

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOMAS DE ZAMORA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



Trabajo Final de Grado

**“CARACTERIZACIÓN DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA Y
PRODUCCIÓN DE AQUENIOS DE *CYNARA CARDUNCULUS*
COMO MATERIA PRIMA PARA OBTENER BIOENERGÍA”**

Borlandelli Federico

Director: García Stepien, Luis Ezequiel

Codirector: Huarte, Héctor Roberto

Lomas de Zamora, diciembre de 2020

Denominación del proyecto

“CARACTERIZACIÓN DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA Y PRODUCCIÓN DE GRANOS DE CUATRO POBLACIONES DE *CYNARA CARDUNCULUS* COMO MATERIA PRIMA PARA PRODUCIR BIOENERGÍA”

Identificación del proyecto

Unidad ejecutora: Borlandelli Federico

Palabras clave: cardo, bioenergía, biocombustibles

Director

Apellido y Nombre: García Stepien, Luis Ezequiel

Cargo: Profesor Adjunto. Cátedra Cerealicultura, UNLZ FCA

Dedicación: Exclusiva

Codirector

Apellido y Nombre: Huarte, Héctor Roberto

Cargo: Profesor Adjunto. Cátedra de Fisiología Vegetal UNLZ FCA

Dedicación: Simple

Fecha de iniciación del proyecto: Noviembre 2019

Duración del plan de trabajo: 12 meses

“Las opiniones expresadas por el autor de este Trabajo no representan necesariamente los criterios de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Lomas de Zamora”

Agradecimientos

La carrera de grado que culmina con este trabajo es el resultado del esfuerzo de muchas personas que me han acompañado en el camino. Ningún mérito es personal, cuando uno cuenta con personas que alientan, corrigen, tutoran y acompañan a un alumno universitario. En primer lugar, un especial agradecimiento a mi director de tesina, Ezequiel García Stepien quien me tuvo paciencia, entregó mucho ánimo, esfuerzo y compartió mucha de su experiencia en este recorrido. A mi co-director Roberto Huarte, por enseñarme y permitirme participar de los proyectos de investigación desarrollados en la facultad los cuales fueron de gran ayuda para mi desarrollo profesional. Un particular reconocimiento a todo el equipo del Laboratorio de Análisis de Suelos de FCA y a María Silvia Borlandelli del Laboratorio de Cereales y Forrajes de FCA que hicieron posible la realización de esta labor.

A todos mis compañeros y profesores que llenaron de conocimiento y valores esta hermosa carrera. Familiares y amigos, estén donde estén, en la actualidad o en el pasado, a todos ustedes, nunca me alcanzarán las palabras para agradecerles.

Les expreso mi mayor reconocimiento y gratitud.

“Las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma”

Julio Cortázar

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE GRÁFICOS	7
ACRÓNIMOS	8
RESUMEN	12
Capítulo I	14
I.1. INTRODUCCIÓN	14
I.1.1. Problemática actual de los biocombustibles.	14
I.1.2. Características de la biomasa lignocelulósica y su composición	15
I.1.3. Proceso de transformación a etanol de segunda generación	18
I.1.4. Rendimiento teórico potencial de Bioetanol	20
I.1.5. <i>Cynara cardunculus</i> : características generales	21
I.1.6. Uso de <i>Cynara</i> como fuente energética alternativa	25
I.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.	2928
I.2.1. Objetivos	2928
I.2.2 Hipótesis	2928
I.3. MATERIALES Y MÉTODOS.	3029
I.3.1. Material genético evaluado.	3029
I.3.2. Caracterización ambiental del ensayo.	3433
I.3.3. Manejo del cultivo y diseño experimental	3736
I.3.4. Mediciones y actividades a campo.	3836
I.3.5. Análisis de calidad de la biomasa en laboratorio.	3938
I.3.6. Análisis estadístico.	4342
Capítulo II	4544
Caracterización y comparación de la aptitud bioenergética de la biomasa lignocelulósica de cuatro poblaciones de <i>Cynara cardunculus</i>	4544
II.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4544
II.1.1. Variables relacionadas con la fracción vegetativa y reproductiva.	4544
II.1.2. Variables relacionadas con la calidad de la biomasa lignocelulósica.	5150

II.2. Distribución en estratos del rendimiento y calidad de la biomasa lignocelulósica en poblaciones de <i>Cynara cardunculus</i>	60 <u>59</u>
II.2.1. Variables relacionadas con la fracción vegetativa y reproductiva.	60 <u>59</u>
II.2.2. Variables relacionadas con la calidad del material lignocelulósico. ...	62 <u>61</u>
CONCLUSIONES.....	64 <u>63</u>
Investigaciones futuras.....	66 <u>63</u>
BIBLIOGRAFÍA	67 <u>65</u>
ANEXO.....	71 <u>69</u>

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen descriptivo de las 4 poblaciones utilizadas en el experimento.....	29
Tabla 2. Análisis de suelo realizado por el Laboratorio de Suelos FCA-UNLZ.....	35
Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales. Correlaciones con las variables originales.....	56
Tabla A.1. Coeficientes de correlación.....	71
Tabla A.2. Tabla de correlación entre RMSe y variables de calidad lignocelulósica.....	71
Tabla A. 3. Escala BBCH.....	71

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Condiciones meteorológicas durante el ciclo del cultivo.....	36
Gráfico 2. Valores medios para cada población para las variables morfológicas y de Rendimiento lignocelulósico	47
Gráfico 3. Partición de biomasa aérea de cuatro poblaciones de <i>Cynara cardunculus</i> divididos en hojas (H, %), tallos (T, %) y capítulos (C, %).....	48
Gráfico 4. Variables reproductivas que presentaron diferencias significativas entre las 4 poblaciones de <i>Cynara</i>	50
Gráfico 5. Correlación entre variable Altura y RHT utilizando las poblaciones como un conjunto.	51
Gráfico 6. Valores medios y desvíos estándar de las variables de calidad lignocelulósica de planta entera.....	53
Gráfico 7. Variables de calidad de planta entera (celulosa, hemicelulosa y lignina de la porción tallo y hoja) de las 4 poblaciones de <i>Cynara</i>	55

Gráfico 8. Biplot del análisis de componentes principales para las variables de rendimiento y calidad en 4 variedades de <i>Cynara cardunculus</i>	59
Gráfico 9. Valores de Rendimiento en Materia Seca de hojas para el primer (a) y segundo estrato (b) de las 4 poblaciones de <i>Cynara cardunculus</i>	61
Gráfico 10. Distribución de las variables de calidad lignocelulósica por estratos tomando las poblaciones como un conjunto.....	63

ACRÓNIMOS

?: Porcentaje

m: metro. Unidad de medida de longitud.

l: litro. Unidad de medida de volumen.

ha: hectárea. Unidad de medida de superficie

t: Tonelada. Unidad de medida de peso.

MJ: MegaJulios. Unidad de medida de energía.

ANVA: Análisis de varianza.

CEL: Celulosa (%).

CELt+h: Celulosa tallo + hojas (%).

CELh: Celulosa hoja (%).

CELt: Celulosa tallo (%).

CP: Componentes principales.

Estrato: Porción de 50cm de altura de planta.

ETPt+h: Etanol Teórico Potencial de tallo + hojas (l.t^{-1} MS).

ETPh: Etanol Teórico Potencial de hoja (l.t^{-1} MS).

ETPt: Etanol Teórico Potencial de tallo (l.t^{-1} MS).

FDA: Fibra detergente acida (%)

FDN: Fibra detergente neutra (%)

HEM: Hemicelulosa (%)

HEMt+h: Hemicelulosa tallo + hojas (%)

HEMh: Hemicelulosa hoja (%)

HEMt: Hemicelulosa tallo (%)

IC: Índice de cosecha (%)

Icap: Índice de capítulos (%)

LDA: Lignina detergente ácida (%)

LDAt+h: Lignina detergente ácida tallo + hojas (%)

LDAh: Lignina detergente ácida hoja (%)

LDAt: Lignina detergente ácida tallo (%)

MJ/t: Megajoules por tonelada de materia seca.

NCap: Número de capítulos por planta

NIRS: *Near infrared reflectance spectroscopy*.

Nº Gran: Número de granos (Granos /m²).

NRamas: Número de ramificaciones.

Pg: Peso del grano.

Pmil: Peso de mil granos.

PSC1: Peso seco de capítulos.

PST1: Peso seco de la porción tallo del primer estrato (50 cm).

PST2: Peso seco de la porción tallo del segundo estrato (50 cm).

% p / v: Porcentaje peso en volumen.

RETP: Rendimiento en Etanol Teórico Potencial (l ha⁻¹).

Rg: Rendimiento de grano (t ha⁻¹).

RHT: Relación Hoja/Tallo.

RMS: Rendimiento en materia seca (t ha⁻¹).

RMSe1: Rendimiento en materia seca primer estrato (tallo+hoja) (t ha⁻¹).

RMSe2: Rendimiento en materia seca segundo estrato (tallo+hoja) (t ha⁻¹).

RMSte1: Rendimiento en materia seca de tallo del primer estrato (t ha^{-1}).

RMShe1: Rendimiento en materia seca de hoja del primer estrato (t ha^{-1}).

RMSte2: Rendimiento en materia seca de tallo del segundo estrato (t ha^{-1}).

RMShe2: Rendimiento en materia seca de hoja del segundo estrato (t ha^{-1}).

RMSt+h: Rendimiento en materia seca de tallo + hojas (t ha^{-1}).

RMShe: Rendimiento en materia seca de hoja (t ha^{-1}).

RMSt: Rendimiento en materia seca de tallo (t ha^{-1}).

RMSpc: Rendimiento en materia seca de planta completa (tallo + hoja + capítulos)
(t ha^{-1}).

RESUMEN

Cynara cardunculus L var. *silvestris* es una especie considerada como una maleza invasora naturalizada en muchas zonas templadas de la Argentina y otras partes del mundo. *Cynara* presenta elevados rendimientos de biomasa en ambientes restrictivos, como tierras marginales o contaminadas. En países del mediterráneo europeo se realizaron numerosos estudios a fin de evaluar la producción de biomasa lignocelulósica, rendimiento en grano y composición química siendo comparables con cultivos comerciales. Poco se sabe de la fisiología, composición lignocelulósica, variabilidad genética en Argentina. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar las características morfológicas, de rendimiento y calidad lignocelulósica, como posibles indicadores para la selección de poblaciones. El ensayo se desarrolló en una parcela ubicada en el predio de la FCA-UNLZ, en plantas de al menos dos años desde su siembra. Las variables de estudio se analizaron a partir de muestras obtenidas en 3 plantas de cada procedencia. Los capítulos se cosecharon a mano y posteriormente fueron removidos los aquenios ya en estado de madurez fisiológica. La fracción vegetativa se fraccionó en secciones de 50 cm, donde se aislaron los tallos de las hojas (relación hoja/tallo). Las muestras de biomasa fueron secadas a estufa a 60°C hasta peso constante y luego fueron molidas a 1 mm para su posterior análisis químico. Se realizaron análisis de laboratorio para determinar las fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina de la materia seca vegetativa para determinar su potencial uso bioenergético. Para estimar la relación entre las variables morfológicas, de rendimiento y las variables de calidad de las distintas

poblaciones evaluadas se realizó un análisis de los componentes principales. A su vez, se efectuaron análisis de correlación para determinar el grado de asociación entre las variables evaluadas. Los rendimientos teóricos potenciales extremos de etanol alcanzaron 2126 l ha^{-1} y 546 l ha^{-1} y de grano entre $3,15 \text{ t ha}^{-1}$ y $0,35 \text{ t ha}^{-1}$. Se ha observado que las poblaciones particionan su biomasa de manera diferencial, pudiéndose concebir distintos destinos productivos. Por último, el estrato inferior se posiciona como el de mayor influencia en el RMSt+h y ETP. Los resultados muestran diferencias fenotípicas entre las poblaciones evaluadas, capaces de diferenciarse en el objetivo final productivo pudiendo ser utilizados en el sector agroindustrial o energético. Los bajos *inputs* requeridos y su adaptabilidad a las condiciones locales, hacen de *Cynara* una especie interesante para ser estudiada en la Argentina como fuente de material lignocelulósico.

Capítulo I

I.1. INTRODUCCIÓN

I.1.1. Problemática actual de los biocombustibles.

El cambio climático es una realidad que trae variadas consecuencias: entre ellas el aumento de los precios de la energía, del valor de la tierra y la escasez de agua a nivel global. La crisis energética es una de las amenazas más graves para la sostenibilidad de la civilización y los seres humanos. (Goh *et al.*, 2010). El crecimiento del consumo de alimentos con mayor calidad nutricional, el incremento de la demanda de piensos y el acrecimiento en la demanda de combustibles han sido nuevas necesidades que conducen al planeta aún más hacia el extremo y se prevé por esas circunstancias, que los mercados mundiales de granos sean más estrictos en el futuro que en los últimos 40 años (OCDE-FAO, 2016). La demanda de materias primas para producir biocombustibles y otros productos bioindustriales depende de los precios de la energía, granos, mandatos de las políticas de biocombustibles y la velocidad con la que los biocombustibles de segunda generación (basados en materiales lignocelulósicos) estén disponibles (Fischer *et al.*, 2014). Las predicciones sobre el consumo de biocombustibles a partir de entonces son altamente inciertas. La FAO supone que la demanda se estabilizará después de 2020. Esta realidad se añade al crecimiento poblacional y al aumento del ingreso per cápita a nivel global, que presionan más sobre los precios alcistas del mercado.

La producción actual de biodiesel y bioetanol se basa en materias primas oleaginosas y almidonadas/azucaradas, respectivamente, lo que ha generado un gran debate acerca de su sostenibilidad (Gorter *et al.*, 2013). Esto implica un compromiso entre el destino alimenticio y energético de los *commodities* que puede afectar la seguridad alimentaria. La expansión futura del área para el uso agropecuario incurrirá en un riesgo significativo para la permanencia de ecosistemas naturales y para la sustentabilidad de los nuevos suelos agrícolas logrados por el avance productivo. Aunque la tasa absoluta de aumento del rendimiento del cereal ha sido notablemente lineal, en los últimos 50 años, las tasas relativas de rendimiento aumentan decrecientemente desde la revolución verde. Se cree que pronto se alcanzará una meseta tecnológica para los rendimientos de los cultivos tradicionales. Por lo tanto, la producción de biocombustibles de segunda generación se convierte en una solución que cada día es vista con mejores expectativas (Aditiya *et al.*, 2016). Por estos motivos, resulta relevante el estudio de especies vegetales perennes no convencionales, capaces de producir importantes volúmenes de biomasa en especial en ambientes marginales, sin interferir en precios de mercado alimenticio. Es en este contexto donde se inserta *Cynara cardunculus* cuyos antecedentes y posibilidades de uso en la Argentina serán discutidos en secciones subsiguientes

1.1.2. Características de la biomasa lignocelulósica y su composición

Técnicamente, la biomasa lignocelulósica almacena energía solar a través de la fotosíntesis, mediante la absorción de dióxido de carbono. Por lo general, la fotosíntesis convierte menos del 1 % de la luz solar en energía química

almacenada en los enlaces de componentes de la biomasa (McKendry, 2002). Aun así, la biomasa lignocelulósica es la materia prima renovable más abundante, su producción anual se ha estimado 1×10^{10} millones de toneladas alrededor del mundo (Sánchez & Cardona, 2008). Cuando esta energía se libera a través reacciones termoquímicas como la combustión o la gasificación, produce dióxido de carbono (CO_2) y agua. El proceso es cíclico ya que el CO_2 está disponible para producir nueva biomasa. La sostenibilidad fundamental del biocombustible a partir de biomasa se basa en la naturaleza cíclica o renovable de la biomasa. Sin embargo, debe ser señalado que hay un lapso de tiempo entre la liberación instantánea de CO_2 del uso de bioenergía y fotosíntesis, que crea debates sobre la renovabilidad de la biomasa lignocelulósica. El material lignocelulósico generalmente se puede dividir en tres componentes principales: celulosa (30-50 %), hemicelulosa (15-35 %) y lignina (10-20 %). Las fracciones de celulosa y la hemicelulosa constituyen aproximadamente el 70 % de la biomasa total y están estrechamente unidas al componente lignina a través de enlaces covalentes e hidrógenos que hacen que la estructura sea muy robusta y resistente a cualquier tratamiento (Knauf *et al.*, 2004). Adicionalmente, la lignocelulosa contiene proteínas, lípidos, agua y otros elementos.

