

30 *Actas Portuguesas de Horticultura*



VIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas



Organização:



Associação
Portuguesa
de Horticultura



Sociedad
Española
de Ciencias
Hortícolas

2020

FICHA TÉCNICA

Título: VIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas

Coleção: Actas Portuguesas de Horticultura, N.º 30

Propriedade e edição

Associação Portuguesa de Horticultura (APH)

Rua da Junqueira, 299, 1300-338 Lisboa

<http://www.aphorticultura.pt>

Editores

Jose Alberto Pereira

Nuno Rodrigues

Ana Cristina Ramos

Grafismo da capa: Musse Ecodesign

ISBN: 978-972-8936-37-2

Ano: 2020

Comissões

Comissão organizadora

Alda Brás (DRAPN, APH)
Amílcar Duarte (UALG, APH)
Ana Cristina Correia (ESAV, APH)
Ana Cristina Ramos (INIAV, APH)
António Calado (APH)
Carlos Baixauli (Fundación Cajamar, SECH)
Domingos Almeida (ISA-ULisboa, APH, presidente)
Jaime Prohens (UPV Valencia)
João Moreira (DRAPC, APH)
Jorge Canhoto (UC, APH)
Lorenzo León (IFAPA, SECH)
Luís Goulão (Colégio F3 – ULisboa, APH)
Miguel Costa (ISA-ULisboa, APH)
Rosa Guilherme (ESAC, APH)
Rui de Sousa (INIAV, APH)

Comissão científica

Ana Morales Sillero (USevilha)
Ana Paula Silva (UTAD)
António Monteiro (ISA-ULisboa)
António Ramos (ESACB)
Carlos Baixauli (Cajamar, SECH)
Carlos Lopes (ISA-ULisboa)
Daniel Valero Garrido (UMH)
Felicidad de Herralde Traveria (IRTA)
Inmaculada Lahoz (ITGA)
Isabel Mourão (ESAPL)
José Alberto Pereira (IPB)
José Ignacio Ruiz de Galarreta (Neiker)
Jose Miguel Molina Martínez (UPCT)
Juan Jesús Medina Mínguez (Junta de Andalucía)
Isabel Mourão (ESAPL)
José Alberto Pereira (IPB)
José Ignacio Ruiz de Galarreta (Neiker)
Jose Miguel Molina Martínez (UPCT)
Juan Jesús Medina Mínguez (Junta de Andalucía)
Kiril Bahcevandziev (ESAC)
Lorenzo León (IFAPA)
M^a Dolores Raigón (UPV)
Maria Elvira Ferreira (INIAV)
Mário Reis (UAlg)
Pablo Aleza (IVIA)
Pedro Cermeño Sacristán (IFAPA)
Rui Machado (UE)Rui

Prefácio

A Associação Portuguesa de Horticultura (APH) tem o prazer de apresentar o volume 30 das Actas Portuguesas de Horticultura, que contém grande parte das comunicações apresentadas, sob a forma de comunicações orais e em painéis, no XIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas.

O XIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas, que se realizou em Coimbra, em 2017, e que juntou cerca de 200 participantes de Portugal e Espanha, mais uma vez mostrou ser um fórum alargado onde se apresentaram os mais recentes avanços científicos e técnicos nas diferentes áreas de horticultura na Península Ibérica.

Num período em que a Horticultura tem mostrado ter uma importância crescente na Península Ibérica, sendo produtora de bens e serviços de enorme relevância, constituindo um setor com grande sucesso nas exportações, a realização deste congresso não podia ser mais oportuna. Assim, durante quatro dias, este congresso, foi um ponto de encontro entre intervenientes de toda a fileira, desde investigadores, técnicos, centros de investigação, organismos oficiais e setores económicos e produtivos contribuindo desta forma, para a discussão pública alargada dos trabalhos de investigação e desenvolvimento tecnológico.

A edição nº 30 das Actas Portuguesas de Horticultura, inclui 103 trabalhos, referentes às comunicações por convite, apresentações orais ou em painel, agradecendo o esforço dos autores na preparação dos manuscritos.

A realização deste evento só foi possível graças ao empenho de uma vasta equipa. A todos os membros da Comissão Organizadora, da Comissão Científica, do Secretariado, bem como aos oradores convidados, autores de comunicações e às entidades que se associaram, que de uma forma direta ou indireta, apoiaram ou patrocinaram a realização deste evento, endereçamos os nossos maiores agradecimentos.

Um grande bem-haja a todos.

Saudações hortícolas.

José Alberto Pereira

Nuno Rodrigues

Ana Cristina Ramos

Índice

Prefácio	iii
Sessão Temática: Horticultura herbácea	1
Emissions of CH ₄ and CO ₂ from cowpea - broccoli rotation under conventional and organic management practices	2
Efecto del momento de corte del riego en el cultivo de pimiento para pimentón en la comarca de La Vera.....	10
Curvas de crecimiento y absorción de nutrientes del cultivo de calabacín en invernadero	17
Comparación de dos métodos de poda en entutorado danés (descolgado) en cultivo de tomate en Tenerife (Islas Canarias)	23
A evolução do tomate para indústria em Portugal.....	31
Eficiencia de la recogida mecanizada en el cultivo de pimiento para pimentón con diferentes estrategias de riego.....	40
Respuesta productiva del cultivo de la chufa (<i>Cyperus esculentus</i> L. var. <i>sativus</i> Boeck.) a la aplicación de retardadores del crecimiento.....	45
Influencia de las dosis de riego en el rendimiento de la coliflor	53
Biodiversidad y Origen de los cultivares locales de papas de Tenerife	61
Estudio de la liberación y actividad antifúngica del alil-isotiocianato procedente de semilla de mostaza negra (<i>Brassica nigra</i>).....	75
Valorisation of almond by-products as a substrate in the basil cultivation	81
Sessão Temática: Culturas protegidas e engenharia hortícola	85
Un sistema de bajo coste para optimizar el drenaje en cultivos hidropónicos	86
Influencia del potencial matricial de suelo en la eficiencia de uso del agua y nutrientes en cultivo de calabacín en invernadero	94
Melhoria da produtividade do morangueiro no período outono-inverno com recurso à temperatura e luz suplementar.....	100
Cultura da alface em semi-hidroponia com uma solução nutritiva normal e com a utilização de águas residuais tratadas.	106
Overview of greenhouse horticulture in Portugal: technology and environment.....	115
T (°C) (max. Aug).....	122
Uso de casca de amêndoa como substrato para cultivo de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv. Saxa)	124
Contributos da tecnologia de Indoor Farming para a produção de hortícolas.....	132
Cultura da beldroega em semi-hidroponia com a utilização de águas residuais tratadas	139
Gestión del riego automatizado con tensiómetros en pimiento cultivado en invernadero	145
Riego con electrotensiómetros en cultivo intensivo de pimiento: control del drenaje y salinidad de suelo	153
Análisis estructural del recipiente de cultivo y el cajón exterior de un lisímetro de pesada de bajo coste	161

Absorción de macronutrientes en fresa cultivada en fibra de coco en Tenerife (Islas Canarias).....	166
Comportamiento de tomate tipo raf en ciclo de otoño con sistema de cultivo sin suelo, comparando dos volúmenes de fibra de coco	175
Sessão Temática: Viticultura.....	179
Canopy and soil thermal patterns to support management of irrigated vineyards	180
Efecto de la intensidad del despampanado sobre la composición nitrogenada de uvas cv. <i>Tempranillo</i> cultivadas bajo diferentes condiciones hídricas.....	185
Efecto del tratamiento con ácido salicílico sobre el desarrollo de la uva en la planta y sus implicaciones en la calidad durante la conservación.....	195
Estudio plurianual del efecto del régimen hídrico sobre la composición nitrogenada de las variedades blancas Cigüente, Macabeo, Moscatel de Alejandría y Verdejo, cultivadas en diversas regiones de España	202
Calidad de la uva Monastrell cultivada sobre diferentes portainjertos en el sureste español	211
Sessão Temática: Fruticultura	220
Crecimiento y caída de flores no polinizadas en ciruelo japonés (<i>Prunus salicina</i> Lindl.) y ciruelo europeo (<i>Prunus domestica</i> L.)	221
Caracterização morfológica de ecótipos portugueses de figueira-da-índia.....	226
Comportamiento de distintos patrones <i>Prunus</i> injertados con la nectarina ‘Bip Top’ en condiciones de asfixia de raíces.....	236
Aclareo de frutos direccionado según su posición en los árboles de granado (<i>Punica granatum</i> L.).....	242
Cultivares x sistemas de condução em figueira (<i>Ficus carica</i> L.).....	247
Compatibilidad de diferentes patrones <i>Prunus</i> injertados con ciruelo japonés y albaricoquero	252
Construcción de mapas de ligamiento basados en SNPs obtenidos a través de <i>Genotyping-by-sequencing</i> (GBS) para dos patrones <i>Prunus</i> de melocotonero	260
Evaluación de la autoincompatibilidad en nuevas variedades de albaricoquero mediante microscopía de fluorescencia	268
Respuesta del albaricoquero (<i>Prunus armeniaca</i> L) ante el empleo de bionutrientes .	274
Aptitud agronómica y de calidad de la colección de pecanero en las Vegas del Guadiana (Extremadura, España)	280
Predicción del volumen de manzanas de variedad Golden Delicious usando visión artificial y técnicas avanzadas de inteligencia computacional	287
Regulación de la biosíntesis de antocianinas en <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck, cv. sanguinelli.....	294
Resultados preliminares del desarrollo vegetativo de una replantación cológica de ‘Clementina de Nules’ sobre diferentes patrones de cítricos en el Valle del Guadalquivir	302
Un sistema adaptativo de inferencia difusa basado en redes (ANFIS) para estimar la masa de naranjas (<i>Citrus sinensis</i> L. var. Thompson)	309
Estimación de los daños por heladas en los cítricos de la Región de Murcia	316
Mapa de desverdizado natural de los frutos de limonero de la Región de Murcia.....	324

A cultura da Figueira-da-índia (<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill) no Alentejo, estudo de dois compassos de plantação	331
Melhoramento Genético da camarinha; Seleção e Avaliação de plantas	338
Propagação vegetativa e seminal em <i>Corema album</i> (L.) D. Don	347
Sessão Temática: Olivicultura.....	360
Influencia de la variedad y la densidad de plantación en la longevidad y productividad del olivar en seto.....	361
Enraizamento ex-vitro de plantas micropropagadas de oliveira “ <i>Olea europaea</i> L.”..	370
Avances en el programa de mejora de olivo para resistencia a la Verticilosis.....	379
Avances en la selección de nuevas variedades de olivo resistentes a la verticilosis en el Programa de Mejora de Olivo de la Universidad de Córdoba.....	387
Perfil morfológico e molecular das cultivares de oliveira portuguesas ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’	392
Analysis of genes involved in sterol biosynthesis during olive-flower opening and early fruit development.....	398
Determination of the Leaf Area Index (LAI) of an old olive tree	404
Evolução da maturação, produção e rendimento em gordura de cultivares de oliveira portuguesas em Coleção, campanha 2016-2017	409
Sphingolipid and sterol accumulation during mature-fruit abscission in olive	416
Evolução da maturação de seis variedades nacionais de azeitona baseada em três metodologias de avaliação da cor	424
Sessão Temática: Rega e Fertilização	432
Uso del riego subterráneo y riego parcial de raíces para mejorar la eficiencia productiva y económica del agua en limonero temprano	433
Red de dispositivos de bajo coste para la monitorización de parámetros ambientales relacionados con la gestión del agua y la energía en riego de hortícolas	442
Uso eficiente del agua en los frutales del Sureste español	448
Efeito da fertilização com composto no crescimento e produtividade de estévia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	455
Un sistema para manejar el riego en cultivos hortícolas mediante la monitorización del estado del suelo.....	464
Aplicación de tensioactivos no iónicos para mejorar la productividad del agua en condiciones de riego deficitario en mandarina híbrido ‘Ortanique’	472
Riego Deficitario Controlado en Ciruelo Japonés de ciclo tardío: déficit intenso frente a déficit tardío.....	480
Recursos hídricos disponibles para el riego de cultivos hortícolas intensivos en el Campo de Dalías	487
Influencia del potencial matricial de suelo en la eficiencia de uso del agua y nutrientes en cultivo de calabacín en invernadero	496
Evaluación del comportamiento estructural de la base de un lisímetro de pesada transportable	502
Distribución del volumen emitido por goteros no compensantes instalados en pendiente	507

Estudio del efecto de la aplicación de té de compost de residuos de jardinería sobre la producción y calidad de frutos de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> Mill.) y pimiento (<i>Capsicum annuum</i> L.)	515
Relación entre la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de <i>Cucumis melo</i> L. bajo diferentes estrategias de fertirrigación	521
Relación entre la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de <i>Capsicum annuum</i> bajo diferentes estrategias de fertirrigación.....	527
Empleo del agua de lavado de aceitunas verdes estilo español como fertilizante para el desarrollo de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	533
Utilização de compostados de acácia em substratos para crescimento de plantas	539

Sessão Temática VII: Pós-colheita e Segurança Alimentar..... 547

Blueberry fruit composition during development: characterization of a genotype with enhanced functional properties	548
Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste de Portugal.....	555
Processamento de vegetais para polpas congeladas	564
Capacidade de hidratação de três variedades Portuguesas de grão-de-bico: Elvar, Elixir e Eldorado	573
Efeito da desidratação osmótica nas características físico-químicas de amores-perfeitos e alface.....	580
Actividad antioxidante y fenoles totales en tápenas (<i>Capparis spinosa</i> L.).....	587
Caracterización de variedades tradicionales de tomate de acuerdo con su contenido en compuestos bioactivos.....	594
Especies vegetales silvestres: una fuente de compuestos promotores de la salud.....	603
Composição mineral dos frutos de pera ‘Rocha’ em relação com a ocorrência de acidentes fisiológicos internos.....	611
Caracterización químico-pomológica de cuatro cultivares de granada (<i>Punica granatum</i> L) en el Este de la Península Ibérica.....	617
Caracterización químico-pomológica de cuatro cultivares de granada (<i>Punica granatum</i> L) en el Este de la Península Ibérica.....	622
Evolución de la calidad de ciruela ‘Jonh W’ y nectarina ‘Big Nectared’ durante su maduración y almacenamiento postcosecha prolongado.....	627
Relación entre los parámetros a*, b* y L del espacio de color CIELAB, y el contenido de clorofilas y carotenoides durante la maduración de frutos de limón Fino 49 (<i>Citrus limon</i> L. Osbeck)	635
Hormonal changes during non-climacteric ripening in highbush blueberry: linking to accumulation of anthocyanins and sugars	643
Influência da distribuição da solução nutritiva na produção e no teor em fenóis totais e poder antioxidante em <i>Spinacia oleracea</i> cultivada em coco	650
Efecto del Gas Ozono en la Microflora y Degradación de Aflatoxina B ₁ en Higos Secos	657
Avaliação sensorial de infusões obtidas a partir de folhas de videira de duas castas tintas portuguesas (<i>Touriga Nacional</i> e <i>Tinta Roriz</i>).....	662
Calidad microbiológica de las fuentes de agua superficial disponibles para riego de cultivos hortícolas intensivos en el Campo de Dalías	668

Sessão Temática: Consumidores e Modulação da Qualidade Sensorial e Funcional	675
Differences in volatile profiles of skin, pericarp, and locular gel of tomato fruit	676
Estudio de compuestos antioxidantes en distintas especies del género <i>Capsicum</i>	684
Antioxidantes y calidad del fruto de variedades de manzana del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC.....	689
Caracterización físico-química de dos cultivares de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill en condiciones homogéneas de cultivo	695
Preferencias del consumidor de aceite de oliva de Portugal en función del género.....	703
Sessão Temática: Ornamentais	711
Festival Internacional de Jardins de Ponte de Lima: evolução histórica e sustentabilidade ambiental	712
Comportamiento ornamental de distintas mezclas de gramíneas C ₄ y autóctonas C ₃ frente a mezclas estándar para formación de praderas.....	721
Evaluación de clones de romero de la Comunidad de Madrid en su primer año de cultivo en campo.....	729
Sessão Temática: Proteção das Culturas	734
La polilla guatemalteca de la papa en Canarias.....	735
Presença da sarna da batata-doce (<i>Monilochaetes infuscans</i>) em Portugal continental	744
Efecto supresor de nuevos compost sobre <i>Pythium irregulare</i> para el cultivo de lechuga ‘baby leaf’ en sistema de bandejas flotantes	750
Efecto y disipación de propiconazol y tebuconazol sobre el crecimiento de <i>Geotrichum candidum</i> en ciruela ‘Angelino’	759
Promover a Sustentabilidade Através do Potencial Nematodocida de Plantas	766
Valorização de Plantas Aromáticas e Mediciniais (PAM): procurando alternativas ambientalmente sustentáveis para o controlo do fogo bacteriano	774
Sessão Temática: Horticultura Urbana, Social e Terapêutica	783
Serviços dos ecossistemas e boas práticas em hortas urbanas.....	784

Sessão Temática: Horticultura herbácea

Emissions of CH₄ and CO₂ from cowpea - broccoli rotation under conventional and organic management practices

Virginia Sánchez-Navarro¹, Raúl Zornoza², Ángel Faz², and Juan A. Fernández¹

¹Departament of Horticulture. Technical University of Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena, Spain.

²Department of Agrarian Science and Technology. Technical University of Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena, Spain.

Abstract

In this study we assessed the effect of the cowpea (*Vigna unguiculata*) - broccoli (*Brassica oleracea*) rotation during two crop years on the direct emissions of CH₄ and CO₂ from soil. We also assessed if both cowpea cultivars (Feijão frade de fio preto and Feijão frade de fio claro) and management practices (conventional and organic) significantly influenced gas emissions. The study was randomly designed in blocks with four replications, in plots of 10 m². Gas samples were taken once a week using the static gas chamber technique for each crop. In cowpea crops, CH₄ and CO₂ emissions presented the highest values in soils cultivated with Feijão frade de fio claro under both management practices. In the last broccoli crop, these emissions were higher under organic management practice in broccoli rotated with Feijão frade de fio claro and Feijão frade de fio preto, respectively. Thus, the cowpea genotype influenced the emissions of both gases, while the management practices affected these emissions in broccoli crops.

Keywords: greenhouse gas emissions, *Vigna unguiculata*, plant genotype, root exudates, farming practices.

Introduction

Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) is a legume of great interest due to nutritional attributes, versatility and adaptability. Its cultivation has extended to parts of Africa mainly, although this crop is grown in substantial quantities in countries such as America and Asia. The dry bean is the main product of this plant, although leaves, pod and fresh bean are also consumed (Ehlers & Hall, 1997). Legumes crop is a viable alternative to mitigate problems as greenhouse gas emissions due to their capacity to fix atmospheric nitrogen in the soil, thus reducing the need to apply inorganic nitrogen fertilizers (Dequiedt & Moran, 2015). In addition, the inclusion of legumes in rotation offers others benefits as the increase of crop yields in subsequent crops, weed control and production diversification, together with greater market opportunities (Díaz-Ambrona & Mínguez, 2001; Luce et al., 2015, Zegada-Lizarazu & Monti, 2011). Legumes secrete through their roots a wide range of chemical compounds in the soil, thus changing the structure of microbial communities (Dakora & Phillips, 2002). In this way, legumes inhibit the growth of competing plants and promote synergic interactions with nitrogen fixing bacteria (Nardi et al., 2000). In addition, the contribution of legumes to subsequent crops depends on the specie of legume, plant physiology, soil type and climatic conditions (People et al., 2001).

The design of cropping systems as legumes in rotation together with the application of organic fertilizers, assume an important tool against the challenge facing the agricultural activity for the maintenance of the current productivity and the reduction of environmental damage. In this respect, the introduction of legumes and the application of organic fertilizers could reduce nitrogen losses and dependence on nitrogen fertilizers.

CH₄ is produced by methanogenesis under anaerobic conditions, and later is used for the metabolism of methanotrophic microorganisms into the soil (Dutaur & Verchot, 2007). However, CO₂ emissions in soils are produced by root and microbial respiration (Hanson et al., 2000). In addition, decomposition of soil organic matter by soil microorganisms results in increased carbon fluxes (Grovera et al., 2015).

The main objective of the study was to assess the effect of two different cowpea cultivars and management practices on CH₄ and CO₂ emissions in the cowpea and a subsequent broccoli crop during two years. We hypothesized that the cowpea cultivar influences both emissions through root exudates. The adoption of organic practice may offer a good alternative for reducing these emissions in spite of possible reductions in crop yield.

Materials and methods

Study site and experimental design

This study was carried out in Cartagena, southeast Spain (37° 41' N 0° 57' E). The field experiment was designed in a complete randomized block with four replications, and each plot had 10 m². Two local cowpea Portuguese cultivars (Feijão frade de fio preto and Feijão frade de fio claro) (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) were grown during spring and summer of 2014 and 2015. After the cowpea crop, the soil was prepared for the broccoli crop (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) with only a surface tillage in the same direction as the furrows and reformation of the raised beds. The broccoli crop was grown during autumn and winter of 2014 and 2015. Both crops were established under drip irrigation with two management practices: conventional and organic.

The area is characterized by a semiarid Mediterranean climate. The climatic conditions during cowpea cultivation of 2014 and 2015 were: a minimum air temperature 17.5 and 20.3 °C, mean air temperature 23.9 and 25.5 °C, maximum air temperature 26.7 and 29.9 °C and rainfall 13.2 and 69.6 mm, respectively. The climatic conditions during the broccoli crop of 2014 and 2015 were: minimum air temperature 5.7 and 8.8 °C, mean air temperature 11.6 and 12.7 °C, maximum air temperature 18.0 and 17.4 °C and rainfall 25.2 and 7.25 mm, respectively. The soil was a Haplic Calcisol (IUSS, 2014) with a clay loam texture.

A surface application of 16,000 kg ha⁻¹ of goat and sheep manure was applied in all plots before sowing. Cowpea seeds were sown and broccoli were planted with a spacing of 100 cm between rows and 20 cm between plants (5 plants m⁻²). No herbicide treatment was given, and the crops were kept free of weeds through hand-hoeing when necessary.

Every year fertilizer application in the cowpea plots started three weeks after sowing. In the cowpea crop, 30 kg ha⁻¹ of N and 2.4 kg ha⁻¹ of P₂O₅ were applied as ammonium nitrate (33.5% N) and monoammonium phosphate (61% P₂O₅, 12% N) in the conventional practice and using a commercial organic fertilizer (Bombardier, Agroquímicos los Triviños, Spain; 10.7% w/v N, 0.7% w/v P₂O₅) in the organic practice. In the broccoli crop, 250 kg ha⁻¹ N, 100 kg ha⁻¹ P₂O₅ and 300 kg ha⁻¹ K₂O were applied by fertirrigation as ammonium nitrate (33.5% N), monoammonium phosphate (61% P₂O₅, 12% N) and potassium sulphate (50% p/v K₂O, 18% S) in the conventional practice, and using two commercial organic fertilizers (Heronatur 4-2-8 and Heronatur 7-2-4; Herogra Fertilizantes, Spain; 4% p/v N, 2% p/v P₂O₅ and 8% p/v K₂O, and 7% p/v N, 2% p/v P₂O₅ and 4% p/v K₂O) in the organic practice.

Gas sampling

Gas samples were taken once a week between 9:00 and 13:00 h to measure CH₄ and CO₂ emissions. The basic experimental procedure used in this study was the static

gas chamber technique. The chamber was made of polycarbonate sheets, with a diameter of 30 cm and a height of 37cm, with a septum at the top for sampling. The chambers were inserted into the soil to a depth of 10 cm. Gas samples were collected at 0, 30 and 60 min after chamber closure and stored in previously evacuated 10 mL blood containers (Vacutainers, Venojet). CH₄ and CO₂ were quantified by gas chromatography (7890B GC Agilent Technologies) equipped with a flame ionization detector (FID) and an electron capture detector (ECD).

Statistical analyses

Data were checked to ensure normal distribution using the Kolmogorov–Smirnov test and log-transformed when necessary to ensure normal distribution. Data were submitted to one-way ANOVA to assess the differences among cultivars and management practices at each sampling time. Separation of means was made according to Duncan's verified significant difference at $P < 0.05$. Statistical analyses were performed with the software IBM SPSS for Windows, Version 22.

Results

Soil CH₄ emissions

Cumulative soil CH₄ emissions during 2014 in the soils where cowpea was grown were significantly higher ($P < 0.001$) in Feijão frade de fio claro than in Feijão frade de fio preto cultivar under both management practices (Figure 1).

Conventional management practice had a significant effect on cumulative CH₄ in the soils where broccoli was grown. In this respect, average increase was of 1309 mg m⁻² in broccoli rotated with Feijão frade de fio claro and 893 mg m⁻² in broccoli rotated with Feijão frade de fio preto under conventional than organic practice (Figure 2).

There were no significant differences between cultivars or management practices in cumulative CH₄ emissions in the cowpea crop during 2015 (Figure 3). However, cumulative CH₄ emissions in the subsequent broccoli crop were higher after the rotation with Feijão frade de fio claro under organic than conventional management practice (Figure 4).

Soil CO₂ emissions

Cumulative CO₂ emissions in the cowpea crop during 2014 were higher in Feijão frade de fio preto under conventional than organic management practice (Figure 5). The cowpea cultivar and management practice had no significant effect on cumulative CO₂ emissions in the broccoli crop (Figure 6).

Cumulative CO₂ emissions in the cowpea crop during 2015 were higher in Feijão frade de fio claro than Feijão frade de fio preto under both management practices (Figure 7). The previous cultivation of Feijão frade de fio preto against Feijão frade de fio claro had a significant effect on cumulative CO₂ in the broccoli cultivated organically (Figure 8).

Discussion

This study, showed that the plant's genetic influenced these emissions in cowpea crops, with the highest values in soils cultivated with Feijão frade de fio claro under both management practices. In terms of CO₂ emissions, these results suggest that cowpea cultivar regulate the soil microbial community located in the rizosphere through the exudation of a wide variety of compounds (amino acids, organic acids, sugars, phenolic acids and proteins), while providing a carbon rich environment (Nardi et al., 2000; Nguyen, 2009; Ziegler et al., 2013). In turn, root-released carbon substrates in the rhizosphere lead to extracellular enzyme production and enhanced decomposition of soil organic matter (Zhu & Cheng, 2011), which could suppose greater potential to CO₂

release. On the other hand, rhizodeposition influenced CH₄ consumption by methanotrophic microbes, as well as its production by methanogenic microbes and thus this participate in CH₄ emissions. The quantity and quality of root exudates depend not only on plant's genetics but also on plant's physiology and environment (Nguyen, 2003; Jones et al., 2004).

With regard to the influence of management practice on CH₄ and CO₂ emissions, the use of organic fertilizers in comparison with conventional is related to increased rates of organic matter decomposition, which assumes increased CO₂ emissions (Kontopoulou et al., 2015). On the contrary, CH₄ emissions decrease after application organic materials (Johnson *et al.*, 2007), which is in contradiction with our results.

Conclusion

We can conclude that legume genotype had effect on CH₄ and CO₂ fluxes in cowpea crops under Mediterranean climate. By contrast, the application of organic management practice resulted in higher CH₄ and CO₂ emissions from broccoli crops for last year.

Acknowledgments

This work was financed by the European Commission through the Seventh Framework Programme project n° 613781 “Enhancing of legumes growing in Europe through sustainable cropping for protein supply for food and feed” (EUROLEGUME).

References

- Boddey, R.M., Dakora, F.D., Bhattarai, S., Maskey, S.L., Sampet, C., Rerkasem, B., Khan, D.F., Hauggard-Nielsen, H. & Jensen, E.S. 2009. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis* 48: 1-17.
- Dakora, F.D. & Phillips, D.A. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil* 245: 35-47.
- Dequiedt, B. & Moran, D. 2015. The cost of emission mitigation by legume crops in French agriculture. *Ecological Economics* 110: 51–60.
- Díaz-Ambroña, C.H. & Mínguez, M.I. 2001. Cereal–legume rotations in a Mediterranean environment: biomass and yield production. *Field Crops Research* 70: 139-151.
- Dutaur, L. & Verchot, L.V. 2007. A global inventory of the soil CH₄ sink. *Global Biogeochemical Cycles Journal* 21.
- Grovera, M., Maheswaria, M., Desai, S., Gopinatha, K.A., Venkateswarlub, B. 2015. Elevated CO₂: Plant associated microorganisms and carbon sequestration. *Applied Soil Ecology* 95: 73–85.
- Hanson, P.J., Edwards, N.T., Garten, C.T. & Andrews, J.A. 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: a review of methods and observations. *Biogeochemistry* 48: 115–146.
- IUSS, International Union of Soil Sciences, World Reference Base for Soil Resources, International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 2014. p. 106. In: *World Soil Resources Reports* (FAO).
- Johnson, J.M.F., Franzluebbers, A.J., Weyers, S.L. & Reicosky, D.C. 2007. Agricultural opportunities to mitigate greenhouse gas emissions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 150: 107–124.
- Jones, D.L., Hodge, A. & Kuzyakov, Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist* 163: 459-480.

- Kontopoulou, C.K., Bilalis, D., Pappa, V.A., Rees, R.M. & Savvas, D. 2015. Effects of organic farming practices and salinity on yield and greenhouse gas emissions from a common bean crop. *Scientia Horticulturae* 183: 48–57.
- Luce, M.St., Grant, C.A., Zebarth, B.J., Ziadi, N., O' Donovan, J.T., Blackshaw, R.E., Harker, K.N., Johnson, E.N., Gan, Y., Lafond, G.P., May, W.E., Khakbazan, M. & Smith, E.G. 2015. Legumes can reduce economic optimum nitrogen rates and increase yields in a wheat-canola cropping sequence in western Canada. *Field Crops Research* 179: 12–25.
- Nardi, S., Concheri, G., Pizzeghello, D., Sturaro, A., Rella, R. & Parvoli, G. 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* 5: 653-658.
- Nguyen, C. 2003. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie* 23: 375-393.
- Nguyen, C. 2009. Rhizodeposition of organic C by plant: mechanisms and controls. p. 97–123 In: Lichtfouse, E., Navarette, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (eds.), *Sustainable Agriculture*, 1st edn. Springer, Netherlands.
- Peoples, M.B., Bowman, A.M., Gault, R.R., Herridge, D.F., McCallum, M.H., McCormick, K.M., Norton, R.M., Rochester, I.J., Scammell, G.J., Schwenke, G.D. 2001. Factors regulating the contributions of fixed nitrogen by pasture and crop legumes to different farming systems of eastern Australia. *Plant and Soil* 228: 29–41.
- Zegada-Lizarazu, W. & Monti, A. 2011. Energy crops in rotation. A review. *Biomass and Bioenergy* 35: 12-25.
- Ziegler, M., Engel, M., Welzl, G. & Schloter, M. 2013. Development of a simple root model to study the effects of single exudates on the development of bacterial community structure. *Journal of Microbiological Methods* 94: 30–36.
- Zhu, B. & Cheng, W.X. 2011. Rhizosphere priming effect increases the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition. *Global Change Biology* 17: 2172–2183.

Tabelas e Figuras

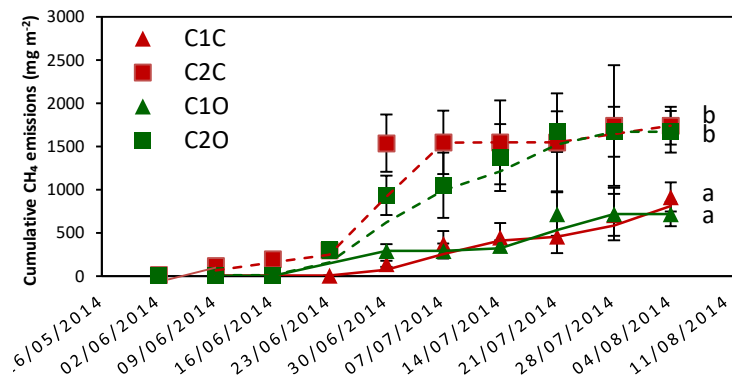


Figure 1- Cumulative CH₄ emissions in the cowpea crop during 2014. Cowpea cultivars: Feijão frade de fio preto (C1) and Feijão frade de fio claro (C2) under conventional (C) and organic (O) management practices. Different letters indicate significant differences among means ($P < 0.05$). No letters indicate non significant differences.

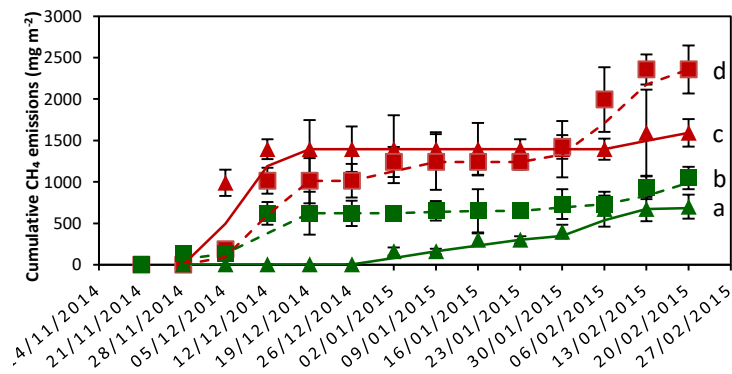


Figure 2 - Cumulative CH₄ emissions in the broccoli crop during 2014.

