot (*Daucus carota* L.) cultivars reveals distinct patterns. *BMC Plant Biology*, *18*(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1221-1>
- MAPAMA (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación). <https://www.mapa.gob.es/es/> (Consultado 25/05/20)
- Maroto J. V. (2002): *Horticultura Herbácea Especial*. Madrid, Mundi-Prensa. 5.ª edición
- Montilla, E. C., Arzaba, M. R., Hillebrand, S., & Winterhalter, P. (2011). Anthocyanin composition

of black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) Cultivars *antonina*, *beta* sweet, *deep purple*, and *purple haze*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3385–3390. <https://doi.org/10.1021/jf104724k>

Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C., & Martinez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96(1), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.01.057>

Ramchiary, N., & Kole, C. (2019). The Carrot Genome. In *Compendium of Plant Genomes: The Carrot Genome*. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-319-66117-9.pdf%0Ahttp://link.springer.com/10.1007/978-3-030-03389-7>

Rodríguez-Burruezo, A., Kollmannsberger, H., González-Mas, M. C., Nitz, S., & Fernando, N. (2010). HS-SPME comparative analysis of genotypic diversity in the volatile fraction and aroma-contributing compounds of capsicum fruits from the *annuum* ? *chinense* ? *Frutescens* complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 4388–4400. <https://doi.org/10.1021/jf903931t>

Rosenzweig, C., Elliott, J., Deryng, D., Ruane, A. C., Müller, C., Arneth, A., Boote, K. J., Folberth, C., Glotter, M., Khabarov, N., Neumann, K., Piontek, F., Pugh, T. A. M., Schmid, E., Stehfest, E., Yang, H., & Jones, J. W. (2014). Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(9), 3268–3273. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222463110>

SEAE (Sociedad Española de Agricultura Ecológica). 2021. <https://www.agroecologia.net/> (Consultado 01/07/20)

Simon, P.W. (1985). Carrot Flavor : Effects of Genotype, Growing Conditions, Storage and Processing. In *Evaluation of Quality Of Fruits and Vegetables; Pattee, H. E., Ed.; AVI Publishing: Wesport, CT*, 315-328.

Simon, P. W., & Goldman, I. L. (2006). Carrot. In R. J. Singh (Ed.), *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement, vol 3 vegetable crops* (pp. 497–516). New York: CRC Press.

Simon, Philipp W., Freeman, R. E., Vieira, J. V., Boiteux, L. S., Briard, M., Nothnagel, T., Michalik, B., & Kwon, Y.-S. (2008). Carrot. In *Vegetables II* (pp. 327–357). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74110-9_8

Spooner, D. M. (2019). *Daucus*: Taxonomy, Phylogeny, Distribution. In *Daucus: Taxonomy, Phylogeny* (pp. 9–26). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03389-7_2

Stolarczyk, J., & Janick, J. (2011). Carrot: History and Iconography. *Chronica Horticulturae*, 51(2), 13–18. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/pdfs/ch5102-carrot.pdf>

Stopes, C; CMhlüter, M; Kölling, A. 2010. Impulsar y defender al sector de la producción ecológica en Europa. *AE Revista de divulgación técnica*, 1, 12-15

Sun, T., Simon, P. W., & Tanumihardjo, S. A. (2009). Antioxidant phytochemicals and antioxidant capacity of biofortified carrots (*Daucus carota* L.) of various colors. *Journal of Agricultural and*

Food Chemistry, 57(10), 4142–4147. <https://doi.org/10.1021/jf9001044>

Tsutsumi, A., Horikoshi, Y., Fushimi, T., Saito, A., Koizumi, R., Fujii, Y., Hu, Q. Q., Hirota, Y., Aizawa, K., & Osakabe, N. (2019). Acylated anthocyanins derived from purple carrot (: *Daucus carota* L.) induce elevation of blood flow in rat cremaster arteriole. *Food and Function*, 10(3), 1726–1735. <https://doi.org/10.1039/c8fo02125b>

Wohlfeiler, J., Alessandro, M. S., Cavagnaro, P. F., & Galmarini, C. R. (2019). Multiallelic digenic control of vernalization requirement in carrot (*Daucus carota* L.). *Euphytica*, 215(2). <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2360-2>

Xu, Z. S., Feng, K., & Xiong, A. S. (2019). CRISPR/Cas9-Mediated Multiply Targeted Mutagenesis in Orange and Purple Carrot Plants. *Molecular Biotechnology*, 61(3), 191–199. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-00150-6>