La **celulosa** $((\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n)$ es un componente lineal estructural de la pared celular de una planta que consiste en una cadena larga de monómeros de glucosa unidos por enlaces β (1-4) glicosídicos que pueden alcanzar varios miles de unidades de glucosa de longitud. Posee una estructura de matriz fuerte, compacta y cristalina (Sun *et al.*, 1998).

La **hemicelulosa** $((C_5H_8O_4)_n)$, por otro lado, es una estructura amorfa y variable formada por heteropolímeros que incluyen hexosas, pentosa y pueden contener ácidos de azúcar. Su cadena principal está compuesta principalmente por enlaces de xilano β (1-4) que incluyen D-xilosa (casi el 90 %) y L-arabinosa (aproximadamente el 10 %). Las hemicelulosas de la madera blanda son típicamente glucanos (Kumar *et al.*, 2009). Lo importante a destacar es que, debido a la diversidad de sus azúcares, la hemicelulosa requiere una amplia gama de enzimas para hidrolizarse completamente en monómeros libres. Es más fácil de descomponer con productos químicos y / o calor que la celulosa (Cherubini & Strömman, 2010).

La **lignina** es el último de los principales componentes que componen la biomasa lignocelulósica. La fórmula empírica es $C_9H_{10}O_2(OCH_3)_n$, actúa esencialmente como el pegamento que proporciona la rigidez general a la estructura de las plantas ya que es un polímero que forma una matriz. Sirve como sistema de defensa de las plantas contra los patógenos e insectos. La misma es un biopolímero aromático y rígido unido mediante enlaces covalentes a xilanos (porción de hemicelulosa) que confiere rigidez y un alto nivel de compactación a la pared celular (Mielenz, 2001). Las pasturas y residuos agrícolas contienen un nivel de lignina del orden del 10 – 20 % (Abdeshahian, 2010). La degradación de la lignina durante los pretratamientos produce componentes que desactivan sustancialmente las enzimas celulolíticas y por tanto influyen en la hidrólisis enzimática. Estudios lo señalan como el principal componente de la pared celular

limitante de la degradación de la fracción fibrosa (Van Soest, 1994). Este impacto negativo provocado por la lignina ha suscitado interés en ser reducido.

I.1.3. Proceso de transformación a etanol de segunda generación

La biomasa lignocelulósica se puede transformar en bioetanol a través de una conversión bioquímica o termoquímica. Ambas rutas implican la degradación de la estructura recalcitrante de la pared celular en fragmentos de los tres componentes (Figura 1). Cada polisacárido se hidroliza en azúcares que se convierten en bioetanol seguido de un proceso de purificación (Achinas & Euverink, 2016).

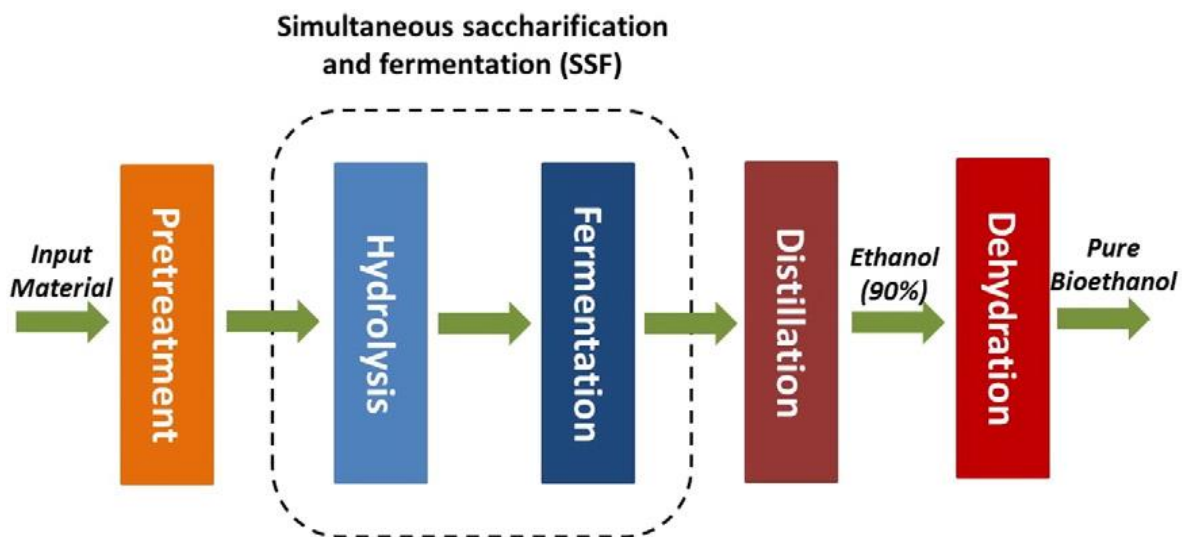


Figura 1. Estados de producción de bioetanol. Adaptado de (Achinas & Euverink, 2016)

Los objetivos fundamentales del pretratamiento son: reducir el estado cristalino de la celulosa y, por otro lado, dissociar el complejo celulosa-lignina y hemicelulosa-lignina (Figura 2). Esto busca aumentar el área superficial del material, para la formación de azúcares o permitir formar posteriormente azúcares por hidrólisis y

disminuir la presencia de aquellas sustancias que dificulten o inhiban la hidrólisis y fermentación (Faba *et al.*, 2014).

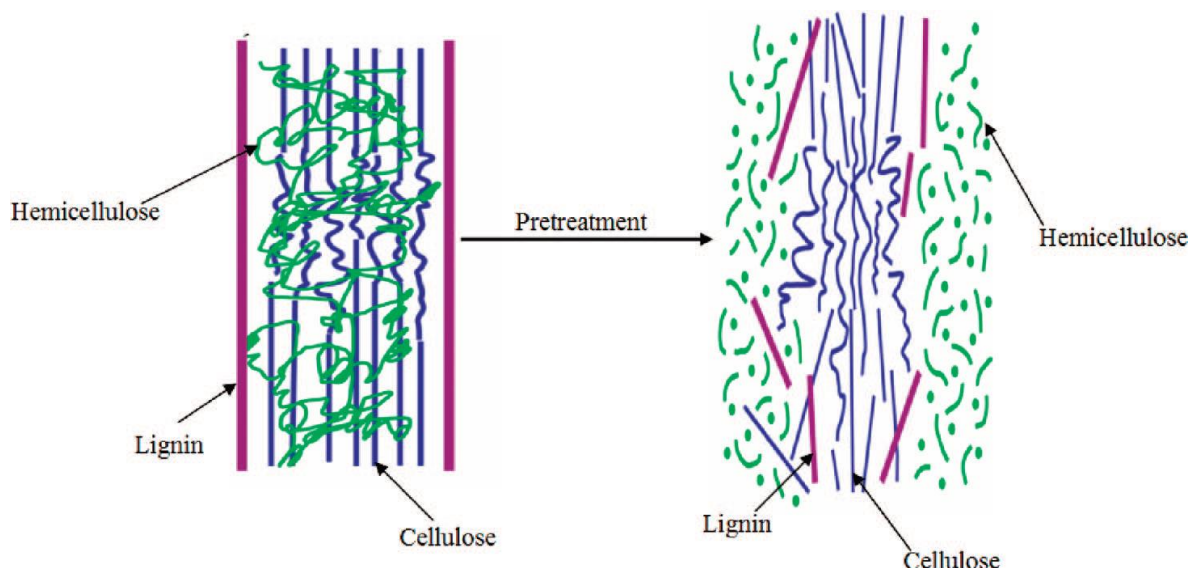


Figura 2. Esquema del papel del pretratamiento en la conversión de biomasa en combustible. (Adaptado de Hsu, *et al.*, 1980)

El desempeño de la hidrólisis está altamente asociado al proceso de pretratamiento. Durante esta reacción, la celulosa y la hemicelulosa se hidrolizan en compuestos simples y solubles disponibles para su posterior conversión (fermentación) en etanol. Hay dos tipos diferentes de procesos de hidrólisis que involucran reacciones ácidas (ácido sulfúrico) o enzimáticas (Kumar *et al.*, 2009; Patrouilleau *et al.*, 2017). La fermentación es el siguiente paso y requiere la presencia de microorganismos para degradar azúcares en alcoholes y otros productos finales. Normalmente, *Servomyces cerevisiae* convierte los azúcares en etanol en condiciones anaeróbicas a una temperatura de 30 °C. En esta vía, también se generan otros subproductos en forma de compuestos basados en CO₂

y Nitrógeno. *S. cerevisiae* es un microorganismo prevalente y proporciona un alto rendimiento de etanol a partir de azúcares. La acción de microorganismos y enzimas sobre fuentes biológicas puede conducir a la producción principalmente de etanol y, con menos frecuencia, de propanol y butanol.

El **etanol** (C_2H_5OH) se produce a partir de la fermentación del azúcar (con azúcares C5 tienen menor eficiencia de conversión que C6) después de un paso de pretratamiento capaz de despolimerizar los polisacáridos C6 / C5 en sus azúcares simples glucosa, xilosa, manosa, arabinosa y galactosa, que pueden ser fácilmente fermentado por microorganismos. Dado que la lignina no puede ser fermentada, la posibilidad de generar etanol a través de ella no se tiene en cuenta en la fermentación. Por el contrario, los tres componentes de la biomasa se pueden utilizar para producir etanol vía gas de síntesis (después de la gasificación) (Cherubini & Strömman, 2010).

Por lo antedicho, la producción de etanol depende de la concentración de celulosa y hemicelulosa del material, de la cantidad que puedan ser extraídos sin ser degradados y tipo de enlace de lignina (Torney *et al.*, 2007). Por lo tanto, se debe procurar en la selección de poblaciones una elevada concentración de celulosa y hemicelulosa, una alta digestibilidad y una baja concentración de lignina (Dien *et al.*, 2006).

I.1.4. Rendimiento teórico potencial de Bioetanol

El **Rendimiento Teórico Potencial de Bioetanol (RETP)** es la cantidad máxima teórica de etanol que puede producirse por unidad de masa de materia prima.

Debido a que los procesos que se requieren para evaluar el rendimiento de etanol son altamente costosos y complejos para ser producidos a gran escala, éste puede ser calculado de manera teórica por distintas vías según la bibliografía. Una de ellas es mediante una fórmula citada por Zhao *et al.* (2009). Las variables utilizadas para su cálculo son Celulosa, Hemicelulosa y Rendimiento de Materia seca (RMS). Los métodos analíticos de detergente desarrollados por Van Soest son ideales para evaluar la calidad de forraje, ya que permiten cuantificar las variables utilizadas para el cálculo de RETP (Weimer *et al.*, 2005; Lorenz *et al.*, 2010).

I.1.5. *Cynara cardunculus*: características generales

Cynara cardunculus es una alternativa para la obtención de biocombustibles estudiada en Europa desde hace más de 20 años (Angelini *et al.*, 2009; Ottaiano *et al.*, 2017). Es una especie C3 largamente perenne (≈ 10 años), mayormente de polinización cruzada, perteneciente a la familia *Asteraceae* (Şekara *et al.*, 2015). El género *Cynara* es originario de la Cuenca del Mar Mediterráneo (Archontoulis *et al.*, 2010) hecho que le otorga adaptación a las condiciones xerófitas. Posee un ciclo de crecimiento anual (OIP), en el que el cultivo crece y se desarrolla durante el otoño, invierno y primavera y está listo para la cosecha durante el comienzo del verano. Las plantas adultas de las tres variedades botánicas de *Cynara* (*altilis*, *scolymus* y *silvestris*) exhiben un crecimiento vigoroso a lo largo de su ciclo de crecimiento natural y se ha demostrado el notable potencial de *Cynara* para su cultivo en climas mediterráneos en régimen de secano (450-550 mm) (Piscioneri *et al.*, 2000; Cravero *et al.*, 2012). Se han obtenido rendimientos de 20 t ha^{-1} en años

con acumulados de 600 mm y de 25 t ha⁻¹ con precipitaciones de 800 mm (Fernández *et al.*, 2005).

El cultivo de *Cynara* ha demostrado ser resistente y productivo en tierras áridas del área mediterránea y potencialmente en otros lugares, como la Argentina, con aplicaciones versátiles, desde obtención de energía hasta biomateriales o compuestos fitoquímicos. La producción de esta especie no convencional está en línea con la necesidad de lograr cultivos adaptados y sostenibles en el contexto de los cambios climáticos, caracterizados por el aumento la imprevisibilidad y variabilidad climática (Pappalardo *et al.*, 2020).

El género *Cynara* incluye dos variedades cultivadas: la alcachofa o alcaucil y el cardo cultivado (Sonnante *et al.*, 2007) y una variedad no domesticada denominada *sylvestris* (“cardo de castilla”). Este último fue reconocido como un antepasado de ambas variedades cultivadas.

La **alcachofa** (*C. cardunculus* L. var. *scolymus* L.) ha sido tradicionalmente propagado en forma clonal y seleccionado por su yema floral comestible, las brácteas y su base. Mientras que el **cardo cultivado** (*C. cardunculus* L. var. *altilis*), es propagado por semillas y ha sido seleccionado por sus tallos y hojas carnosas. Por lo tanto, el complejo *C. cardunculus* es particularmente interesante porque incluye tanto taxones silvestres como dos cultivos propagados tradicionalmente por diferentes métodos dentro de una sola especie biológica (Gatto *et al.*, 2013). Al ser una especie diploide de polinización cruzada ($2n = 2x = 34$) con madurez sexual asincrónica y con protandria (dicogamia intrafloral),

alberga un reservorio genético altamente heterocigoto (Scaglione *et al.*, 2009). Las tres subespecies son totalmente compatible entre sí, y sus híbridos F1 son fértiles (Portis *et al.*, 2015). Sin demasiado manejo, el cardo se comporta como un cultivo resistente, con un rebrote anual vigoroso, posee flores atractivas para las abejas y la adaptación al estrés por sequía, que hacen de esta planta un buen candidato para ser cultivado en las tierras áridas. (Gominho *et al.*, 2018).