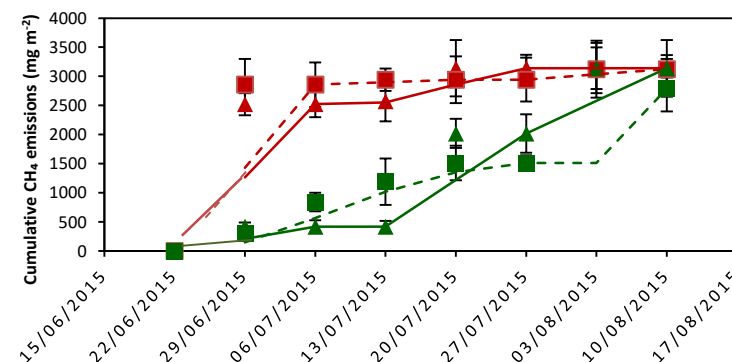


Figure 3 - Cumulative CH₄ emissions in the cowpea crop during 2015.

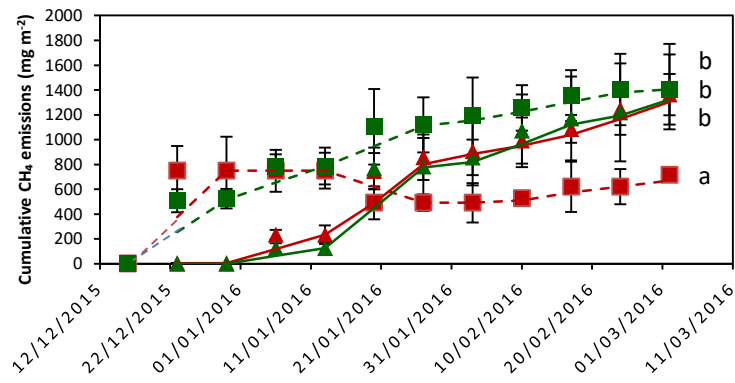


Figure 4 - Cumulative CH₄ emissions in the broccoli crop during 2015.

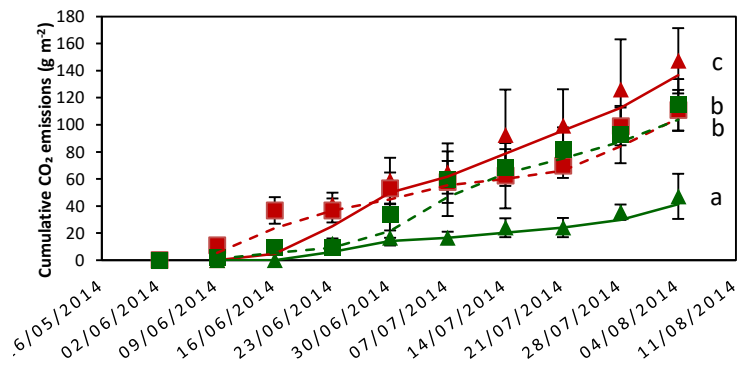


Figure 5 - Cumulative CO₂ emissions in the cowpea crop during 2014.

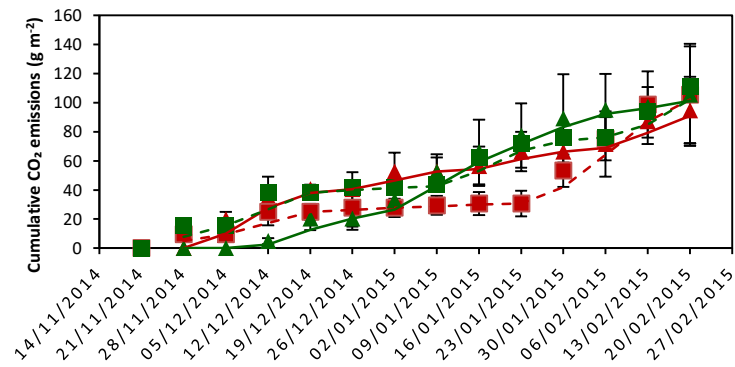


Figure 6 - Cumulative CO₂ emissions in the broccoli crop during 2014.

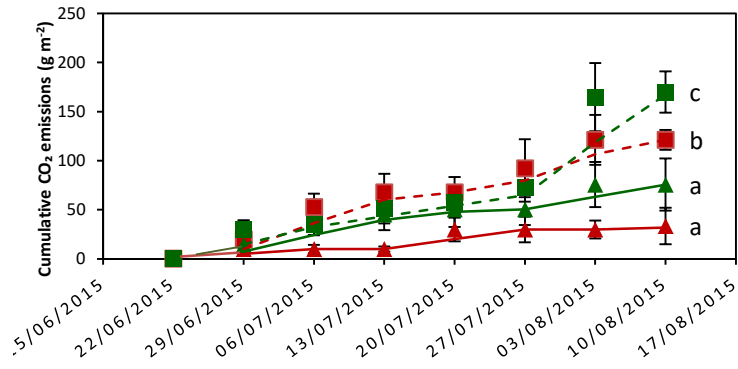


Figure 7 - Cumulative CO₂ emissions in the cowpea crop during 2014.

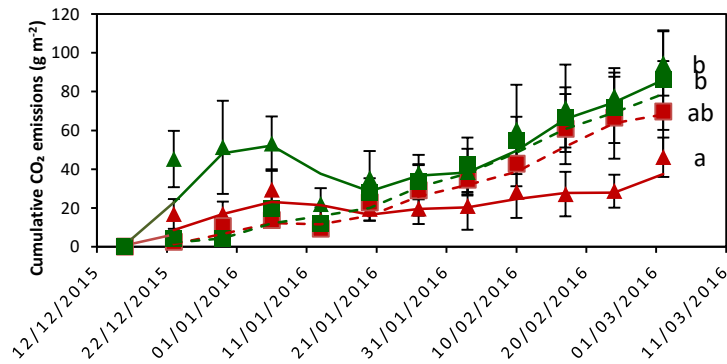


Figure 8 - Cumulative CO₂ emissions in the broccoli crop during 2015.

Efecto del momento de corte del riego en el cultivo de pimiento para pimentón en la comarca de La Vera

Teresa Bartolomé¹, José Miguel Coletto¹, Rocío Velázquez¹, M. Guía Córdoba², Rocío Casquete², Santiago Ruiz-Moyano², M^a José Benito²

¹ Producción Vegetal, Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA). Escuela de Ingenierías Agrarias (UEX). Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007 – Badajoz

² Nutrición y Bromatología, Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA). Escuela de Ingenierías Agrarias (UEX). Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007 – Badajoz

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del corte de riego sobre los parámetros de producción, el color y el contenido en carotenoides de los frutos frescos en el cultivo de pimiento para pimentón (variedad Jaranda) en la Comarca de *La Vera* (Cáceres, Extremadura).

El riego empleado es por aspersión, estableciendo tres regímenes relacionados con el momento de corte y el porcentaje de frutos maduros: R40 (último riego con 40 % de frutos maduros), R60 (60 % de frutos maduros) y R80 (80 % de frutos maduros).

Al final del periodo de maduración de frutos y en cada parcela experimental se seleccionaron 40 plantas al azar para determinar el número total de frutos por planta y peso de los mismos, diferenciando entre frutos maduros comerciales y frutos verdes e inviábiles. Posteriormente se realizaron las determinaciones de color y carotenoides en las muestras de frutos frescos maduros comerciales.

Los diferentes tratamientos de riego no afectaron al número de frutos maduros comerciales, aunque el riego R40 proporcionó menor número de frutos verdes. Los riegos aplicados tuvieron influencia sobre el peso fresco de los frutos por planta, alcanzándose los valores más elevados con los riegos R60 y R80 en comparación con R40, sin embargo estas diferencias desaparecen cuando los valores se expresan en peso seco (15% humedad).

Por otra parte, el momento de corte de riego influye en la humedad, el color y el contenido en carotenoides de los pimientos frescos recolectados. Con el tratamiento R80 (último riego con 80 % de frutos maduros) se han obtenido frutos menos deshidratados, con más color y alta concentración de pigmentos carotenoides.

Este trabajo pone de manifiesto la importancia de no suprimir el riego de forma temprana para mantener una producción adecuada de frutos de color rojo intenso para la posterior elaboración de pimentón.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., producción, color, carotenoides

Abstract

This research evaluated the effect of the last irrigation on different yield parameters, colour and content of carotenoids of fresh fruits paprika pepper in the area of *La Vera* (Cáceres, Extremadura, Spain).

Sprinkler irrigation was applied as needed throughout the season and it was stopped when fruits reached mature red colour. Three treatments were applied: R40 (last irrigation with 40% mature red fruits), R60 (60% mature fruits) and R80 (80% mature fruits).

At the end of fruit ripening period, 40 plants were selected at each experimental plot to determine marketable and non-marketable yields (number of fruit plant⁻¹ and g plant⁻¹). Colour and carotenoids were determined on samples of red fresh fruits.

The different irrigation treatments did not affect the number of marketable ripe fruits, although irrigation R40 provided less number of green fruits. The treatments influenced on the fresh weight of the fruits per plant. The highest values were obtained with R60 and R80 compared with R40, however there were not differences between these treatments when the values were expressed in dry weight (15% moisture).

On the other hand, the last irrigation affected on the moisture, colour and carotenoid compounds of the fresh peppers samples. The irrigation R40 obtained more dried fruits with less colour and concentration of carotenoid pigments.

This work shows the importance of the irrigation at the last period of ripening and in this way to maintain an adequate red fruits yield for elaboration of paprika.

Keywords: *Capsicum annuum* L., yield, colour, carotenoids

Introducción

El pimiento para pimentón es un cultivo tradicional en el norte de Cáceres, principalmente en la comarca de *La Vera*, zona importante de producción no solo por la cantidad de hectáreas cultivadas sino también por encontrarse allí el mayor número de industrias de transformación.

Este pimentón está acogido a la Denominación de Origen Protegida “Pimentón de La Vera” y su reglamento está recogido en la ORDEN APA/4178/2005 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

En lo que respecta al efecto del riego sobre el desarrollo, la producción y la calidad del pimiento pueden encontrarse numerosos trabajos (Katerji et al., 1993; Dorji et al., 2005; Sezen et al., 2006; González-Dugo et al., 2007; Shongwe et al., 2010).

Un estrés hídrico continuo durante todo el ciclo de cultivo, disminuía el peso de la materia fresca y seca de los pimientos y no se aceleraba la maduración. Sin embargo, un estrés hídrico aplicado al final del ciclo, solo afectaba al contenido de agua y no se producía una agrupación de la maduración. El estrés hídrico retrasaba la maduración, bien de manera paulatina durante todo el ciclo o de manera más severa justo antes de la cosecha (González-Dugo et al., 2007).

García Pomar, 2003 demostró que la aplicación del último riego por gravedad 18 días después del inicio de la maduración combinado con una aplicación nitrogenada, puede proporcionar a una agrupación de la maduración elevada y una buena producción comercial, en las variedades Jaranda y Jeromín de pimiento para pimentón.

Teniendo en cuenta estos estudios, se realizaron ensayos relacionados con el régimen de riego, concretamente con el momento de corte de riego, para conocer su influencia sobre la agrupación de la maduración y los parámetros de calidad de los frutos de pimiento destinados a la obtención de pimentón. El objetivo principal es evaluar el efecto del corte de riego sobre los parámetros de producción, el color y el contenido en carotenoides de los frutos frescos de pimiento (*Capsicum annuum* L. var. Jaranda).

Material y métodos

Los ensayos de pimiento para pimentón (*Capsicum annuum* L. cv. Jaranda) se ubicaron en una finca de Jaraíz de *La Vera* (Cáceres), estableciéndose tres regímenes de riego relacionados con el momento de corte y el porcentaje de frutos maduros: R40 (último riego con 40 % de frutos maduros), R60 (60 % de frutos maduros) y R80 (80 % de frutos maduros).

Se realizó un diseño experimental en bloques al azar con tres repeticiones, resultando un total de 9 parcelas de 382,5 m² cada una. Cada parcela estaba constituida por 11 líneas de plantas de 45 m de longitud, con una distancia de separación entre líneas de 0,85 m y entre plantas de 0,32 m. En todas las parcelas se aplicaron las mismas técnicas de cultivo exceptuando la fecha de supresión del riego.

Al final del periodo de maduración de frutos y en cada parcela experimental se seleccionaron 40 plantas al azar para determinar el número de frutos por planta y peso de los mismos, diferenciando entre frutos maduros comerciales y frutos verdes e inviables. Por otra parte, el peso seco se calculó matemáticamente para estimar el peso de los frutos con una humedad del 15 %. Este porcentaje es el característico de los pimientos deshidratados en los secaderos de corriente vertical de humo procedente de la combustión de leña de encina y/o roble, proceso que deberá durar un mínimo de diez días para asegurar así un contenido en humedad máximo del 15 % al finalizar el secado (ORDEN APA/4178/2005 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Reglamento de la Denominación de Origen Protegida "Pimentón de *La Vera*").

Las determinaciones de humedad, color y carotenoides se realizaron, por triplicado, de las muestras de frutos frescos maduros comerciales.

La humedad se determinó secando las muestras a 105°C hasta peso constante (AOAC, 2005).

El análisis del color extraíble ASTA (American Spice Trade Association) de las muestras de pimientos fue determinado de acuerdo con el método Internacional de la AOAC (2002) con la modificación introducida por Topuz et al. (2009).

El color extraíble de las muestras se expresó en unidades ASTA mediante la siguiente fórmula: $ASTA = A \cdot 16,4 \cdot If \cdot w^{-1}$. Donde, A es la absorbancia del extracto a 460 nm, If es el factor de desviación del espectofotómetro, el cual se calculó dividiendo la absorbancia teórica ($A = 0,600$) entre la absorbancia verdadera (A_s) de una solución patrón de color preparada (0,001M $K_2Cr_2O_7$ y 0,09M $(NH_4)_2Co(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en 1,8 M H_2SO_4) medida a 460 nm, y w es el peso seco de la muestra (g).

El contenido en carotenos de las muestras se determinó siguiendo el método descrito por Mínguez-Mosquera & Hornero-Méndez (1993).

Para la extracción de pigmentos se añadió 1 g de muestra de pimiento y un volumen conocido de patrón interno (b-apo-8'-carotenal) para cuantificar posibles pérdidas.

Los análisis de las muestras se hicieron mediante cromatografía líquida de alta resolución (Hewlett-Packard 1100 series, Palo Alto, CA, USA) en fase reversa usando como fase estacionaria octadecilsilica (C_{18}), y como fase móvil agua y acetona. Para ello, de cada vial se inyectaron 5 μ l de muestra y el flujo de la carrera fue de 1,5 ml min^{-1} .

Para la identificación de β -caroteno, cis- β -caroteno, zeaxantina, capsantina y β -criptoxantina, los valores de tR (tiempos de retención) y los espectros de absorción se compararon con los del material estándar obtenido de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EE.UU.) Los resultados se expresan en mg kg^{-1} de materia seca. Por el contrario, la cuantificación de los otros compuestos carotenoides se expresan en unidades de área arbitrarias.

Los datos fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, mediante el paquete estadístico SPSS 19, determinando el efecto del momento de corte de riego sobre los parámetros apuntados. La relación de las variables fue evaluada mediante el análisis de componentes principales.

Resultados y discusión

Los diferentes tratamientos de riego no afectaron al número de frutos maduros comerciales, aunque el riego R40 proporcionó menor número de frutos verdes. Los riegos aplicados tuvieron influencia sobre el peso fresco de los frutos por planta, alcanzándose los valores más elevados con los riegos R60 y R80 en comparación con R40, sin embargo estas diferencias desaparecen cuando los valores se expresan en peso seco (15% humedad) (Cuadro 1).

Por otra parte, hay diferencias significativas atribuibles al régimen de riego sobre el parámetro humedad (Figura 1). Las muestras de pimiento procedentes de las parcelas con riego R40, a las que se les suprime el aporte hídrico con el 40% de los frutos maduros, tienen valores inferiores de humedad en comparación con los riegos R60 y R80. Considerando el Reglamento de la DOP “Pimentón de *La Vera*”, los pimientos han de recolectarse en el punto óptimo de maduración y con un contenido en humedad próximo al 80%, por lo que las muestras correspondientes al tratamiento R40, que presentan una humedad media del 62,3%, no serían aptas para la elaboración de pimentón con la referida D.O.

En relación a la determinación de color, los resultados obtenidos por el método ASTA se muestran en la Figura 1. Se observa efecto del momento de corte de riego sobre el color de los pimientos, presentando las muestras R80 (45 uds ASTA) valores muy superiores a los obtenidos en R60 (29 uds) y sobre todo a R40 (12 uds).

En cuanto al contenido en carotenoides, existe efecto del régimen de riego en todos los pigmentos analizados. De los doce carotenoides identificados en los cromatogramas de los extractos de las muestras de pimiento fresco, ocho fueron identificados de acuerdo con su espectro de absorbancia y tiempo de retención (Mínguez-Mosquera et al., 1994) y cuatro fueron identificados mediante el uso de estándares puros. Las muestras de pimientos correspondientes a los riegos R60 y R80 presentan cantidades similares entre sí y muy superiores a las muestras de pimientos de R40 (Figura 2). Estas diferencias cuantitativas tan acusadas pueden deberse a una deficiente maduración del fruto acorde con los resultados previos, ocasionada por la falta de agua. En trabajos anteriores (Mínguez Mosquera et al., 1994; Meléndez-Martínez et al., 2007), se estudiaron cambios en la composición de los carotenoides durante la maduración del fruto, demostrando que a medida que la fruta madura y la clorofila desaparece, además de los carotenoides cloroplásticos típicos, se sintetizan nuevos carotenoides no presentes en los frutos verdes. Así pues, el no haber recibido un riego que permitiera la completa maduración de los frutos condiciona la cantidad de carotenoides sintetizados.

A partir de los datos obtenidos se deduce que el régimen de riego es una variable que influye claramente en las cantidades de carotenos; y si bien un corte de riego con un porcentaje determinado de frutos maduros ocasionaría una agrupación de la maduración, que facilitaría la recolección, esta práctica puede suponer un cierto descenso en la cantidad de carotenos sintetizados, según los tres tratamientos de riego estudiados. Teniendo en cuenta que el color y el contenido en carotenoides están vinculados con la calidad del pimiento para pimentón, el régimen de riego que resultaría más adecuado sería R80 (último riego con 80 % de frutos maduros).

Las diferencias apuntadas también se observaron en el análisis de componentes principales realizado con el color ASTA y el contenido en carotenoides, en el que se pudo comprobar que la componente principal CP1 junto con la componente principal CP2 explicaban el 95,4% de la variabilidad total (Figura 3).

Se observa que el color ASTA y todos los pigmentos carotenoides tuvieron correlación positiva en la componente principal 1. También se refleja la distribución de las muestras de pimiento con los diferentes tratamientos de riego (R40, R60 y R80).

La componente CP1 diferencia claramente el riego R40 de los riegos R60 y R80, éstos últimos con valores más elevados de color ASTA y contenido en carotenoides. Por el contrario, la componente CP2 establece diferencias entre R60 y R80, donde el tratamiento de riego R80 (último riego con el 80% de frutos maduros) mostró frutos con más color y más contenido en anteraxantina.

Conclusiones

El momento de corte de riego influye en la humedad, el color y el contenido de carotenoides de los pimientos frescos recolectados. Con el tratamiento R80 (último riego con 80 % de frutos maduros) se han obtenido frutos menos deshidratados, con más color y alta concentración de pigmentos carotenoides. Por lo tanto, este trabajo pone de manifiesto la importancia de no suprimir el riego de forma temprana para mantener una producción adecuada de frutos de color rojo intenso para la posterior elaboración de pimentón.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de la Junta de Extremadura, aportada al Grupo de Investigación TPR009 (expediente GR15142), para el desarrollo de la presente comunicación.

Referencias

- AOAC International. 2002. 43.1.02 Color extractable in spices. In AOAC Methods 971.26 (edited by W. Horwitz). p.43, Vol. II, 17th edn. Maryland: AOAC.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis, 19th edn Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Dorji, K., Behboudian, M. H. & Zegbe-Domínguez, J. A. 2005. Water relations, growth, yield and fruit quality of hot pepper under deficit irrigation and partial rootzone drying. *Scientia Horticulturae* 104:137-149.
- García Pomar, M. 2003. Influencia de técnicas agronómicas en el comportamiento del pimiento de pimentón (*Capsicum annuum* L.) para recolección única, manual o mecánica. Tesis doctoral. ETSIA de Madrid.
- González - Dugo, V., Orgaz, F. & Fereres E. 2007. Responses of pepper to deficit irrigation for paprika production. *Scientia Horticulturae* 114:77-82.
- Katerji, N., Mastrorilli, M. & Hamdy, A. 1993. Effets of water stress at different growth stage on pepper yield. *Acta Horticulturae* 335:165-172.
- Meléndez-Martínez, A. J., Britton, G., Vicario, I. M. & Heredia, F. J. 2007. Relationship between the colour and the Chemicals structure of carotenoid pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 101: 1145-1150.
- Mínguez-Mosquera, M. I. & Hornero-Méndez, D. A. 1993. Separation y quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika and oleoresin by reverse-phase HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41 (10):1616-1620.
- ORDEN APA/4178/2005, de 22 de diciembre, por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen Protegida Pimentón de *La Vera* y su Consejo Regulador.
- Sezen, S.M., Yazar, A., Eker, S. 2006. Effect of drip irrigation regimes on yield and quality of field grown bell pepper. *Agric. Water Manage* 81:115-131.
- Shongwe, V.D., Magongo B.N, Masarirambi, M.T. & Manyatsi, A.M. 2010. Effects of irrigation moisture regimes on yield and quality of paprika (*Capsicum annuum* L.). *Physics and Chemistry of the Earth* 35:717-722.

Topuz, A., Feng, H. & Kushad, M. 2009. The effect of drying method and storage on color characteristics of paprika. Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 42:1667-1673.

Cuadros y Figuras

Cuadro 1 - Número y peso de frutos comerciales y no comerciales con diferentes momentos de corte de riego (media \pm desviación típica). En filas, letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Determinaciones	Momento de corte de riego		
	R40	R60	R80
Nº frutos maduros planta ⁻¹	30,4 ns \pm 7,2	33,0 \pm 8,5	33,1 \pm 8,5
Nº frutos verdes e inviables planta ⁻¹	3,0 b \pm 2,4	5,7 a \pm 3,7	6,2 a \pm 5,4
Peso frutos maduros (g planta ⁻¹)	198,8 b \pm 40,1	350,0 a \pm 60,6	342,5 a \pm 65,4
Peso frutos inviables (g planta ⁻¹)	13,3 b \pm 6,2	38,8 a \pm 9,6	37,3 a \pm 16,3
Peso frutos secos (g planta ⁻¹)	104,7 ns \pm 21,1	118 \pm 20,4	101,4 \pm 19,4
Peso fruto seco (g fruto ⁻¹)	3,5 ns \pm 0,7	3,6 \pm 0,6	3,1 \pm 0,6

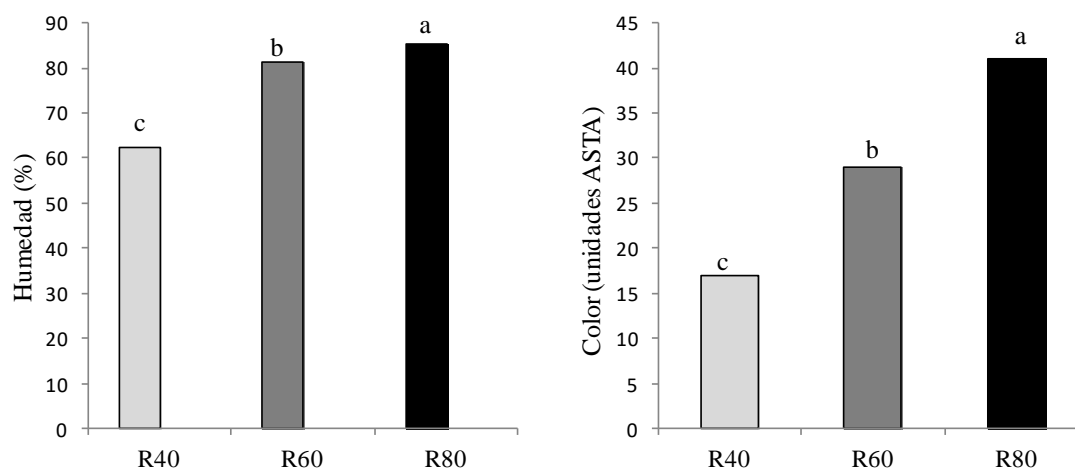


Figura 1 - Humedad y color ASTA de pimientos frescos maduros sometidos a diferentes momentos de corte de riego. Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

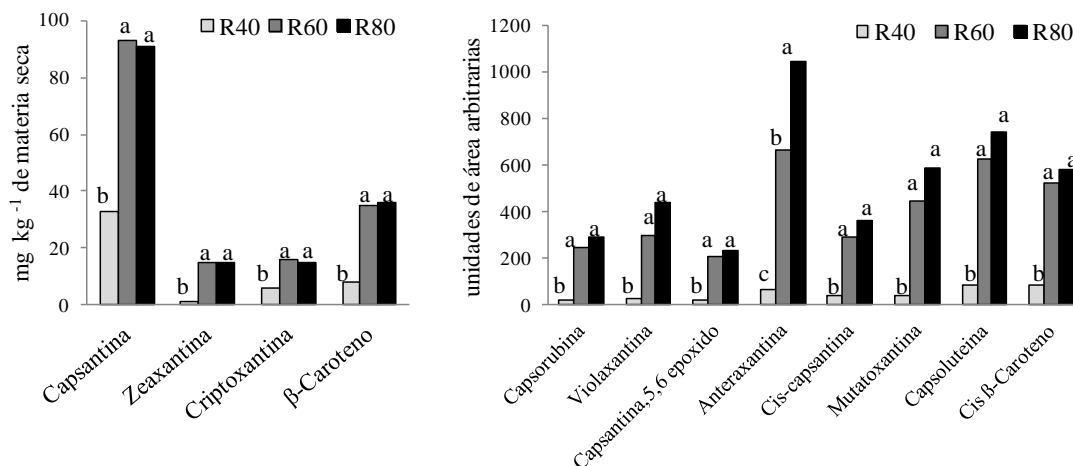


Figura 2 - Principales carotenoides en pimientos frescos maduros sometidos a diferentes momentos de corte de riego. Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

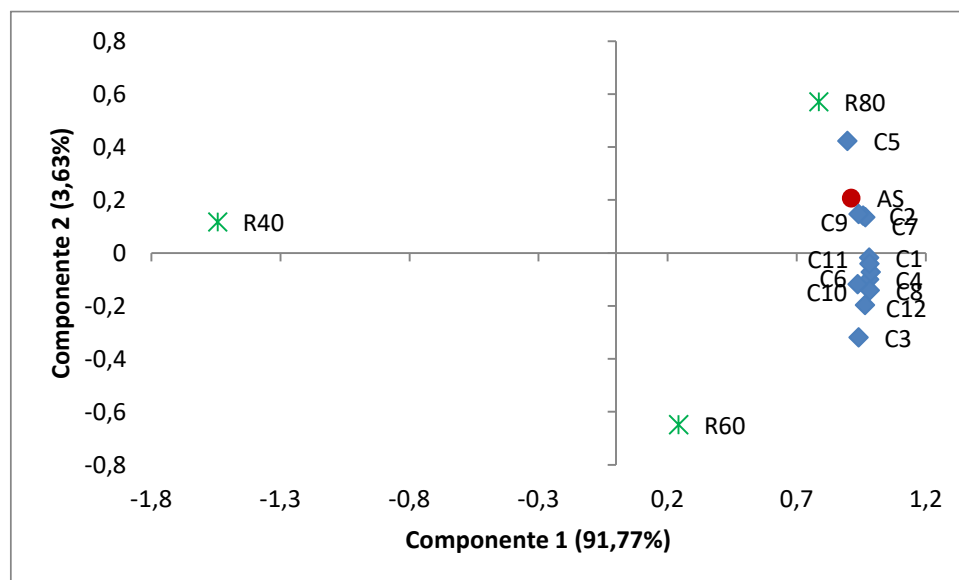


Figura 3 - Representación del color ASTA y contenido en carotenoides*, y de la distribución de muestras de pimiento sometidas a diferentes momentos de corte de riego (R40, R60 y R80) en un plano definido por las componentes principales PC1 y PC2 del análisis factorial. *Carotenoides: C1 (Capsorubina), C2 (Violaxantina), C3 (Capsantina,5,6 epoxido), C4 (Capsantina), C5 (Anteraxantina), C6 (Cis-capsantina), C7 (Mutatoxantina), C8 (Capsoluteina), C9 (Zeaxantina), C10 (Criptoxantina), C11 (β-Caroteno) y C12 (Cis β-Caroteno).

Curvas de crecimiento y absorción de nutrientes del cultivo de calabacín en invernadero

M. L. Segura¹, M. Fernández¹, A. Llanderal², R. Baeza¹ y J.I. Contreras¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Almería, España;

²Escuela Politécnica Superior Universidad de Almería, ceiA3, Almería, España.

Resumen

Conocer la curva de crecimiento y las necesidades nutricionales del cultivo es indispensable para establecer una fertilización racional y sostenible. El objetivo de este trabajo fue cuantificar la producción de biomasa y la absorción de nutrientes del cultivo de calabacín (cv. Casiopee) desarrollado en invernadero, durante un ciclo de invierno-primavera (125 días). El cultivo se desarrolló sobre suelo enarenado y fertirrigación. Se tomaron muestras de planta, en cinco épocas del ciclo de cultivo y se determinó el contenido de materia seca y la concentración de N, P, K, Ca y Mg total, de la parte vegetativa (tallo+hoja) y generativa (fruto). Se cuantificó la producción obtenida durante todo el periodo de recolección (87 días). La producción de biomasa de la planta y la absorción de N, P, K, Ca y Mg en el tiempo, se ajustaron a funciones polinómicas cuadráticas, cuyos coeficientes de determinación fueron superiores a 0,90. La producción de materia seca total fue de 1249 g m⁻², correspondiendo el 64 % al fruto. La tasa de producción diaria de materia seca aumentó en el tiempo de 0,22 a 15,5 g m⁻² día⁻¹. La cantidad de N- P- K- Ca- Mg absorbida por el cultivo por kg de fruto producido, fue de 3,3- 0,5-3,6-1,6-0,6 kg. El fruto fue el mayor sumidero de N, P y K, con un porcentaje de absorción, respecto al total absorbido por la planta, entre el 55% y 66% dependiendo del elemento. Los órganos vegetativos fueron el mayor reservorio de Ca y Mg, con un 79% y 63%, respectivamente. Las mayores tasas de absorción de K, Ca y Mg se produjeron entre los 39 y 62 días desde el transplante (ddt) y de N y P, entre los 105 y 125 ddt. Los resultados muestran que el cálculo de las necesidades nutricionales del cultivo utilizando los modelos de regresión, permitirá establecer un programa de fertilización más adaptado a las necesidades reales de la planta.

Palabras clave: N, macronutrientes, biomasa, fertirrigación, suelo enarenado

Abstract

Information on plant growth and nutrient uptake is useful to establish a adequate fertilization programmes. The objective of this work was to quantify the biomass production and nutrient uptake of zucchini (Casiopee cv.). The experiments were carried out in greenhouse, on sand-mulched soil and drip irrigation, during a winter-spring cycle (125 days). A unifactorial random effects experimental design was established. Plant samples were taken at five times in the growing cycle and the dry matter content and the concentration of total N, P, K, Ca and Mg were determined from the vegetative (stem+leaf) and fruit. Production obtained during the collection period (87 days) was quantified. The biomass production of the plant and absorption of N, P, K, Ca and Mg over time were adjusted to quadratic polynomial functions, whose determination coefficients were higher than 0.90. The total dry matter production was 1249 g m⁻², corresponding 64% to the fruit. The daily dry matter production rate increased in time from 0.22 to 15.5 g m⁻² day⁻¹. The amount of N-P-K-Ca-Mg absorbed by the crop per kg of fruit produced was 3.3- 0.5-3.6-1.6-0.6 kg. The fruit was the largest sink of N, P and K, with a percentage of absorption, respect to the plant total uptake, between 55% and

66% depending on the element. The vegetative organs were the largest reservoir of Ca and Mg, with 79% and 63%, respectively. The highest absorption rates of K, Ca and Mg occurred between 39 and 62 days from transplantation (ddt) and N and P, between 105 and 125 ddt. The results show that the calculation of the nutritional needs of the crop using the regression models, will allow to establish a fertilization program more adapted to the real needs of the plant in the protected systems of the southeast of Andalusia. The return to the soil of the plant residues constitutes an important source of nutrients, that after its mineralization can be in form available for later crops.

Keywords: N, macronutrients, biomass, fertirrigation, sanded soil

Introducción

El calabacín es uno de los principales cultivos hortícolas que se desarrollan en condiciones intensivas en el litoral mediterráneo de Andalucía. Concretamente el 90 por ciento del calabacín español que se comercializa procede de Almería, con una superficie de 7500 ha (Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2015). Este cultivo se caracteriza por tener unas altas tasas de producción de biomasa y de nutrientes (Graifenberg y col. 1996). La fertirrigación es la técnica más eficiente para la aplicación de fertilizantes al calabacín, aumentando los rendimientos y la producción de materia seca (Munir Jamil Mohammad, 2004), si bien la concentración NPK tiene una marcada influencia sobre el rendimiento y la calidad de fruto (Martinetti y Paganini, 2006).