La variedad **silvestre** (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris*) es conocida como una maleza importante en muchas regiones del globo (White & Holt, 2005). Las características que hacen de esta una maleza agresiva fueron estudiadas por distintos autores a lo largo de la historia (Canada & Columbia, 1988). Se destaca que la especie posee semillas con dormición fisiológica, contenidas dentro de una cipcelas que es dispersada por el viento. También es capaz de un rápido crecimiento, tiene un extenso sistema de raíces (se independiza de las precipitaciones) y es un competidor efectivo por recursos tanto subterráneos como aéreos (White & Holt, 2005). La canopia puede acercarse a los 2 m de diámetro y 2 m de altura, creciendo mucho más que las gramíneas anuales que frecuentemente desplaza. Además de alterar potencialmente la disponibilidad de luz para las plantas circundantes, este gran dosel produce una capa abundante de rastrojo que puede diferir en la calidad de los nutrientes e influir en los ciclos de nutrientes del suelo (Potts *et al.*, 2008). Además, el meristema apical está por debajo de la superficie del suelo, protegido del control mecánico de corte y heladas. Todos estos factores combinados resultan en una seria amenaza de invasión que es difícil de controlar (White & Holt, 2005). Sin embargo, en los

últimos años se ha modificado en algunos países la cosmovisión sobre esta variedad y se presenta como una oportunidad para la obtención de diversos recursos.

El uso de *Cynara* como cultivo bioenergético perenne en zonas contaminadas (Pappalardo *et al.*, 2020) o con suelos degradados favorecería el aumento de materia orgánica al promover el incremento de la humedad edáfica e incorporación de residuos actuando como especie fitoremediadora (Domínguez *et al.*, 2017). Resultados obtenidos por (Williams & Potts, 2003) determinaron que la presencia de *Cynara* se asocia con aumentos en la eficiencia del uso del agua, de biomasa aérea y fotosíntesis del ecosistema. Los cambios producidos sugieren el potencial de este cardo para influir en el ciclo hidrológico de una cuenca hidrográfica, en el almacenamiento de carbono del ecosistema a nivel de paisaje y en la sensibilidad del ecosistema a la variabilidad climática. Si bien la Argentina no contribuye sustancialmente con la liberación de gases con efecto invernadero, puede contribuir con ciertos cultivos al secuestro de carbono, ayudando a mantener un balance a favor de una menor liberación de CO₂ al mismo tiempo que produce bioenergía.

Otra de las características destacadas de esta especie es que contiene cantidades considerables de compuestos polifenólicos, flavonoides y ácidos fenólicos. Todas las porciones de la planta han demostrado ser una rica fuente de nutraceuticos que pertenecen a diferentes clases de compuestos orgánicos como polifenoles, fructanos, flavonoides, antocianinas, triterpenos y sesquiterpenos (De Falco *et al.*, 2015). El potencial como cultivo oleaginoso en un sistema de cultivo perenne se

confirma en términos de contenido de aceite de semilla y composición de ácidos grasos, estrechamente relacionadas al del girasol. Si bien el éxito de esta aplicación radicaría en el rendimiento de las semillas, actualmente estimado en $1,3 \text{ t ha}^{-1}$ (Mancini *et al.*, 2019) y en el desarrollo de una cosechadora adecuada. Otra posibilidad podría ser cosechar toda la biomasa aérea y luego, en la planta de procesamiento de biomasa, usar una trilladora para separar las semillas de la biomasa lignocelulósica. De esta manera, el cultivo podría tener una doble aplicación; para energía y las semillas oleaginosas para la producción de aceite (Curt *et al.*, 2002). Por otro lado, la torta prensada que se obtiene como un subproducto del proceso de extracción de aceite contiene 50,1 % de carbono, 3,8 % de nitrógeno, 0,8 % de fósforo, 0,9 % de potasio y 5,1 % de cenizas (base de materia seca).

I.1.6. Uso de *Cynara* como fuente energética alternativa

Producción de energía

El posible uso de esta especie como un cultivo energético e industrial requiere la evaluación tanto de la biomasa total producida como de la biomasa de las hojas, tallos y capítulos porque las diferentes partes de la planta se caracterizan por una eficiencia disímil para la producción de energía (Curt *et al.*, 2005). Por otra parte, los rendimientos de biomasa seca de *Cynara cardunculus* var. *atilis* son muy variables en relación con las condiciones climáticas, técnicas de cultivo y genotipos comparados. Estudios realizados en Italia, Portugal y España informan

un rendimiento de biomasa seca que varía de 10 a 30 t ha⁻¹ debido a las diferencias entre los sistemas de producción (i.e. secano, riego, aplicación de fertilizantes) (Francaviglia *et al.*, 2016) lo cual indica la capacidad de respuesta de la especie ante una mejora ambiental. En cambio, el rendimiento de la var. *silvestris* oscila entre 8,5 y 18,5 (Piscioneri *et al.*, 2000).

La energía contenida en el material vegetal puede ser transformada en sólido (pellets), líquido (biodiesel o bioetanol) o gas (biogás). El principal problema de estos combustibles es la dificultad tecnológica en su producción, pudiendo seguir la transformación de la biomasa en una biorefinería por tres vías principales: pirólisis o licuefacción, hidrólisis y gasificación (Huber & Dumesic, 2006). La biomasa de *Cynara* tiene un alto contenido de materia volátil (más del 75 %), lo cual es un beneficio en la gasificación de biomasa y puede ser un primer paso para convertir la biomasa en biogás de síntesis. Por otro lado, diversos estudios han trabajado sobre el uso de la biomasa de *Cynara* como combustible sólido con muy buenos resultados. El procesamiento en pellets y briquetas se realiza para aumentar la densidad, la homogeneidad de la biomasa y para mejorar las operaciones de manipulación (Dahl & Obernberger, 2004). Como estos procesos consumen mucha energía, es necesario realizar un balance entre aportes y salidas. La eficiencia energética de la densificación logra cinco veces más energía (13,7 MJ kg⁻¹) que la utilizada en operaciones de campo y transformación (2,8 MJ kg⁻¹) (Ablanque *et al.*, 2014). La biomasa de *Cynara* ha mostrado un buen desempeño como materia prima para la producción de energía térmica con un

valor calorífico bruto entre 14,9 y 20,3 MJ kg⁻¹ (Fernández *et al.*, 2006; Gravalos *et al.*, 2016; Domínguez *et al.*, 2017)

El aceite de *Cynara* ha sido testeado para demostrar su viabilidad como materia prima para la producción de biodiesel, siendo obtenido por extracción Soxhlet, prensa mecánica y extracción de fluido supercrítico. Se han registrado rendimientos para el contenido de aceite que oscilaron entre 21.96 % y 28.81 %, mientras que el valor máximo registrado para una muestra de semilla fue 32.47 % (Benjelloun-Mlayah *et al.*, 1997; Curt *et al.*, 2002). La producción de biometano por fermentación es otra alternativa para la producción de biocombustibles. Según estudios realizados por (Pesce *et al.*, 2017), el cardo es un candidato genuino como fuente renovable de energía, cuando se considera desde el punto de vista de su rendimiento de biomasa como el potencial de biometano de su ensilaje a través de la digestión anaeróbica. El volumen de biometano producido por tonelada de materia seca (MS) fue comparable a los producidos por ensilaje de *Lolium multiflorum* (ryegrass) y *Triticum aestivum* (trigo). La elevada variabilidad fenotípica registrada para el rendimiento de biomasa total en genotipos de cardos, nos indica el potencial de mejora de este cultivo (Gominho *et al.*, 2018). Surge así el desafío para los fitomejoradores de desarrollar variedades de cardos para usos bioenergéticos, con elevados rendimientos de biomasa lignocelulósica y/o granos teniendo en cuenta la calidad de esta. El conjunto de antecedentes mencionados sobre la experiencia europea en esta especie sugiere la evaluación de la misma en la Argentina en especial como un cultivo alternativo en la región subhúmeda-semiárida.

I.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.

I.2.1. Objetivos

- I. Caracterizar y comparar la biomasa lignocelulósica de cuatro materiales de *Cynara cardunculus* en cuanto a su morfología, rendimiento y composición con potenciales fines bioenergéticos.
- II. Evaluar diferencias entre los distintos estratos de la planta en cuanto a su rendimiento y calidad lignocelulósica.

I.2.2 Hipótesis

- I. Poblaciones con mayor altura y menos ramificaciones y mayor relación hoja/tallo, serían mejores para la producción de biomasa lignocelulósica con fines energéticos.
- II. Diferencias en la relación hoja/tallo por estratos explican la variabilidad de rendimiento en biomasa acumulada independientemente de la altura de la planta.

I.3. MATERIALES Y MÉTODOS.

I.3.1. Material genético evaluado.

Se evaluaron tres procedencias de *Cynara Cardunculus var sylvestris* provenientes de dos bancos poblacionales distintos de la Provincia de Buenos Aires (Población G, Población V), uno de semillas recolectadas en Italia (Población S, Imagen 2) y uno de *C. cardunculus var. altilis* originaria de Italia (Población A, Imagen 1) (semillas donadas por el Dr Racchia, CNR Italia). La Población S se originó a partir de aquenios enviados por el Dr Puglia (CNR, Italia) recogidos en Centuripe a 300 m ASL en la Isla de Sicilia (Italia). La población V (Imagen 3), se recolectó en la zona de Abasto (latitud 35° 05' S, longitud 58° 110' O). La Población G (Imagen 4) proviene de Olavarría (latitud 37° S, longitud 60° 350' O). Los aquenios fueron recolectados de plantas seleccionadas al azar y agrupados para obtener muestras experimentales.

Población	Nombre científico	Origen	Características morfológicas
G	<i>Cynara Cardunculus var sylvestris</i>	Olavarría, Argentina	Hojas de gran tamaño profundamente divididas de coloración grisácea, espinosas. Tallo con espinas. Altura superior a 1,5 mts. Capítulos medianos. Alta RHT.
V	<i>Cynara Cardunculus</i>	Abasto,	Follaje de coloración verdosa,

	<i>var sylvestris</i>	Argentina	hojas y tallo con espinas. Altura de planta promedio de 1,5 mts. Alto número de ramificaciones y de capítulos pequeños. Alto lcap. Alta biomasa aérea.
S	<i>Cynara Cardunculus</i> <i>var sylvestris</i>	Sicilia, Italia	Follaje verde oscuro. Plantas con espinas en borde de hojas y tallos. Altura de planta promedio de 1 mt. Poco ramificadas y bajo número de capítulos.
A	<i>C. cardunculus</i> var. <i>altilis</i>	Sicilia, Italia	Plantas glabras de color grisáceo con envés blanquecino, pinnadas profundamente divididas. Altura de planta superior a 1,5 mts. Capítulos de importante tamaño. Alta biomasa aérea.

Tabla 1. Resumen descriptivo de las 4 poblaciones utilizadas en el experimento. Población, Nombre científico, origen y características morfológicas.



Imagen 1. *Cynara cardunculus* var *sylvestris*. Población G.



Imagen 2. *Cynara cardunculus* var *sylvestris*. Población V.



Imagen 3. *Cynara cardunculus* var *sylvestris*. Población S.



Imagen 4. *Cynara cardunculus* var *altilis* Población A.

I.3.2. Caracterización ambiental del ensayo.

Ubicación geográfica

El ensayo se realizó en la campaña 2019/2020 en el predio experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias perteneciente a la Universidad Nacional de Lomas de Zamora, situada en la localidad de Llavallol, partido de Lomas de Zamora, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Lat. 34° 20.6' S – 58° 26' 58.7 O).



Imagen 5. Imagen satelital del predio experimental ubicado en la localidad de Lomas de Zamora.

Ref.: Señalado con rojo se delimita el ensayo de *Cynara*. (Fuente: Google. (s.f.). [Mapa de Llavallol, Buenos Aires en Google maps]. Recuperado el 4 de julio, 2020.

Características edáficas.

El ensayo se realizó en un suelo bajo historia agrícola-pastoril de más de 80 años de antigüedad. Las muestras indican que es un suelo de textura fina, moderadamente bien drenado, con relieve normal y una pendiente media del 1 %.

La clase textural identificada para el sector es franco arcilloso. La reacción en todo el perfil es de neutra a ligeramente ácida y presenta moderados rasgos de hidromorfismo en el horizonte B (Rodríguez *et al.*, 2019; Prack Mc Cormick *et al.*, 2019). El contenido de materia orgánica del suelo fue de 3,17 % con un pH de 6,25. Las principales características químicas obtenidas a partir del análisis a 20 cm de profundidad en un ensayo de la parcela se encuentran en la tabla I.

Variable	Unidad	Valores
Profundidad	Cm	0-20
Conduct. Eléctrica	DmS. cm	0,06
pH actual 1:2.5 agua	unid pH	6,06
Materia Orgánica	% p/p	3,17
Carbono Orgánico	% p/p	1,84
Nitrógeno Orgánico	% p/p	0,20
C/N	s/u	9,2
Fósforo extractable	mg/kg	20,0

Tabla 2. Análisis de suelo realizado por el Laboratorio de Suelos FCA-UNLZ.

Características climáticas

Para la caracterización meteorológica (Gráfico 1) se utilizó la base de datos agrometeorológicos diarios otorgada por la Cátedra de Agroclimatología de la FCA-UNLZ (precipitación, temperatura media, máxima y mínima bajo abrigo meteorológico) de la estación meteorológica automática Nimbus THP (Identificador: A872810) localizada en el predio de la Facultad de Cs. Agrarias de

UNLZ (Latitud -34,78 y longitud -58,45) correspondiente al período de estudio (año 2019-2020). Correspondientes a los meses comprendidos entre enero del 2019 hasta enero del 2020, la temperatura media durante el período de evaluación fue de 18,07°C, la temperatura máxima promedio de 24,55 °C y la mínima media 12,78 °C, con valores máximos y mínimos extremos de 38,90 °C y -2,40 °C respectivamente. En relación a las precipitaciones, el valor acumulado anual fue de 1038 mm. La frecuencia de las precipitaciones, demuestra que fue abundante en la mayoría de los meses del año. Solo en los meses de febrero, abril, agosto y noviembre las lluvias no superaron los 50 mm mensuales. Los valores más altos estuvieron concentrados en los meses de junio y octubre en los cuales se superó la barrera de los 150 mm acumulados mensuales.

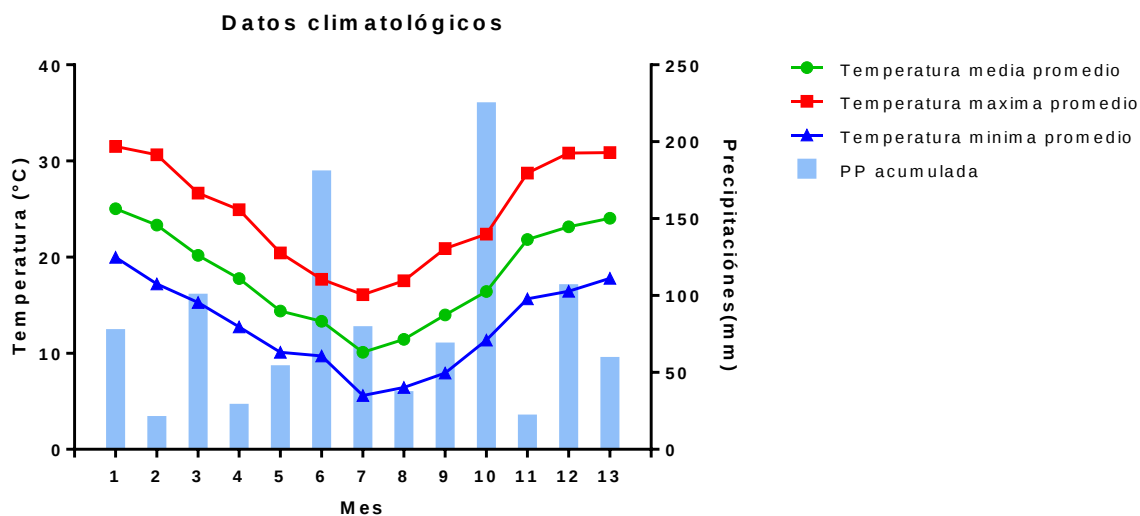


Gráfico 1. Condiciones meteorológicas del ensayo obtenidas de estación meteorológica automática Nimbus THP (Identificador: A872810) localizada en el predio de la Facultad de Cs. Agrarias de UNLZ.

Ref.: Azul: Temperatura mínima promedio del aire. Rojo: temperatura máxima promedio del aire. Verde: Temperatura media del aire. Barras celestes: precipitaciones mensuales acumuladas. Fuente: elaboración propia a partir de datos extraídos de <http://siga2.inta.gov.ar>.

I.3.3. Manejo del cultivo y diseño experimental

El experimento se llevó a cabo sobre plantas que se encontraban dentro de su tercer año desde la siembra, ya que durante el primer año las plantas no florecen y producen bajos volúmenes de biomasa. La unidad experimental posee un marco de plantación de 1m entre hilera y 1m entre surco, con una densidad teórica de 10.000 pl ha⁻¹, valor al cual se refirieron todos los valores de rendimiento. Las plantas fueron sembradas en macetas de ½ l en invernáculo, se realizaron raleos dejando una planta por envase, y luego con un crecimiento adecuado, fueron trasplantadas a macetas de 18 l y rustificadas a la intemperie. Una vez que obtuvieron un desarrollo considerable fueron plantadas en la parcela experimental. Durante los primeros meses de plantación se realizaron controles con herbicidas para eliminar la competencia por recursos. Esta especie a partir del segundo año se comporta como un hábil competidor. Para emular condiciones ambientales naturales ya que este cultivo se encuentra naturalizado en la zona, no se realizaron intervenciones fitosanitarias o adición de nutrientes para garantizar el desarrollo potencial.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial con tres repeticiones, donde el factor principal fueron las variedades y el secundario los estratos (altura).

I.3.4. Mediciones y actividades a campo.

El muestreo se llevó a cabo dividiendo la altura total de la planta en 3 estratos (50cm de sección aproximadamente), inferior, medio y superior (sin capítulo), para determinar la biomasa producida discriminada en altura. La cosecha se efectuó cuando la planta se encontró en el estadio 89 (mayoría de capítulos abiertos, brácteas amarillas o marrones, secas y senescentes. Semillas completamente maduras) de madurez utilizando la escala BBCH (Hack *et al.*, 1992). (Ver Anexo A.3). Previo la cosecha, se registraron las siguientes variables morfológicas:

- a) Altura de planta (Altura, cm): Altura hasta la inserción del capítulo más alto.
- b) Diámetro de tallo principal (v , cm),
- c) Número de ramificaciones ($NRamas\ pl^{-1}$)
- d) Número de capítulos por planta ($NCap.pl^{-1}$).

Luego, se despojaron los capítulos para estimar por separado las variables relacionadas a la fracción reproductiva (grano) y vegetativa (tallo y hojas). De cada población, se cosecharon 3 plantas al azar y se evaluó únicamente el tallo principal de cada planta para poder comparar entre individuos. Cada estrato se procesó por separado la fracción tallo (subíndice t) de la fracción hoja (subíndice h) y por sumatoria de ambas se obtuvo la fracción tallo + hojas (subíndice $t+h$). El rendimiento en materia seca ($RMS, t\ ha^{-1}$) de cada porción y el total se calculó realizando el ajuste correspondiente por contenido de Materia Seca ($MS, \%$), el

cual se describe en Análisis de la calidad de la biomasa en laboratorio. Al mismo tiempo, se calcularon las siguientes variables:

a) Índice de capítulo (ICap, %):

$$ICap (\%) = \frac{RMScap}{RMSpC}$$

b) Relación hojas/tallo (Rel H/T, %):

$$Rel \frac{H}{T} (\%) = \frac{RMSh}{RMSt}$$

c) Número de granos por capítulo (granos cap⁻¹)

d) Peso de mil (Pmil, g)

e) Rendimiento en grano (Rg, t ha⁻¹)

f) Índice de cosecha (IC):

$$IC (\%) = \frac{RG (tn. ha^{-1})}{RMS (tn. ha^{-1})}$$

La humedad de los granos fue estimada por diferencia de peso por secado en estufa.

I.3.5. Análisis de calidad de la biomasa en laboratorio.

Las muestras fueron secadas en una estufa de ventilación forzada a 60 °C, hasta peso constante. Posteriormente cada muestra fue molida a 1 mm y se determinó la calidad en el laboratorio NIRS de la FCA-UNLZ. Los análisis del laboratorio húmedo se basaron en las metodologías propuestas por la A.O.A.C. (*Association of Official Analytical Chemists*, 1990), los protocolos detallados se encuentran en el sitio web oficial de ANKOM Technology (<https://www.ankom.com/analytical->

methods-support/fiber-analyzer-a2000). Todas las fracciones de química húmeda, FDN, FDA y LDA, se estimaron utilizando bolsas de P.E.T. (Tereftalato de polietileno) en el analizador de fibra ANKOM 220 (ANKOM *Technology*, Macedon, NY, EE.UU.).

Para la determinación de FDN que contiene las fracciones de Celulosa + Hemicelulosa + Lignina, se pesaron $0,500 \pm 0,005$ g del material en las bolsas de P.E.T. previamente taradas en balanza analítica. Las muestras de 0,500 g, fueron selladas con calor y colocadas en las bandejas del analizador de fibra. Las bolsas se sometieron a una solución de detergente neutro (lauril sulfato + etilen diamino tetra acetato di sódico (EDTA sal) + sodio borato decahidro (Borax) + sodio fosfato di básico + trietilglicol + agua destilada) por 60 minutos a 100°C en agitación dentro del analizador de fibra ANKON 220. Una vez finalizado el proceso, se descargó el detergente neutro por la manguera de drenaje del equipo y se procedió a retirar las bolsas, las cuales inmediatamente se presionaron en un colador para retirar restos de detergente contenido en el interior de las mismas. Luego, las bolsas se sumergieron en acetona durante 3 minutos para favorecer el secado y se extrajo la acetona utilizando la misma prensa/colador. Se dejaron secar al aire y una vez secas, se llevaron para culminar el secado a estufa de aire forzado a 65°C durante 48 hs aproximadamente hasta alcanzar peso constante (AOAC, 1990).

El cálculo de FDN se realizó por diferencia de pesadas según la siguiente ecuación:

$$FDN (\%) = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso de la bolsa}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

Para la variable FDA, que comprende las fracciones Celulosa + Lignina, las muestras provenientes de FDN, una vez pesadas en seco, se sometieron a una solución de detergente ácido (H₂SO₄ + cetrimida + agua destilada) durante 60 minutos a 100°C en agitación, en el mismo analizador ANKOM 220. Se procedió de igual modo que para el análisis anterior.

El cálculo de FDA se realizó por diferencia de pesadas según la siguiente ecuación:

$$FDA(\%) = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso de la bolsa}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

La LDA (Lignina), se obtuvo tratando el residuo insoluble ácido de las muestras de FDA con ácido sulfúrico al 72 % durante 3 horas, en un cristizador o recipiente de vidrio profundo de modo de embeber completamente las muestras y revolviendo a intervalos regulares de tiempo, preferentemente cada 30 minutos. Luego, se retiraron las muestras y presionaron utilizando la prensa o colador para eliminar el ácido dentro de las bolsas. Se lavaron con agua destilada para remover los restos del ácido y se sumergieron durante 3 minutos en acetona. Se extrajo la acetona y se secaron hasta peso constante como en los análisis anteriores. El residuo de la extracción es la lignina.

El cálculo de LDA se realizó por diferencia de pesadas según la siguiente ecuación:

$$LDA(\%) = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso de la bolsa}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

Dado que se utilizó la metodología secuencial para el análisis de las fracciones analíticas de la fibra (la misma muestra de FDN luego fue utilizada para determinar FDA y luego LDA), se estimaron los contenidos de celulosa, hemicelulosa y lignina por diferencia entre los porcentajes de las fracciones. El contenido de celulosa (Cel, %) fue determinado como el porcentaje de tejido remanente al realizar la diferencia entre (FDA-LDA), mientras que la hemicelulosa (HEM, %) resultó de realizar la diferencia entre (FDN-FDA) (Goering y Van Soest, 1970). Estas variables fueron necesarias para poder calcular el rendimiento en etanol teórico potencial del rastrojo (RETP, mil l/ha) mediante la siguiente ecuación utilizada por Zhao *et al.* (2009):

$$RETP \left(\frac{\text{mil l}}{\text{ha}} \right) = (Cel + Hem) * RMSr * 1,11 * 0,85 * 0,51 * 0,85 * (1000|0,79)$$

Donde:

CEL = Contenido de celulosa (%).

HEM = Contenido de hemicelulosa (%).

RMS = Rendimiento en materia seca de rastrojo (t ha⁻¹).

1,11 = Factor de conversión de celulosa y hemicelulosa en azúcar.

0,85 = Eficiencia del pasaje de celulosa y hemicelulosa a azúcar.

0,51 = Factor de conversión de azúcar en etanol.

0,85 = Eficiencia del pasaje de azúcar en etanol.

1000/0,79 = Peso específico del etanol (g ml⁻¹).

EL valor de ETP surge de no corregir los valores de calidad por el rendimiento de la biomasa lignocelulósica (RMS t ha⁻¹).

I.3.6. Análisis estadístico.

Los datos recolectados del ensayo fueron analizados estadísticamente mediante el uso de los programas Infostat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011) y GraphPad Prism 6 versión 6.01 (Dennis Radushev *et al.*, 2012). Para la caracterización y comparación de las poblaciones se utilizó un DCA con tres repeticiones y se evaluaron las variables correspondientes a cada fracción sin las divisiones por estratos. Para el análisis de los estratos, se utilizó un Diseño completamente Aleatorizado (DCA), con arreglo factorial y 3 repeticiones, donde los factores fueron las poblaciones y los estratos. Para las variables morfológicas, de rendimiento y calidad evaluadas, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para cada fracción de biomasa (tallos, hojas y hojas+tallos) para los factores Población y Estratos, utilizándose un nivel de significación de $p < 0,01$. Se empleó un Test de comparación de medias de Tukey para determinar grupos homogéneos. Además, se ejecutó un análisis de regresión lineal múltiple para estimar la relación entre la variable dependiente de biomasa total y las variables independientes tallos, hojas y pesos de capítulos. El modelo de regresión fue el siguiente:

$$Y = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3$$

donde Y = variable dependiente; α = interceptar; $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ = coeficientes de regresión parcial; x_1, x_2, x_3 = variables independientes. Se efectuó el mismo análisis para comparar el peso de capítulos (variable dependiente) respecto de la porción vegetativa para establecer el I_{cap} .

Asimismo, se utilizó un análisis de correlación entre el RMSe y las variables de rendimiento y calidad bioenergética de la biomasa aérea (RMSt, RMSH, Cel, Hcel y ETP).

Finalmente, para clasificar a las poblaciones, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (CP) de las variables de rendimiento y calidad.

Capítulo II

Caracterización y comparación de la aptitud bioenergética de la biomasa lignocelulósica de cuatro poblaciones de *Cynara cardunculus*

II.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.1.1. Variables relacionadas con la fracción vegetativa y reproductiva.

Los resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) arrojaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre poblaciones para las variables de Altura, Diámetro, RHT, Ncap, RMSt y RMSH (Gráfico 2). Las variables que no presentaron diferencias significativas fueron Ncap, PST1, PST2, PSH1, PST2, PST3 entre poblaciones. La población S es la única que se diferencia en Altura, RHT, RMSH y RMSt y fue la que presentó menor altura, menor RHT y los rendimientos más bajos. Por tal motivo fueron comparadas las poblaciones en RMSt+h en el Gráfico 2, en el cual se aprecian las diferencias significativas de las 4 poblaciones. La var. *atilis* presentó los mayores valores de RMSt+h, con una media de $10,31 \text{ t ha}^{-1}$ y un máximo de $12,12 \text{ t ha}^{-1}$ (Ver Gráfico 1). Estos resultados coinciden con diversos autores (Foti *et al.*, 1999; Francaviglia *et al.*, 2006), que encontraron que el cardo cultivado (var. *atilis*) suele presentar mayores rendimientos de biomasa que los cultivares hortícolas (var. *scolymus*) o ecotipos silvestres (var. *sylvestris*) de cardo. Se reportan rendimientos de $13,9 \text{ t ha}^{-1}$ en la primera cosecha y de $5,1 \text{ t ha}^{-1}$ en la quinta (Gherbin *et al.*, 2013), mientras que (Angelini *et al.*, 2009) observaron rendimientos de $19 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ para la variedad *atilis*. Aunque estudios

demuestran que el factor principal del rendimiento son las precipitaciones (Fernández *et.al.*, 2005).

La variabilidad observada entre las poblaciones sugiere que podría ser posible desarrollar cultivares adecuados para diferentes objetivos de cultivo.

El RETP osciló entre valores medios de 1860 l ha⁻¹ para la población A y 576 l ha⁻¹ para la población S con extremos de 2126 l ha⁻¹ y 546 l ha⁻¹. Sin embargo, la población S, arrojó los mayores valores de ETP en l tMS⁻¹ (316 l tMS⁻¹). Las diferencias se deben a la calidad lignocelulósica de cada variedad. Estos resultados van en concordancia con lo citado por Fernandes *et al.* (2015) quienes obtuvieron valores del orden de 341,77 l tMS⁻¹.