Debido al escaso conocimiento sobre la absorción de nutrientes del calabacín, en la práctica, se aplican altos insumos de fertilizantes con el objetivo de maximizar la producción. La sobrefertilización aumenta el riesgo de contaminación por lixiviación de los recursos hídricos y los suelos agrícolas (Gil Carrasco, C. y col. 2003.). El conocimiento de las tasas de crecimiento y de absorción de nutrientes de los cultivos es necesario para desarrollar una mayor eficiencia técnica con un menor impacto ambiental (Segura et al. 2009). La absorción de nutrientes del calabacín en función del tiempo ha sido estudiada por Rodas-Gaitan y col. (2012) en condiciones de cultivo intensivo, al aire libre. Sin embargo, es escasa la información en los sistemas protegidos del sureste de Andalucía. Es por tanto de gran interés mejorar el conocimiento sobre la nutrición del calabacín para buscar estrategias de fertilización alternativas a las realizadas por los productores, que puedan reducir los costes de fertilización y el impacto medioambiental de la sobre- fertilización.

El objetivo del presente trabajo ha sido determinar las curvas de crecimiento vegetativo del cultivo y de absorción de N y otros macroelementos de Cucurbita pepo L. desarrollado en invernadero en ciclo de invierno-primavera.

Material y métodos

El ensayo se realizó en un invernadero parral de “raspa y amagado” situado en el Centro IFAPA La Mojonera (Junta de Andalucía) (37°40’N – 0°58’W) y sobre suelo enarenado de textura franco limosa, 0,4% de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico 6,1 meq.100 g⁻¹ suelo, y una concentración de elementos disponibles de 18 mg N-NO₃⁻ kg⁻¹, 30 mg P kg⁻¹, 287 mg K kg⁻¹, 724 mg Ca kg⁻¹ y 175 mg Mg kg⁻¹. El cultivo de calabacín (Cucurbita pepo L.var. Casiopee) se transplantó al suelo el 13 de enero de 2015, a una densidad de 1 planta m⁻². La duración de la experiencia fue de 125 días.

Se aplicó una solución nutritiva básica al cultivo de CE 2,0 dS.m⁻¹, pH 6,5 y el siguiente contenido de nutrientes: 12 mmolc NO₃⁻.L⁻¹; 1,5 mmolc H₂PO₄⁻.L⁻¹, 6,5 mmolc K⁺.L⁻¹; 4,5 mmolc Ca²⁺.L⁻¹; 1,5 mmolc Mg²⁺.L⁻¹. Se utilizó un sistema de fertirrigación automatizado y compuesto por un equipo de inyector-dosificadores y red de riego

localizado. La dosis de riego se estableció en base al potencial matricial del suelo realizando la activación del riego a -25 kPa y dotación de 2,0 Lm⁻², considerando la curva de retención de agua del suelo. Para la medida del potencial matricial se instalaron 4 tensiómetros (Irrometer Co, inc. Riverside, Ca), a 15 cm de profundidad (sin considerar la capa de arena) y 20 cm de distancia a la planta y el gotero. El volumen de agua total aplicado al cultivo fueron 226 L m⁻².

Se realizaron determinaciones de cinco biomásas, a los 30, 38, 62, 104 y 125 días desde el transplante (ddt), las cuales correspondieron a las fases de desarrollo vegetativo-fructificación, engorde de fruto–maduración, recolección de fruto en estado comercial y al finalizar la experiencia. En cada una de las toma de muestra se recolectaron nueve plantas completas considerando cada planta como una muestra individual. Para determinar la biomasa de los frutos cosechados se tomaron muestras de 12 frutos en seis recolecciones. En el laboratorio se fraccionaron en hoja, tallo y fruto y se determinó el peso fresco. El material vegetal se desecó en estufa de aire forzado a 70-75°C hasta peso constante. Una vez seco, el material vegetal se pesó y trituró. Se mineralizaron por vía seca en horno de mufla (450-500 °C, 4-5 h) alícuotas procedentes de la mezcla ponderada de hojas y tallo de cada planta. Las cenizas se trataron con ácido clorhídrico 6N y en la disolución resultante se determinaron N, P, K, Ca y Mg (Métodos Normalizados, MAPA. 1994).

La concentración de elemento absorbido por la planta se calculó multiplicando el porcentaje del elemento del tejido vegetal por el peso de materia seca.

Se cuantificó la producción de frutos maduros de todas las recolecciones realizadas durante el ciclo de cultivo, según el Reglamento (CE) n° 1757/2003 de la Comisión, de 3 de octubre de 2003, por el que se establecen las normas de comercialización de los calabacines y se modifica el Reglamento (CEE) n° 1292/81.

Se estableció un diseño experimental unifactorial de efectos aleatorios. Se realizó un análisis de regresión para identificar las relaciones entre los parámetros medidos, respecto al tiempo, utilizando el programa Statgraphics Plus v. 10.0 (Statgraphics, Warrenton, Va.).

Resultados y discusión

La Figura 1a, muestra las ecuaciones de regresión que relacionan la materia seca total, la de la parte vegetativa y generativa, con la edad de la planta expresada en días desde el transplante. Tanto la producción de materia seca total como la de la parte vegetativa, se ajustaron a una función polinómica cuadrática. La biomasa asociada al fruto aumentó linealmente con la edad de la planta. La producción total de materia seca fue de 1249 g.m⁻², con una distribución del 36,5% en la parte vegetativa y el 63,5% en la parte generativa, siendo el fruto el mayor sumidero de asimilados de la planta. Respecto a otras cucurbitáceas desarrolladas en las mismas condiciones, la biomasa producida por el calabacín ha sido similar a la producida por el cultivo de melón (Contreras et al. 2012) y el doble a la producida por el pepino (Segura y otros, 1998). La distribución de materia seca en la planta de calabacín fue similar a la determinada en pepino.

La producción media de materia seca del ciclo de desarrollo fue de 10,0 g.m⁻².día⁻¹, alcanzando las tasas más bajas (0,22 g.m⁻².día⁻¹) los primeros 30 días del ciclo (desarrollo vegetativo-fructificación) y las más elevadas (12,1 a 15,5 g.m⁻².día⁻¹) en la fase de recolección (62 a 125 ddt), época de máximo desarrollo de frutos.

La absorción de N, P, K, Ca y Mg por la planta, en relación al tiempo, se ajustó a una curva de tipo polinómico cuadrática (Figuras 1, b-f). Las curvas que relacionan la acumulación de los nutrientes en la parte vegetativa y el fruto, con la edad de la planta, fueron similares a las determinadas en la producción de materia seca.

La producción comercial de fruto fue de 14,1 kg.m⁻² (89% del total). La concentración total de macro-elementos absorbidos por la planta fue de 46,9 g N.m⁻², 7,1 g P. m⁻², 50,6 g K.m⁻², 23,0 g Ca.m⁻² y 8,2 g Mg.m⁻². El fruto es el mayor sumidero de N, P y K, con un porcentaje de distribución del 58, 66 y 55% respectivamente, y la parte vegetativa, de Ca y Mg (79 y 63%, respectivamente). Con estas cantidades extraídas del sistema, el retorno al suelo de los restos vegetales puede suponer un aporte de N, P, K, Ca y Mg, del orden de 197, 24, 230, 230, 82 kg .ha⁻¹ que tras su mineralización aumentaría la fertilidad del suelo para posteriores cultivos. Expresado como kg. t⁻¹ fruto, las necesidades totales de N, P, K, Ca y Mg serían 3,3, 0,5, 3,6, 1,6 y 0,6, respectivamente. Estos valores son inferiores a los estándares recomendados para N, P y K (4,5 kg N t⁻¹, 1,3 kg P t⁻¹, 7,9 kg K t⁻¹) por Gianquinto y col. 2013 y similares a los recomendados por Ramos y Pomares (2010) de 4,1 kg. N t⁻¹, 0,55 kg. P t⁻¹, 3,9 kg K.t⁻¹. Las tasas medias de absorción de N, P, K, Ca y Mg fueron: 375, 56, 405, 184 y 66 mg.m⁻².día, respectivamente. Las tasas de absorción de N y P aumentaron en el tiempo alcanzando los niveles más elevados entre los 105-125 días (plena recolección) y las de K, Ca y Mg entre los 39 y 62 días desde el transplante (inicio de recolección) (tabla 1).

Conclusiones

Las curvas de crecimiento y de absorción de N, P, K, Ca y Mg del calabacín se ajustaron a funciones de regresión cuadráticas.

El cálculo de las necesidades nutricionales del cultivo utilizando los modelos de regresión, permitirán establecer un programa de fertilización más adaptado a las necesidades reales de la planta, reduciendo los costes de fertilización y el impacto medioambiental de la sobre- fertilización.

El retorno al suelo de los restos vegetales constituye una importante fuente de nutrientes, que tras su mineralización pueden estar en forma disponible para posteriores cultivos.

Agradecimientos

Este trabajo pertenece al Proyecto TRANSFORMA (PP.TRA.TRA201300.11) financiado por la UE (fondos FEDER y FSE) y la Junta de Andalucía (España).

Referencias

- Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía, 2015. Valoración de la Campaña 2014/15 Hortícolas protegidos. Almería. Ed. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. P:52.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Contreras, J.I., Plaza, B.M., Lao, M.T and Segura, M.L., 2012. Growth and Nutritional Response of Melon to Water Quality and Nitrogen Potassium Fertigation Levels under Greenhouse Mediterranean Conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43:434–444.
- Gianquinto, G.P., Muñoz, P., Pardossi, A., Ramazzotti, S., Savvas, D., 2013. Chapter 10: Soil fertility and plant nutrition. In: *Good Agricultural Practices for Greenhouse Vegetable Crops. Principles for Mediterranean Climate Areas*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Plant Production and Protection Paper 217, Rome, pp. 205-269.
- Gil Carrasco, C., Ramos, J., Boluda, R. and Picazo, P. 2003. Caracterización fisicoquímica y evaluación del estado general de los suelos en invernaderos del poniente almeriense. FIAPA, Nº 13. Almería.

- Graifenberg, A., Botrini, L., Giustiniani, L. and Lipucci Di Paola, M. 1996. Yield, growth and element content of zucchini squash grown under saline-sodic conditions. *J. Hort. Sci.* 2:305-311.
- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, (1993). *Métodos Oficiales de Análisis. Tomo III. Suelos, aguas, fertilizantes y planta.* Ed. M.A.P.A. Madrid.
- Martinetti, L. and Paganini, F. 2006. Effect of Organic and Mineral Fertilisation on Yield and Quality of Zucchini. *Acta Hort.* 700: 125-128 ISHS 2006.
- Munir Jamil Mohammad 2004. Squash yield, nutrient content and soil fertility parameters in response to methods of fertilizer application and rates of nitrogen fertigation. *Nutrient Cycling in agroecosystems. Volume 68, Number 2 / 99-108.*
- Ramos, C. Pomares, F (2010). Capítulo 23: Abonado de los cultivos hortícolas. En: *Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Parte II Abonado de los principales cultivos en España.* Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 259 pp, Madrid, 180-192.
- Rodas-Gaitán, H. A., Rodríguez -Fuentes, H., Ojeda-Zacarías, M.C., Vidales-Contreras, J.A. y Alejandro I. Luna-Maldonado, A.I. 2012. Macronutrients absorption curves in italian squash (*Cucurbita pepo* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 35 (Núm. Especial 5): 57 – 60.
- Segura, M.L., Contreras, J.I., Salinas, R., Lao. M.T. 2009. Influence of salinity and fertilization level on the nutrient distribution in tomato plants under a polyethylene greenhouse in the mediterranean area. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40 (3):498-513.
- Segura, M.L., Aguilar, F., Parra, I.F., Lorenzo, P., Medrano, E., Sánchez-Guerrero, M.C, 1998. Desarrollo y extracción de nutrientes del cultivo de pepino bajo invernadero. *Actas VII Simposio Nacional -III S. Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas,* 273-278. Madrid. 1998.

Tablas y Figuras

Tabla 1. Tasa media diaria de producción de biomasa y absorción de macroelementos del calabacín.

DDT	Materia seca	N	P	K (mg.m ⁻² .día)	Ca	Mg
0-30	223±54	7,9±1,8	0,9± 0,3	16,8±4,1	5,8±1,5	2,7±0,8
31-38	4997±1957	227,0±79,6	17,5±6,0	391,8±154,7	298,8±77,9	93,0±38,0
39-62	12050±1990	449,1±90,1	78,0±10,1	627,2±1116,1	375±92,9	121, ±41,4
63-104	13737±2409	457,7±99,9	61,6±11,0	502,8±124,0	285,4±120,0	98,6±41,8
105-125	15460±6912	706,3±218,6	116,5±30,3	513,5±244,1	248,8±211,1	70,8±52,3

Los valores son medias ± ES (n=9).

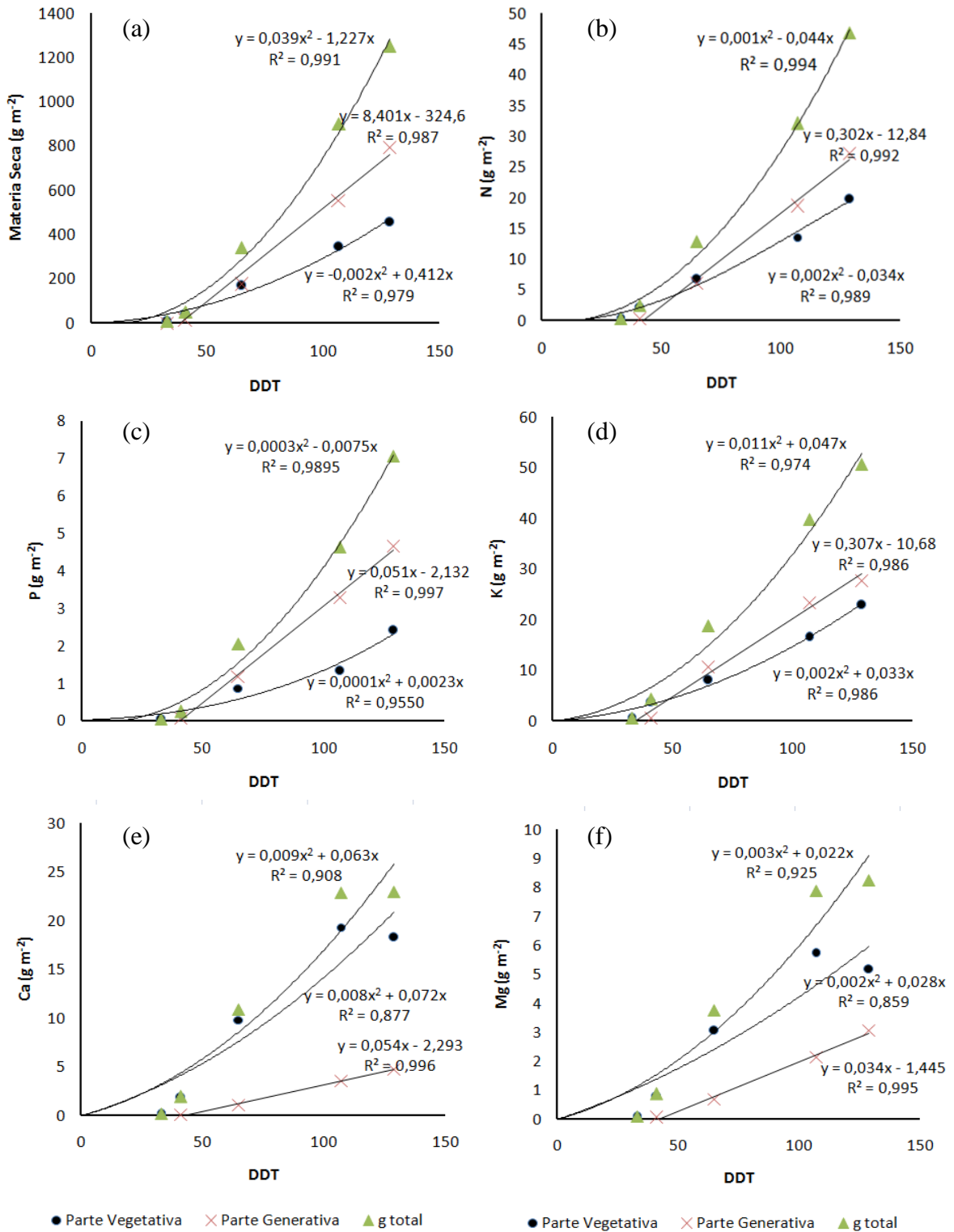


Figura 1. Produção acumulada de matéria seca (a) e absorção de N (b), P (c), K (d), Ca (e) e Mg (f) do calabacín.

Comparación de dos métodos de poda en entutorado danés (descolgado) en cultivo de tomate en Tenerife (Islas Canarias)

Belarmino Santos¹, Luisa Trujillo¹, Víctor Cabeza², Juan Pedro González³, Domingo Ríos^{1,2}

¹Servicio Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife, Cl. Alcalde Mandillo Tejera, 8. Santa Cruz de Tenerife. belarmino@tenerife.es

²Departamento Ingeniería Agraria, Náutica, Civil y Marítima Universidad de La Laguna. Carretera Geneto, 2. La Laguna. djrios@ull.es

³Cooperativa Agrícola Nuestra Señora de Abona. Cl. Constitución s/n. Arico. Tenerife.

Resumen

En Canarias, el cultivo del tomate es el más importante en la horticultura protegida. La totalidad del cultivo se realiza bajo invernaderos de malla. La competencia de otras zonas ha hecho que se produzca una bajada de la rentabilidad del cultivo. Dentro de las posibilidades de aumentar esa rentabilidad estaría la mejora de técnicas de cultivo. Con este trabajo se pretende estudiar una variante de poda en entutorado danés o “descolgado”, consistente en dejar hijos adicionales al tallo principal, permitiendo que estos cuajen un racimo, antes de despuntarlos.

Para ello, se realizó una experiencia en condiciones controladas de producción, calibres y comportamiento de biomasa en un cultivo comercial de tomate de exportación en el sureste de Tenerife, cultivado en descolgado llevado con hijos adicionales, frente a un descolgado “estándar” donde no se dejaron hijos al tallo principal. Se determinó semanalmente, el ritmo de emisión de hojas, racimos y frutos. Periódicamente se tomaron muestras para biomasa y área foliar.

En general, se observó un aumento del 61% en la producción debida a la fruta producida en los hijos adicionales, frente al descolgado “estándar”. Sin embargo, la producción en los hijos se retrasó hacia el final del periodo productivo, en las condiciones del ensayo. Se observó una bajada en los calibres con el sistema de hijos adicionales, aunque pareció no afectar a los calibres menos comerciales. La cantidad de hojas emitidas aumentó también bastante, por lo que se haría necesario un mejor control fitosanitario y una adaptación del ritmo del deshojado. Esta técnica puede ser muy útil para aumentar la producción del cultivo del tomate, adaptando las estructuras de entutorado.

Palabras clave: técnicas de cultivo, evolución biomasa, producción.

Abstract

Tomato is the most important crop in protected horticulture in Canary Islands, although the surface has been reduced by competition from other areas. Improvement of cultivation techniques would increase the crop profitability. The aim of this work is to study a variant of the high wire system, leaving some side shoots in the main stem and allowing them to form a cluster, before topping them.

For this, an experiment was carried out in a commercial tomato crop in the southeast of Tenerife, with standard high wire, pruning all side shoots (“standard”) and a modified one, leaving some side shoots and allowing to form one cluster before topping them (“modified”). The rate of emission of leaves, clusters and fruits was determined weekly. Periodic samples were taken for biomass and leaf area.

There was a 61% increase in production with the modified treatment, compared to the standard. However, production was delayed by the end of the productive period.

There was a drop in fruit size the additional side shoots system, although it appeared not to affect less commercial calibers. The number of leaves emitted also increased considerably, which would make necessary a better phytosanitary control and an adaptation of the rhythm of de-leafing. This technique can be very useful for increasing the production of the tomato crop by adapting the structuring structure.

Keywords: cultivation techniques, biomass partitioning, production.

Introducción

Las líneas de trabajo en mejora tecnológica en tomate han estado encaminados a la utilización de nuevos cultivares, mejoras en la fertirrigación y mejora en las estructuras vinculadas al cultivo. No obstante, las mejoras de las técnicas de cultivo asociadas al cultivo se han estudiado en mucha menor medida, no teniendo en cuenta el alto potencial de mejora en producción y calidad que pueden provocar, muchas veces con menores insumos energéticos o monetarios que otras mejoras.

El entutorado normal o tradicional de los invernaderos en Canarias, como en otras zonas (Rodríguez et al., 1997, Salas, 2002) ha sido mediante un entutorado a unos 2 m de altura, haciendo descender los tallos por el lado opuesto cuando superaban esta altura, lo que conlleva un efecto negativo en la producción y calibres en la fase de bajada, debido en gran medida al sombreado de la zona apical (Peet y Welles, 2005). Con este sistema también se dificultan labores como la recolección o la correcta aplicación de productos fitosanitarios.

Como alternativa se desarrolló el entutorado alto, enturado danés, descolgado, “descuelgue holandés” o “high wire”, que consiste en entutorar los tallos con hilos que parten de perchas colgadas de un alambre a una altura entre 2.5 y 3.5 m, que permiten ir desenrollando el tutor de forma progresiva, sin que la planta se deslice. El hilo se une a la base del tallo mediante un clip que evite el deslizamiento. Según va la planta creciendo, se va desenrollando el tutor y se traslada una pequeña distancia en el alambre, inclinando el hilo y la planta con él. La zona apical de la planta se mantiene siempre en el dosel de la cubierta, mejorando la cosecha al aumentar la intercepción de luz por las hojas e incrementa la eficiencia en las labores de cultivo al facilitar el deshojado, la recolección de frutos y la correcta aplicación de productos fitosanitarios (Peet y Welles, 2005). Salas (2002) señala que el descolgado se suele utilizar con alambres a 3,5 – 3.8 m, llevando las plantas a 1 tallo, con perchas para favorecer el descuelgue. Esta autora también señala el aumento de costes por el uso de carros (9000 €/ha).

Raya *et al.* (2008) ensayando diferentes paquetes tecnológicos para tomate en Canarias, obtuvieron en dos campañas seguidas un aumento de la producción del 30% por el uso de descolgado frente al sistema normal. Asimismo, de los factores estudiados (cultivo sin suelo frente a cultivo en suelo, diferentes tipos de invernaderos, tipo de entutorado) fue el que más afectó a la productividad. En Canarias se estima que el 7% de la superficie de invernaderos de tomate tiene descolgado y un 37% tendría la altura necesaria para poner el entutorado alto (Viceconsejería de Agricultura y Ganadería del Gobierno de Canarias, 2009).

Peet y Welles (2005) señalan la práctica habitual en el Norte de Europa de dejar hijos adicionales cuando las intensidades lumínicas son altas para manejar la carga de fruta y optimizar la cosecha. En Tenerife, se está desarrollando una variante de este sistema, partiendo de planta injertada, consistente en dejar hijos adicionales que se despuntan tras emitir el primer racimo. Si el vigor de la planta lo permite se deja un hijo adicional por cada racimo emitido.

El objetivo de este trabajo es evaluar el comportamiento de la técnica de dejar hijos adicionales frente al descolgado normal donde los tallos se deshijan completamente.

Material y métodos

El ensayo se ubicó en una explotación comercial en el municipio de Arico (Los Moriscos) a 110 msnm, en el SE de Tenerife, dentro de la zona de cultivo de tomate. Se llevó a cabo en un invernadero de con estructura tipo parral de techo plano, con techo de malla monofilamento de 10x14 hilos/cm² y laterales de malla mixta (textil-PE). Las temperaturas registradas durante la experiencia se muestran en la figura 1.

El sustrato utilizado fue lana de roca GroDan® (120 x 20 x 10 cm). La solución nutritiva se aplicó a la demanda. Se utilizó un sistema de riego por goteo con emisores autocompensantes antidrenantes y un cabezal de riego automático con control de fertirrigación por consigna de pH y CE.

Se utilizó el cultivar Doroty (De Ruitter) injertado sobre el patrón interespecífico Maxifort (De Ruitter), trasplantado el 23 de agosto de 2008 a una densidad de 2 tallos/m² (2 guías por planta). La recolección comenzó el 4 de noviembre de 2008 y terminó el 4 de mayo de 2009. Las labores de cultivo y los tratamientos fitosanitarios fueron los normales en la finca, encuadrada dentro de las normas de producción controlada AENOR UNE 155000 (UNE 155102, 2009). Los tallos fueron llevados en entutorado danés, con alambres a 3.5 m de altura. Se evaluaron dos sistemas de poda: El sistema estándar, eliminando todos los hijos y el sistema modificado donde se dejó un hijo adicional por cada racimo emitido en el tallo principal, a partir de la 3ª inflorescencia. Los hijos a su vez, se despuntaban sobre el 1º racimo (fig. 2). Para ello se dividió el invernadero en dos partes (una para cada tipo de poda). El descolgado comenzó con la emisión del 9º racimo, a finales de diciembre, realizándose cada 3 semanas aproximadamente, realizando un primer deshojado, hasta dejar el 1º racimo visto. Posteriormente se realizó cada 7 – 10 días, eliminando entre 3 y 5 hojas

Los datos estudiados fueron: producción total de frutos comerciales y destrío, peso y porcentaje de tomates de cada calibre (Rodriguez et al., 1997), así como las tasas de crecimiento del tallo, de emisión de hojas y de racimos. Los datos se tomaron de 3 plantas escogidas al azar dentro de cada zona. Tras comprobar la normalidad de los resultados obtenidos, se sometieron a análisis de varianza utilizando el programa Statitix 7.0.

Resultados y discusión

El tratamiento modificado tuvo casi el doble de hojas y de racimos que el estándar (tabla 1). Esta diferencia fue debida a lo emitido por los hijos adicionales, ya que los números en los tallos principales fueron muy similares. Heuvelink y Marcelis (1996) obtuvieron 60.3 hojas/planta para una densidad de 2.1 plantas/m². En los tallos principales se emitía un racimo por cada 3 hojas. Heuvelink y Dorais (2005) señalaron que de forma aproximada, la emisión de inflorescencias es un tercio de la emisión de hojas (1 racimo cada 3 hojas), lo que se cumple en el caso del descolgado estándar y del tallo principal del tratamiento modificado. El número medio de hojas por hijo adicional fue de 4 hojas.

En lo referido al nº de frutos (tabla 1), en el tratamiento modificado se emitieron casi un 50% más de frutos que en el estándar. De nuevo, no hubieron diferencias entre los tallos principales, siendo el aumento debido a los frutos emitidos en los hijos adicionales.

El mayor número de hojas del tratamiento modificado, aunque necesario para poder producir los frutos adicionales, puede suponer una posible dificultad de manejo en condiciones favorables para enfermedades como botritis y mildiu. En esas condiciones,

los tallos y las hojas tardan más tiempo en secarse. Además, los tratamientos fitosanitarios son más difíciles y sería más fácil que el tratamiento no tenga una buena cubrición.

Como era de esperar de los datos anteriores, el índice de área foliar del tratamiento modificado fue entre un 60 y un 70% mayor, siendo esta diferencia significativa a los 200 días (tabla 2). Heuvelink et al. (2005) señalaron que a partir de un IAF de 4.0 no son de esperar aumentos de cosecha significativas. Por lo tanto, el tratamiento modificado tendría un IAF muy alto a los 236 días, con más de 6, casi equivalente a una plantación estándar a alta densidad, 3,1 plantas/m² (Heuvelink y Marcelis, 1996). Por el contrario, el tratamiento estándar sólo alcanzaría ese IAF de 4,0 a los 236 días, con valores relativamente bajos a los 172 y 200 días. Valores por debajo de 2.0 ya suponen una bajada de la fotosíntesis que se refleja en una menor producción y calidad de la fruta (Heuvelink et al., 2005). Raya et al. (2009) encontraron en Gran Canaria, trabajando con descolgado estándar, unos IAF que oscilaron entre 4.2 y 4.8 con un ciclo similar al del ensayo.

El rendimiento comercial del tratamiento modificado fue de 16.3 kg/m², un 33% superior al del estándar. No se observaron diferencias significativas entre ambos (fig. 3). No hubieron casi diferencias entre el tratamiento estándar y el rendimiento procedente del tallo principal del tratamiento con hijos adicionales, con 12.25 y 11.01 kg/m², respectivamente. El aporte de los hijos a la producción fue de 5.24 kg/m², aproximadamente el 47%. Raya et al. (2008) trabajando con descolgado estándar en invernadero de malla y descolgado estándar, obtuvieron producciones comerciales de 14.8 kg/m². Las producciones comerciales de Doroty en Tenerife en la misma zona que la del ensayo oscilan entre 11 y 12 kg/m² (Santos et al., 2010, Santos et al., 2009).

Con respecto a los calibres (fig. 4), se observa como el tratamiento estándar obtuvo frutas con un calibre algo más alto que el modificado, con un porcentaje de tomates de calibre G mucho mayor y menos fruta en MM. El comportamiento de ambos tratamientos estarían dentro de lo esperable de Doroty en otros ensayos (Santos et al., 2010, Santos et al., 2009).

Es interesante observar que el aporte de la fruta producida en los hijos adicionales se produjo en la parte final del periodo de recolección, a partir de los 200 dtt (fig. 5). Esto podría implicar que debería poder manejarse el sistema de hijos adicionales para poder lograr esta producción antes, estudiando la fecha de trasplante y la altura del entutorado (para poder dejar hijos adicionales desde el 1º o 2º racimo) para poder programar la entrada en producción de los hijos adicionales

Referencias

- Heuvelink, E. & Dorais, M. 2005. Crop growth and yield. P 85-144. In: Heuvelink, E. (Ed.). Tomatoes. Crop production science in Horticulture, 13. Cabi Publishing. Wallingford.
- Heuvelink, E. & Marcelis, I.F.M. 1996. Influence of assimilate supply on leaf formation in sweet pepper and tomato. J. Am. Soc. Hort. Science, 71: 405-414.
- Heuvelink, E., Bakker, M.J., Elings, A., Kaarsemaker, R., & Marcelis, I.F.M. 2005. Effect of leaf area on tomato yields. Acta Horticulturae, 691: 43-50.
- Peet, M.M. & Welles, G. 2005. Greenhouse tomato production. 257-304. En: Heuvelink, E. (ed.). Tomatoes. Crop production science in horticulture 13. CABI Publishing. Londres. 339 p
- Raya, V., Parra, M., Cid, M.C. & J.A. Haroun. 2007. Respuestas del cultivo de tomate a mejoras en el sistema de cultivo y la conducción de las plantas. Actas de Horticultura, 48: 349-351
- Raya, V., Parra, M. & Cid, M.C. 2010. Evaluación de un nuevo paquete tecnológico para producción de tomate de exportación. En: Martín, M. y P. Hoyos (eds.). XXXVIII

- Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura, Sitges- Barcelona 2008. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Rodríguez, R., Tabares, J.M. & Medina, J.A.. 1997. Cultivo moderno del tomate. 2ª Ed. Mundi-Prensa.
- Salas, M^oC. 2002. Densidades de plantación, poda y entutorado en cultivo de tomate protegido. Horticultura Internacional, Extra 1: 98-108.
- Santos B., Coello, A., Díaz, C., Guanche, A. & Ríos, D.. 2009. Comportamiento agronómico de variedades de tomate de exportación en Tenerife (Islas Canarias). Campaña 2006-2007. In: Martín, M. y P. Hoyos (eds.). XXXVII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura. Almería 2007. Servicio de Publicaciones del MARM.
- Santos B., Guanche, A., Ramos, C. & Ríos, D. 2010. Comportamiento agronómico de variedades de tomate de exportación en Tenerife (Islas Canarias). Campaña 2007-2008. In: Martín, M. y P. Hoyos (eds.). XXXVIII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura. Sitges- Barcelona 2008. Servicio de Publicaciones. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- UNE 155102. 2009 Hortalizas frescas. Producción Controlada. Tomate. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR). Madrid.
- Viceconsejería de Agricultura y Ganadería. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias. 2009. Encuesta sobre estructuras en el subsector de tomate de exportación. (sin publicar).

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Número de hojas, racimos y frutos finales emitidos durante el cultivo. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas al 95%

tratamiento	nº hojas	nº racimos	nº frutos
Estándar	53,0 a	18,7 a	95,6 a
Modificado	99,4 b	29,6 b	155,8 b
M. tallo principal	54,4	18,4	104,5
M.hijos adicionales	45,1	11,2	51,3

Tabla 2 - Evolución del Índice de área foliar. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas al 95%

tratamiento	Índice de Área foliar (IAF) m ² /m ²		
	172 ddt	200 ddt	276 ddt
Estándar	2,4 a	2,7 a	4,0 a
Modificado	4,1 a	4,3 b	6,0 a

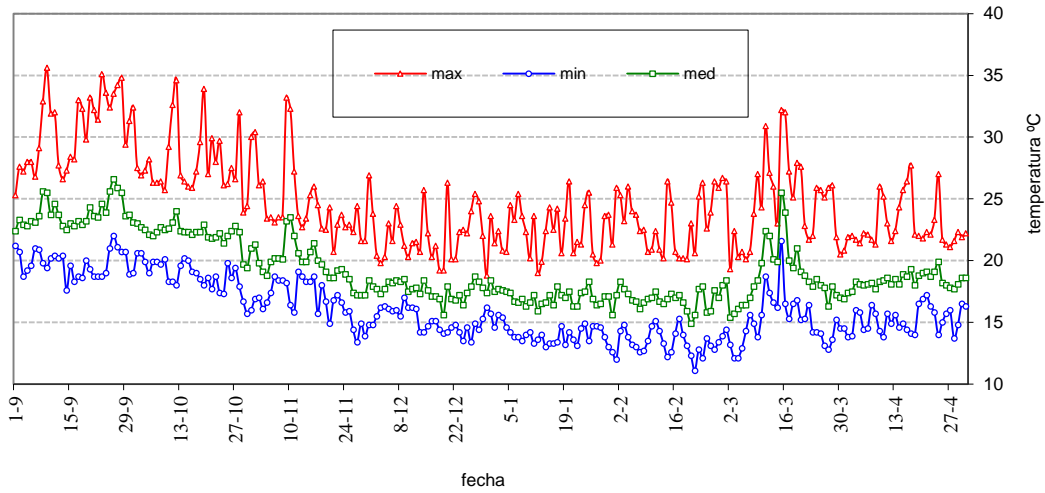


Figura 1 - Evolución de las temperaturas en invernadero durante la experiencia

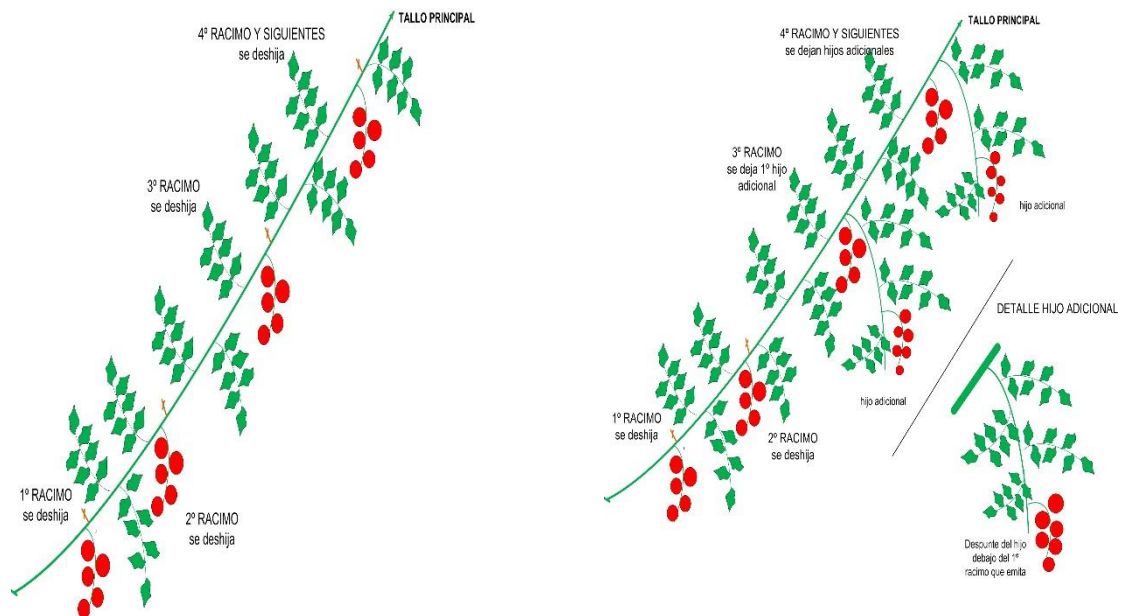


Figura 2 - Esquema donde se comparan el sistema estandar de poda en descolgado (izquierda) y el modificado (derecha), seguidos en el ensayo.

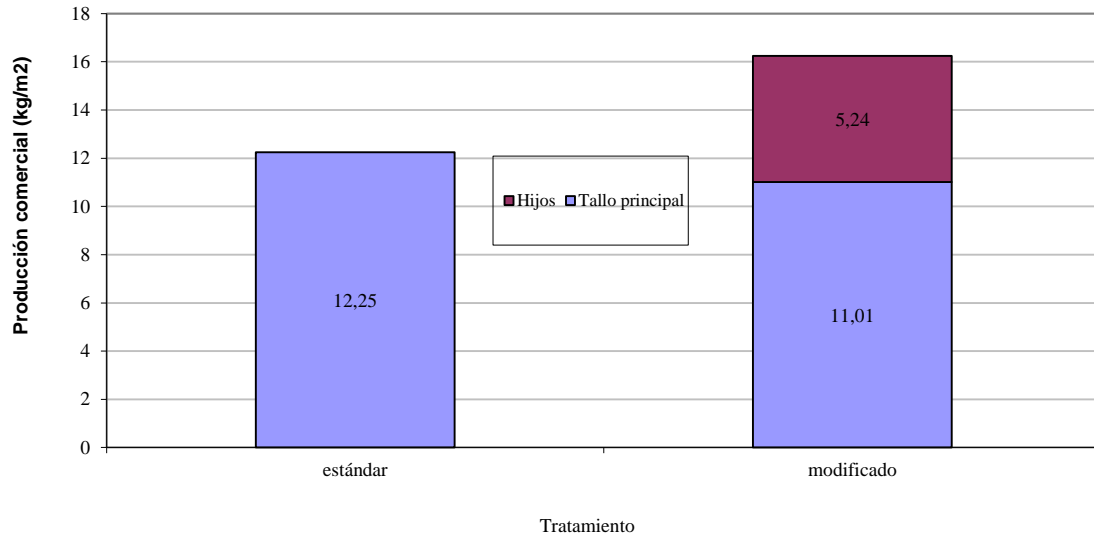


Figura 3 - Producción comercial de los tratamientos en ensayo

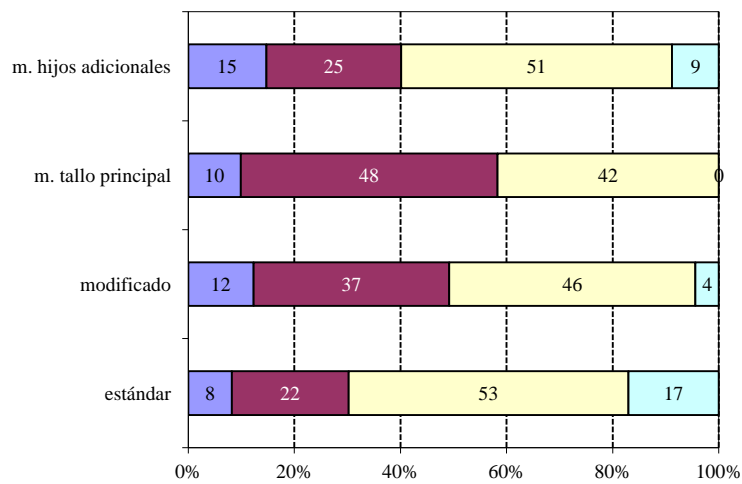


Figura 4 - Calibres obtenidos en el ensayo.

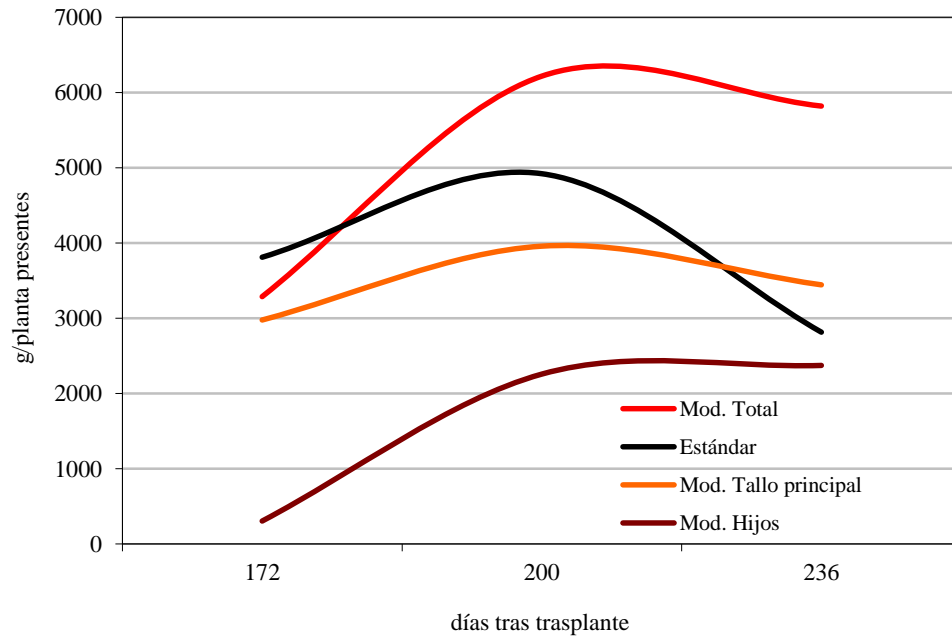


Figura 5 - Evolución de la biomasa de fruta en el ensayo.

A evolução do tomate para indústria em Portugal

M^a. Fátima de Oliveira¹, Rodolfo Bernabéu², Miguel Olmeda² & Mariano Suárez de Cepeda²

¹Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária de Coimbra, DCSH, CERNAS, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal, foliveira@esac.pt.

²Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, Universidad de Castilla-La Mancha, Campus Universitario, s/n. 02071 Albacete, Espanha, Rodolfo.Bernabeu@uclm.es; *Miguel.Olmeda@uclm.es*; Mariano.Suarez@uclm.es

Resumo

Este trabalho tem como objetivo analisar a competitividade e os determinantes das exportações do tomate transformado português, através de um conjunto de indicadores para avaliar a competitividade internacional, entre 1981-2013. É feita uma análise comparativa com Espanha. Portugal mantém a posição relativa em relação aos seus concorrentes, mas revela um declínio da competitividade internacional entre 1981 até 2007. No período entre 2011-2013 é observa-se uma melhoria na competitividade. O preço é importante para as exportações de concentrado. No concentrado português o comércio é inter-industrial e para outros produtos é intra-industrial horizontal (HIT). Em Espanha, no concentrado e no tomate pelado o comércio é inter-industrial e HIT para o sumo. A ligação do desenvolvimento industrial ao crescimento agrícola será um fator predominante para a estratégia de redução de custos da matéria-prima e desenvolvimento agrícola sustentável.

Palavras-chave: Tomate; Transformação; Competitividade; Produção

Abstract

The evolution of tomato for industry in Portugal

This work aims to analyze the competitiveness and the determinants of Portuguese processed tomato exports through a set of indicators used to measure international competitiveness during 1981-2013. A comparative analysis was carried out with Spain. Portugal maintains its relative position vis-à-vis its competitors, but reveals a decline in international competitiveness. In period, 2011-2013, there is an improvement in competitiveness. The price is important for paste tomato exports. For the Portuguese tomato pasta, there is an inter-industry trade and for other tomato products are HIT. For Spanish paste and tomato peeled we observe inter-industrial trade and for juice are HIT. The linkage of industrial development to agricultural will be a predominant factor for the strategy of reducing costs of raw materials and sustainable agricultural.

Keywords: Tomato, Processing; Competiveness; Production

Introdução

O setor Agro-Alimentar e Bebidas (IAB) é considerado estratégico para a melhoria da competitividade e para o crescimento da economia portuguesa. O quadro 1 apresenta o saldo comercial do IAB e demonstra a importância da indústria do tomate na redução do défice comercial.

Comercio Internacional

Entre 2011 e 2013, o concentrado de tomate português representou em média 96% da exportação em valor do total dos produtos de tomate transformados e o tomate pelado

representou cerca de 4%. Houve um aumento importante das exportações deste produto em relação ao período compreendido entre 1992 e 2007 em que representou 2% das exportações. O sumo de tomate representou 0,05% do total de produtos exportados de tomate, mantendo constante esta relação (FAOSTAT, www.fao.org; 2016). Em 2011(13), Portugal foi o 8º produtor de tomate para indústria com 3% da produção mundial e o 3º produtor da União Europeia (UE) com 13% da produção. Portugal é o 5º exportador mundial de tomate concentrado com 7% e o 3º exportador da UE com cerca de 16% das exportações da UE. A Espanha é o 5º produtor mundial de tomate para indústria (5% da produção mundial e 22% da produção da UE). Nas exportações de concentrado de tomate, Espanha é 4º exportador mundial (8%) e cerca de 17% das exportações da UE. A Itália é o 3º produtor mundial de tomate para indústria (13% da produção) e 2º exportador mundial de concentrado com 24% e o 1º exportador da UE (com 56% das exportações da UE) (WTPC, www.wptc.to; FAOSTAT, vários anos). Os três maiores importadores de concentrado de tomate a nível mundial são: a Alemanha, 9%; Nigéria, 7%, o Reino Unido e o Japão com 6%. Em 2011-2013, os maiores importadores de produtos de tomate de português foram o Reino Unido com 27% das exportações, seguido do Japão (15%) e da Espanha com 13% (AICEP, www.portugalglobal.pt; 2016).

Consumo

O consumo aparente *per capita* de produtos transformados de tomate varia segundo a fonte. De acordo com a Tomato News (vários anos), o consumo *per capita* passou de 4,0 kg/ano em 1996 para cerca de 6,1 kg/ano em 2015. Os Países com maior consumo *per capita* são os Emirados Árabes Unidos com 32,1 kg/ano, a Austrália e Nova Zelândia com 22,9 kg/ano em 3º lugar o Iraque com 21,9 kg/ano. O que pode significar que a procura aumentou enquanto a produção e a oferta se concentram. Na Figura 1, observa-se uma taxa de crescimento médio anual significativo do consumo em mercados não produtores de tomate transformado, sendo de salientar o crescimento do consumo na África Ocidental, Oriental e no Iraque. O consumo de produtos transformados de tomate se globalizou e cerca de $\frac{3}{4}$ do consumo tem lugar fora das regiões tradicionais da produção (Tomato News, 2014). Este fato se pode analisar pelo aumento das trocas comerciais.

Produção

Entre 1989(93) e 2010(14), a produção mundial de tomate (consumo em fresco e indústria) apresentou uma Taxa de Crescimento Média Anual (TCMA) de 3% (médias centradas quinquenais). Na UE a TCMA foi muito inferior, i.e. de 0,2%. A relação entre a produção de tomate para consumo em fresco e para transformação é relevante para o estudo visto que ambas as produções são competidoras em termos de áreas de produção. A produção de tomate fresco tem aumentado a sua importância em relação ao tomate para indústria a nível mundial. Na UE a tendência é inversa (Figura 2). Em relação ao tomate para indústria entre 1989(93) e 2010(14) a produção mundial cresceu a uma TCMA de 2,3% e na UE esse valor foi de 1%.

Observa-se uma redução evidente da importância da produção de tomate na UE em relação à produção mundial (Figura 2), tanto para consumo em fresco como para transformação. Tal facto deve-se aos investimentos na Califórnia, na China e no Norte de África. A área de produção no Norte de África decresceu entre 2000(04) e 2010(14) de 2% mas no mesmo período a produção aumentou de 17% o que demonstra uma aposta na tecnologia e na produtividade. O Irão tornou-se um potencial produtor de tomate para indústria, com 5% da produção mundial de tomate para indústria em 2011-13, sendo 6º produtor mundial de tomate para indústria (Figura 3).

A produção portuguesa de tomate para indústria passou de 732 mil tons em 1993(95) para 1.285 mil tons em 2013(15), representando uma TCMA de 2,0% superior ao crescimento da produção mundial de tomate, que foi de 2,5% ao ano no mesmo período (WTPC, vários anos). O Alentejo representa 83% da produção nacional, seguida da região de Lisboa e Vale do Tejo com 17% (Estatísticas agrícolas, 2015). Em Espanha este crescimento foi de 4% (WTPC, vários anos). A Estremadura representa 72% da produção de Espanha seguida da Andaluzia com 17% (Ruiz, 2015).

O estudo realizado por Bunte e Roza (2007) sobre a redução dos subsídios e o *Decoupling* previram que a alteração da PAC iria reduzir a produção de tomate para indústria em 15% em Portugal e de 35% na Itália. Concluiu que os países mediterrânicos europeus teriam vantagem comparativa para a produção de frutas e vegetais em vez de culturas arvenses nos quais estaria incluída o tomate para indústria. No entanto, entre 2012 e 2015, a Itália, Espanha e Portugal aumentaram a sua produção de tomate para indústria em cerca: 20%, 56% e 39% respetivamente.

Em Portugal, entre 2012-2015, a área de hortícolas aumentou 3% e a produção de 9%. Nos frutos frescos e pequenas bagas, a área aumentou 47% e a produção 32%, simultaneamente a área de produção de tomate para indústria aumentou 39% (INE, www.ine.pt). Na estremadura espanhola entre 2012-2014 a área do tomate para indústria aumentou 20% e a produção de 31%.

O Quadro 2 resume a evolução do setor agrícola para o tomate para indústria em Portugal. A redução do número de agricultores é evidente, no entanto, houve um aumento na área e da produtividade após o período de estruturação. Semelhante processo decorreu em Espanha. Estes resultados mostram aumentos na concentração na produção de matéria-prima que seguiu uma estratégia de concentração similar na indústria da transformação de tomate. (Oliveira, 2006).

Este trabalho tem por objetivo analisar a competitividade do tomate para indústria português através de um conjunto de indicadores de competitividade internacional desde 1981 até 2013 através de uma análise trianual. É analisado os fatores que poderão influenciar as exportações de concentrado de tomate. Uma comparação com Espanha é efetuada.

Material e Métodos

O Indicador de Vantagem Comparativa Relevada de Balassa (VCR) é um dos indicadores mais conhecidos para estudar a competitividade de um setor de uma região. O VCR é muitas vezes medido pela participação do produto a analisar nas exportações do país em relação à sua participação no comércio e pode ser definido como: $VCR_{ij} = (x_{ij}/X_{it}) / (x_{wj}/X_{wt})$, sendo: x_{ij} e X_{wj} os valores das exportações do País i do produto j e as exportações mundiais do produto j ; X_{it} e X_{wt} , são as exportações do País i e do mundo. Se $VCR_{ij} > 1$, indica que o país se especializou no produto i e apresenta uma vantagem comparativa no produto. Se $VCR_{ij} < 1$ o país não se especializou e apresenta uma desvantagem comparativa. Para superar a fraqueza da fraca distribuição empírica do VCR vai-se aplicar também o Indicador da Vantagem Comparativa Revelada Simétrica (VCRS) expressa como: $(VCR-1)/(VCR+1)$ (Laurson, 1998, Dalum *et al.*, 1998). Quando o indicador $VCRS_{ij} > 0$ o país tem vantagem comparativa se for inferior a zero tem desvantagem comparativa para o produto j .

A competitividade e o comércio intra-industrial estão interligados. Grubel-Llyod indicador (GL) é definida como: $GL = [1 - |X_{ij} - M_{ij}| / (X_{ij} + M_{ij})]$: X_{ij} é a exportação do produto j do país i e M_{ij} é a importação do produto j do país i (Latruffe, 2010). Um $GL=0$ indica que todo o comércio é inter-industrial (ou exporta ou importa o bem j). Um $GL=1$ indica que o comércio é intra-industrial (ITT) e corresponde à exportação e importação

simultânea de produtos diferenciados pertencentes à mesma indústria. Sendo necessário distinguir entre o comércio intra-indústria horizontal (HIT) do comércio intra-industrial vertical (VIT). O HIT refere-se às exportações e importações de bens do mesmo sector que diferem porque têm atributos específicos, mas são semelhantes em qualidade. No VIT os bens são distinguidos pela qualidade e este pelo preço. Os fluxos comerciais são definidos como horizontalmente diferenciados, se a diferença de valores unitários for inferior a um dado spread (α). Quando α no valor unitário das exportações em relação ao valor unitário das importações for inferior a 15%, i.e, estão no intervalo, $[(1/1+\alpha) \leq P_{xij}/P_{mij} \leq (1+\alpha)]$ o comércio é HIT, caso contrário é VIT. Sendo P_{xij} o preço unitário de exportação do bem i para o parceiro j e P_{mij} o preço unitário de importação de produto i do parceiro j , (Greenaway, 1995; Amador e Cabral, 2009). Podemos considerar este rácio como os termos de troca.

Com o objetivo de identificar os fatores que influenciam as exportações de tomate para indústria, estimamos uma função logarítmica da procura log-linear de tipo Cobb-Douglas (Shende and Bhole, 1999; Kumar and Rai, 2007; Kumar et al., 2008; Rani et al., 2014). A Equação de regressão pode ser expressa como:

$$\ln Y_{expi} = \beta_1 + \beta_2 \ln Q_i + \beta_3 \ln Q_w + \beta_4 \ln M_w + \beta_5 \ln PR_{wi} + \beta_6 \ln PR_{eui} + U_i,$$

em que: Y_{expi} = Exportações do País i de concentrado de tomate em volume; Q_i = Produção do País i de tomate fresco para indústria em volume (Mt); Q_w = Produção mundial de tomate fresco para indústria em volume; M_w = Importações mundiais de concentrado de tomate em volume; PR_{wi} = Relação entre o preço de exportação do País i e o preço de exportação mundial; PR_{eui} = Rácio do preço de exportação do País i e do preço de exportação da UE; β_i = Elasticidades e U_i = termos de erro aleatórios. Realizamos a regressão com todos os parâmetros. No entanto a regressão apresentava problemas de heterocedasticidade, devido a problemas de correlação entre as variáveis. Os coeficientes β_i do Modelo dos Quadrados Mínimos (MMQ) ou *Ordinary Least Squares (OLS)*, é *Best Linear Unbiased Estimator (BLUE)* se as suposições do modelo clássico, incluindo a homocedasticidade forem respeitadas (Gujarati, 1995). A presença de *heterocedasticidade* induz a regressões cujos parâmetros podem estar enviesados resultando em resultados ambíguos. Para lidar com a heterocedasticidade omitiu-se a variável de produção de tomate para indústria de cada País i . Os valores em volume forem expressos em 1000 toneladas (dados da World Processing Tomato Council, WPTC) os preços unitários são expressos em 1000US\$/t (FAOSTAT, valores das exportações e importações de concentrado). Foram utilizados os dados de exportação de concentrado para determinar as exportações porque este é o principal produto exportado de Portugal e Espanha. Cerca de 90% da produção de tomate é usado para produzir concentrado. Foi realizada a regressão pelo Método dos Quadrados Mínimos, (MMQ) no Software STATA10.

Resultados e Discussão

Para analisar o desempenho internacional competitivo dos produtos transformados de tomate de Portugal e Espanha, foram estimados os indicadores de competitividade das exportações. Utilizamos os dados de exportação e importação emitidos pela FAOSTAT (www.fao.org, 2016). Para a construção dos indicadores RCA, RSCA e GL, utilizou-se o valor médio das importações e exportações de cada produto para cada dos triênios entre 1981 e 2013 (Quadro 3). Para Portugal, os resultados indicaram que o RCA para os produtos de tomate (todas as exportações de produtos de tomate) e para o concentrado foram superiores a um, o país tem vantagem comparativa. O RSCA para o concentrado é muito próximo de um o que revela Vantagem Comparativa. É importante referir que os valores os indicadores diminuíram de 1981-83 para 2005-07

para o concentrado de tomate e para os produtos de tomate como um todo. O último triênio revela uma melhoria dos indicadores. As RCAs para tomate pelado e sumo de tomate é inferior a um, i.e., há uma desvantagem comparativa. Espanha apresenta vantagem comparativa para o concentrado e para os produtos a base de tomate. Os indicadores são inferiores aos de Portugal. Para o sumo, Espanha apresenta-se competitiva. Para Portugal o GL indicador é próximo de zero para o concentrado, mas próximo de um para os outros produtos. O que indica um comércio inter-industrial (exportador de concentrado) para o concentrado e intra-industrial para o tomate pelado e sumo de tomate. Através dos termos de troca podemos observar que os valores variam aos longos dos triênios, mas a análise da série longa, para o tomate pelado e sumo de tomate considerou-se que os valores estão dentro no intervalo considerado anteriormente e considerou-se comércio intra-industrial horizontal (HIT). Para Espanha, no comércio do concentrado e do tomate pelado já existe alguma sobreposição entre as exportações e importações, mas o valor é inferior a 0,5 e desde modo se considerou que o comércio é inter-industrial. No sumo de tomate o indicador se aproxima de um em vários períodos o que indica, comércio HIT, ou seja, os bens exportados e importados apresentam diferentes atributos, mas qualidade similar.

Para analisar os fatores que influenciam as exportações de concentrado de tomate, foi estimada a regressão que se apresenta no Quadro 4. Os resultados mostraram que os quatro fatores podem explicar cerca de 92% da variação das exportações portuguesas e 98% das exportações espanholas de concentrado de tomate. No quadro 4, observamos que o coeficiente das importações mundiais de concentrado em volume e o ratio do preço de exportação do concentrado português e o preço de exportação mundial de concentrado de tomate são estatisticamente significativos, sendo 0.867 e -2,140, respetivamente. Estes coeficientes como sendo lidos com elasticidades. O aumento de 1% do comércio internacional conduziu, em média, a um aumento de cerca de 0,8% nas exportações portuguesas de concentrado. A relação entre os preços de exportação portugueses e os preços mundiais é também uma variável importante nas exportações portuguesas, afetando negativamente, ou seja, um aumento de 1% neste rácio conduziu, em média, a uma diminuição de 2,14% das exportações portuguesas. No entanto, o coeficiente do ratio entre o preço português e o preço europeu tem um sinal positivo, mas não é estatisticamente diferente de zero. Para Espanha, a variável importações internacionais é significativa, positiva e o valor semelhante ao de Portugal. As exportações de concentrado espanholas são influenciadas pelo ratio entre o Preço de exportação e o Preço do mercado europeu. Pode significar que o Preço europeu influencia as exportações espanholas e o Preço mundial as exportações portuguesas.

Conclusões

Este estudo descreve um sector que sofre em constante mudanças estruturais no consumo e na produção que afetam a sua competitividade. O aumento do número de novos produtores de tomate transformado e o aumento do consumo, mas a uma taxa diferente, levou a uma queda dos preços até 2007. Nos últimos anos, observamos um aumento no preço, mas também observamos o surgimento de novos concorrentes e novos consumidores. Este trabalho constata que a competitividade na exportação de tomate transformado de 1981-83 para 2005-07 diminuiu. No entanto, no último período de 2011-13 observar-se uma melhoria nos indicadores de competitividade. Apesar do aumento das exportações de tomate pelado e do sumo de tomate, o peso destes produtos no total das exportações portuguesas de tomate transformado é reduzido. O preço é atualmente uma variável importante para o comércio português e espanhol de concentrado de tomate. Melhorar a diferenciação dos produtos e ser menos dependente dos preços poderia

melhorar a competitividade das exportações de produtos transformados de tomate. O mercado internacional de produtos de tomate é competitivo e dinâmico. A inovação e a diversificação de produtos são fatores críticos de sucesso. Os mercados emergentes como os tradicionais para os produtos portugueses do tomate são exigentes em termos de qualidade e boas práticas agrícolas e ambientais. A inovação na cadeia alimentar e a criação de valor, não só ao nível do produto, mas também no uso eficiente dos recursos naturais devem ser objetivos estratégicos para um dos sectores mais importantes da indústria alimentar portuguesa.

Referências

- Amador, J. & Cabral, S. 2009. O comércio intra-industrial na economia portuguesa: Produtos e Parceiros, Boletim Económico, Banco de Portugal. Verão, p. 109-125.
- Bunte, F.H.J. & Roza, P. 2007. Peeling tomato paste subsidies: the impact of a revision of the CMO for processing tomatoes on European horticulture Den Haag: LEI, 50 p.
- Dalum, B., Laursen, K. & Villumsen, G. 1998. Structural change in OCDE export specialisation patterns: de-specialisation and 'Stickiness'. *International Review of Applied Economics*, Vol. 12, p. 447-467.
- Greenaway, D., Hine, R.C. & Milner, C.R. 1995. Vertical and Horizontal Intra-Industry Trade: A Cross-Industry Analysis for the United Kingdom. *Economic Journal*, Vol. 105, p. 1505-1518
- Gujarati, D. 1995. *Basic Econometrics*, 3 Ed, McGraw-Hill Books, 838 pp
- Kumar, N. & Rai, M. 2007. Performance, Competitiveness and Determinants of Tomato Export from India. *Agricultural Economics Research Review*: 20, p.551-562.
- Kumar, N., Rai, A. & Rai, M. 2008. Export of Cucumber and Gherkin from India: Performance. *Agricultural Economics Research Review*, Vol. 21, p. 130-138.
- Latruffe, L. 2010. Competitiveness, Productivity and Efficiency in the Agricultural and Agri-Food Sectors. *OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers*, No. 30, 62 pp.
- Laursen, K. 1998. Revealed Comparative Advantage and The Alternatives as Measures of International Specialization. DRUID, Working Paper. p. 98-30.
- Oliveira, M.F. 2006. The Evolution of the Portuguese Processed Tomato Sector: situation and prospects on the global market. *New Medit*, Vol. V (1), p. 38-46.
- Rani, P., Immanuel, S. & Kumar R. 2014. Ornamental Fish Exports from India: Performance, Competitiveness and Determinants. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, Vol. 1 (4), p. 85-92.
- Ruiz, J, 2015, ww.unex.es/conoce-la-uex/centros/eia/archivos/iag/2014/2014_07_El_tomate_para_industria.pdf
- Shende N. & Bhole B. 1999. Export potential for India's food grains. *Economic Affairs Calcutta* 1999; Vol. 44 (1), p. 59-64.
- Tomato News, 2014. Dossier Italy: the main global exporter of tomato products. *Global consumption survey 2012/2013*, p. 35-56.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Balança Comercial do IAB e da Indústria do tomate em milhares de Euros (P. constantes, PIB deflatores: 2011) em Portugal

Anos	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
IAB	-4528	-4115	-3899	-4008	-3846	-3958	-4294	-4438	-3964	-4069	-4200	-3724	-3648	-3137	-3244
Ind. do Tomate	91	105	103	87	81	92	101	114	142	131	143	151	176	172	187

Fonte: Agência para o Investimento e Comércio Externo de Portugal (AICEP). www.Portugalglobal.pt

Quadro 2 - Evolução do setor de tomate para indústria na Produção, Portugal

Anos (5 anos)	Prod (nº)	Org. Prod. (nº)	Área (ha)	Prod. Tomate (t)	Produtividade (t/ha)	Prod. Final (t)	Rend. Industrial.	P. Tomate (€/t)	Ajuda (€/t)
1996-2000	2910,20	36,00	14968	898136	60,92	166555	5,41	91,19	224,63
2004-2008	667,40	29,00	14131	1147512	81,25	182447	6,29	78,61	30,54
2012-2016	448,00	18,80	16610	1424621	85,68	213386	6,40		1,89
Varição (1996/16)	-85%	-48%	11%	59%	41%	28%	18%		-99%

Fonte: Elaborado com os dados do Instituto Financiamento da Agricultura e Pescas (IFAP),

Quadro 3 - Indicadores de competitividade e Termos de Troca, 1981-83 a 2011-13, Portugal e Espanha

Períodos	1981-83	1987-89	1993-95	1999-01	2005-07	2011-13	1981-83	1987-89	1993-95	1999-01	2005-07	2011-13
CONCENTRADO												
PORTUGAL						ESPANHA						
RCA	41,56	25,25	20,93	17,30	17,35	20,18	4,56	3,98	4,71	3,86	5,49	4,54
RSCA	0,95	0,92	0,91	0,89	0,89	0,91	0,64	0,60	0,65	0,59	0,69	0,64
GL index	0,00	0,00	0,03	0,02	0,04	0,05	0,00	0,22	0,10	0,19	0,12	0,26
TOMATE PELADO												
PORTUGAL						ESPANHA						
RCA	0,34	0,31	0,50	0,86	0,70	3,09	6,81	5,18	3,29	2,41	3,02	4,11
RSCA	-0,49	-0,54	-0,37	-0,08	-0,18	0,42	-0,49	-0,54	-0,37	-0,08	-0,18	0,42
GL index	0,00	0,63	0,74	0,75	0,52	0,90	0,00	0,07	0,15	0,28	0,23	0,20
SUMO DE TOMATE												
PORTUGAL						ESPANHA						
RCA	0,41	0,15	0,08	4,13	0,46	0,49	0,41	0,15	0,08	4,13	0,46	0,49
RSCA	-0,41	-0,73	-0,85	0,61	-0,37	-0,34	-0,68	-0,65	0,18	0,05	0,39	0,55
GL index	0,00	0,87	0,47	0,23	0,76	0,84	0,05	0,65	0,59	0,84	0,57	0,33
TODOS OS PRODUTOS												
PORTUGAL						ESPANHA						
RCA	29,99	16,75	14,06	12,14	12,12	14,74	5,75	4,29	4,27	3,28	4,85	4,51
RSCA	0,94	0,89	0,87	0,85	0,85	0,87	0,70	0,62	0,62	0,53	0,66	0,64
GL index	0,00	0,02	0,09	0,09	0,14	0,16	0,00	0,17	0,11	0,21	0,17	0,24
TERMOS DE TROCA						TERMOS DE TROCA						
PORTUGAL						ESPANHA						
Concentrado		0,54	1,05	1,04	0,90	1,03	0,24	1,45	1,86	1,58	1,24	1,54
Pelado		1,09	1,10	1,02	0,83	0,56	0,50	0,86	0,56	0,75	0,73	0,91
Sumo			1,65	0,50	1,20	2,61	0,49	0,93	0,62	1,02	1,37	0,65

Fonte: Elaborado com os dados da FAOSTAT (www.fao.org)

Quadro 4 - Modelo da procura das exportações de concentrado de tomate de Portugal e Espanha :1989 to 2013