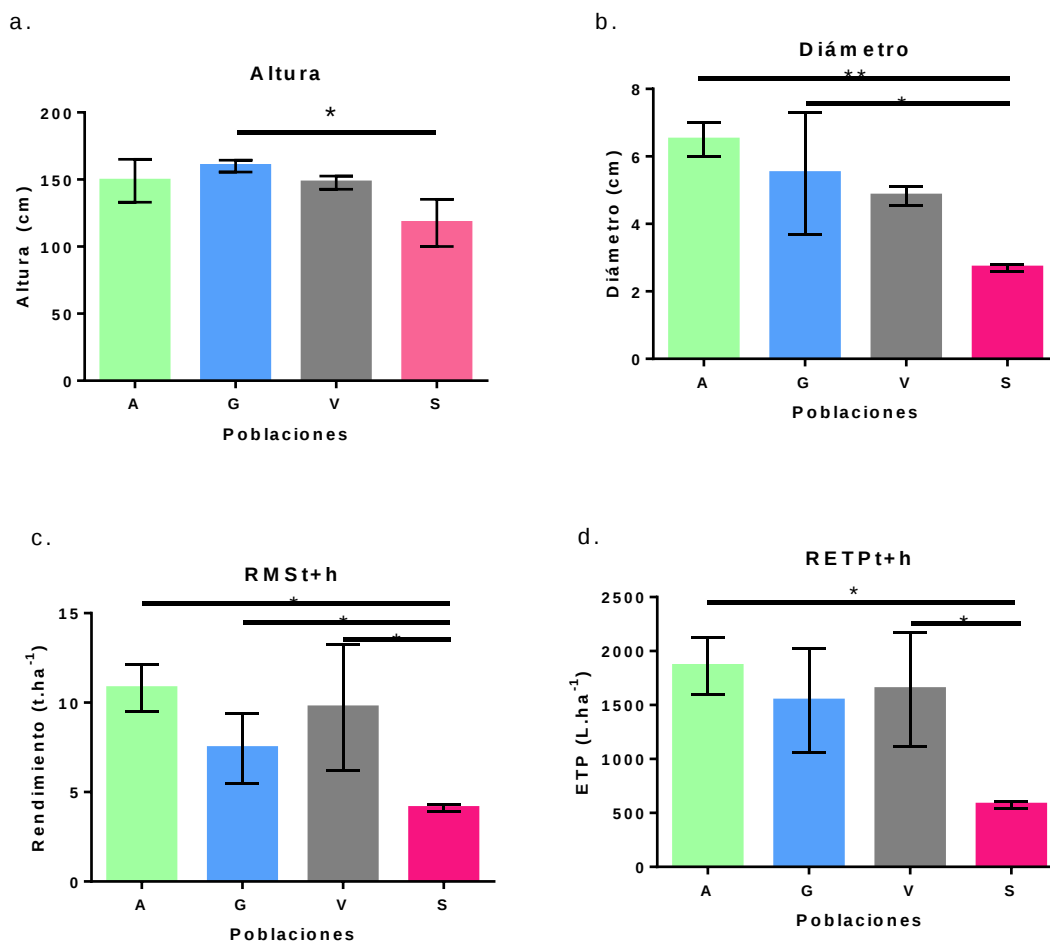


Gráfico 2. Valores medios para cada población para las variables morfológicas y de Rendimiento lignocelulósico.

Ref.: Altura (cm), Diámetro (cm), Rendimiento en materia seca de tallo +hojas (RMSt+h, t ha⁻¹) y Rendimiento en Etanol Teórico Potencial (l ha⁻¹) que presentaron diferencias significativas entre poblaciones. Un asterisco (*) designa diferencias significativas a un 5 % (P<0,05), dos asteriscos (**) designan diferencias significativas al 1 % (P<0,01) evaluadas mediante Test de Tukey.

Cuando se comparan las poblaciones de acuerdo con la partición de la biomasa aérea entre tallo, hojas y capítulos, se aprecian diferencias significativas (p<0,05) (Gráfico 3). La Población G se destaca por destinar mayor materia seca a la fracción hoja, mientras que el Población S por destinar mayores recursos a la fracción reproductiva. No se encontraron diferencias significativas en la partición a tallo entre las tres poblaciones de mayor producción de biomasa aérea (Población

A, Población G y Población V). La Población V posee una tendencia a particionar más a grano respecto de las otras dos poblaciones más rendidoras en materia seca. La partición de los tres componentes de la biomasa aérea se asemeja en la Población A y Población V, las cuales han mostrado los mayores RMSt+h.

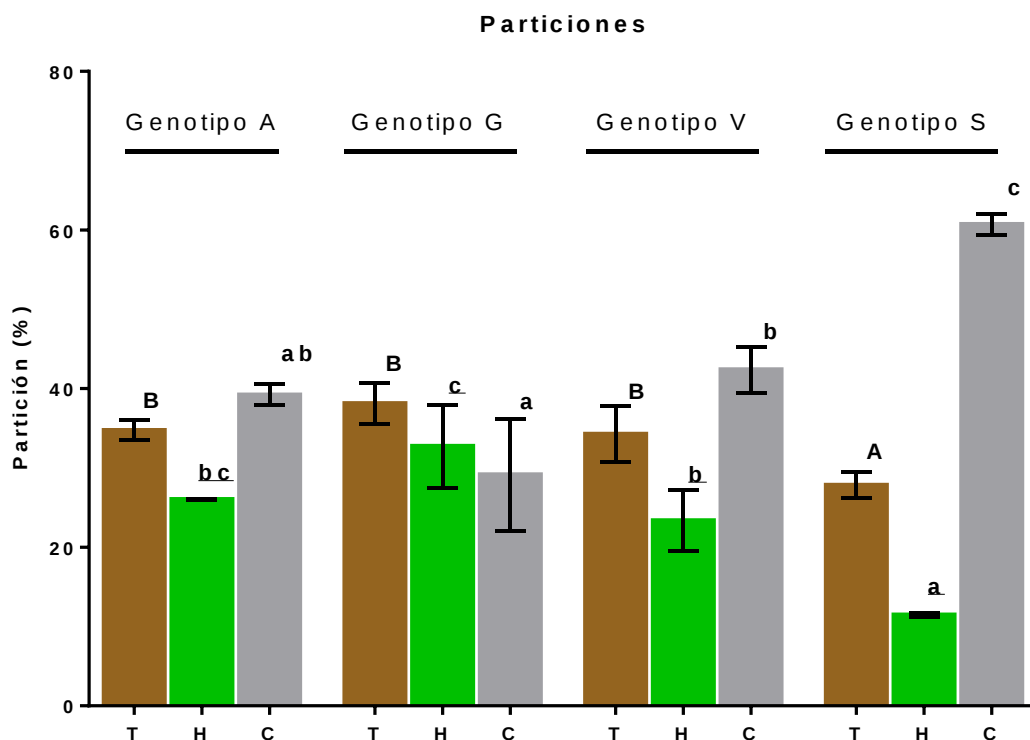


Gráfico 3. Partición de biomasa aérea de cuatro poblaciones de *Cynara cardunculus* divididos en hojas (H, %), tallos (T, %) y capítulos (C, %).

Ref.: Diferentes letras en mayúscula indican significancia ($P \leq 0.05$) en fracción tallo, diferentes letras en minúscula indican significancia ($P \leq 0.05$) en fracción hoja y diferentes letras en minúscula subrayada indican significancia ($P \leq 0.05$) en fracción capítulo en la prueba de Test de Tukey.

Los valores de Rg fueron de 2,12 t ha⁻¹ para la Población A y 0,49 t ha⁻¹ para la Población S (Gráfico 4) con valores extremos de 3,15 t ha⁻¹ y 0,35 t ha⁻¹. Diversos autores (Gominho *et al.*, 2018; Gherbin *et al.*, 2013; Ottaiano *et al.*, 2017), han encontrado rendimientos similares, con rendimientos de granos en el rango de 0,6

a $4,3 \text{ t ha}^{-1}$. El rendimiento del grano se ha relacionado con las características de la planta: por ejemplo, se encontró una relación directa entre el crecimiento del cultivo (o el rendimiento de biomasa) y el número de capítulos por planta, el tamaño del capítulo y la relación peso semilla / capítulo, mientras que el contenido de aceite de la semilla fue constante a través de diferentes tamaños de semillas (Raccuia *et al.*, 2012).

Los resultados del Análisis de Varianza para los componentes reproductivos Rg, P1000, Ngranos, Granos/cap e lcap muestran diferencias significativas entre las cuatro variedades. En el Gráfico 3 se aprecia que el P1000 (40 g) de la Población A tiene diferencias significativas de primer, segundo y tercer orden con las demás poblaciones. Se destacan las poblaciones A y V como las mayores productoras de grano. La Población S se diferencia por poseer el menor rendimiento en grano (Rg), junto con el Población G debido a un bajo Ngranos. En el análisis de correlación, el Ngranos es el componente de rendimiento de mayor peso ($r = 0,95$). Por otro lado, las Poblaciones V y S no presentaron diferencias significativas en el Peso del grano, pero sí en Rg. El número de ramificaciones se encuentra altamente correlacionado con el número de capítulos ($r = 0,92$) y a su vez también lo estuvo el Ncapítulos con el Ngranos ($r = 0,95$). Por lo tanto, plantas más ramificadas tendrían un mayor potencial de rendimiento en granos, lo cual corrobora al verificar que el Nramas se correlaciona positivamente con el Rg ($r = 0,62$). El Ngranos/cap también presentó diferencias significativas al igual que el lcap donde se destacaron las poblaciones A y V como superiores. Esto indicaría que los mayores rendimientos podrían ser explicados por un mayor tamaño de capítulos, hecho que determinaría un mayor número de granos por planta.

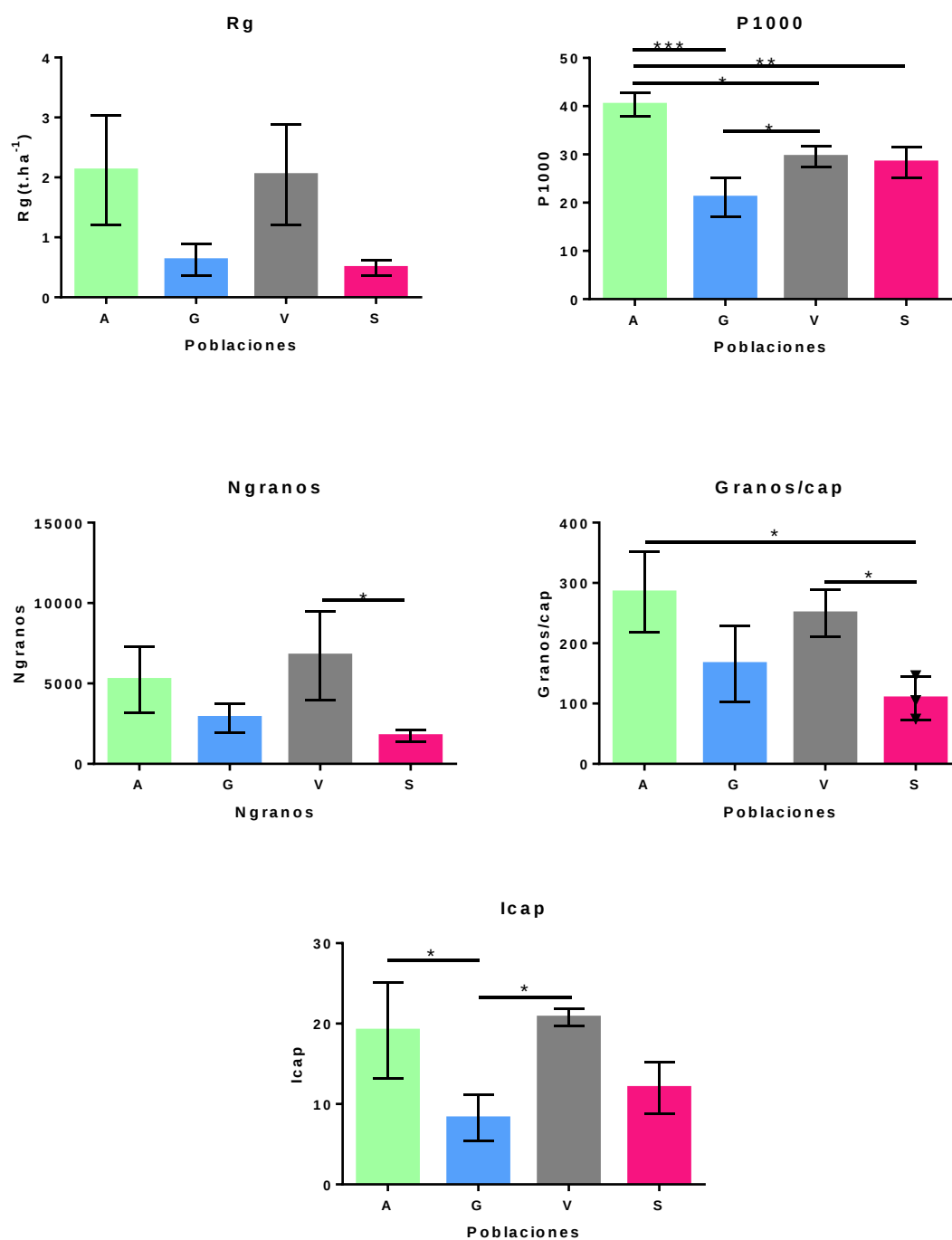


Gráfico 4. Variables reproductivas que presentaron diferencias significativas entre las 4 poblaciones de *Cynara*.

Ref. Un asterisco (*) designa diferencias significativas a un 5 % ($P < 0,05$), dos asteriscos (**) designan diferencias significativas al 1 % ($P < 0,01$) y tres asteriscos (***) designan diferencias significativas al 0,1 % ($P < 0,001$) evaluadas mediante Test de Tukey.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el análisis de correlación entre Altura y RHT indicaron que poblaciones con mayor altura poseen una mayor RHT ($r = 0,73$). Aunque cuando se realiza el estudio por estrato, resultó ser que el inferior es el que posee una mayor RHT.

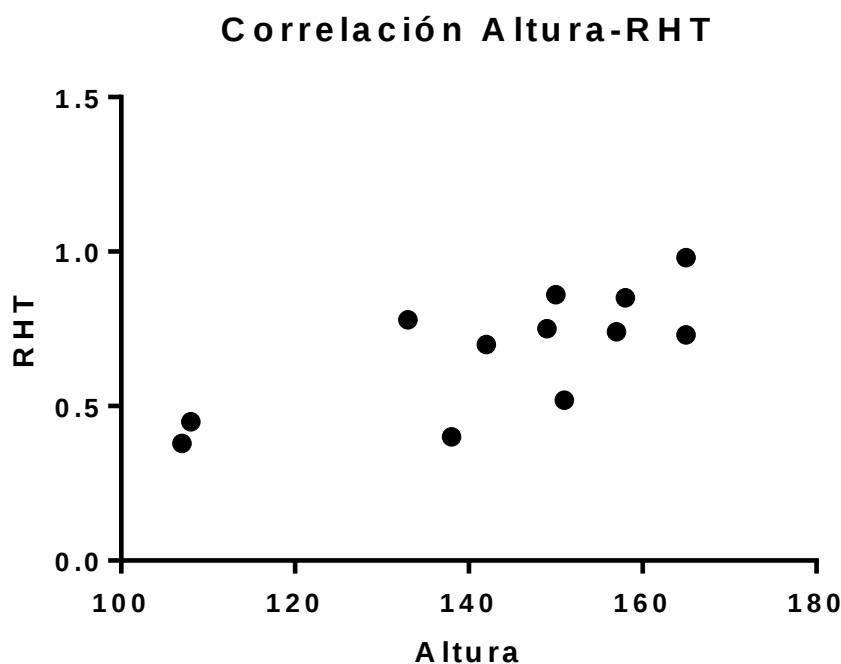


Gráfico 5. Correlación entre variable Altura y RHT utilizando las poblaciones como un conjunto.