Regressor	PORTUGAL				ESPANHA				
	Coefficiente	Erro Stand	t-ratio	p-value	Coefficiente	Erro Stand	t-ratio	p-value	
Inter (ln α)	β_1	-0.811	1.605	-0.51	0.619	-0.578	1.961	-0.29	0.771
ln(Qw)	β_2	-0.050	0.235	-0.21	0.833	-0.015	0.229	-0.07	0.949
ln(Mw)	β_3	0.847	0.135	6.28	0.000	0.770	0.156	4.93	0.000
ln(PRwi)	β_4	-2.140	0.670	-3.19	0.005	0.761	0.608	1.25	0.225
ln(PReui)	β_5	1.023	0.613	1.67	0.111	-2.478	.650	-3.81	0.001
$R^2 = 0.918$				Adj $R^2 = 0.902$		$R^2 = 0.9832$		Adj $R^2 = 0.9798$	
F(4, 20) = 56 ; Prob > F = 0.00				Root MSE= .10		F(4, 20) = 292, Prob > F = 0.00		Root MSE= .10	

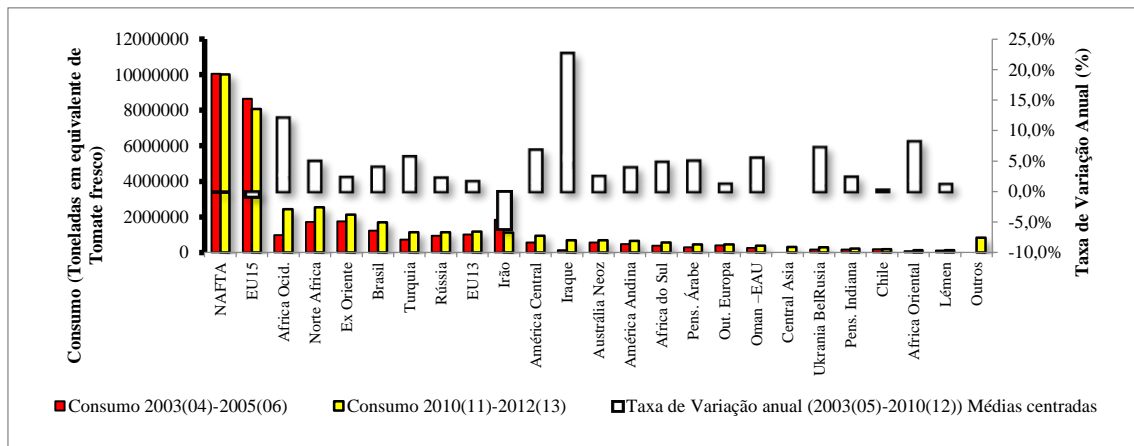


Figura 1 - Taxa de variação do consumo e consumo de tomate transformado em toneladas por região de tomate transformado (2003 e 2012)

Fonte: Elaborado com dados de Tomato News (2014)

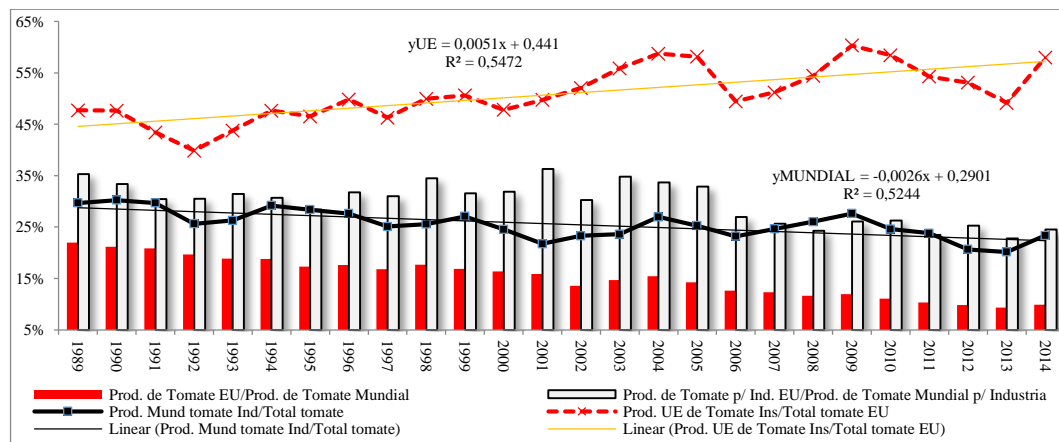


Figura 2 - Relação entre a Produção de tomate e a Produção de tomate para indústria no Mundo e na União Europeia (em volume): 1989- 2014

Fonte: FAOSTAT (www.fao.org);World Processing Tomato Council (WPTC, vários anos)

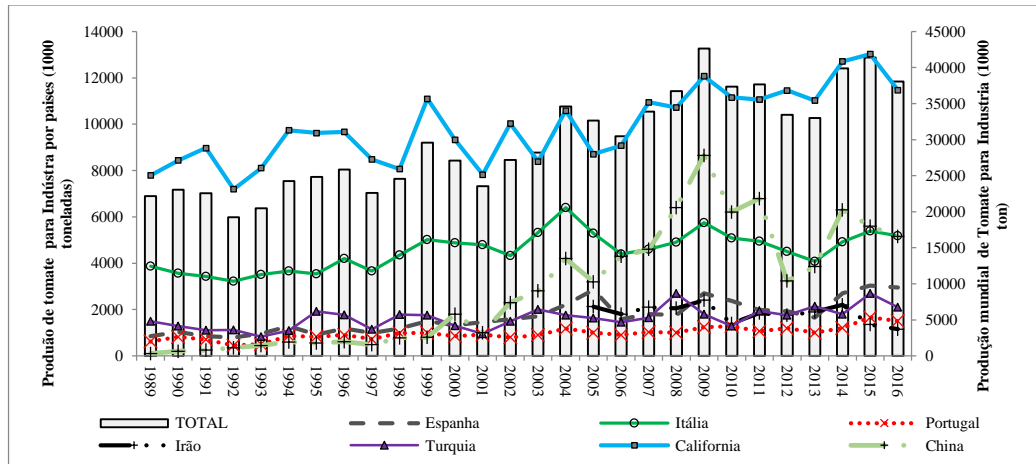


Figura 3 - Produção mundial por países de tomate para indústria (1000 toneladas)
 Fonte: World Processing Tomato Council (WPTC, vários anos)

Eficiencia de la recogida mecanizada en el cultivo de pimiento para pimentón con diferentes estrategias de riego

Rocío Velázquez¹, Teresa Bartolomé¹, José Miguel Coletto¹, Alberto Martín², Alejandro Hernández², Emilio Aranda², Francisco Pérez²

¹ Produccion Vegetal, Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA). Escuela de Ingenierías Agrarias (UEX). Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007 – Badajoz

² Nutrición y Bromatología, Instituto Universitario de Recursos Agrarios (INURA). Escuela de Ingenierías Agrarias (UEX). Avda. Adolfo Suárez s/n. 06007 – Badajoz

Resumen

El pimiento para pimentón es un cultivo que ha estado al margen de la aplicación de innovaciones tecnológicas en la Comarca de *La Vera* (Extremadura), principalmente en lo que se refiere a la mecanización de la recolección.

El objetivo del estudio es evaluar la eficiencia de la recogida mecanizada en parcelas de pimiento (*Capsicum annuum* L. var. Jaranda) con aplicación de diferentes tratamientos de riego y conocer cuál es el más adecuado desde el punto de vista productivo.

Se suprimió el riego por aspersión en diferentes fechas en función del porcentaje de frutos maduros, estableciendo 3 riegos: R40 (último riego con 40 % de frutos maduros), R60 (60 % de frutos maduros) y R80 (80 % de frutos maduros).

En el momento de la cosecha y en cada parcela de riego se seleccionaron las plantas de pimiento situadas en 3 m de 3 líneas centrales para determinar la altura de planta y el número de frutos por planta, antes y después de la recogida mecánica. Por otra parte, se recogieron con máquina 2 filas completas de plantas para determinar el peso fresco y seco de los frutos maduros cosechados.

Los tratamientos de riego no afectaron a la altura de planta, ni al número de frutos precosecha, ni número de frutos postcosecha. La eficiencia de la recogida mecanizada fue elevada, con aproximadamente el 93% de frutos cosechados, en todas las parcelas.

Las parcelas con los riegos R60 y R80 obtuvieron los valores más elevados de peso de frutos (kg ha⁻¹) tanto de producto fresco como seco (\approx 15% humedad).

El factor riego no es determinante de la eficiencia del proceso de recogida mecanizada de frutos, sin embargo desde el punto de vista productivo parece adecuado, aconsejar el corte de riego cuando hayan madurado al menos el 60% de los frutos.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., recolección mecanizada, corte de riego

Abstract

Paprika pepper crop has been on the margins of the application of technological innovations in Comarca de *La Vera* (Extremadura), mainly in mechanical harvest.

The objective of the trials was to evaluate the efficiency of a mechanical harvester in pepper plots (*Capsicum annuum* L. var. Jaranda) with application of different irrigation treatments and to know which one is the better to improve profitability of paprika pepper crop.

Irrigation was stopped in different dates according to the percentage of mature fruits. Three treatments were applied: R40 (last irrigation with 40% mature red fruits), R60 (60% mature fruits) and R80 (80% mature fruits).

At the moment of harvesting and in each experimental plot, pepper plants located in 3 m of 3 central lines were selected to determine plant height and number of fruits per

plant, before and after mechanical harvest. On the other hand, two complete rows of plants were harvested by machine to determine fresh and dry weight of ripe fruits.

Irrigation treatments did not affect plant height, number of pre-harvest fruits and number of post-harvest fruits. The efficiency of mechanical harvest was high, approximately 93% of harvested fruits, in all plots. The plots of R60 and R80 treatment obtained the highest values of fruit weight (kg ha^{-1}).

The irrigation factor is not determinant of the efficiency of the process of mechanical harvesting of fruits, however it seems appropriate applied the last irrigation when at least 60% of mature red fruits.

Keywords: *Capsicum annuum* L., mechanical harvest, last irrigation

Introducción

El pimiento para pimentón es un cultivo que con excepción de la fase de semillero ha estado un poco al margen de la aplicación de innovaciones tecnológicas en la Comarca de *La Vera* (norte de Cáceres, Extremadura), principalmente en lo que se refiere a la mecanización de la recolección.

La recolección manual actualmente practicada en el cultivo del pimiento para pimentón en la Comarca de *La Vera* supone entre el 30 y el 35 % de los costes totales de cultivo, considerando la mecanización de dicha operación necesaria para la viabilidad de esta producción genuina del norte de la provincia de Cáceres (Bartolomé et al. 2012).

Las experiencias de recolección mecanizada de pimiento en España han sido numerosas, ensayando diferentes prototipos con resultados positivos en los ensayos, pero no concluyentes. A pesar del avance en la resolución de los problemas mecánicos de la recolección, quedan por resolver diversas mejoras mecánicas y muchas cuestiones relacionadas con la forma de cultivo (Palau et al, 1997; Gutiérrez López et al., 2002).

En lo que respecta al efecto del riego sobre el desarrollo, la producción y la calidad del pimiento pueden encontrarse numerosos trabajos (Katerji et al., 1993; Dorji et al., 2005; Sezen et al., 2006; Shongwe et al., 2010) y algunos refieren su influencia sobre la recolección mecanizada (Gutiérrez et al., 2002; García et al., 1996, 2003; González-Dugo et al., 2007).

Los ensayos planteados están relacionados con el momento del último riego el cual podría influir sobre la agrupación de la maduración, el porte y la fructificación del material vegetal, aspectos que son determinantes del rendimiento de la máquina de recolección.

El objetivo del estudio es evaluar la eficiencia de la recogida mecanizada en parcelas de pimiento (*Capsicum annuum* L. var. Jaranda) con aplicación de diferentes tratamientos de riego y conocer cuál es el más adecuado desde el punto de vista productivo.

Material y métodos

Los ensayos de pimiento para pimentón (*Capsicum annuum* L. cv. Jaranda) se ubicaron en una finca de Jaraíz de La Vera (Cáceres), estableciéndose tres regímenes de riego relacionados con el momento de corte y el porcentaje de frutos maduros: R40 (último riego con 40 % de frutos maduros), R60 (60 % de frutos maduros) y R80 (80 % de frutos maduros).

Los ensayos se llevaron a cabo sobre parcelas experimentales al marco de plantación tradicional (0,32 m x 0,85 m). Se realizó un diseño experimental en bloques al azar con tres repeticiones, resultando un total de 9 parcelas, formadas por 11 líneas de

plantas de 45 m de longitud, sobre las cuales se aplicaron las mismas técnicas de cultivo exceptuando la fecha de supresión del riego.

A partir de la segunda semana de agosto se efectuaron controles de maduración de frutos en campo para determinar la fecha de corte de riego de las diferentes parcelas, suprimiendo de forma progresiva los diferentes riegos en función del porcentaje de frutos maduros, desde mediados de agosto en las parcelas con R40 hasta finales de agosto en parcelas de riego R80.

Se ensayó con una máquina con un cabezal de recogida provisto de un doble juego de ejes helicoidales de giro inverso, dos pares delanteros y dos traseros. El prototipo, diseñado por Fabricaciones Vignolles y Automaquinaria Hermanos Alegre C. B., contaba con elementos elásticos de apoyo para desprender los frutos insertados en los ejes, sensores de desplazamiento lateral, que mantienen la alineación con las plantas, y otros para regular la altura del cabezal al suelo.

En el momento de la cosecha y en cada parcela de riego se seleccionaron las plantas de pimiento situadas en 3 m de 3 líneas centrales para determinar la altura de planta y el número de frutos por planta, antes y después de la recogida mecánica.

Por otra parte, se recogieron con máquina 2 filas completas de plantas de cada una de las parcelas experimentales para determinar el peso fresco de los frutos maduros cosechados. Posteriormente estas muestras de pimientos se trasladaron a secaderos de corriente vertical de humo, éste procedente de la combustión de leña de encina. Este sistema tradicional de secado duró 12 días para así asegurar un contenido en humedad máximo del 15% al finalizar el secado (ORDEN APA/4178/2005 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Reglamento de la Denominación de Origen Protegida "Pimentón de La Vera"). De esta forma, quedaron determinados los pesos de los pimientos frescos y secos, expresados ambos en kg ha^{-1} .

Todos los datos fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, mediante el paquete estadístico SPSS 19, determinando el efecto del momento de corte de riego sobre los parámetros apuntados.

Resultados y discusión

Los tratamientos de riego no afectaron a la altura de planta, ni al número de frutos precosecha, ni número de frutos postcosecha. La eficiencia de la recogida mecanizada fue elevada, con aproximadamente el 93% de frutos cosechados, en todas las parcelas (Cuadro 1). Es decir, que por término medio, las pérdidas de materia prima no recolectada fueron de un 7% en todas las parcelas de riego.

Las parcelas con los riegos R60 y R80 obtuvieron los valores más elevados de peso de frutos tanto de producto fresco como seco ($\approx 15\%$ humedad) (Figura 1). Se observa efecto del momento de corte de riego sobre el rendimiento de producto fresco, presentando las parcelas R60 (9.752 kg ha^{-1}) y R80 (9.039 kg ha^{-1}) valores muy superiores a los obtenidos en R40 (4.105 kg ha^{-1}). Esta tendencia se mantuvo en el rendimiento de la rama: R40 (2.163 kg ha^{-1}), R60 (3.286 kg ha^{-1}) y R80 (2.676 kg ha^{-1}).

Costa (2006) consideró adecuado para una recolección mecánica el uso de variedades de maduración agrupada, de pequeño porte, ciclos de cultivo corto y pocas necesidades de fertilización y riego.

En riego por gravedad, la aplicación del último riego 18 días después del inicio de la maduración junto con una aplicación nitrogenada, puede proporcionar a una elevada agrupación de la maduración y una buena producción comercial, en las variedades Jaranda y Jeromín de pimiento para pimentón (García Pomar, 2003).

González-Dugo et al., 2007 demostraron que un estrés hídrico continuo durante todo el ciclo de cultivo, disminuía el peso de la materia fresca y seca de los pimientos y

no se aceleraba la maduración. Sin embargo, un estrés hídrico aplicado al final del ciclo, solo afectaba al contenido de agua y no se producía una agrupación de la maduración, requerida para la recolección mecánica. El estrés hídrico retrasaba la maduración, bien de manera paulatina durante todo el ciclo o de manera más severa justo antes de la cosecha.

Conclusiones

El factor riego no es determinante de la eficiencia del proceso de recogida mecanizada de frutos, sin embargo desde el punto de vista productivo parece adecuado, aconsejar el corte de riego cuando hayan madurado al menos el 60% de los frutos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de la Junta de Extremadura, aportada al Grupo de Investigación TPR009 (expediente GR15142), para el desarrollo de la presente comunicación.

Referencias

- Bartolomé, T., Velázquez, R., Córdoba, M.G. & Coletto, J.M. 2012. Caja Badajoz - Facultad de CC.EE y EIA de la Universidad de Extremadura. p. 161-169. La Agricultura y Ganadería Extremeñas en el año 2012. Avances en la mecanización del cultivo de pimiento para pimentón en la comarca de La Vera (Cáceres).
- Costa, J. 2006. Compendio Pimientos nº 16. Namesny, A. coord. Reedición actualizada (2ª Ed.). Ediciones de Horticultura S.L.
- Dorji, K., Behboudian, M. H. & Zegbe-Domínguez, J. A. 2005. Water relations, growth, yield and fruit quality of hot pepper under deficit irrigation and partial rootzone drying. *Scientia Horticulturae* 104:137-149.
- García Pomar, M. & Rodríguez del Rincón, A. 1996. Influencia del momento de corte de riego, el abonado nitrogenado y la densidad de plantación sobre el porcentaje de materia seca al recolectar el fruto del pimiento de pimentón. V Jornadas del Grupo de Horticultura de la SECH. p. 183-192.
- García Pomar, M. 2003. Influencia de técnicas agronómicas en el comportamiento del pimiento de pimentón (*Capsicum annuum* L.) para recolección única, manual o mecánica. Tesis doctoral. ETSIA de Madrid.
- González - Dugo, V., Orgaz, F. & Fereres E. 2007. Responses of pepper to deficit irrigation for paprika production. *Scientia Horticulturae* 114:77-82.
- Gutiérrez López, M., Gil Ortega, R. & Gadea, J.L. 2002. Mecanización de la cosecha del pimiento. Jornadas sobre mecanización del cultivo para la industria. Ejea de los Caballeros. p. 45-57.
- Katerji, N., Mastrorilli, M & Hamdy, A. 1993. Effets of water stress at different growth stage on pepper yield. *Acta Horticulturae* 335:165-172.
- ORDEN APA/4178/2005, de 22 de diciembre, por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen Protegida Pimentón de la Vera y su Consejo Regulador.
- Sezen, S.M., Yazar, A., Eker, S. 2006. Effect of drip irrigation regimes on yield and quality of field grown bell pepper. *Agric. Water Manage* 81:115-131.
- Shongwe, V.D., Magongo B.N, Masarirambi, M.T. & Manyatsi, A.M. 2010. Effects of irrigation moisture regimes on yield and quality of paprika (*Capsicum annuum* L.). *Physics and Chemistry of the Earth* 35:717-722.

Cuadros y Figuras

Cuadro 1 - Altura de la planta de pimiento; número total de frutos precosecha y postcosecha en plantas delimitadas en 3 m; y porcentajes de frutos sin cosechar y cosechados mecánicamente. En filas, "ns" indica que no hay diferencias significativas a $P < 0,05$.

Determinaciones	Momento corte de riego		
	R40	R60	R80
Altura planta (cm)	57,3 ns \pm 9,7	60,3 \pm 5,3	59,8 \pm 6,1
Nº frutos precosecha	332,7 ns \pm 24,0	351,3 \pm 41,5	320,3 \pm 42,4
Nº frutos postcosecha	21,3 ns \pm 4,9	21,0 \pm 11,8	23,0 \pm 3,6
% frutos sin cosechar	6,5 ns \pm 2,0	6,2 \pm 3,7	7,2 \pm 0,4
% frutos cosechados	93,5 ns \pm 2,0	93,8 \pm 3,7	92,8 \pm 0,4

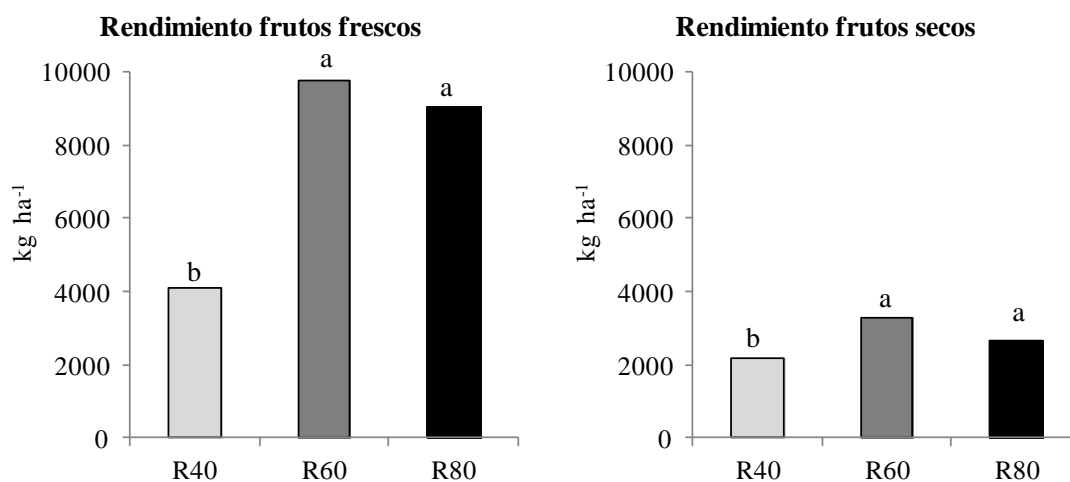


Figura 1 - Rendimientos de producto fresco y seco (humedad \approx 15%) con diferentes momentos de corte de riego. Letras diferentes indican diferencias significativas a $P < 0,05$.

Respuesta productiva del cultivo de la chufa (*Cyperus esculentus* L. var. *sativus* Boeck.) a la aplicación de retardadores del crecimiento

N. Pascual-Seva*, A. Valdecabres, A. San Bautista, S. López-Galarza, J.V. Maroto, B. Pascual

Centro Valenciano de Estudios sobre el Riego. Universitat Politècnica de València. València. Camí de Vera s/n. 46022, Valencia. España

*nupasse@prv.upv.es

Resumen

Durante las últimas fases del cultivo, es habitual que las plantas de chufa sufran el encamado, debido a la gran longitud de las hojas y a la ausencia de verdaderos tallos. El encamado precoz afecta negativamente a la producción de tubérculos. Con el fin de retrasar y reducir el encamado de las plantas, y consecuentemente aumentar su rendimiento, se ha ensayado la aplicación de 5 retardadores del crecimiento: chlormequat, mepiquat, paclobutrazol, prohexadiona cálcica y trinexepac-ethyl. Todos los retardadores se han ensayado a dos dosis diferentes. A lo largo del ciclo de cultivo las plantas tratadas con paclobutrazol, en las dos dosis, presentaron una menor altura, y a la vez el mayor número de brotes, debido a la mayor presencia de rebrotes. También presentaban mayor peso seco del sistema aéreo y radical. El rendimiento obtenido fue muy elevado en todos los casos ensayados, obteniendo en el tratamiento control 2.24 kg m⁻². El mayor rendimiento ($p \leq 0.01$) se obtuvo en las plantas tratadas con mepiquat (2.36 kg m⁻²), con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a las plantas tratadas con paclobutrazol, chlormequat y trinexepac-ethyl, y sin diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a las plantas tratadas con prohexadiona cálcica, ni con respecto a las plantas control. La dosis de aplicación no afectó significativamente ($p \leq 0.05$) al rendimiento. Ni el retardador ni la dosis influyeron significativamente ($p \leq 0.05$) en el rendimiento comercial. El peso unitario de los tubérculos (totales y comerciales), se vio afectado ($p \leq 0.05$) por el producto aplicado, obteniéndose los tubérculos de mayor tamaño en las plantas tratadas con paclobutrazol (0.61 g) y mepiquat (0.60 g), sin diferencias significativas entre ellas, mientras que los tubérculos de menor tamaño medio fueron producidos por las plantas tratadas con trinexepac-ethyl (0.51 g) y con chlormequat (0.55 g).

Palabras clave: Tubérculo, rendimiento, encamado, brote, rebrote.

Abstract

During the last stages of cultivation, it is common that chufa plants undergo bedding, due to the great length of the leaves and the absence of true stems. Early bedding adversely affects tuber production. In order to delay and reduce plant bedding and consequently to increase yield, 5 growth retardants have been tested: chlormequat, mepiquat, paclobutrazol, prohexadione-calcium and trinexepac-ethyl. All regulators have been tested at two different doses. During the crop cycle, plants treated with paclobutrazol, in both doses, presented the lowest height, but also the greatest number of shoots, due to the greatest number of sprouts. They also had the higher dry weight of the aerial and radical system. The yield obtained was very high in all the cases, obtaining in the control 2.24 kg m⁻². The highest yield ($p \leq 0.01$) was obtained in plants treated with mepiquat (2.36 kg m⁻²), with significant differences ($p \leq 0.05$) with respect to plants treated with paclobutrazol, chlormequat and trinexepac-ethyl, and without differences ($P \leq 0.05$) compared to plants treated with prohexadione-calcium, nor with the control. The

application dose did not significantly affect yield ($p \leq 0.05$). Neither the product nor the dose had a significant influence ($p \leq 0.05$) on commercial yield. The tuber average weight (total and commercial) was affected ($p \leq 0.05$) by the product, obtaining larger tubers in plants treated with paclobutrazol (0.61 g) and mepiquat (0.60 g), without differences between them, while the smallest tubers were produced by plants treated with trinexepac-ethyl (0.51 g) and chlormequat (0.55 g).

Keywords: Tuber, yield, bedding, shoot, sprout.

Introducción

La chufa (*Cyperus esculentus*, L. var. *sativus* Boeck.) es un cultivo tradicional de *L'Horta Nord* de Valencia; sus tubérculos son utilizados para la elaboración de la horchata de chufa. Actualmente se dedican cerca de 450 ha a su cultivo, con un rendimiento medio de 18.0 t ha⁻¹. Uno de los accidentes que afectan a este cultivo es el encamado de las plantas, accidente por el que el sistema aéreo pierde su posición vertical, quedando tumbado sobre el suelo, siendo frecuente en los cereales. Cuando el encamado se presenta en la chufa, varias capas de hojas cubren totalmente la superficie del suelo, de modo que a las hojas inferiores no les llega la radiación solar y con el elevado nivel de humedad registrado como consecuencia del riego y/o la lluvia, las hojas senescen y dejan de realizar la fotosíntesis. Se trata de un proceso complejo, en el que influye en gran medida el gran crecimiento de la planta, favorecido por una elevada fertilización nitrogenada, y también factores climatológicos como la lluvia y el viento. En el cultivo de la chufa es habitual que se produzca el encamado al final del ciclo de cultivo, tras iniciarse la senescencia de las hojas erguidas, debido a la gran longitud de sus hojas (pueden alcanzar hasta 1 m), y la ausencia de verdaderos tallos. El problema aparece cuando el encamado ocurre de manera precoz, las hojas senescen antes, se reduce el crecimiento de los tubérculos y disminuye el rendimiento.

Con el fin de reducir el encamado precoz de las plantas, y consecuentemente incrementar su rendimiento, se ha ensayado la aplicación de 5 retardadores de crecimiento, inhibidores de la síntesis de giberelinas (Rademacher, 2000): chlormequat (CCC), mepiquat (ME), paclobutrazol (PB), prohexadiona-cálcica (PC) y trinexepac-ethyl (TE).

Material y métodos

El experimento se realizó durante la campaña 2016, en la parcela 110 del polígono 9 del término municipal de Alboraya (Valencia; 39° 29' 33'' N, 0° 20' 35'' O). La preparación del terreno y las labores de cultivo se realizaron siguiendo las prácticas habituales en la zona (Pascual y Pascual-Seva, 2017). La plantación se realizó el 12 de abril de 2016 y la aplicación de los retardadores se fraccionó en dos aportes, aplicando la mitad de la dosis una vez las plantas habían completado el ahijado (altura media de aproximadamente 60 cm) el 21 de junio y la otra mitad el 4 de julio, con una altura de las plantas de aproximadamente 75 cm. Las dosis utilizadas (tabla 1) se fijaron en función de las referencias bibliográficas [Johnson (1982), Olumekun (1996), Fagernes and Yelverton (2000), Bañón et al. (2002), Berova et al. (2002), Lin et al. (2006), Kiesslin et al. (2007), Srivastava et al. (2010), Flores et al. (2011)] y de las recomendaciones de las respectivas casas comerciales, utilizando 700 L de caldo ha⁻¹.

Para analizar la evolución de la formación de los distintos órganos de la planta [hojas, raíces + rizomas (a partir de ahora citado como raíces) y tubérculos], periódicamente se muestreó 1 m de caballón de cada repetición. Cada muestra se lavó, pesó, secó durante 24 h a 105° C en estufa de aire forzado (Selecta, modelo 297), se determinó la materia seca correspondiente y el peso unitario de los tubérculos. La

incineración controlada del sistema aéreo se llevó a cabo el 17 de noviembre de 2016. La recolección estaba prevista para finales del mes de noviembre, pero fue retrasada hasta el 10 de enero de 2017, debido a las importantes precipitaciones registradas (351 L m^{-2} entre la incineración del sistema aéreo y la recolección, mientras que desde la plantación hasta la incineración se registraron 142 L m^{-2}). La recolección fue manual con la cosechadora tradicional, para poder tener un control adecuado de la producción; el lavado de los tubérculos fue también manual. Para obtener el porcentaje de tubérculos comerciales, así como el peso unitario de los tubérculos y su contenido en materia seca, se analizó una muestra de 500 mL (aproximadamente 450 g) de cada una de las repeticiones.

El diseño experimental fue en parcela dividida, siendo la parcela principal la dosis de aplicación y la subparcela el producto aplicado, con 3 repeticiones. La unidad de repetición consistió en cuatro caballones, de los cuales se analizaron los dos centrales, considerando los dos extremos como guarda, para evitar el posible efecto de los bordes. Los resultados han sido analizados mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion. Cuando un efecto resultó significativo ($p \leq 0.05$) se realizó la separación de medias mediante el test LSD ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

En la figuras 1 y 2 se presenta la evolución de la altura de las plantas y del número de brotes y rebrotes de las plantas tratadas con los distintos retardadores. Se observa que la altura de la planta aumentó exponencialmente hasta principios del mes de julio, manteniéndose desde entonces en niveles prácticamente constantes hasta principios de septiembre. El 8 julio, cuatro días después de la segunda aplicación de los retardadores, aparecieron diferencias en la coloración de las plantas y en el porte de las mismas, especialmente en las tratadas con TE, que poseían una tonalidad algo amarillenta y un menor porte, aunque la longitud de las hojas más grandes fuera similar (Figura 1). El 21 de julio las plantas control presentaban un grado elevado de encamado, las tratadas con CCC o con ME un grado medio, las tratadas con PC manifestaban el inicio de encamado, mientras que las tratadas con PB o con TE no presentaban ningún síntoma de encamado, pero sí una coloración amarillenta y el ápice foliar seco.

A lo largo de todo el ciclo de cultivo las plantas tratadas con PB, en las dos dosis, presentaban una menor altura de la planta (Figura 1), y a la vez con el mayor número de brotes, debido a la mayor presencia de rebrotes (Figura 2). Además, las plantas tratadas con PB también presentaban mayor peso seco tanto de la parte aérea, como de las raíces (Figura 3), especialmente en la última fase del cultivo (septiembre, octubre).

El efecto positivo sobre el sistema aéreo del PB coincide con el obtenido por Johnson (1982) en el cv. Tifway de pasto Bermuda (*Cynodon transvaalensis*), con dos tratamientos, distanciados 2, 3 o 4 semanas, al reducir el crecimiento vegetativo, sin que la planta sufriera daños importantes. En el mismo cultivar, Fagernes y Yelverton (2000) consiguieron una gestión consistente del crecimiento, evitando el incremento de crecimiento tras la inhibición inicial, y la mejora de la calidad visual del césped, con aplicaciones secuenciales de TE. En cuanto a la PC, su aplicación en manzano ‘Golden Delicious’ redujo el crecimiento de los brotes hasta casi el 50% en relación al testigo, sin observarse ningún efecto de fitotoxicidad (Kiessling, 2007).

La tuberización se inició a mitad de junio (Figura 4), aumentando tanto el número como el peso fresco de los tubérculos hasta el final del ciclo de cultivo. En la misma figura 4 se presenta la evolución de los tubérculos considerados comerciales (diámetro $\geq 7 \text{ mm}$). Aunque las diferencias no son grandes, la mayor producción de tubérculos, tanto en número como en peso, correspondió a las plantas tratadas con PC, sin detectarse grandes diferencias entre las dosis en lo que se refiere a los tubérculos totales, pero con

mayor producción de tubérculos comerciales con la dosis más baja. La menor producción de tubérculos, tanto total como comercial, se obtuvo con las plantas tratadas con la mayor dosis de PB.

El rendimiento obtenido (Tabla 2) fue muy elevado en todos los casos ensayados, obteniendo en el tratamiento control 2.24 kg m^{-2} . El retardador del crecimiento aplicado influyó significativamente en el rendimiento ($p \leq 0.01$), obteniéndose el mayor rendimiento en las plantas tratadas con ME (2.36 kg m^{-2}), con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a las plantas tratadas con PB, CCC y TE, y sin diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con respecto a las plantas tratadas con PC ni con las plantas control. La dosis de aplicación de los productos no afectó significativamente ($p \leq 0.05$) al rendimiento. Los rendimientos obtenidos superan de manera importante a los obtenidos en estudios anteriores por Pascual y Maroto (1984) al aplicar CCC y daminozida; en cambio, comparando los rendimientos con los respectivos controles sí que resultan similares. En efecto, Pascual y Maroto (1984) con aplicaciones de CCC (a dosis crecientes de 37 a 445 mL L^{-1}) consiguieron retrasar el encamado aproximadamente un mes en cultivo en contenedores, con rendimientos dispares, variando desde incrementos del 3.4% en cultivo en contenedores hasta disminuciones del 15% en cultivo en campo. Flores et al. (2011) consiguieron reducir la altura ($p \leq 0.05$) de plantas de patata (también productora de tubérculos) con aplicaciones de PB a concentraciones de 100 a 250 mg L^{-1} y también con CCC de 800 a 2400 mg L^{-1} , lo que permitiría aumentar el número de plantas por unidad de superficie, pero obtuvieron reducciones del rendimiento en tubérculos por planta de hasta el 25%, aunque estas diferencias no resultaron significativas.

Ni el retardador ni la dosis influyeron en significativamente ($p \leq 0.05$; Tabla 2) en el porcentaje de tubérculos comerciales. Es de destacar que las plantas tratadas con PB produjeron un 2% de tubérculos deformes (datos no mostrados). Podría pensarse que el elevado porcentaje de tubérculos no comerciales (diámetro $< 7 \text{ mm}$) se debió a que eran tubérculos producidos por las plantas con muchos rebrotes, que no llegaron a alcanzar el tamaño comercial. Sin embargo en la tabla 2 se observa que el 30% de los tubérculos producidos por las plantas control tuvieron un diámetro $< 7 \text{ mm}$. Por todo ello, el elevado porcentaje de tubérculos pequeños se debió más bien a que tanto la recolección como el lavado de los tubérculos se realizó manualmente, con gran cuidado, por lo que se perdieron menos tubérculos pequeños de lo que es habitual.

El peso unitario de los tubérculos (tanto totales -datos no mostrados- como comerciales -Tabla 2), se vio afectado ($p \leq 0.05$) por el producto aplicado, obteniéndose los tubérculos de mayor tamaño en las plantas tratadas con PB (0.61 g) y ME (0.60 g), sin diferencias significativas entre ellas, mientras que los tubérculos más pequeños fueron producidos por las plantas tratadas con TE (0.51 g) y con CCC (0.55). El contenido en materia seca de los tubérculos tampoco se vio afectado significativamente ($p \leq 0.05$; Tabla 2) ni por los productos aplicados ni por su dosis de aplicación.

La segunda aplicación de los retardadores del crecimiento se realizó tras observar que el sistema aéreo de las plantas tratadas no manifestaban ninguna sintomatología, ni retraso en el crecimiento. Tras realizar el segundo tratamiento se observó toxicidad en algunas de las plantas, afectando de manera importante al rendimiento, por lo que probablemente convendría reducir la dosis, o eliminar totalmente el segundo tratamiento.

Conclusiones

La aplicación de retardadores del crecimiento como el mepiquat y la prohexadiona cálcica parece prometedora, y probablemente serían recomendables a la menor dosis, que podría fraccionarse o no, aunque para poder aconsejar su utilización debería continuarse con los ensayos para poder contrastar los resultados con los obtenidos en este estudio.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Consejo Regulador de la Denominación de Origen Chufa de Valencia.

Referencias

- Bañón, S., González, A., Cano, E.A., Franco, J.A. and Fernández, J.A. 2002. Growth, development and colour response of potted *Dianthus caryophyllus* cv. Mondriaan to paclobutrazol treatment. *Sci. Hort.* 94:371-377.
- Berova, M., Zlatev, Z. and Stoeva, N. 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. *Bulg. J. Plant Physiol.* 28:75-84.
- Fagernes, M.J. and Yelverton, F.H. 2000. Tissue production and quality of 'Tifway' bermudagrass as affected by seasonal application patterns of trinexapac-ethyl. *Crop Sci.* 40:493-497.
- Flores, R., Sánchez del Castillo, F., Rodríguez Pérez, J.E., Mora, R., Colinas M.T. y Lozoya, H. 2011. Paclobutrazol, uniconazol y cycocel en la producción de tubérculo-semilla de papa en cultivo hidropónico. *Rev. Chapingo Serie Hort.* 17:173-182.
- Johnson, B.J. 1982. Response of 'Tifway' bermudagrass to rate and frequency of flurprimidol and paclobutrazol application. *Hortsci.* 27:230-233.
- Kiesslin, C.M., G. Magaña, J.E., Segovia, A., Obando, A.J. and Villarreal, V.H. 2007. Prohexadiona de calcio como regulador de crecimiento en el manzano (*Malus domestica* Borkh.) "Golden Delicious", en Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. *Tecnoci. Chihuahua* I:7-12.
- Lin, K-H.R., Tsou, C-C., Hwang, S-Y., Chen, L-F.O. and Lo, H-F. 2006. Paclobutrazol pre-treatment enhanced flooding tolerance of sweet potato. *J. Plant Physiol.* 163:750-760.
- Olumekun, V.O. 1996. An analysis of the response of winter wheat (*Triticum aestivum*) components to cycocel (Chlormequat) application. *J Agron. Crop Sci.* 176:145-150.
- Pascual, B, Pascual-Seva, N. 2017. Chufa. En: J.V. Maroto (ed.), *Cultivos hortícolas al aire libre, Serie Agricultura, Cajamar, Almería.*
- Pascual, B. Maroto, J.V. 1984. Estudios básicos sobre el control del encamado con retardadores del crecimiento en el cultivo de la chufa. p. 85-103. En: B. Pascual y J.V. Maroto (eds.), *Estudios agronómicos realizados en el cultivo de la chufa (Cyperus esculentus L.).* Diputación Provincial de Valencia, Valencia.
- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51:501-31.
- Srivastav, M., Kishor, A., Dahuja, A. and Sharma, R.R. 2010. Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.). *Sci. Hort.* 125, 785-788.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Reguladores de crecimiento, dosis y concentraciones utilizadas

Producto	Producto comercial	Dosis (g ha ⁻¹)		Concentración (mg L ⁻¹)	
		Dosis 1	Dosis 2	Dosis 1	Dosis 2
Chlormequat	Prococel	600	1200	864.0	1728.0
Mepiquat	Pixx	57	114	82.1	164.2
Paclobutrazol	Paclot	1100	2200	1584.0	3168.0
Prohexadiona cálcica	Basf125 13W	35	70	50.0	100.0
Trinexepac-ethyl	Primo Maxx	242	484	348.5	697

Tabla 2 - Efecto del retardador de crecimiento aplicado y de su dosis de aplicación en el rendimiento y en el porcentaje (T com), el peso unitario (PU t com) y el contenido en materia seca (MS) de los tubérculos comerciales. Valores medios de 3 repeticiones.

	Rendimiento (kg m ⁻²)	T com (%)	PU t com (g t ⁻¹)	M S (%)
Producto				
Chlormequat	2.08 bc	65.12	0.55 bc	56.99
Mepiquat	2.36 a	69.44	0.60 a	54.13
Paclobutrazol	1.89 c	70.62	0.61 a	53.41
Prohexadiona cálcica	2.17 ab	81.23	0.59 ab	54.91
Trinexepac-ethyl	1.85 c	66.82	0.51 c	55.18
Control	2.24 ab	69.81	0.58 ab	56.45
Dosis				
1	2.11	68.43	0.58	55.20
2	2.08	72.59	0.57	55.15

ANOVA

Parámetro (g.l.)	Porcentaje de la suma de cuadrados				
Producto (5)	45.60 **	13.16 ns	51.39 **	26.43 ns	
Dosis (1)	0.43 ns	2.14 ns	1.65 ns	0.01 ns	
Producto*Dosis (5)	9.36 ns	14.77 ns	6.40 ns	10.08 ns	
Residual (24)	44.61	69.93	40.56	63.48	
Desviación estándar	0.22	14.55	0.04	2.35	

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) según el test LSD. ns: no significativa; **: nivel de significación $p \leq 0.01$.

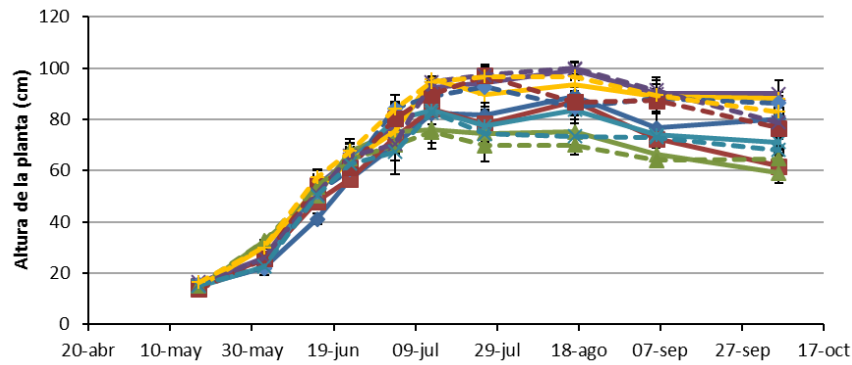


Figura 1 - Evolución a lo largo del ciclo de cultivo de la altura de las plantas tratadas con los distintos retardadores: — chlormequat; — mepiquat; — paclobutrazol; — prohexadiona cálcica; — trinexepac-ethyl; — control. Línea continua corresponde a la dosis 1, línea discontinua a la dosis 2. Valores medios de tres repeticiones; las barras verticales representan el error estándar.

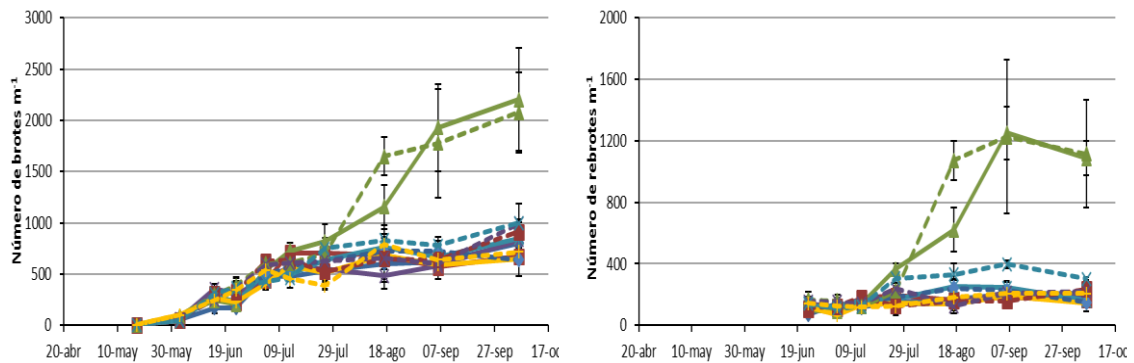


Figura 2- Evolución a lo largo del ciclo de cultivo del número de brotes y rebrotes de las plantas tratadas con los distintos retardadores: — chlormequat; — mepiquat; — paclobutrazol; — prohexadiona cálcica; — trinexepac-ethyl; — control. Línea continua corresponde a la dosis 1, línea discontinua a la dosis 2. Valores medios de tres repeticiones; las barras verticales representan el error estándar.

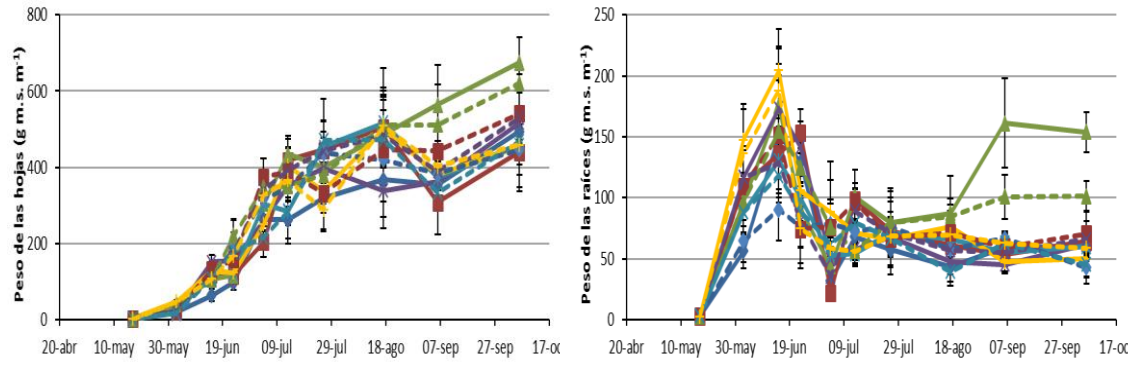


Figura 3- Evolución a lo largo del ciclo de cultivo del peso seco de las hojas y de las raíces de las plantas tratadas con los distintos retardadores: — chlormequat; — mepiquat; — paclobutrazol; — prohexadiona cálcica; — trinexepac-ethyl; — control. Línea continua corresponde a la dosis 1, línea discontinua a la dosis 2. Valores medios de tres repeticiones; las barras verticales representan el error estándar.

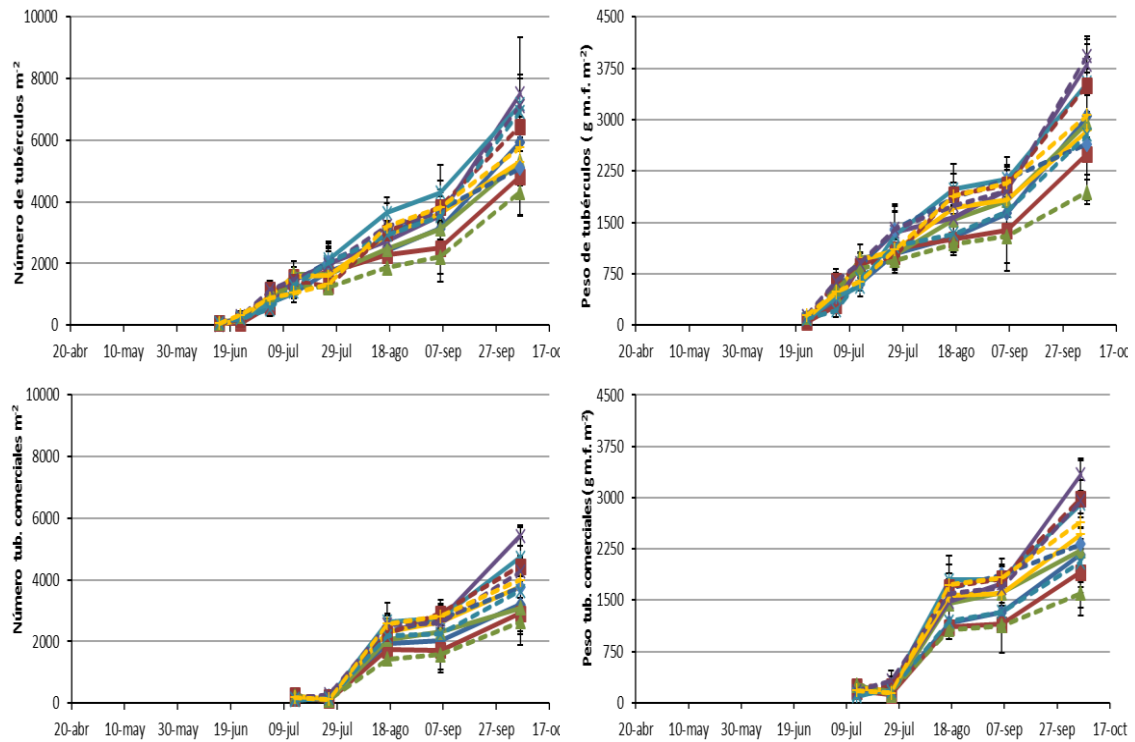


Figura 4- Evolución a lo largo del ciclo de cultivo del número y peso de los tubérculos totales y comerciales de las plantas tratadas con los distintos retardadores: — chlormequat; — mepiquat; — paclobutrazol; — prohexadiona cálcica; — trinexepac-ethyl; — control. Línea continua corresponde a la dosis 1, línea discontinua a la dosis 2. Valores medios de tres repeticiones; las barras verticales representan el error estándar.

Influencia de las dosis de riego en el rendimiento de la coliflor

A. Abdelkhalik^{1*}, N. Pascual-Seva¹, I. Nájera², A. Giner², C. Baixauli², B. Pascual¹

¹Centro Valenciano de estudios sobre el riego. Universitat Politècnica de València. Camí de Vera s/n. 46022, Valencia (España).

²Centro Experiencias Cajamar en Paiporta. Camino del Cementerio Nuevo, s/n, 46200 Paiporta, València (España).

*: ababel@doctor.upv.es

Resumen

El agua de riego es un elemento esencial en la producción de alimentos en el área mediterránea. En muchas ocasiones, la eficiencia en el uso del agua de riego obtenida podría mejorarse mediante un manejo adecuado del riego.

Con el objetivo de estudiar el manejo del riego en varios cultivos hortícolas, entre ellos la coliflor, se inició una línea de investigación. Dentro de esta línea se ha estudiado, durante dos campañas, el comportamiento productivo y la eficiencia en el uso del agua de riego en respuesta a tres manejos diferentes del riego (D1, D2 y D3), modificando el segundo año las dosificaciones en función de los resultados obtenidos en el primer año, aportando respectivamente el 65, 90 y 115% de las necesidades hídricas (ET_c) en 2015 y el 50, 75, 100% ET_c en 2016. Las láminas totales de riego aportadas fueron 139, 170 y 201 mm en 2015 y 90, 128 y 175 mm en 2016, en las dosis D1, D2 y D3, respectivamente. En 2015, con D3 se obtuvo un mayor rendimiento total (4.84 kg m^{-2} ; $p \leq 0.05$) que con D2 (4.13 kg m^{-2}), no observándose esta diferencia en 2016, probablemente debido a la elevada precipitación registrada durante el ciclo de cultivo (497 mm). El rendimiento comercial y el peso unitario de las pellas no se vio afectado ($p \leq 0.05$) por la dosis de riego en ninguna de las dos campañas. La eficiencia en el uso del agua no se vio afectada por la dosis de riego en ninguno de los dos años. En cambio, la mayor eficiencia en el uso del agua de riego ($p \leq 0.01$; 27.41 y 49.2 kg m^{-3} en 2015 y 2016, respectivamente) se obtuvo con D1.

Palabras clave: Pella, eficiencia en el uso del agua, eficiencia en el uso del agua de riego, necesidades hídricas.

Abstract

Irrigation water is an essential element for food production in the Mediterranean area. In many cases, the irrigation water use efficiency could be improved by an adequate irrigation management.

In order to study the irrigation management in several horticultural crops, including cauliflower, a research line was initiated. Within this line, the productive response and the irrigation water use efficiency in response to three different irrigation managements (D1, D2 and D3) have been studied during two seasons, modifying the second year the doses according to the results obtained in the first year, apportioning respectively 65, 90 and 115% of the water needs (ET_c) in 2015 and 50, 75 and 100% ET_c in 2016. The irrigation water applied was 139, 170 and 201 mm in 2015 and 90, 128 and 175 mm in 2016, at D1, D2 and D3, respectively. In 2015, D3 led to higher total yield (4.84 kg m^{-2} ; $p \leq 0.05$) than D2 (4.13 kg m^{-2}); this difference was not observed in 2016, probably due to the important precipitations recorded during the season (497 mm). Commercial yield and the averaged head weight were not affected ($p \leq 0.05$) by the irrigation dose in either of the two seasons. Water use efficiency was not affected by the irrigation dose in any of the two years. In

contrast, the highest irrigation water use efficiency ($p \leq 0.01$, 27.41 and 49.2 kg m⁻³ in 2015 and 2016, respectively) was obtained with D1.

Key words: Head, efficiency in the use of water, efficiency in the use of irrigation water, Water requirements.

Introducción

La coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) es un cultivo hortícola importante, tanto a nivel mundial (1.38 * 10⁶ ha y 24.18 * 10⁶ t), como europeo (1.37 * 10⁵ ha y 2.39 * 10⁶ t) y estatal (33,198 ha y 596,969 t; FAOSTAT, 2014).

El agua es un factor limitante de la producción en los cultivos agrícolas (Pomares et al., 2007). La agricultura consume más de dos tercios del agua dulce total del planeta. En los últimos años, la escasez de agua dulce se está convirtiendo en un problema importante, especialmente en zonas áridas, aumentando la competencia por el agua entre los consumidores agrícolas, industriales y urbanos (Chai et al., 2016). Las necesidades hídricas de la agricultura son consideradas muy elevadas en relación a los otros sectores (Bessembinder et al., 2005). El rápido crecimiento de la población, la mayor incidencia de la sequía causada por el cambio climático y las diferentes actividades humanas son factores que han aumentado este problema (World Bank, 2006). Las limitaciones generalizadas de agua para la agricultura han generado una fuerte necesidad de crear estrategias orientadas a mejorar la eficiencia de su uso, lo que será de gran importancia para poder competir con la demanda de agua de otros sectores (Feres, 2008).

Probablemente las eficiencias en el uso del agua y el manejo del riego conseguidas actualmente podrán mejorarse mediante un manejo adecuado del riego. Por este motivo se ha iniciado una línea de investigación, para estudiar el manejo del riego en varios cultivos hortícolas, entre ellos la coliflor, en la que se enmarca este trabajo, cuyo objetivo es estudiar el comportamiento productivo de la coliflor y la eficiencia en el uso del agua de riego en respuesta a tres manejos diferentes del riego.

Material y métodos

El ensayo se realizó durante las campañas 2015-2016 (2015) y 2016-2017 (2016) en el Centro Experimental de Cajamar, situado en Paiporta (Valencia; 39.4175 N, 0.4184 O). Las plantas, del cultivar 'Naruto' (Clause), obtenidas en semillero realizado en invernadero, fueron trasplantadas al tresbolillo el 1 de septiembre de 2015 y el 9 de septiembre 2016, en mesetas distanciadas a 1 m y con una distancia entre plantas de 0.66 m, con una densidad de plantación de 3 plantas m⁻². La parcela elemental, de 29.03 m² consistía en cuatro mesetas de 7.26 m de longitud, considerándose las dos de los extremos como guarda. El experimento consistió en aportar tres dosis de riego localizado de alta frecuencia (D1, D2 y D3) correspondiendo al 65, 90 y 115% de las necesidades hídricas (ET_c) en 2015, mientras que en 2016 se modificaron las dosis en función de los resultados obtenidos en el primer año, aportando el 50, 75 y 100% de ET_c. La ET_c se determinó a partir de la evapotranspiración de referencia (ET_o) calculada a partir de la evaporación medida en tanque evaporímetro clase A, instalado en el propio Centro Experimental, con coeficiente del tanque evaporímetro (K_p) igual a 0.815 (Doorenbos & Pruitt, 1976) y coeficiente único del cultivo (K_c) igual a 0.7, 1.05 y 0.95 correspondientes respectivamente a la etapa inicial (K_{c ini}), de mediados de temporada (K_{c med}) y etapa final (K_{c fin}; Allen et al., 2006), con adaptación de la duración de cada fase al ciclo de cultivo, en este caso un ciclo medio (en teoría 120 días). Se consideró una eficiencia global de riego (percolación y uniformidad) igual a 0.95 (Pomares et al., 2007). En el segundo año el contenido volumétrico de agua del suelo se monitoreó continuamente con sensores de capacitancia ECH₂O (EC-5; Decagon

Devices Inc., Pullman, WA), instalados en el centro de las mesetas, entre dos goteros, a dos profundidades (5 y 10 cm) en D3 y a una profundidad (5 cm) en D1 y D2. En 2016 el riego se desencadenó cuando el contenido volumétrico de agua en el suelo alcanzó el 80% de la capacidad de campo en el sensor D3 a la profundidad 5 cm.

El suelo era de textura franco - limosa, $\text{pH} = 7.4$, con un contenido en materia orgánica del 1.89 %, CE (ext. 1:5) igual a 0.39 dS m^{-1} , y contenidos de 43 mg kg^{-1} de fósforo asimilable (Olsen) y 340 mg kg^{-1} de potasio asimilable (extracto acetato amónico). El agua de riego, procedente de pozo, tenía una CE de 2.53 dS m^{-1} y un contenido de N-NO_3^- de 77 mg kg^{-1} . La incorporación de nutrientes ($100\text{-}50\text{-}100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N-P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{O}$) se realizó mediante fertirrigación.

Los parámetros de crecimiento de las plantas se determinaron el 21 de diciembre 2015 y el 10 de enero 2017. Para esto se midió la altura y el diámetro de 3 plantas de cada parcela, el índice relativo de clorofila (SPAD) en tres puntos de tres hojas totalmente desarrolladas. La biomasa de las distintas partes de la planta (hojas, tallos y pellas) y su contenido en la materia seca (%) fueron determinados en la 2ª y 3ª pasada de la recolección en 5 plantas.

La recolección se realizó, en 5 pasadas, entre los días 18 de diciembre de 2015 y 4 de enero de 2016 en 2015 y desde el 4 de Enero 2017 hasta 1 de Febrero 2017 en 2016. Se determinó el rendimiento total y comercial y el peso unitario de las pellas comerciales. Como destrío se incluyeron las piezas con peso unitario inferior a 750 g, las que presentaban deformaciones, falta de compacidad o apertura prematura. No se detectó la presencia de vello o tallo hueco en ninguna pella para ser considerado como destrío. Además, en la segunda campaña se midió la anchura y altura relación ancho/alto de 5 piezas.

A partir del rendimiento comercial y de la dosis de riego utilizada en cada tratamiento se determinó la eficiencia en el uso de agua de riego (EUAR, kg m^{-3}) y la eficiencia en el uso del agua (EUA, kg m^{-3}), considerando además del agua de riego, la precipitación efectiva. El diseño experimental fue en bloques al azar con tres repeticiones. Los resultados han sido analizados mediante análisis de la varianza, utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, 2013).

Resultados y discusión

La duración de cada una de las etapas de crecimiento de la planta (Allen et al., 2006), inicial, desarrollo, de mediados de temporada y final, para la utilización del K_c fue 21, 35, 42, 28 días, respectivamente en 2015, y 21, 35, 42, 46 días, respectivamente en 2016, con una duración total de 126 en 2015 y 144 días en 2016. En la tabla 1 se presentan los valores de K_c utilizados en función de las etapas de crecimiento (Allen et al., 2006).

En la tabla 2 se presentan los valores de ET_o , ET_c , así como las necesidades de riego y las láminas de riego aportadas en los tres tratamientos. En 2015 se realizaron 13 riegos, siendo el primero de plantación, en el cual se aportaron 58 mm en las tres dosis para asegurar el arraigue de las plantas. En los otros 12 riegos se aportaron 81, 112 y 143 mm en D1, D2 y D3, respectivamente. En 2016 se aplicaron 14 riegos, aportando 30 mm en el riego de plantación en las tres dosis, seguido de 90, 128 y 175 mm en D1, D2 y D3, respectivamente. La precipitación efectiva fue muy diferente en los dos años, 167 mm en 2015 y 497 mm en 2016.

El contenido volumétrico de agua del suelo (Fig. 1 y 2) en D1 fue inferior que en las otras estrategias, tanto a 5 como a 10 cm de profundidad, especialmente a partir de la segunda quincena de octubre. Estas diferencias desaparecieron en el sensor situado a 10 cm de profundidad con las lluvias durante la segunda quincena de noviembre, especialmente el día 28 en el que la precipitación alcanzó 128 mm, aunque se mantuvieron a 5 cm.

En ninguna de las campañas analizadas se ha observado que la dosis de riego haya afectado significativamente ($p \leq 0.05$) ni a la altura (Tabla 3) ni al peso fresco ni al contenido en materia seca (Tabla 4) de las plantas, ni al índice SPAD de las hojas (Tabla 3) ni al peso fresco de las pellas (Tabla 4). Por el contrario, en 2016 las plantas regadas con D3 sí que produjeron plantas con un mayor diámetro ($p \leq 0.01$; 107 cm) que las plantas regadas con D1 (103.1 cm), sin embargo, esta diferencia ($p \leq 0.05$) no se observó en 2015. En cuanto al contenido en materia seca de la pella (Tabla 4) en 2015 fue superior ($p \leq 0.01$) en las plantas regadas con D2 (8.7 %) que en las plantas regadas con las otras estrategias, sin diferencias entre ellas (7.8 % en D1 y 7.7 % en D3); en 2016 el mayor contenido en materia seca ($p \leq 0.05$) correspondió a las plantas regadas con D1 (8.5 %) y el menor a las de D3 (8.0 %).

En 2015, el rendimiento total obtenido con D3 (4.84 kg m⁻²) ha resultado mayor ($p \leq 0.05$; Tabla 5) que el obtenido con D2 (4.13 kg m⁻²), pero esta diferencia se debe al destrío, que en D2 (0.26 kg m⁻²) fue inferior ($p \leq 0.05$; datos no mostrados) a los de D1 (0.47 kg m⁻²) y D3 (0.46 kg m⁻²), de manera que no han existido diferencias ($p \leq 0.05$) en cuanto al rendimiento comercial, ni tampoco al peso unitario de las pellas. En 2016, la dosis de riego no ha influido significativamente ($p \leq 0.05$) ni en el rendimiento total, ni en el rendimiento comercial, ni en el peso unitario de las pellas (Tabla 5). Las diferencias observadas en 2015 a favor de D3 no se observan en 2016, lo que podría estar relacionado con la elevada precipitación registrada durante el ciclo de cultivo (497 mm). Las características de las pellas (anchura, altura y relación ancho/alto; Tabla 6) no se vieron afectadas ($p \leq 0.05$) por la dosis de riego aplicada.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Pomares et al. (2007) en varios experimentos realizados en diferentes campañas con plantación otoñal utilizando cultivares de ciclo medio (Nautilus, Arfak, Balmoral & Lara) y de ciclo temprano (Barcelona) en los que aportaron 3 dosis de riego, obtenidas a partir del 75, 100 y 125% de la ET_c; estos investigadores no encontraron diferencias significativas en el rendimiento obtenido en respuesta a los diferentes aportes hídricos. Las láminas de agua aportadas correspondientes al 75% ET_c en las distintas campañas oscilaron entre 122 y 257 mm, mientras que las de 100% ET_c oscilaron entre 212 y 446 mm.

La dosis del riego sí que han influido ($p \leq 0.01$) en los valores de EUAR (Tabla 7), con mayores valores del EUAR en D1 (27.4 y 49.2 kg m⁻³ en 2015 y 2016 respectivamente); seguida por D2 (22.8 y 32.2 kg m⁻³ en 2015 y 2016 respectivamente) y D3 (21.8 y 22.2 kg m⁻³ en 2015 y 2016 respectivamente). Los bajos valores de EUAR obtenidos en 2015 motivaron el cambio de los umbrales de riego para la campaña de 2016. Por otro lado, la EUA no se vio afectada por la dosis del riego, en contra de los resultados obtenidos por Pomares et al. (2007), que obtuvieron valores de EUA que disminuyeron desde 18.7 kg m⁻³ (75% ET_c) hasta 11.2 (125% ET_c). Evidentemente los aportes hídricos dependen de la precipitación efectiva, que a su vez depende de la climatología de la zona y de la época de cultivo. En este sentido, aunque en la Comunidad Valenciana las lluvias son relativamente frecuentes en la época otoñal-invernal, presentan una intensidad muy variable, por lo que las necesidades de riego también varían en las distintas campañas, afectando al EUAR y al EUA.

Bozkurt et al., (2011) estudiaron en el cultivo de la coliflor (cv. Tetris F1) plantado en invierno en Turquía, cuatro niveles de riego (K_{cp}) derivados de la evaporación acumulada en un tanque evaporímetro Clase A entre dos riegos; los cuatro niveles ensayados fueron: riego completo (100%; K_{cp}1.0), 75% del riego completo (K_{cp} 0.75), 125% del riego completo (K_{cp}1.25) y control (K_{cp} 0). Estos investigadores determinaron que K_{cp}1.0 condujo al mayor rendimiento y peso unitario de las pellas. Además el EUA en este experimento se incrementó por la disminución de las cantidades de agua de riego total, estos resultados son diferentes a los que tenemos especialmente en el segundo año,

probablemente debido a abundantes lluvias a lo largo del ciclo sobre todo en el año 2016 donde la precipitación efectiva fue 167 mm y 497 mm en 2015 y 2016 respectivamente en comparación de la precipitación efectiva sus experimento fue 263, 318, 178 en los 3 años. En cambio se observaron las mismas tendencias respecto del EUAR.

Los resultados parecen indicar que D3 resulta excesiva, lo que podría deberse a una sobrevaloración de los coeficientes de cubeta y/o de cultivo, por lo que resultaría interesante determinarlos en futuros estudios, así como sería de gran importancia estudiar la respuesta productiva de la planta al déficit hídrico en cada una de las distintas fases del cultivo.