II.1.2. Variables relacionadas con la calidad de la biomasa lignocelulósica.

El Análisis de Varianza (ANOVA) para las variables de calidad de la biomasa lignocelulósica indica que no hubo diferencias significativas en los contenidos de CEL, HEM, LDA en planta entera (tallo+hojas) entre las cuatro poblaciones (Gráfico 6.a.).

El Gráfico 6.b., que ordena las variables de calidad lignocelulósica por fracción tallo y fracción hoja. Se realizaron análisis de T de Student en cada partición, los cuales indicaron diferencias significativas entre medias. La proporción de CEL en hoja posee un valor medio de 24,65 - 46,62 % en tallo. Mientras que el contenido de Hem fue de 22,38 - 16,44 % para hoja y tallo. Por último, el valor de LIG en hoja y tallo fue de 15,80 % y 11,53 %. Nuestros datos coinciden con los contenidos de fibra encontrados para CEL, entre 25,8 - 16 % (Fernández *et al.*, 1996) para hoja y 55,2 - 46,8 % en tallo (Gominho *et al.*, 2018). Por otro lado, la HEM presentó valores superiores a los encontrados por otros autores en el orden del 11,6 % para las hojas y 17,9 - 27,0% (Lourenço *et al.*, 2017) para el tallo. Los valores de LIG, también difieren, ya que encontramos inferiores a los citados que oscilan entre 8,9 -10,2 % (Foti *et al.* 1999; Pereira *et al.*, 1994) para las hojas y del 28,8 - 13,3 % para la porción tallo (Ballesteros *et al.*, 2007; Antunes *et al.*, 2000; Lourenço *et al.* 2017).

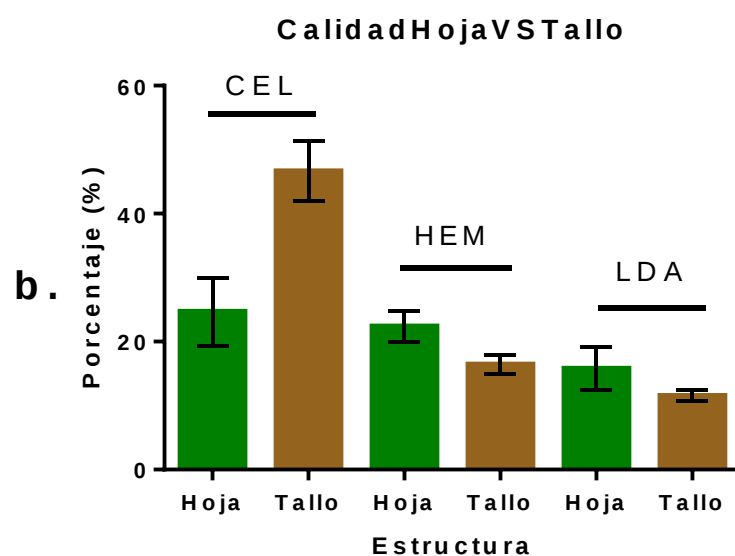
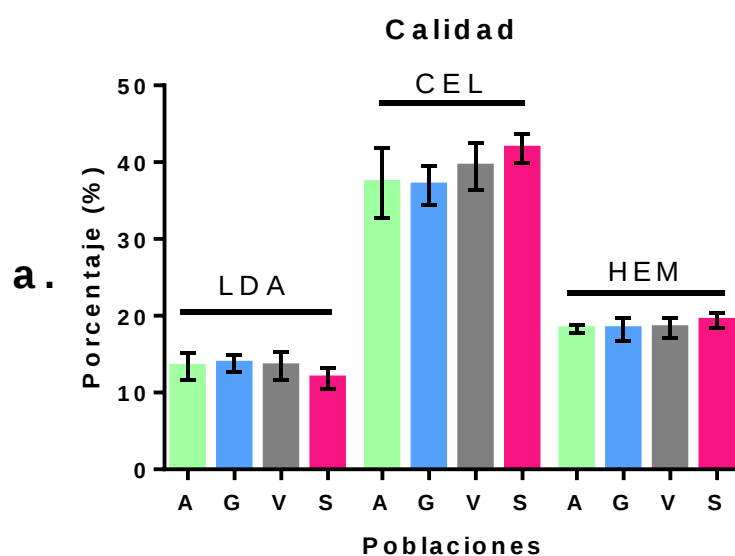


Gráfico 6. Valores medios y desvíos estándar de las variables de calidad lignocelulósica de planta entera. a. Variables de calidad lignocelulósica de planta entera para cada población. b. Calidad media de las 4 poblaciones de la fracción hoja y tallo.

Al realizarse un estudio particionado de la calidad lignocelulósica de tallo y hoja de planta entera, se presentaron diferencias entre medias estudiadas mediante Test de Tukey ($p > 0,05$). Tal como sucede en el caso de CELt, HEMt, LIGt y HEMh (ver Gráfico 7) donde se destaca el alto porcentaje de hemicelulosa en hoja y tallo de la población S. El contenido de CELh y LIGh permanece con valores constantes en las cuatro poblaciones mientras que, si se enfoca en la porción de tallo, se observan diferencias significativas en los tres tipos de fibra. Estas diferencias en porcentajes de fibras justifican los distintos rendimientos en Etanol Teórico Potencial por kilogramo de materia seca.

Si se compara el RMSt+h con las variables de calidad lignocelulósica se aprecia que existe una fuerte correlación negativa con CELt (-0,65), HEMh (-0,85), HEMt (-0,75) mientras que con LIG tiene una baja correlación positiva (0,5) (Tabla A.2). Los resultados sugieren que las poblaciones con mayor rendimiento en materia seca se logran con un demérito en la calidad del material lignocelulósico para la producción de bioetanol.

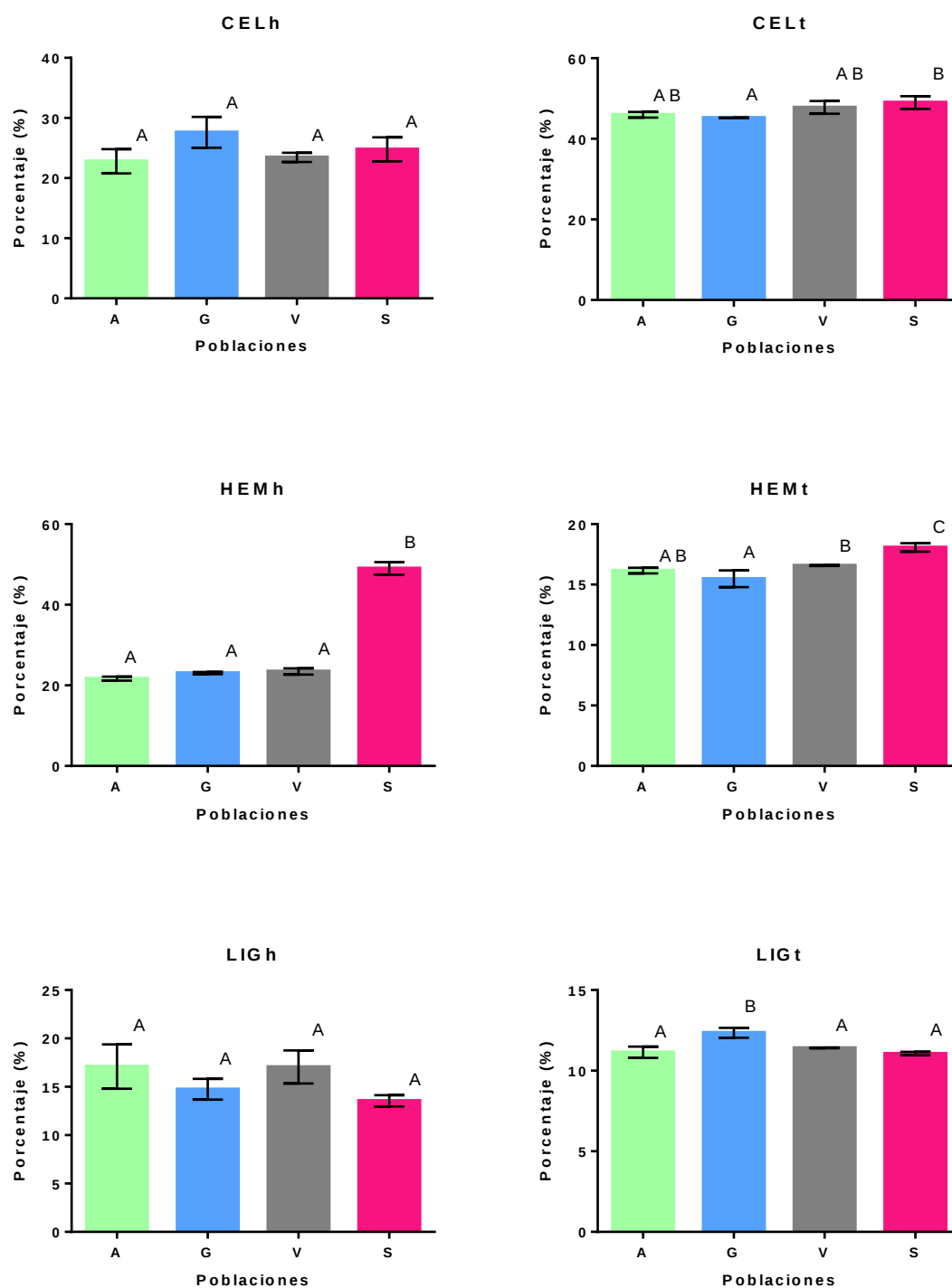


Gráfico 7. Variables de calidad de planta entera (celulosa, hemicelulosa y lignina de la porción tallo y hoja) de las 4 poblaciones de *Cynara*.

Ref.: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) evaluadas mediante Test de Tukey.

Los resultados obtenidos mediante el Análisis de Componentes Principales manifestaron que el CP1 y CP2 explican el 52,0 % y 25,2 % respectivamente, de la variabilidad total, incluyendo variables de rendimiento y calidad de la planta entera, vegetativas y reproductivas. Las variables que presentaron mayor influencia sobre el componente CP1 (en orden de importancia) fueron RMS_h (0,97), ET_{Pe} (0,93), Altura (0,86), RM_{St} (0,88), Diámetro (0,80), RHT (0,79), y mientras que con signo negativo fueron HEM_h (-0,95), HEM_t (-0,89) y CEL_t (-0,76) (Tabla 3). Esto demuestra que el CP1 es un contraste entre rendimiento y calidad de la biomasa. Por otro lado, el CP2 posee un mayor peso de las variables CEL_h (0,88) y LIG_t (0,86) ubicadas en el cuadrante superior, mientras que con signo opuesto predominan R_g (-0,76) y P1000 (-0,72) lo cual señala una oposición entre rendimiento de grano y calidad de la biomasa lignocelulósica. La correlación cofenética fue de 0,939, valor que indica que existe una buena estructura jerárquica entre los elementos analizados (Sokal y Rohlf, 1962).

Variables	CP 1	CP 2
<i>Altura</i>	0,86	0,14
<i>Diametro</i>	0,80	0,14
<i>Ncap</i>	0,29	-0,43
<i>RHT</i>	0,79	0,40
<i>RMSt</i>	0,88	-0,34
<i>RMS_h</i>	0,97	-0,03
<i>CEL_h</i>	-0,04	0,88
<i>CEL_t</i>	-0,76	-0,36
<i>HEM_h</i>	-0,95	-0,02
<i>HEM_t</i>	-0,89	-0,42
<i>LIG_h</i>	0,53	-0,56
<i>LIG_t</i>	0,43	0,86
<i>ET_{Pe}</i>	0,93	-0,21
<i>R_g</i>	0,59	-0,76
<i>P1000</i>	0,21	-0,72
Correlación cofenética= 0,939		

Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales. Correlaciones con las variables originales

En el Gráfico 8 se observan los vectores (variables) con mayor longitud paralelos al eje correspondiente al CP1 tales como Diámetro y RHT, ubicados en el cuadrante superior. Altura, RMSH, ETPe y RMSt se encuentran en el cuadrante inferior derecho. Éstas han sido las variables más determinantes para la creación del componente principal. Al mismo tiempo, la variable HEMh ubicada en el lado izquierdo del eje vertical es la que más ha contribuido en el CP1, seguida por HEMt y CELt. Los ángulos opuestos entre las variables a ambos lados del eje vertical representan una correlación negativa. Por otro lado, la fuente de variación secundaria (CP2) está gobernada por CELh y LIGt ubicadas en el cuadrante superior, a la izquierda y derecha respectivamente y por P1000, Ncap y Rg en el sector derecho inferior. Las variables ubicadas en este cuadrante posiblemente se encuentren altamente correlacionadas debido a que todas se relacionan con los granos. Cabe destacar que la generalidad de los vectores (12 variables) se dirige hacia el cuadrante derecho, más fuertemente hacia el inferior (8 variables). Los ángulos cerrados que presentan los distintos vectores indican posibles correlaciones entre variables.

En cuanto a los *scores* (observaciones) se aprecian agrupamientos por Población en los distintos cuadrantes, lo que indica que las observaciones poseen similares características. El *cluster* de Población S es el único que se sitúa en el cuadrante izquierdo, quedando totalmente diferenciado. Las Poblaciones G, A y S se ubican en el cuadrante derecho, el primero de ellos se distingue agrupado en el cuadrante

superior y el tercero en el inferior. El *cluster* de datos de la población A acompaña a las variables relacionadas con el rendimiento de materia seca y potencial de bioetanol, tales como el Diámetro, Altura, RMSh, RMSt y ETPe. Esto implicaría aptitudes destacables frente al resto de las poblaciones en sentido a un mayor rendimiento destinado a la producción de material lignocelulósico. Los resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) realizados acompañan estos supuestos y otorgan evidencias de diferencias significativas en Altura, Diámetro, RMSt y ETPt+h superiores al resto de las poblaciones (Gráfico 2).

En la Tabla A.1, se muestran los coeficientes de correlación entre RHT y RMS. No se evidenció correlación entre ambos debido a que la RHT no mostró una notable variabilidad entre poblaciones, promediando el 0,68 %. Sólo se distingue en este caso, la población S con una menor RHT (0,41 %) y un bajo RMS. Cabe aclarar que el RMSt promedio de todas las poblaciones fue un 30 % superior al RMSh, revelando un mayor aporte como era de esperarse de la fracción tallo al peso seco final.