Referencias

- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., & Smith, M. 2006. Crop evapotranspiration– Guidelines for Computing Crop Water Requirements.” Irrigation and Drainage Paper No. 56, FAO, Rome, Italia.
- Bessembinder, J.J.E., Leffelaar, P.A., Dhindmal, A.S. & Ponsioen, T.C. 2005. Which crop and which drop, and the scope for improvement of water productivity. *Agricultural Water Management*, 73:113-130.
- Bozkurt, S., Uygur, V., Agca N. & Yalcin M. 2011. Yield responses of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis*) to different water and nitrogen levels in a Mediterranean coastal area, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 61:2, 183-194.
- Chai, Q., Gan, Y., Zhao, C., Xu H., Waskom, R.M., Niu, Y. & Siddique, K.H.M. 2016. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 36:3.
- Doorenbos, J. & Pruitt, W.O. 1976. Las necesidades de agua de los cultivos. Estudios FAO Riego y drenaje 24. FAO, Roma, Italia.
- FAOSTAT 2014. Food and Agriculture Data. 15 enero 2017. www.fao.org/faostat/en/#home
- Fereres, E. 2008. The future of irrigation in horticulture. *Chronica Horticulturae*, 48:9-11.
- Pomares, F., Baixauli, C., Bartual, R., & Ribó, M. 2007. El riego y la fertirrigación de la coliflor y el brócoli. p. 157-198. En: J.V. Maroto, F. Pomares y C. Baixauli (eds.), *El cultivo de la coliflor y el brócoli*. Mundi-Prensa y Fundación Ruralcaja, Valencia.
- StatPoint Technologies, I. 2013. STATGRAPHICS Centurion XVI. Warrenton, Virginia, USA.
- World Bank, 2006. Directions in Development. Reengaging in Agricultural Water Management: Challenges and Options. The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank, The World Bank, Washington, DC, p. 218.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Fechas correspondientes a las etapas de crecimiento del cultivo (ECC), estado de las plantas y coeficiente del cultivo (K_c , adimensional) para cada campaña.

ECC	K_c	2015	2016
Inicial	0.7	1-sep.-15	9-sep.-16
	0.75	8-sep.-15	13-sep.-16
Desarrollo del cultivo	0.8	22-sep.-15	30-sep.-16
	0.85	29-sep.-15	7-oct.-16
	0.9	6-oct.-15	14-oct.-16
	0.95	13-oct.-15	21-oct.-16
Mediados de temporada	1.05	20-oct.-15	28-oct.-16
	1.05	27-oct.-15	4-nov.-16
Final	0.95	20-nov.-15	28-nov.-16
	0.9	8-dic.-15	16-dic.-16
	0.9	15-dic.-15	24-dic.-16
	0.9	18-dic.-15	4-ene.-17

Tabla 2 - Valores totales de evaporación del tanque evaporímetro (Epan, mm), evapotranspiración de referencia (ET_o, mm), evapotranspiración del cultivo (ET_c, mm), precipitación efectiva (Pe, mm), necesidades de riego [$Nr = (ET_c - Pe) \text{ eficiencia}^{-1}$, mm], lámina de riego aportada (mm) y agua total recibida (Pe + riego aportado, mm) para cada una de las dosis de riego (DR) y campaña (2015 y 2016).

Año	Epan	ET _o	ET _c	Pe	Nr	DR	Lámina riego* (mm)	Agua total (mm)
2015	353	288	244	167	124	D1	139	306
						D2	170	337
						D3	201	368
2016	308	251	210	497	172	D1	120	617
						D2	158	655
						D3	205	702

* Incluye el riego de plantación, que supuso 58 mm en 2015 y 30 mm en 2016.

Tabla 3 - Efecto de la dosis de riego en el crecimiento de la planta, expresado en altura y diámetro de la planta y en el Índice relativo de clorofila (SPAD).

Dosis de riego	2015			2016		
	Altura (cm)	Diámetro (cm)	SPAD (-)	Altura (cm)	Diámetro (cm)	SPAD (-)
D1	95.9	100.1	58.2	89.9	103.1 b	62.1
D2	92.7	96.6	57.3	90.3	104.8 ab	60.4
D3	93.1	102.1	60.5	91.1	107.0 a	61.2
(P ≤ 0.5)	ns	ns	ns	ns	**	ns
LSD	3.0	6.0	4.6	1.3	2.3	1.6

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$); ns: no significativo; **: nivel de significación $p \leq 0.01$.

Tabla 4 - Efecto de la dosis de riego en el peso fresco y seco, de las plantas (total y descompuesto en hojas y tallo) y contenido en materia seca de hojas y tallo, y pella.

Dosis de riego	2015				2016			
	Peso fresco (g planta ⁻¹)		Materia seca (%)		Peso fresco (g planta ⁻¹)		Materia seca (%)	
	Total	Pella	Total	Pella	Total	Pella	Total	Pella
D1	4088.3	1363.9	7.9	7.8 b	3693.3	1607.7	8.4	8.5 a
D2	4150.8	1403.9	8.3	8.7 a	3586.7	1628.8	8.5	8.3 ab
D3	4269.2	1397.7	7.9	7.7 b	4087.9	1612.3	8.6	8.0 b
(P ≤ 0.5)	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	*
LSD	668.3	364.5	0.5	0.5	638.6	216.5	0.9	0.4

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$); ns: no significativo; *: nivel de significación $p \leq 0.05$; **: nivel de significación $p \leq 0.01$.

Tabla 5 - Efecto de la dosis de riego en los parámetros productivos: rendimiento (R), total y comercial y peso unitario de la pella comercial (PUC).

Dosis de riego	2015			2016		
	Rendimiento		PUC	Rendimiento		
	Total (kg m ⁻²)	Comercial (kg m ⁻²)		Total (kg m ⁻²)	Comercial (kg m ⁻²)	PUC
D1	4.27 ab	3.80	1.69	4.73	4.43	1.80
D2	4.13 b	3.87	1.72	4.50	4.13	1.80
D3	4.84 a	4.38	1.74	4.13	3.87	1.70
(P ≤ 0.5)	*	ns	ns	ns	ns	ns
LSD	0.58	0.55	0.06	0.84	0.86	0.20

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$); ns: no significativo; *: nivel de significación $p \leq 0.05$.

Tabla 6 - Efecto de la dosis de riego en las características de la pella: anchura, altura, relación ancho/alto en 2016.

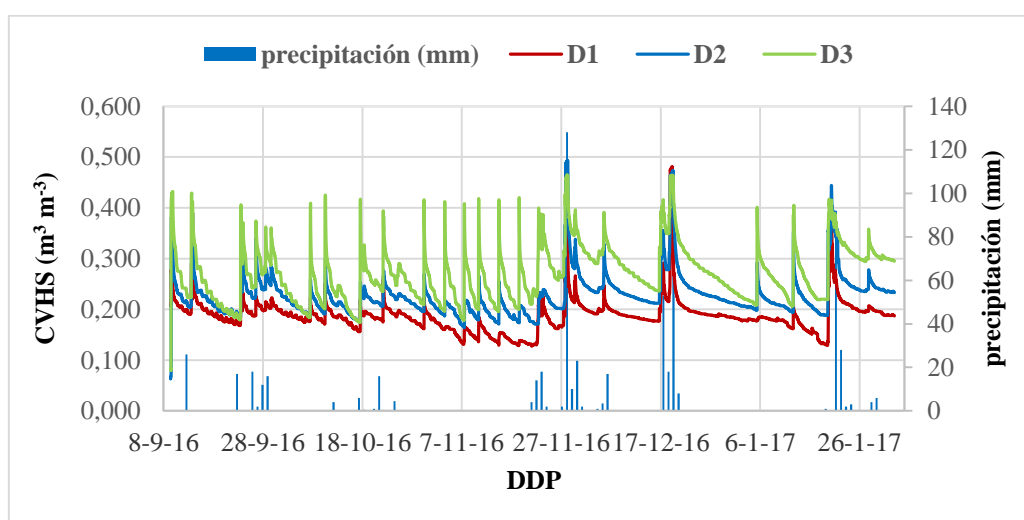
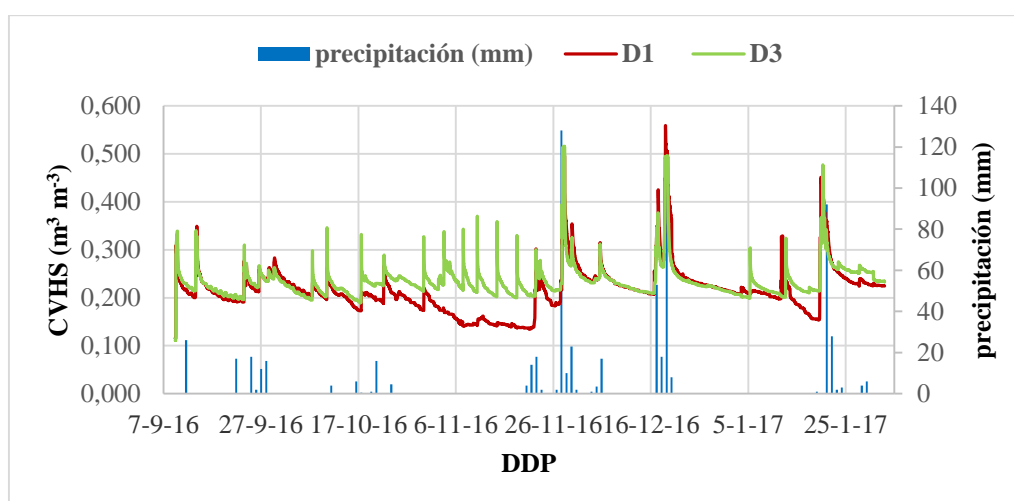
Dosis de riego	Anchura de pella (cm)	Altura de pella (cm)	Ancho/Alto
D1	16.26	11.04	1.48
D2	16.63	11.57	1.44
D3	16.72	11.25	1.49
(P ≤ 0.5)	ns	ns	ns
LSD	0.87	0.56	0.07

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$); ns: no significativo

Tabla 7 - Efecto de la dosis de riego en EUA (Kg m^{-3}) y EUAR (Kg m^{-3}) en relación de días después de plantación (DDP).

Dosis de riego	2015		2016	
	EUA (Kg m^{-3})	EUAR (Kg m^{-3})	EUA (Kg m^{-3})	EUAR (Kg m^{-3})
D1	12.44	27.41 a	7.5	49.2 a
D2	11.48	22.78 b	6.6	32.3 b
D3	11.91	21.80 b	5.8	22.2 c
(P ≤ 0.5)	ns	**	ns	**
LSD	1.63	2.65	1.4	8.2

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas según el test LSD ($p \leq 0.05$); ns: no significativo; **: nivel de significación $p \leq 0.01$.

**Figura 1** - Contenido volumétrico de humedad del suelo (CVHS) a 5 cm de profundidad y precipitación diaria. DDP: días después de la plantación.**Figura 2** - Contenido volumétrico de humedad del suelo (CVHS) a 10 cm de profundidad y precipitación diaria. DDP: días después de la plantación.

Biodiversidad y Origen de los cultivares locales de papas de Tenerife

Domingo Ríos^{1,2}

¹Centro de Conservación de la Biodiversidad Agrícola de Tenerife. Servicio Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife, Cl. Alcalde Mandillo Tejera, 8. Santa Cruz de Tenerife. domingor@tenerife.es

²Departamento Ingeniería Agraria, Náutica, Civil y Marítima Universidad de La Laguna. Carretera Geneto, 2. La Laguna. djrios@ull.es

Resumen

La papa tiene su Centro de Origen en América del sur, y desde allí fue exportada al resto del mundo en diferentes fases a lo largo de la historia. Se tiene noticias de la llegada desde América de papas a las Islas Canarias desde 1567, aunque hay evidencias de su llegada con anterioridad a 1550, y aún hoy los agricultores de estas islas conservan muchos cultivares de origen andino. Esta conservación "in situ", con más de 800 hectáreas de cultivares locales en la actualidad, tiene unos elevados niveles de variabilidad genética, aún tratándose de unas islas relativamente alejadas de su Centro de Origen. En Canarias, y más concretamente en Tenerife, se pudieron originar nuevos materiales genéticos a partir de la selección que los agricultores locales hicieron de los mismos en los diferentes agrosistemas insulares. Los estudios realizados hasta el momento de las papas de Tenerife, manifiestan una importante diversidad, con cultivares pertenecientes a *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* de probable origen andino, otros a *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* probablemente procedentes de antiguos programas de mejora europeos, o quizás algún material podría tener origen en los archipiélagos de Los Chonos y Chiloe en Chile, y cultivares triploides, que han sido clasificados hasta la fecha en la especie *Solanum chaucha*. Además se han encontrado algunos cultivares que presentan características intermedias o alejadas de los grupos comentados anteriormente, y que podrían ser híbridos obtenidos por diversos caminos en Tenerife a partir de papas originarias de América. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en los trabajos de caracterización de las papas locales de Tenerife en los últimos 20 años, y se postula a Canarias como un centro secundario de origen de la papa.

Palabras clave: *Solanum tuberosum* ssp *andigena*, *Solanum tuberosum* ssp *tuberosum*, *Solanum chaucha*, patatas, landraces

Abstract

The potato has its Center of Origin in South America, and from there it was exported to the rest of the world in different phases throughout history. There are reports of the arrival of potatoes from the Americas to the Canary Islands since 1567, although there is evidence of their arrival before 1550, and even today the farmers of these islands retain many cultivars of Andean origin. This "in situ" conservation, with more than 800 hectares of local cultivars today, has a high level of genetic variability, even in the case of islands that are relatively far from their Center of Origin. In the Canary Islands, and more specifically in Tenerife, new genetic materials could be originated from the selection that the local farmers made of them in the different island agro-systems. The studies made so far of the potatoes of Tenerife, show an important diversity, with cultivars belonging to *Solanum tuberosum* ssp. *Andigena* of probable Andean origin, others to *Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum* probably coming from old European improvement programs, or perhaps some material could originate in the archipelagos of Chonos and

Chiloe in Chile, and triploid cultivars, which have been classified to date in the species *Solanum chaucha*. In addition, we have found some cultivars that have intermediate or distant characteristics of the groups discussed above, and that could be hybrids obtained by different roads in Tenerife from potatoes originating in America. This paper presents the results obtained in the works of characterization of the local potatoes of Tenerife in the last 20 years, and postulates the Canary Islands as a secondary center of origin of the potato.

Keywords: *Solanum tuberosum* ssp *andigena*, *Solanum tuberosum* ssp *tuberosum*, *Solanum chucha*, potatoes, landraces

Introducción

La papa tiene más especies silvestres tuberíferas relacionadas que cualquier otra planta cultivada en el mundo. Se han descrito varios cientos de especies de papas silvestres y cultivadas formadoras de tubérculos (*Solanum* sect. *Petota*) distribuidas desde el suroeste de los Estados Unidos hasta el sur de Chile (Correl, 1962; Hawkes, 1978). En la revisión taxonómica de Hawkes (1990) se reconocen 235 especies silvestres tuberíferas y 7 especies cultivadas que conforman una serie poliploide que va desde diploides ($2n = 2x = 24$) hasta hexaploides ($2n = 6x = 72$). Según Spooner y Hijmanns (2001), existen muchos sinónimos dentro de esas 235 especies silvestres, lo que reduciría a 199 el número de especies silvestres diferentes.

Las primeras papas tienen su origen en la cordillera de los Andes, concretamente en el sur de Perú y en el norte de Bolivia (Hawkes, 1990). En dichas zonas se originó el cultivo hace unos 10.000 años. Según Ugent (1970) las variedades antiguas de papa han venido siendo cultivadas en las terrazas de los valles de la antigua capital del imperio de los Incas, Cuzco. Hawkes (1967) considera que *S. stenotomum* podría ser la primera especie domesticada, como atestigua la gran similitud entre algunos de sus cultivares y ciertas especies silvestres, e incluso considera la posibilidad de que determinadas especies cultivadas diploides como *S. phureja* y *S. goniocalix* pudieran proceder de selecciones de *S. stenotomum* hacia un periodo de latencia corto y un mejor sabor, respectivamente. Tras la conquista de Perú por los españoles en el siglo XVI, estos introducen la papa en Europa. Algunos autores creen que la ssp. *tuberosum* ha derivado de la ssp. *andigena* por adaptación de ésta a día largo (Salaman, 1985). No obstante, existen evidencias de que los clones cultivados en Europa descienden de importaciones de papas de la isla de Chiloe en Chile (Grun *et al.*, 1990). El último trabajo de la introducción de la papa en Europa realizado por Ames y Spooner (2008), acaba de obtener la evidencia científica de que la papa andina persistió en Europa al menos hasta 1892, es decir, con posterioridad al desastre causado por el mildiu en los cultivos de papa irlandesa, y que las papas de Chiloe pertenecientes a la ssp. *tuberosum* ya existían en Europa con anterioridad al mismo. Una conclusión similar se puede obtener del trabajo realizado por Ríos *et al.* (2007).

En el caso de *Solanum chaucha*, para Marks (1966) éste es el triploide que comprende una mayor variabilidad. Para Ochoa (1975) esta especie triploide se encuentra entre las diploides y tetraploides. Hawkes (1990) considera que su distribución va desde el Perú Central hasta el centro de Bolivia a altas altitudes.

Según Huaman (1998), *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* es la papa predominante en latitudes norte ya que está adaptada a días largos, tiene grandes rendimientos y los tubérculos presentan una gran homogeneidad. Esta subespecie es menos común en Sudamérica, donde *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* es la papa más importante. En los Andes es muy típico encontrar cultivares de la ssp. *andigena* mezclados con cultivares de otras especies. Asimismo, debido a que la papa tiene

muchísimas especies afines silvestres, existen muchos casos en los que se encuentran éstas como malas hierbas entre las especies cultivadas.

Historia de la papa en Canarias

La introducción de la papa en Canarias podría haberse realizado anteriormente a las fechas que han sido hasta el momento citadas, probablemente entre los años 1550 y 1560 (Ochoa, comunicación personal). Pero hasta la actualidad, las citas más fiables son las que hacen referencia a la década de los sesenta del siglo XVI.

Hasta hace pocos años, la primera cita de papas en Europa fue de Halminton (1934), citado posteriormente por Salaman (1949) y Hawkes y Francisco-Ortega (1992). Halminton encuentra en los libros de contabilidad del Hospital de la Sangre de Sevilla del Archivo Hispalense la fecha de 1573 como la cita más antigua de la llegada de papas a la Europa continental. Hawkes y Francisco-Ortega (1992).

Sin embargo, en Canarias, la probable primera cita de papas, la realiza el autor portugués Gaspar Frutuoso en su Descripción de las Islas Canarias del libro I de “Saudades da Terra”. Según el traductor al castellano de esta obra, el profesor Pedro-Neasco Leal, la cita que se realiza para la Isla de La Gomera y La Palma, podría haber sido el primer texto en portugués en el que se emplea el término *batata* por “patata”. Esta aportación de Frutuoso podría datarse entre 1600 y 1604, pues para las islas de Tenerife, La Palma y La Gomera no da fechas posteriores a 1563. Sin embargo, esta cita presenta la más que probable confusión entre las dos especies citadas que ya se originaba en aquella época.

Hasta ahora la más antigua referencia de papas y que ha tenido una mayor difusión mundial, data de noviembre de 1567, en la que un notario público da fe del envío de mercancías desde Gran Canaria a Amberes (Lobo-Cabrera, 1988).

*“...Y así mismo recibo tres
Barriles medianos que decis
Lleven patata y naranjas e
Lemonas berdes”.*

Lobo Cabrera (1988) cree que estas papas debieron ser plantadas entorno a 1560, mientras que Hawkes y Francisco-Ortega (1993) la ubican en 1562. Una nueva cita de la papa en Canarias es la siguiente (Hawkes y Francisco-Ortega, 1993):

*“... . Así mismo vinieron de
Tenerife dos barriles de
Patatas y ocho (...) llenos
de aguardiente”.*

Para esta cita, y del mismo modo que para la isla de Gran Canaria, Hawkes y Francisco-Ortega (1993) señalan que la fecha del envío podría indicar que las papas fueron producidas en las Islas Canarias.

Sobre la introducción y cultivo de las papas en Canarias, Viera y Clavijo (1866), cita la tradición de que fue D. Juan Bautista de Castro quien las sembró en sus posesiones de Icod el Alto, habiéndolas traído de Perú en 1622.

Las papas que hoy existen en el viejo continente difieren significativamente de aquellas primeras entradas, ya que los agricultores y fitomejoradores han ido seleccionando los cultivares más adaptados y con mejores calidades y producciones. Pero en Canarias, el proceso no ha sido el mismo, ya que existen múltiples cultivares locales que se asemejan a los de los países andinos, y que son multiplicados por los agricultores generación tras generación. Esto hace pensar que descienden de los primeros tubérculos que llegaron a las Islas procedentes de América (Huaman, 2000, comunicación personal; Ríos, 2002).

Como ya se ha reseñado, los primeros datos históricos (1560-1567) de la presencia de papas en Canarias son anteriores a la primera fecha de entrada de papas en Europa (1573). Estas primeras introducciones podrían ser pertenecientes a la ssp. *andigena*, tanto por las descripciones, como por los herbarios conservados. Así mismo, según Hawkes y Francisco Ortega (1993), un barco que embarcase las papas de Chiloe (ssp. *tuberosum*), no era capaz de llegar a Europa con las papas en buen estado, lo que es confirmado aún más por el hecho de que los viajes directos por el Estrecho de Magallanes no habrían de producirse hasta 1579. Sin embargo, Ríos *et al.* (2007) cuestiona este probable único origen, determinando una alta probabilidad de que pudieran existir cultivares de papas en Canarias introducidas de forma paralela de los Andes y de Chiloe, siendo difícil determinar el origen concreto de todos los cultivares de papas que hoy se cultivan en estas islas, pues además se han producido numerosas entradas de papas europeas a lo largo de los dos últimos siglos. Así mismo, tal como establecen Spooner y Hettterscheid (2005), las papas podrían haber sido introducidas en Europa no sólo como tubérculos, sino como plantas en macetas o semillas sexuales, hecho este muy probable en aquella época.

Primeros estudios morfológicos y taxonómicos de las papas de Canarias.

Las primeras descripciones de los cultivares aparecen en la literatura de Canarias en 1816 cuando Bandini, en *“Lecciones Elementales de Agricultura: teórica, práctica y económica”*, dice:

“Hai de ellas muchas variedades: tempranas y tardías; de flor blanca, rosada, cenicienta o azul; de un epidermis blanco, pardo, amarillo, roxo, ó morado; de figura redonda, larga, ovalada, esquinada, con excrecencias...”

En el *“Diccionario de Historia Natural de las Islas Canarias”*, Viera y Clavijo (1866), describe algunas papas de finales del siglo XVII como sigue: *“...según la variedad de sus castas. Unas son de cutis pálido, otras morado, otras rojizo, otras amarillento”*.

Para Hernández (2000) la papa compartía superficie de cultivo con el millo, las hortalizas y las legumbres, ocupando un espacio importante a partir del siglo XVII, ya que se trataba de un cultivo que permitía varias cosechas al año y que pronto se incorporó a la dieta básica. Según este autor, se plantaron muchas variedades locales, algunas de las cuales han desaparecido o están a punto de desaparecer, además considera que el mayordomo de la Hacienda de las Palmas de Anaga (caserío situado en el macizo de Anaga en Tenerife) en 1772 se está refiriendo a las papas Moras (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) cuando dice:

“...en cuanto a las papas moradas, yo devo onse almudes y mi conpadre Salvador almud y medio. Yo las tengo encargadas a Francisco Meliá, quien dixo me abisaría para mandar por ellas”

Esta cita tendrá una enorme importancia en los orígenes de las papas locales de Canarias como se expondrá posteriormente.

En el *“Tratado sobre el Cultivo, Uso, y Utilidades de las Patatas ó Papas”* de D. Enrique Doyle (1797) ya se atisban diferencias morfológicas y agronómicas en los cultivares que describen en Canarias:

“...en las islas de Canarias se plantan y sacan tres cosechas de patatas al año. Las primeras se plantan en el mes de Enero, y las cogen á fines de Julio, las que llaman veraneras. Las segundas, que se llaman tempranas, se plantan en Septiembre y cogen en Diciembre. Otras que llaman las de Mayo, se plantan en Noviembre y las cogen en dicho mes de Mayo”.

Es muy importante indicar que el largo ciclo de cultivo que se desprende de la mencionada cita es una característica de los cultivares de la ssp. *andigena*.

Algunos de los cultivares citados por Álvarez Rixo (1868), son coincidentes en su denominación con los cultivares actuales: Negra del Sur, Blanca del Ojo Azul, Melonera o Amarillosa, Blanca Rosada que dicen Peluquera, Triste o Violada, Blanca Montañera, Colorada Montañera, Borralla, Violada o Morada, Blanca con Vetas Encarnadas u Ojo de Perdiz, Blancas con Vetas Violadas, Sietecueros, Encarnada Sucia, Canaria Encarnada con Ojos Blancos, Londreras y Norteras, Londreras y Norteras de Color Acarminado, Encarnadas de Lanzarote o Bonitas y Moradas de Lanzarote.

Muy posteriormente, en 1955, Zubeldía *et al.*, en su trabajo “*Estudio, Descripción y Clasificación de un Grupo de Variedades Primitivas de Patata Cultivadas en las Islas Canarias*”, confirman la presenciade 7 cultivares pertenecientes a *Solanum tuberosum* ssp *andigena* (Torrenta, Bonita, Bonita Ojo de Perdiz, Bonita Colorada, Bonita Negra y Torrenta o Bonita Sietecueros), 2 cultivares de *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* (Peluca Rosada y Moruna) y un cultivar triploide encuadrado taxonómicamente en la especie *S. mamilliferum*, conocido localmente como Negra, hoy formando parte del heterogéneo grupo de la especie *S. chaucha*, lo que es corroborado posteriormente por Hawkes y Francisco-Ortega (1993).

Chico (1986) confirma lo establecido por Zubeldía *et al.* (1955), señalando además la presencia de cultivares de más reciente introducción probablemente procedentes de América debido a las altas corrientes migratorias desde Canarias. Es muy interesante la pequeña disertación sobre el encuadramiento taxonómico de la papa Negra (triploide) que hace al final de su trabajo.

Marrero (1992; 2007) en el primer trabajo etnobotánico realizado a través de entrevistas a agricultores establece una clasificación de los cultivares para toda Canarias, diferenciando entre:

a) Cultivares autóctonos del grupo Andígena, derivados de los primeros que llegaron a Canarias desde mediados del siglo XVI. Marrero engloba aquí Azucenas, Coloradas (sinonimias: De Baga, Baga Colorada o Bonita Rosada Tardía), Bonitas (sinonimia: Marruecas), de diversos tipos (Blanca, Colorada, Negra, Ojo de Perdiz) Corralera, Blanca Yema de Huevo (sinonimia: Papa de Huevo), Negra Yema de Huevo (sinonimia: Papa de Huevo), Palmeras, Borralla y Torrenta Cultivar triploide Negra (sinonimias: Negra Ramuda, Negra del Sur, Negra Yema de Huevo) afín a *S. mamilliferum*.

b) Cultivares actuales sudamericanos del grupo Andígena, que en las últimas décadas han ido llegando desde distintas regiones de Venezuela, Colombia, etc. Los cultivares citados son Andina, Brasileña, Caraqueña, Colombiana y Venezolana. Los cultivares Venezolana y Andina fueron introducidos desde Venezuela por los emigrantes retornados desde el estado de Mérida a finales de los años 70 y principios de los 80 del siglo XX.

c) Cultivares autóctonos del grupo Tuberosum, llegados desde Europa hacia el siglo XVIII y XIX.

d) Cultivares comerciales tradicionales europeos del grupo Tuberosum, llegados de Inglaterra, Holanda, Irlanda, ...

e) Cultivares comerciales actuales del grupo Tuberosum cuya “semilla” procede del norte de Europa (Irlanda del Norte, República de Irlanda, Escocia y Dinamarca) y también en los últimos años desde Chipre y Egipto.

Con respecto al grupo b) establecido por Marrero (1992;2007) cabe destacar que el cultivar conocido como Venezolana o Andina Negra que procede de Venezuela, concretamente de la región de Mérida, y cuya característica morfológica más destacable es el tubérculo morado con anteojos de color marrón claro, es una obtención mejorada en base a una población isogénica con diferentes resistencias (heladas, enfermedades

fúngicas, etc.) lograda en Venezuela por el Dr. Mittelholzer a principios de los años 70 del siglo XX, a partir de material seleccionado de *S. tuberosum* ssp. andigena, a la cual se denominó Merideña (Estrada-Ramos, comunicación personal).

Álvarez y Gil (1996) confirman la presencia aún en los campos de Tenerife de los cultivares estudiados por Zubeldía *et al.* (1955). Gil (1997) basándose en lo descrito por Zubeldía *et al.* sitúa dentro de la ssp. *andigena* los siguientes cultivares; Terrenta, Azucena Negra, Azucena Blanca, Borralla, Bonita Blanca, Bonita Negra, Bonita Llagada, Bonita Colorada, Bonita Ojo (de) Perdiz, y Colorada de Baga. Cedrés (1998), confirma de forma preliminar la triploidía de la variedad Negra, ubicándola dentro de la especie *Solanum chaucha*.

Álvarez y Gil (1996) clasifican y localizan los cultivares de la isla de Tenerife, diferenciando: 1) papas correspondientes a variedades locales cuya antigüedad se desconoce, que pertenecen en principio por sus características morfológicas a la ssp. *andigena* o a la especie *Solanum x chaucha*, 2) papas introducidas a lo largo del siglo XX procedentes probablemente del Reino Unido, cuya semilla se ha dejado de importar hace muchísimos años y se conserva únicamente por la labor de los propios agricultores, 3) papas traídas más recientemente por los emigrantes retornados de Sudamérica y 4) papas de importación reciente que continúan en la actualidad.

Rodríguez (2000) hace una caracterización básica de 14 cultivares locales de la isla de Tenerife: Azucena Blanca, Azucena Negra, Bonita Blanca, Bonita Colorada, Bonita Llagada, Bonita Ojo de Perdiz, Bonita Negra, Colorada, Torrenta, Borralla, Mora, Negra, Andina Blanca y Andina Negra. En base a esa caracterización sostiene que 11 de estos cultivares tienen características propias de la ssp. *andigena* y 2 (Mora y Borralla), presentan tanto características propias de la ssp. *andigena* como de la ssp. *tuberosum*. En un conteo de cromosomas de los 14 cultivares confirma la triploidía del cultivar Negra, y la tetraploidía del resto de ellos.

La morfología de las papas canarias mediante la taxonomía numérica.

Los primeros estudios morfológicos de las papas de Canarias utilizando métodos de taxonomía numérica los realiza Ríos (2002) empleando 52 caracteres cualitativos y cuantitativos, en su mayoría codificados y métricos, propuestos por Huaman en diversas publicaciones. Con un tratamiento similar al que realizan Huaman y Spooner (2002) elabora tras tres años de caracterización (uno preliminar y dos de forma exhaustiva) los agrupamientos de 41 entradas de papas de Tenerife (Tabla 1) que se muestran en la figura 1. Asimismo, se realizó el estudio citogenético de las 42 entradas según la metodología de Watanabe y Orillo (1991; 1993) determinando la ploidía de las mismas.

En este trabajo se obtuvo una excelente correlación entre los grupos obtenidos por el método cluster y la clasificación popular que realizan los agricultores, tal como se observa en la figura 1.

En el mismo trabajo, Ríos (2002) realiza un análisis de componentes principales. En la figura 2 se presenta el resultado de los dos primeros componentes principales, teniendo el componente 1 una mayor contribución de los caracteres: longitud del foliolo terminal, número de tallos por planta y longitud del primer foliolo lateral, mientras que el segundo componente tiene una mayor contribución de los caracteres: número de ojos del tubérculo, forma de la base del foliolo terminal y sobreposición de los folíolos laterales. Los resultados parecen indicar la existencia de tres grupos claros:

- Un grupo formado por todas las entradas de papas con caracteres de la ssp. *tuberosum*, entre las que encontramos las Pelucas, Palmeras, Moras, Borrallas, y extrañamente el triploide Negra. Todas estas entradas, a excepción del triploide Negra, son clasificadas por Ríos (2002) como pertenecientes a la ssp. *tuberosum*.

-Un grupo intermedio formado por las Venezolanas, probablemente el cultivar híbrido Merideña obtenido por fitomejora (Estrada-Ramos, comunicación personal) y las Coloradas o De Baga.

-Por último, todas las entradas de Bonitas, Azucenas y Terrentas se agruparon principalmente en función del componente 1, formando un grupo de cultivares que Ríos (2002) encuadró en la *ssp andigena*.

La ubicación del cultivar Negra, triploide, parece no responder con total claridad a la de la especie *Solanum chaucha*. Para Ríos (2002), es necesario profundizar en estudios que aportarán una información valiosa acerca del origen de los cultivares triploides que atribuimos a la especie *Solanum chaucha*, ya que como señalan Ochoa (1975) y Jackson *et al.* (1977) para Sudamérica, estos triploides se pudieron haber originado en diferentes sitios y por diferentes caminos.

Estudios de diversidad mediante técnicas moleculares

Barandalla *et al.* (2006), con las mismas entradas que caracteriza morfológicamente Ríos (2002), realiza un estudio molecular mediante 19 marcadores SSR. Los resultados obtenidos presentan una gran similitud con los morfológicos, estableciendo grupos muy similares. En la figura 3 se presentan el dendograma con los agrupamientos obtenidos en este trabajo

Posteriormente, Ríos *et al.* (2007), mediante 24 microsatélites y un marcador de DNA de una delección característica de los cultivares pertenecientes a la *ssp. tuberosum* realizan un primer estudio de aproximación filogenética de las papas canarias. En este trabajo se analizan 25 entradas de cultivares de Sudamérica provenientes de la colección del Centro Internacional de la Papa (CIP). En concreto, de la región andina, 12 de *S. tuberosum ssp andigena*, 2 de *S. chaucha*, 4 de *S. stenotomum*, 2 de *S. phureja* y 3 outgroups formados por 2 entradas de las especies silvestres *S. bukasovii* y 1 de *S. chilliasense*. Además, se incluyen 5 accesiones del archipiélago de Chonos en Chile clasificadas en la subespecie *tuberosum*. Por último 19 accesiones de Canarias, previamente estudiadas por Ríos (2002) y Barandalla *et al.* (2006), y encuadradas en las diferentes especies existentes en Tenerife. La totalidad de las entradas analizadas se exponen en la tabla 2. Además, el marcador de la delección típica de la *ssp. tuberosum* se analizó en 150 entradas de *S. chaucha* del CIP y no se detectó en ningún caso la delección típica de la subespecie *tuberosum*, que sin embargo, si estaba presente en los dos triploides canarios analizados.