Variables de Rendimiento y Calidad Bionenergéticas en 4 variedades de Cynara cardunculus

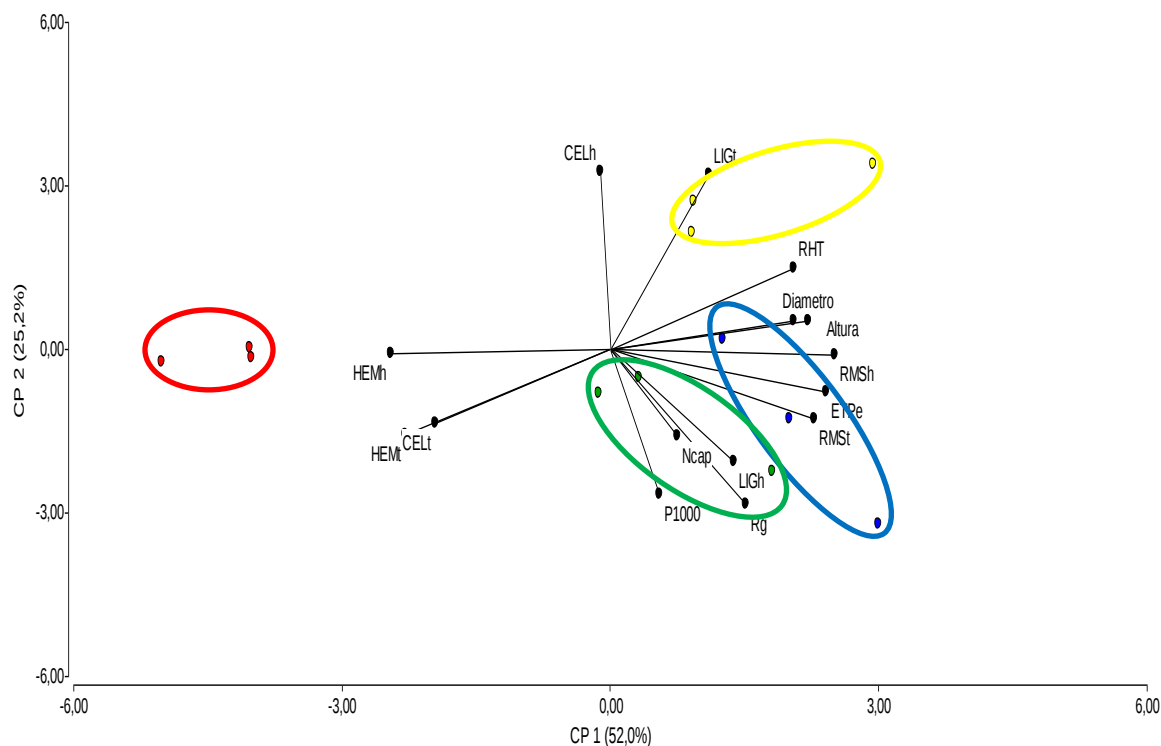


Gráfico 8. Biplot del análisis de componentes principales para las variables morfológicas, de rendimiento y calidad de la biomasa lignocelulósica de las poblaciones de *Cynara cardunculus*.

Ref.: (Variables ●) en 4 variedades de *Cynara cardunculus* (Población A ●, Población G ●, Población V ●, Población S ●).

Conjuntamente, en el gráfico Biplot de los Componentes Principales, se observa que la Población V se agrupa en el cuadrante inferior con una tendencia hacia el sector derecho. Los scores exhiben la misma dirección que las variables relacionadas al rendimiento en grano, lo que podría exponer que esta Población posee características destacables en la producción de grano por sobre el resto de las poblaciones. Por tal motivo, no solo se podría destinar la biomasa lignocelulósica vegetativa a la producción de bioetanol, sino también cosechar el grano para la producción de biodiesel.

II.2. Distribución en estratos del rendimiento y calidad de la biomasa lignocelulósica en poblaciones de *Cynara cardunculus*

II.2.1. Variables relacionadas con la fracción vegetativa y reproductiva.

Al analizar la distribución vertical del RMS en estratos, se encontraron diferencias significativas en RMShe1 y RMShe2 pero no en RMSte1 con RMSte2. Se destaca como la población más disímil la Población S cuando se estudian en conjunto (tallo + hoja) (Gráfico 7). Aquí se puede observar que las Poblaciones A y G poseen diferencias en ambos estratos con la Población S. El RMSt+h posee diferencias significativas entre estratos, siendo el inferior el más productivo y decreciendo en altura. Ésta diferencia se justifica en la fracción hoja, ya que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) en la porción tallo. Además, la RHT es mayor en el estrato inferior y mengua en altura. Otra variable medida fue el diámetro medio de cada estrato. (Tablas A.30, A.31, A.32, A.33 y A.34 del Anexo). El cual decrece con la altura y muestra una correlación muy marcada con el RMSt+h.

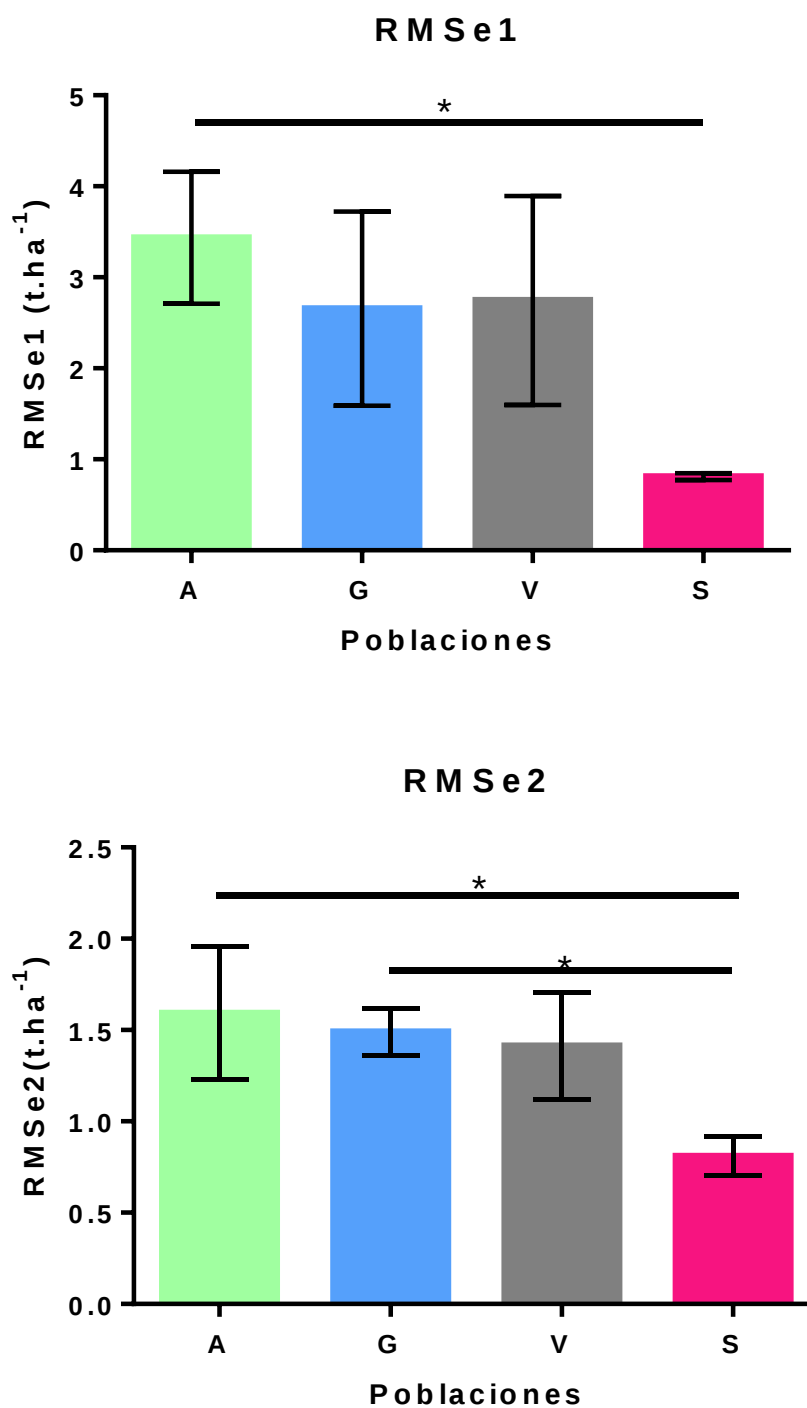


Gráfico 9. Valores de Rendimiento en Materia Seca de hojas para el primer (a) y segundo estrato (b) de las 4 poblaciones de *Cynara cardunculus*.

Ref.: Un asterisco (*) designa diferencias significativas a un 5 % ($P < 0,05$), dos asteriscos (**) designan diferencias significativas al 1 % ($P < 0,01$) y tres asteriscos (***) designan diferencias significativas al 0.1 % ($P < 0,001$) evaluadas mediante Test de Tukey.

En la Tabla A.1, se observan los coeficientes de correlación entre el Rendimiento de materia seca (RMSt+h) con el Nramas, Altura, Diámetro y las particiones de hoja y tallo de los tres estratos (50 cm). El coeficiente de correlación con el Diámetro (0,74) indica una clara relación positiva entre ambas variables, caso similar a lo ocurrido con Altura (0,62) y Nramas (0,59). Estos datos preliminares expondrían la posibilidad de interpretar los potenciales de rendimiento de biomasa total con el diámetro basal, altura de planta y el número de ramificaciones para futuras selecciones según aptitud. Además, si bien el RMSt+h está relacionado con la partición de tallo y hoja de los tres estratos, presenta mayores índices de correlación con PST1 (0,96) y PSH1 (0,83) indicando un mayor peso del estrato inferior en la injerencia del rendimiento.

II.2.2. Variables relacionadas con la calidad del material lignocelulósico.

Por otra parte, se hallaron diferencias significativas entre estratos (primeros 50 cm, 50 cm medios y últimos 50cm de altura) con un test de LSD Fisher ($p > 0,05$) indicando que el contenido de CEL, HEM y LDA es mayor en los dos estratos inferiores (Gráfico 10). Cabe destacar que se observa una leve tendencia a una disminución en el contenido de lignina a medida que se crece en altura. Este fenómeno ocurre en distintas especies y también en cardo, donde dada su estructura piramidal, la base debe poseer mayor resistencia para sostener la totalidad de la biomasa aérea, la cual es otorgada por la lignina (Gráfico 8). Ello revelaría que la calidad lignocelulósica para producir bioetanol tendría una declinación en altura.

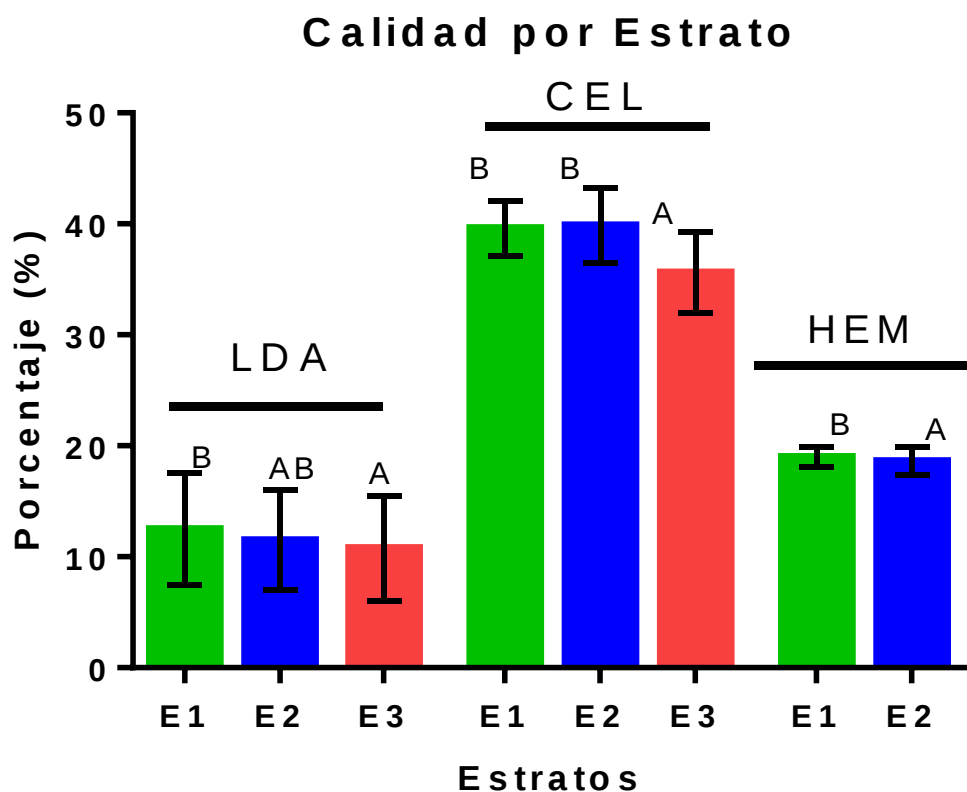


Gráfico 10. Distribución de las variables de calidad lignocelulósica por estratos (celulosa, hemicelulosa y lignina de la porción tallo y hoja) tomando las poblaciones como un conjunto.

Ref.: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) evaluadas mediante Test de Tukey.

CONCLUSIONES

Pudieron encontrarse diferencias fenotípicas entre las poblaciones evaluadas, capaces de diferenciarse en el objetivo final productivo. Tal como ocurre con la Población V la cual posee una tendencia a favorecer la partición reproductiva y por lo tanto ser sujeto a selección para una potencial producción de biodisel. La Población A expuso rendimientos sobresalientes en materia seca de planta entera (tallo+hojas) y en RETPt+h. La Población S, manifestó poco desarrollo de biomasa aérea respecto al resto y solo los dos primeros estratos (primeros 100cm de altura) pudieron ser comparados. Por otro lado, los resultados revelaron un RETPt+h con extremos de 2126 l ha^{-1} y 546 l ha^{-1} y RMSpc hasta $12,12 \text{ t ha}^{-1}$. Teniendo en cuenta que es un cultivo en seco y perenne, estos resultados preliminares son prometedores al igual que el rendimiento de grano (Rg) que tuvo un rango de $2,12 \text{ t ha}^{-1}$ y $0,49 \text{ t ha}^{-1}$.

Se encontró que la calidad de la biomasa lignocelulósica del estrato inferior era superior al resto, posiblemente debido a que a medida que aumenta la altura y el RMSt+h, la calidad disminuye. Aunque en este experimento no se ha encontrado correlación entre altura y variables de calidad, podría subdividirse la planta en un mayor número de estratos para corroborar los resultados. Se concluye que el estrato inferior es el que mayor relevancia ejerce en la definición del RMSt+h y el que mayor calidad de fibra posee.

La hipótesis I fue rechazada como tal, ya que se pudo comprobar que la altura condiciona favorablemente la producción de biomasa total, mientras que, el número de ramificaciones se correlaciona positivamente con el RMSt+h (0,59). Se

interpreta que la RHT posee una interacción negativa con la producción de biomasa total ya que la porción tallo influye más sobre el RMSt+h, aunque una mayor relación proporcionaría mejor calidad lignocelulósica.

En cuanto a la hipótesis II, se ha demostrado que existe una correlación entre RHT y la Altura, por lo tanto, resulta dificultoso definir que variable es más influyente sobre el rendimiento en biomasa acumulada. Dado que no existe independencia entre variables, se rechaza esta hipótesis.

Finalizando, los bajos requerimientos en insumos y su adaptabilidad a las condiciones locales, sumado a su producción de biomasa aérea, indican que estas variedades podrían incorporarse al sistema como un cultivo agroindustrial o energético.

Investigaciones futuras

El desafío es lograr un proyecto de mejoramiento en sentido a conseguir una mayor producción de material lignocelulósico de alta calidad por superficie y así lograr una alta producción de etanol. Algunos parámetros descritos en el trabajo podrían ser utilizados para tal fin, como el Diámetro basal, Diámetro medio, RHT, Altura, Nramas, LDA, FDA y FDN.

El estudio debería ser realizado en un segundo año consecutivo y ampliar a otros ambientes para establecer los efectos genéticos y ambientales sobre las variables morfológicas, de rendimiento y calidad.

Además de lo ya mencionado, es imprescindible desarrollar la tecnología de procesos utilizada en países que ya utilizan recursos de segunda generación como insumo para producir bioetanol.

BIBLIOGRAFÍA

- Ablanque, M., Vicente, P., Plaza Benito, A., Ruiz-Fernández, J., de la Mora, C. F., Dolores, M., Sanz Gallego, M., & Fernández González, J. (2014). *Potential of Energy Crops for It Uses in-Situ in a Farm of Central Spain*. July, 16–18.
- Achinas, S., & Euverink, G. J. W. (2016). Consolidated briefing of biochemical ethanol production from lignocellulosic biomass. *Electronic Journal of Biotechnology*, 23, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.07.006>
- Aditiya, H. B., Chong, W. T., Mahlia, T. M. I., Sebayang, A. H., Berawi, M. A., & Nur, H. (2016). Second generation bioethanol potential from selected Malaysia's biodiversity biomasses: A review. *Waste Management*, 47, 46–61. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.07.031>
- Angelini, L. G., Ceccarini, L., Nasso, N., & Bonari, E. (2009). Long-term evaluation of biomass production and quality of two cardoon (*Cynara cardunculus* L.) cultivars for energy use. *Biomass and Bioenergy*, 33(5), 810–816. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.12.004>
- Archontoulis, S. V., Struik, P. C., Vos, J., & Danalatos, N. G. (2010). Phenological growth stages of *Cynara cardunculus*: Codification and description according to the BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 156(2), 253–270. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00384.x>
- Benjelloun-Mlayah, B., De Lopez, S., & Delmas, M. (1997). Oil and paper pulp from *Cynara cardunculus*: Preliminary results. *Industrial Crops and Products*, 6(3–4), 233–236. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00013-7](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00013-7)
- Canada, A., & Columbia, B. (1988). *THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS*. 89. *Cirsium nutans* L. and *Carduus acanthoides* L. 15–30.
- Cherubini, F., & Strömman, A. H. (2010). Production of biofuels and biochemicals from lignocellulosic biomass: Estimation of maximum theoretical yields and efficiencies using matrix algebra. *Energy and Fuels*, 24(4), 2657–2666. <https://doi.org/10.1021/ef901379s>
- Curt, M. D., Sánchez, G., & Fernández, J. (2002). The potential of *Cynara cardunculus* L. for seed oil production in a perennial cultivation system. *Biomass and Bioenergy*, 23(1), 33–46. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00030-2](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00030-2)
- Curt, M. D., Sánchez, G., & Fernández, J. (2005). *Cynara cardunculus* L. as a source of silymarin. *Acta Horticulturae*, 681, 461–468. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.681.64>
- Dahl, J., & Obernberger, I. (2004). Evaluation of the combustion characteristics of four perennial energy crops (*Arundo donax*, *Cynara cardunculus*, *Miscanthus x giganteus* and *Panicum virgatum*). *2nd World Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate ...*, May, 10–14. http://www.cres.gr/bioenergy_chains/files/pdf/Articles/10-Rome OE1_1.pdf
- De Falco, B., Incerti, G., Amato, M., & Lanzotti, V. (2015). Artichoke: botanical, agronomical, phytochemical, and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 14(6), 993–1018. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9428-y>
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. & Robledo C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Domínguez, M. T., Montiel-Rozas, M. M., Madejón, P., Díaz, M. J., & Madejón, E. (2017). The potential of native species as bioenergy crops on trace-element contaminated Mediterranean lands. *Science of the Total Environment*, 590–591,

- 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.018>
- Faba, L., Díaz, E., & Ordóñez, S. (2014). Transformación de biomasa en biocombustibles de segunda generación. *Madera Bosques*, 20(3), 11–24. <https://doi.org/10.21829/myb.2014.203148>
- Fernandes, M. C., Ferro, M. D., Paulino, A. F. C., Mendes, J. A. S., Gravitis, J., Evtuguin, D. V., & Xavier, A. M. R. B. (2015). Enzymatic saccharification and bioethanol production from *Cynara cardunculus* pretreated by steam explosion. *Bioresource Technology*, 186, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.037>
- Fernández, J., Hidalgo, M., Del Monte, J. P., & Curt, M. D. (2005). *Cynara cardunculus* L. as a perennial crop for non-irrigated lands: Yields and applications. *Acta Horticulturae*, 681, 109–116. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.681.10>
- Fernández, J., Hidalgo, M., Monte Diaz de Guereñu, J., & Curt Fernández de la Mora, M. (1996). Aprovechamiento del cardo (*Cynara cardunculus* L.) para la producción de biomasa lignocelulósica, aceite y forraje verde. In *Itea. Producción Vegetal* (Issue 17, pp. 49–56).
- Fernández, Jesús, Curt, M. D., & Aguado, P. L. (2006). Industrial applications of *Cynara cardunculus* L. for energy and other uses. *Industrial Crops and Products*, 24(3), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.06.010>
- Fischer, T., Byerlee, D., & Edmeades, G. (2014). Crop yields and global food security. *Australian Centre for International Agricultural Research*, 660.
- Foti, S., Mauromicale, G., Raccuia, S., Fallico, B., Fanella, B., Maccarone, B. (1999) Possible alternative utilization of *Cynara* spp.: I. Biomass, grain yield and chemical composition of grain. *Industrial Crops and Products*, Volume 10, Issue 3, Pages 219–228, ISSN 0926-6690 [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(99\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(99)00026-6)
- Francaviglia, R., Bruno, A., Falcucci, M., Farina, R., Renzi, G., Russo, D. E., Sepe, L., & Neri, U. (2016). Yields and quality of *Cynara cardunculus* L. wild and cultivated cardoon genotypes. A case study from a marginal land in Central Italy. *European Journal of Agronomy*, 72, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.09.014>
- Gatto, A., De Paola, D., Bagnoli, F., Vendramin, G. G., & Sonnante, G. (2013). Population structure of *Cynara cardunculus* complex and the origin of the conspecific crops artichoke and cardoon. *Annals of Botany*, 112(5), 855–865. <https://doi.org/10.1093/aob/mct150>
- Goh, C. S., Tan, K. T., Lee, K. T., & Bhatia, S. (2010). Bio-ethanol from lignocellulose: Status, perspectives and challenges in Malaysia. *Bioresource Technology*, 101(13), 4834–4841. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.080>
- Gominho, J., Curt, M. D., Lourenço, A., Fernández, J., & Pereira, H. (2018). *Cynara cardunculus* L. as a biomass and multi-purpose crop: A review of 30 years of research. *Biomass and Bioenergy*, 109(January), 257–275. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.01.001>
- Gorter, H. de, Drabik, D., & Just, D. R. (2013). Biofuel policies and food grain commodity prices 2006–2012: All boom and no bust? *AgBioForum*, 16(1), 1–13.
- Gravalos, I., Xyradakis, P., Kateris, D., Gialamas, T., Bartzialis, D., & Giannoulis, K. (2016). An Experimental Determination of Gross Calorific Value of Different Agroforestry Species and Bio-Based Industry Residues. *Natural Resources*, 07(01), 57–68. <https://doi.org/10.4236/nr.2016.71006>

- Huber, G. W., & Dumesic, J. A. (2006). An overview of aqueous-phase catalytic processes for production of hydrogen and alkanes in a biorefinery. *Catalysis Today*, 111(1–2), 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2005.10.010>
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713–3729. <https://doi.org/10.1021/ie801542g>
- Mancini, M. (2019). Characterization of cardoon accessions as feedstock for biodiesel production. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.08.123>
- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. *Bioresource Technology*, 83(1), 37–46. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00118-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00118-3)
- Mielenz, J. R. (2001). Ethanol production from biomass: Technology and commercialization status. *Current Opinion in Microbiology*, 4(3), 324–329. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00211-3](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00211-3)
- Ottaiano, L., Di Mola, I., Impagliazzo, A., Cozzolino, E., Masucci, F., Mori, M., & Fagnano, M. (2017). Yields and quality of biomasses and grain in *Cynara cardunculus* L. grown in southern Italy, as affected by genotype and environmental conditions. *Italian Journal of Agronomy*, 12(4), 375–382. <https://doi.org/10.4081/ija.2017.954>
- Abdeshahian, P. (2010). *Production of Biofuels using nonfresh water sources* (Vol. 5).
- Pappalardo, H. D., Toscano, V., Puglia, G. D., Genovese, C., & Raccuia, S. A. (2020). *Cynara cardunculus* L. as a Multipurpose Crop for Plant Secondary Metabolites Production in Marginal Stressed Lands. *Frontiers in Plant Science*, 11(March), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00240>
- Pesce, G. R., Negri, M., Bacenetti, J., & Mauromicale, G. (2017). The biomethane, silage and biomass yield obtainable from three accessions of *Cynara cardunculus*. *Industrial Crops and Products*, 103(September 2016), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.003>
- Piscioneri, I., Sharma, N., Baviello, G., & Orlandini, S. (2000). Promising industrial energy crop, *Cynara cardunculus*: A potential source for biomass production and alternative energy. *Energy Conversion and Management*, 41(10), 1091–1105. [https://doi.org/10.1016/S0196-8904\(99\)00135-1](https://doi.org/10.1016/S0196-8904(99)00135-1)
- Portis, E., Mauro, R. P., Acquadro, A., Moglia, A., Mauromicale, G., & Lanteri, S. (2015). The inheritance of bract pigmentation and fleshy thorns on the globe artichoke capitulum. *Euphytica*, 206(2), 523–531. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1521-1>
- Potts, D. L., Stanley Harpole, W., Goulden, M. L., & Suding, K. N. (2008). The impact of invasion and subsequent removal of an exotic thistle, *Cynara cardunculus*, on CO₂ and H₂O vapor exchange in a coastal California grassland. *Biological Invasions*, 10(7), 1073–1084. <https://doi.org/10.1007/s10530-007-9185-y>
- Prack Mc Cormick, Barbara Rodríguez, H., Sokolowski, A., Gagey, C., Wolski, J., & Barrios, M. (2019). Experimental evaluation of soil quality in response to horticultural practices. Poultry litter. V Reunión Argentina de Geoquímica de La Superficie, 12–14.
- Raccuia, S. A., Gallo, G., & Melilli, M. G. (2012). Effect of plant density on biomass and grain yields in *Cynara cardunculus* var. *altilis* cultivated in sicily. *Acta Horticulturae*, 942, 303–308. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.942.43>
- Rodríguez, H., De Grazia, J., Prack Mc Cormick, Bárbara Gagey, M., Barrios, M., & Sokolowski, A. C. (2019). Chemical Variables in Santa Catalina Soils Under Different Uses. V Reunión Argentina de Geoquímica de La Superficie, 12–14.

- Sánchez, Ó. J., & Cardona, C. A. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, 99(13), 5270–5295. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.013>
- Scaglione, D., Acquadro, A., Portis, E., Taylor, C. A., Lanteri, S., & Knapp, S. J. (2009). Ontology and diversity of transcript-associated microsatellites mined from a globe artichoke EST database. *BMC Genomics*, 10, 454. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-454>
- Sękara, A., Kalisz, A., Gruszecki, R., Grabowska, A., & Kunicki, E. (2015). Globe artichoke – A vegetable herb and ornamental of value in central europe: A review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(4), 365–374. <https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11513196>
- Sonnante, G., Carluccio, A. V., Vilatersana, R., & Pignone, D. (2007). On the origin of artichoke and cardoon from the *Cynara* gene pool as revealed by rDNA sequence variation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(3), 483–495. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9199-9>
- Sun, R. C., Fang, J. M., Rowlands, P., & Bolton, J. (1998). Physicochemical and Thermal Characterization of Wheat Straw Hemicelluloses and Cellulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2804–2809. <https://doi.org/10.1021/jf971078a>
- White, V. A., & Holt, J. S. (2005). Competition of artichoke thistle (*Cynara cardunculus*) with native and exotic grassland species. *Weed Science*, 53(6), 826–833. <https://doi.org/10.1614/ws-04-171r.1>
- Williams, D. G., & Potts, D. L. (2003). *Antecedent moisture and seasonal precipitation influence the response of canopy-scale carbon and water exchange to rainfall pulses in a semi-arid grassland*. 2, 849–860.
- Zhao, Y. L., Dolat, A., Steinberger, Y., Wang, X., Osman, A., & Xie, G. H. (2009). Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research*, 111(1–2), 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.10.006>

ANEXO

Tabla A.1. Coeficientes de correlación entre las variables de rendimiento para los 3 estratos, separando tallo y hojas.*Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades*

	Altura	Nramas	PS T1	PS H1	PS T2	PS H2	PS T3	PSH3	Diametro	RMS
Altura	1,00	0,27	0,04	4,9E-03	0,41	1,9E-03	0,08	0,92	0,01	0,03
Nramas	0,34	1,00	0,01	0,44	0,33	0,77	0,15	0,21	0,73	0,04
PS T1	0,60	0,70	1,00	0,01	0,04	0,19	0,01	0,03	0,02	6,2E-07
PS H1	0,75	0,25	0,74	1,00	0,04	0,02	0,02	0,21	4,5E-06	9,0E-04
PS T2	0,26	0,31	0,60	0,60	1,00	0,20	0,94	0,44	0,05	0,01
PS H2	0,80	0,10	0,41	0,66	0,40	1,00	0,57	0,08	0,02	0,13
PS T3	0,61	0,53	0,83	0,75	0,03	-0,22	1,00	0,05	0,16	0,01
PSH3	0,04	0,47	0,73	0,46	0,30	-0,62	0,66	1,00	0,43	3,8E-03
Díametro	0,72	0,11	0,66	0,94	0,58	0,66	0,51	0,30	1,00	0,01
RMS _{t+h}	0,62	0,59	0,96	0,83	0,73	0,47	0,78	0,85	0,74	1,00

Tabla A.2. Tabla de correlación entre RMSe y variables de calidad lignocelulósica*Correlación de Pearson: Coeficientes\probabilidades*

	RMSt+h p
ETPe	0,96
CELh	-0,32
CELt	-0,51
HEMh	-0,75
HEMt	-0,56
LIGh	0,50
LIGt	0,03

Tabla A. 3. Escala fenológica de BBCH para *Cynara*.

Estadio	Descripción
0	Germinación, brotación, desarrollo de la yema
1	Desarrollo de las hojas (brote o tallo principal)
2	Formación de brotes laterales / macollamiento (ahijamiento)
3	Crecimiento longitudinal del tallo o crecimiento en roseta, desarrollo de brotes (retoños)/ encañado (tallo principal)
4	Desarrollo de las partes vegetativas cosechables de la planta o de órganos vegetativos de propagación / embuchamiento
5	Emergencia de la inflorescencia (tallo principal) / espigamiento
6	Floración (tallo principal)
7	Desarrollo del fruto
8	Coloración o maduración de frutos y semillas
9	Senescencia, comienzo de la dormancia