Mediante el coeficiente de similitud Nei72 y el método neighbor-joining se construyó el árbol filogenético, que se presenta en la figura 4.

Los resultados muestran que los cultivares pertenecientes a la *ssp. tuberosum* forman un grupo, destacando la existencia en todos ellos de la delección típica de esta subespecie que se ha señalado en el árbol con una T al final de cada cultivar. Además, el cultivar Mora, Brasileña o Grasiense, se encuentra conjuntamente con las entradas del archipiélago de Chonos. Aquí es importante reseñar la cita de 1772 comentada anteriormente de Hernández (2000), que nombra las papas Moradas en las Hacienda de las Palmas en Anaga, actual reducto de cultivo de este cultivar de papa, que dice:

“...en cuanto a las papas moradas, yo devo onse almudes y mi conpadre Salvador almud y medio. Yo las tengo encargadas a Francisco Meliá, quien dixo me abisaria para mandar por ellas”

Hernández (2000), considera que el mayordomo de las Palmas de Anaga se está refiriendo a las papas Moras. Este dato es de suma importancia, pues sería la primera cita de una papa perteneciente a la *ssp. tuberosum* en Canarias, y por lo tanto muy anterior a la hambruna de 1845 en Irlanda.

Un grupo de papas como son las Meloneras, Coloradas y Negras forman una rama, que se une al grupo de la ssp. *tuberosum*, pero con la particularidad de que las Meloneras y las Negras tienen la delección de la ssp. *tuberosum* (T), lo que Ríos *et al.* (2007) justifican por su probable naturaleza híbrida. Esto estaría muy en consonancia con los grupos morfológicos establecidos por Ríos (2002), ya que las Meloneras o Borrallas quedan englobadas dentro de los cultivares de la ssp. *tuberosum*, las Negras se agrupan morfológicamente con éstas y las Coloradas quedan entre los agrupamientos formados por las papas pertenecientes a la ssp. *andigena* y a la ssp. *tuberosum*.

Ríos (2002) en un estudio ecofisiológico de las cultivares Negra a dos altitudes en la isla de Tenerife, ya determinó un buen comportamiento de los mismos a baja altitud, mientras que los cultivares conocidos como Bonitas pertenecientes a la ssp. *andigena* no consiguieron apenas tuberizar. Este comportamiento agronómico del cultivar triploide Negra es extraordinariamente raro, ya que se trata según Hawkes (1990) de una especie de altas altitudes en la Cordillera Andina.

Las entradas canarias de la ssp. *andigena* forman un cluster independiente, pero que se une a cierta distancia genética a las entradas de origen sudamericano de la misma subespecie, lo que indicaría una cierta evolución de los cultivares canarios que los distingue de los andinos. Esto podría indicar la existencia en canarias de un posible Centro secundario de la papa.

Conclusiones

Los datos obtenidos en los últimos estudios, parecen indicar que Canarias es un Centro Secundario de la papa, pues en ellas existen un gran número de cultivares antiguos con cierta originalidad, cultivándose en la actualidad más de 1000 ha de los mismos (Ríos *et al.*, 1999). Probablemente, la intervención y selección de nuestros agricultores durante siglos, el más que probable uso de la semilla sexual para su multiplicación tal como indica en 1799 Viera y Clavijo (1866) y la posibilidad de que existieran otras especies en las Islas en el pasado, han originado una diversidad algo distinta a la de su Centro de Origen en América.

La conservación *in situ* de estas papas es hoy más necesaria que nunca, debiendo establecer las administraciones públicas las políticas necesarias para que los agricultores puedan diferenciar este producto en los mercados, así como mejorar sus rentas. Esto permitiría la mejor conservación posible, “*conservar con los agricultores y para los agricultores*”. Así mismo, la conservación *ex situ* requiere de los programas y financiación adecuados, estableciendo los proyectos debidamente financiados para continuar y mantener los programas de conservación actualmente existentes de estas papas.

Los últimos trabajos, abren nuevas fuentes de investigación de las papas canarias, pues cada día parecen ser más un reducto de papas de naturaleza andina y chilense, pero con rasgos distintivos, que podrían ser la clave para el estudio de las primeras papas que entraron en Europa y su posterior evolución.

Referencias

- Álvarez, C.E. & Gil, J. 1996. Inventario de las papas presentes en la Isla de Tenerife y de los nombres que en ella reciben. Hojas Divulgativas, nº 5. Servicio de Agricultura, Cabildo Insular de Tenerife. 33 pp.
- Álvarez Rixo, J.A. 1868. Las papas: memoria sobre su introducción, cultivo, importancia notable de su producto en estas islas, y recomendable cualidad para los navegantes por ser dicho tubérculo eficaz preservativo contra la enfermedad del escorbuto.

- Boletín de la Real Sociedad Económica de Amigos del País de Las Palmas de Gran Canaria. nº 67, 68 y 73.
- Ames, M. & Spooner, D.M. 2008. DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *Amer. J. Bot.* 95: 252-257.
- Bandini, J.B. 1816. Lecciones elementales de agricultura teórica, práctica y económica. Tomo I. Imprenta Bazzanti, San Cristobal de La Laguna.
- Barandalla, L, Ruiz de Galarreta, J.I., Ríos, D & Ritter, E. 2006. Molecular analysis of local potato cultivars from Tenerife Island using microsatellite markers. *Euphytica* 152:283-291.
- Cedrés, M. 1998. Estudio taxonómico y agronómico de la “papa negra” en la Isla de Tenerife. Trabajo Fin de Carrera. Centro Superior de Ciencias Agrarias. Universidad de la Laguna. Sin publicar.
- Chico, R.J. 1986. Estudio comparativo de variedades locales de papas. Trabajo Fin de Carrera. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola. Universidad Politecnica de Canarias. La Laguna. Sin publicar.
- Correl, D.S. 1962. The potato and its wild relatives: Section Tuberarium of the genus *Solanum*. Texas Research Foundation, Botanical Studies 4. 606 pp.
- Doyle, E. 1797. Tratado sobre el cultivo, uso y utilidades de las patatas o papas. Imprenta Real. Madrid. 2ª Edición del texto de 1785.
- Gil, J. 1997. El cultivo tradicional de la papa en la isla de Tenerife. Ed. Asociación Granate. La Laguna. 160 pp.
- Grun, P. 1990. The evolution of the cultivated potatoes. *Economic Botany* 44: 39-55.
- Hamilton, E. 1934. American Treasure and the Price Revolution in Spain, 1501-1650. *Harvard Economic Studies*, vol XLIII, 196 pp, nº 2. Citado por: Salaman R. N. 1949. *The History and Social Influence of the potato*. Cambridge University Press, Cambridge. 685 pp.
- Hawkes, J. G. 1967. “The History of the Potato.” En: *Journal of the Royal Horticultural Society*, Vol. 92.
- Hawkes, J.G. 1978. Biosystematics of the potato. En: *The Potato Crop*. P.M. Harris (Ed.) Chapman and Hall. 15-69.
- Hawkes, J.G. 1990. *The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources*. Belhaven Press, Londres. 259 pp.
- Hawkes, J.G. & Francisco-Ortega, J. 1992. The potato in Spain during the late 16th Century. *Economic Botany* 46(1):86-97.
- Hawkes, J.G. & Francisco-Ortega, J. 1993. The early history of the potato in Europe. *Euphytica* 70:1-7.
- Hernández, J.M. 2000. Anaga en el antiguo régimen. En: VV.AA. *Historia de Anaga, Proyecto para el Parque Rural de Anaga*. Fundación Universidad Empresa. La Laguna. Sin publicar.
- Huaman, Z. 1977. Descriptors for the cultivated potato and for the maintenance and distribution of germoplasm collections. *International Board for Plant Genetic Resources*. Roma, Italia.
- Huaman, Z. 1994. *Descriptores de la papa*. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú.
- Huaman, Z. 1998. Colección, maintenance and evaluation of potato genetic resources. *Plant Varieties and Seeds* 11:29-38.
- Huaman, Z, Williams, J.T., Salhuana, W. & Vicent, L. 1977. Descriptors for the cultivated potato. *International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR)*. Roma, Italia.

- Huaman, Z. & Spooner, D.M. 2002. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *Petota*). *Americal Journal of Botany* 89.
- Macías Hernández, A. 1986. Fuentes para el estudio de la producción agraria de las Islas Canarias: el diezmo de la diócesis Canariense (1480-1820). *Anuario de Estudios Atlánticos* 32: 269-359.
- Madoz, P. 1845. *Diccionario Geográfico-Estadístico-Histórico de España y sus Posesiones de Ultramar*. Edición Facsímil. Canarias. Ámbito de Ediciones S. A. e Interinsular Canaria. Valladolid. 1986.
- Marks, G.E. 1966. The enigma of triploid potatoes. *Euphytica* 15:285-290.
- Marrero, A. 1992. Cultivos tradicionales de papas en Canarias y su biodiversidad. *Proceedings of the Ethnobotanical Congress*. Córdoba. Sin publicar.
- Marrero, A. 2007. Cultivos tradicionales de papas en Canarias. *La otra biodiversidad*. *Revista Rincones del Atlántico*. 4: 262-273.
- Lobo Cabrera, M. 1988. *El comercio canario europeo bajo Felipe II*. Viceconsejería de Cultura y Deportes de el Gobierno de Canarias y Secretaría Regional de Turismo, Cultura e Emigração de Governo Regional da Madeira. Funchal.
- Pérez, J.A., Maca, N. & Larruga, J.M. 1999. Expanding informativeness of microsatellite motifs through the analysis of heteroduplexes: a case applied to *Solanum tuberosum*. *Theor Appl Genetic* 99: 481-486.
- Ochoa, C.M. 1975. Las Papas cultivadas triploides *Solanum x chaucha* y su distribución geográfica en el Perú. *Anales Científicos (Univ. Nacional de Los Andes)* 13:31-44.
- Ochoa, C.M. 1990. *The Potatoes of South America*. Bolivia. Cambridge University Press. 512 pp.
- Ríos Mesa, D., Galván Rodríguez, C., Gil González, J., Gonzalez Rodríguez, P., Perdomo Molina, A. & Suárez Encinoso T., 1999. Propuesta de Reglamento de la Denominación de Origen Papas Antiguas de Canarias. Asociación Canaria de Papa de Color. 77 pp. Sin publicar.
- Ríos, D. 2002. Caracterización morfológica y ecofisiológica de un grupo de cultivares locales de papas de Tenerife. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 273 pp.
- Ríos, D., Ghislain, M., Rodríguez, F. & Spooner, D.M. 2007. What is the Origin of the European potato?. Evidence from Canary Island Landraces. *Crop Sci* 47:1271-1280.
- Rodríguez Mesa, M. 1992. *Historia de Santa Ursula*. Ilustrísimo Ayuntamiento de Santa Ursula. S/C de Tenerife.
- Rodríguez, C. 2000. Características morfológicas de catorce variedades tradicionales de papa existentes en la isla de Tenerife. Proyecto Final de Carrera. Centro Superior de Ciencias Agrarias. Universidad de la Laguna. Sin publicar.
- Sánchez-Manzano, F. 1984. *La Laguna, 1800-1860: Un estudio de Historia Agraria*. Memoria de Licenciatura. Facultad de Geografía e Historia, Universidad de La Laguna. Sin publicar.
- Salaman, R.N. 1949. *The History and Social Influence of the potato*. Cambridge University Press, Cambridge. 685 pp.
- Salaman, R. N. 1985. The potatoes of America and their relation on the early european varieties. En: *The History and social influence of the potato*. J.G. Hawkes (Ed.) Cambridge University Press.
- Spooner, D.M. & Hetterscheid, W.L.A. 2005. Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. p.285-307. En T. J. Motley et al. (ed.) *Darwin's harvest: New approaches to the origins, evolution and conservation of crops*. Columbia Univ. Press, New York.

- Spooner, D.M. & Hijmans, R.J. 2001. Potato genetic resources: sources of resistance and systematics. *American Potato Journal*, 71:325-337
- Ugent, D., 1970. The Potato. *Science* 179, 1161-1166.
- Viera y Clavijo, J., 1866. *Diccionario de Historia Natural de las Islas Canarias*. Excma. Mancomunidad de Cabildos de Las Palmas. (Edición de 1982). Las Palmas de Gran Canaria.
- Watanabe, K.N. & Orillo, M. 1991. Técnica usada en el laboratorio de citogenética del Centro Internacional de la Papa (CIP) para determinar el número de cromosomas de la papa. Protocolo Interno del CIP. Sin publicar.
- Watanabe, K.N. & Orillo, M. 1993. An alternative pretreatment method for mitotic chromosome observation in potatoes. *American Potato Journal* 70:543-548.
- Zubeldia, A, López-Campos, G & Sañudo-Palazuelos, A. 1955. Estudio, descripción y clasificación de un grupo de variedades primitivas de patata cultivadas en las Islas Canarias. Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas. Vol. XV. Cuaderno 225, 33:287-324.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Entradas de la Isla de Tenerife caracterizadas por Ríos (2002).

Código	Nombre Vernáculo	Zona	Municipio	Nombre codificado	Ploidia
1	Bonita Blanca	Benijos	La Orotava	BbO	48
2	Bonita Negra	Benijos	La Orotava	BnO	48
3	Bonita Colorada	Benijos	La Orotava	BcO	48
4	Bonita Ojo de Perdiz	Benijos	La Orotava	BpO	48
5	Colorada de бага	Benijos	La Orotava	CoO	48
7	Azucena Negra	El Pastel	Tacoronte	AnT	48
8	Azucena Blanca	El Pastel	Tacoronte	AbT	48
9	Blanca Negra	El Pastel	Tacoronte	NbT	36
10	Colorada de Baga	Las Rosas	El Rosario	CoE	48
11	Terrenta	La Esperanza	El Rosario	T-E	48
14	Negra Yema de Huevo	La Esperanza	El Rosario	N-E	36
15	Azucena Negra	El Palmar	Buenavista	AnB	48
18	Melonera	Teno Alto	Buenavista	MIB	48
19	Peluca Blanca	Teno Alto	Buenavista	LbB	48
20	Peluca Negra	Teno Alto	Buenavista	LnB	48
21	Bonita Negra	Palo Blanco	Los Realejos	BnR	48
24	Marrueca Blanca	Palo Blanco	Los Realejos	MbR	48
25	Peluca Rosada	Los Charcos	La Matanza	LrM	48
27	Bonita Negra	Fuente Grande	La Guancha	BnG	48
30	Bonita Llagada	Fuente Grande	La Guancha	BIG	48
31	Bonita Ojo de Perdiz	Fuente Grande	La Guancha	BpG	48
32	Marrueca	Fuente Grande	La Guancha	MaG	48
33	Borralla	Las Carboneras	La Laguna	BoL	48
35	Palmera Colorada	Roque Negro	Santa Cruz	PcS	48
36	Palmera Lagartea	Roque Negro	Santa Cruz	PIS	48
37	Brasileña o Grasiñeña	Roque Negro	Santa Cruz	G-S	48
41	Venezolana Negra	Arese	Fasnia	VnF	48
44	Bonita Colorada	Icod el Alto	Los Realejos	BcR	48
50	De Baga	Icod el Alto	Los Realejos	CoR	48
51	Azucena Negra	La Canaria	La Guancha	AnG	48
52	Azucena Blanca	La Canaria	La Guancha	AbG	48
53	Colorada de Baja	La Canaria	La Guancha	CoG	48
56	Moras	Las Carboneras	La Laguna	MoL	48
57	Palmera Negra	La Zarza	Fasnia	PnF	48
58	Palmera Colorada	La Zarza	Fasnia	PcF	48
59	Palmera Blanca	La Zarza	Fasnia	PbF	48
60	Peluca Rosada	Benijos	La Orotava	LrO	48
61	Terrenta	B. Las Lajas	Tacoronte	T-T	48
62	Peluca Blanca	Pinolere	La Orotava	LbO	48
63	Negra Yema de Huevo	El Pastel	Tacoronte	N-T	36
64	Negra Oro	El Pastel	Tacoronte	NoT	36

Tabla 2 - Entradas analizadas por Ríos *et al.* (2007).

Taxon	Entrada	Nombre del cultivar	Localización
Entradas Cultivadas			
Grupo Andigenum	CV1	‘Bonita Blanca’	Tenerife. La Orotava
Grupo Andigenum	CV15	‘Azucena Negra’	Tenerife. Buenavista
Grupo Andigenum	CV 21	‘Bonita Negra’	Tenerife. Los Realejos
Grupo Andigenum	CV30	‘Bonita Llagada’	Tenerife. La Guancha
Grupo Andigenum	CV44	‘Bonita Colorada’	Tenerife. Los Realejos
Grupo Andigenum	CV50	‘De Baga’	Tenerife. Los Realejos
Grupo Andigenum	CV51	‘Azucena Negra’	Tenerife. La Guancha
Grupo Andigenum	CV52	‘Azucena Blanca’	Tenerife. La Guancha
Grupo Andigenum	CV53	‘Colorada de Baga’	Tenerife. La Guancha
Grupo Andigenum	CV61	‘Terrenta’	Tenerife. Tacoronte
Grupo Andigenum	CV8	‘Azucena Blanca’	Tenerife. Tacoronte
Grupo Andigenum	700031	‘Hualash’	Peru. Carrion Palca
Grupo Andigenum	700223	‘Yana ‘or ‘Chiar Imilla’	Peru. Puno
Grupo Andigenum	700921	‘Ccompis’	Peru. Cuzco
Grupo Andigenum	702477	‘Yana Puma Maqui’	Peru. Tambillo
Grupo Andigenum	703240	‘Sani Imilla’	Bolivia. Cochabamba
Grupo Andigenum	703243	Imilla Blanca’	Bolivia. Cochabamba
Grupo Andigenum	703284	‘Puca Ticka’	Bolivia. Cochabamba
Grupo Andigenum	703346	‘Huaycha Pacena’	Bolivia. Cochabamba
Grupo Andigenum	703748	‘Huagalina’	Peru. La Libertad
Grupo Andigenum	704353	‘Puna’	Ecuador. Chimborazo
Grupo Andigenum	704429	‘Guincho Negra’	Peru. Chachapoyas
Grupo Andigenum	705665	‘Pellejo de Cuy’	Peru. Santa Cruz de Miopapa
Grupo Chaucha	CV63	‘Negra Yema de Huevo’	Tenerife. Tacoronte
Grupo Chaucha	CV9	‘Blanca Negra’	Tenerife. Tacoronte
Grupo Chaucha	702230	‘Huayro’	Peru. Ayacucho
Grupo Chaucha	704710	Unknown	Peru. Huanuco
Grupo Chilotanum	CV18	‘Melonera’	Tenerife. Buenavista
Grupo Chilotanum	CV20	‘Peluca Negra’	Tenerife. Buenavista
Grupo Chilotanum	CV25	‘Peluca Rosada’	Tenerife. La Matanza
Grupo Chilotanum	CV36	‘Palmera Lagarteadá’	Tenerife. Anaga
Grupo Chilotanum	CV37	‘Brasileña or Grasiñeña’	Tenerife. Anaga
Grupo Chilotanum	CV58	‘Peluca Colorada’	Tenerife. Fasnía
Grupo Chilotanum	703606	‘Papa Chonca’	Chile. Chiloé, Chonos Archipiélago
Grupo Chilotanum	703610	‘Papa Cacho’	Chile. Chiloé, Chonos Archipiélago
Grupo Chilotanum	703611	‘Papa Colorada’	Chile. Chiloé, Chonos Archipiélago
Grupo Chilotanum	705040	Unknown	Chile. Chiloé, Chonos Archipiélago
Grupo Chilotanum	705045	‘Estrella’	Chile. Chiloé, Chonos Archipiélago
Grupo Phureja	705154	Unknown	Colombia. Dept. Nariño
Grupo Phureja	705825	Unknown	Colômbia. Mercaderes
Grupo Stenotomum	703783	Unknown	Peru. Puno
Grupo Stenotomum	705987	‘Perla Limeña’	Peru. Cajamarca
Grupo Stenotomum	706025	‘Puca Runtush or Cibra’	Peru. Carrion, Chinchi
Grupo Stenotomum	706668	‘Yana Huayro’	Peru. Canchaplaca
Espécies silvestres outgroups			
<i>S. bukasovii</i>	761220		Peru. Huarochiri
<i>S. bukasovii</i>	761223		Peru. Huarochiri
<i>S. chilliasense</i>	761590		Ecuador. Cordillera Chillia

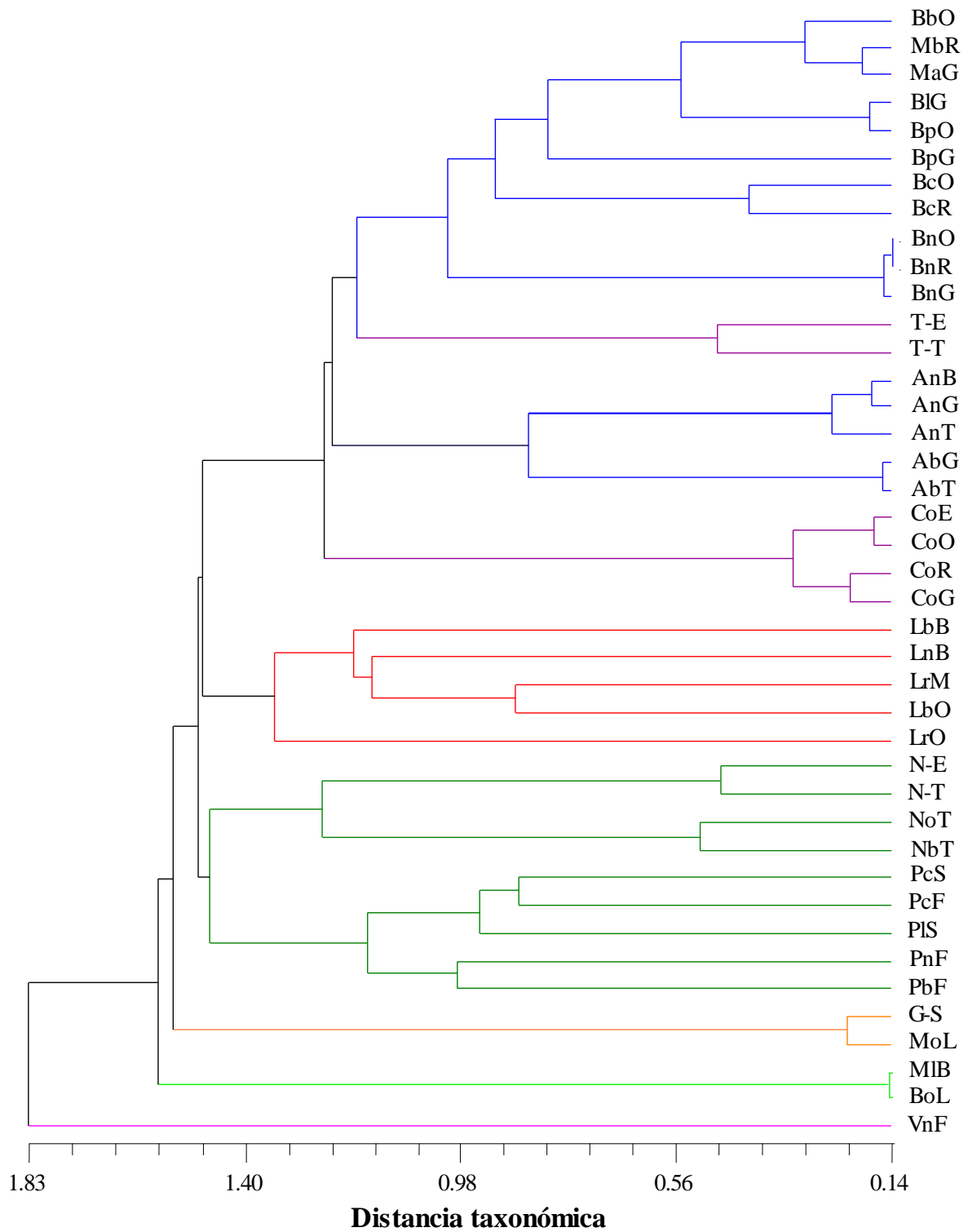


Figura 1 - Dendrograma obtenido utilizando caracteres cuantitativos (Ríos, 2002).

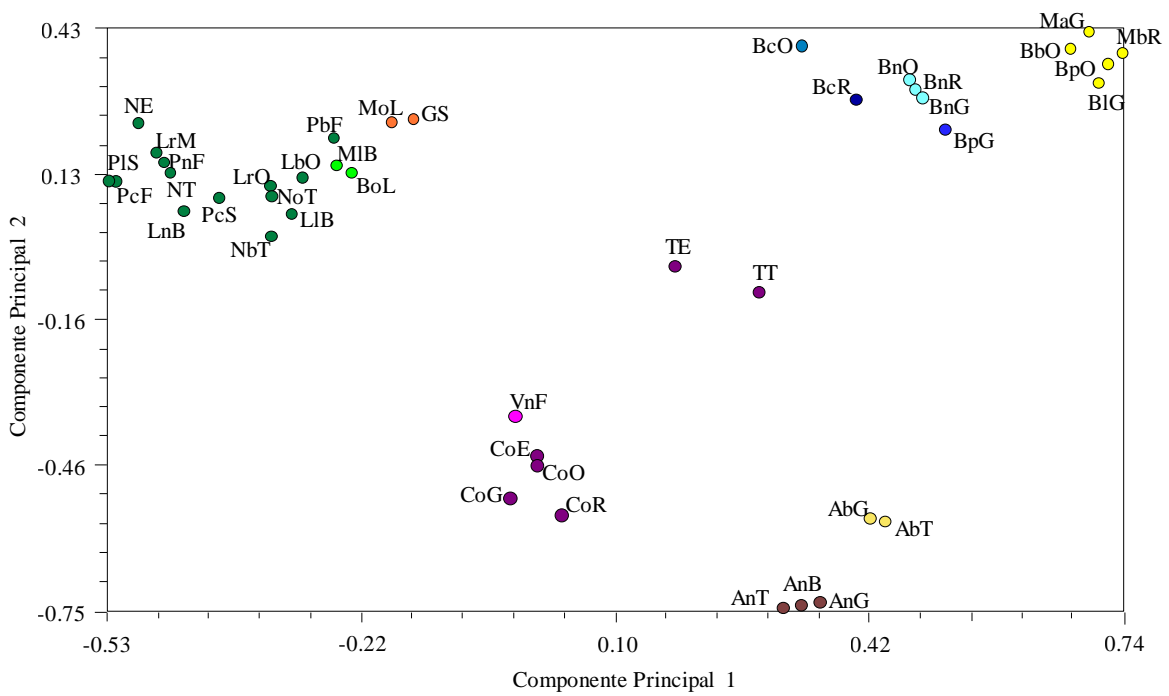


Figura 2 - Análisis de componentes principales realizado por Ríos (2002).

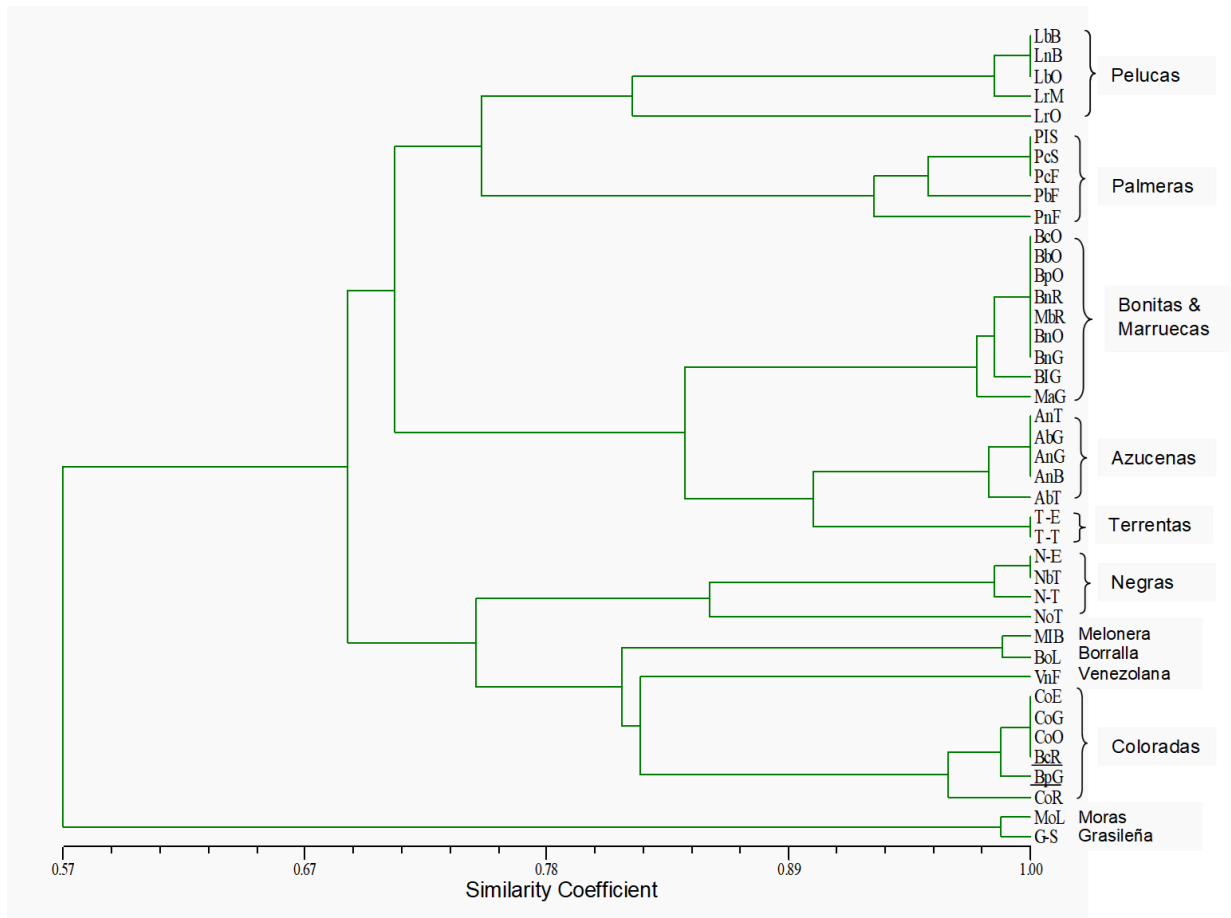


Figura 3 - Dendrograma obtenido por Barandalla *et al.* (2006).

Estudio de la liberación y actividad antifúngica del alil-isotiocianato procedente de semilla de mostaza negra (*Brassica nigra*)

Patricia Calvo, M^a José Rodríguez, Javier Rocha-Pimienta & Francisco M. Sánchez

Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Área de Vegetales. Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, Spain
patricia.calvo@juntaex.es

Resumen

El envasado juega un papel muy importante en la protección, distribución y comercialización de los productos alimenticios. La tecnología de envasado que se centra en efectos antimicrobianos es una de las más prometedoras en el ámbito de envases activos. Entre las diferentes sustancias que se pueden incorporar a un sistema de envasado para conferirle actividad antimicrobiana encontramos las semillas de mostaza, cuyo componente volátil activo es el alil-isotiocianato (AITC) producido como resultado de la hidrólisis enzimática de las especies glucosinolatos que existen en dichas semillas. Esta hidrólisis tiene lugar con mayor o menor extensión en función de la humedad y la temperatura en el envase, por lo que el control de estas condiciones en el almacenamiento permitirá modular la liberación y concentración del AITC dentro del mismo.

Debido a que durante el periodo de conservación de las frutas se producen pérdidas por alteraciones fúngicas, en este trabajo se ha realizado un estudio de la cinética de liberación, así como de la actividad antifúngica *in vitro* del AITC a temperatura ambiente (20-22 °C) y con una humedad relativa del 95-100%. Para ello, se colocó una determinada cantidad de semilla de mostaza en un recipiente cerrado herméticamente y provisto de un septum para la toma de muestras, registrándose la curva de liberación del AITC mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME). Para evaluar la actividad antifúngica, dentro del recipiente se colocaron placas de rosa de bengala cloranfenicol (RBC) en las que se sembraron concentraciones conocidas de *Penicillium expansum* y *Geotrichum candidum*. De forma paralela, se realizó un tratamiento control sin la presencia de semilla de mostaza en el recipiente.

Los resultados mostraron que en las placas control se producía un crecimiento de ambos microorganismos a los 2 días de incubación mientras que en las placas contenidas en los recipientes con semilla de mostaza dicho crecimiento se producía a los 7 días, lo que coincide con una estabilización en la disminución de la concentración del AITC en la atmósfera del mismo.

Palavras-chave: conservación, envasado, frutas, *in vitro*, mohos

Abstract

Study of the release and antifungal activity of allyl isothiocyanate from black mustard seed (*Brassica nigra*)

Packaging plays a very important role in food products protection, distribution and marketing. The packaging technology that focuses on antimicrobial effects is one of the most promising in the field of active packaging. Among the different substances that can be incorporated into a packaging system to confer antimicrobial activity are mustard seeds. Allyl-isothiocyanate (AITC) is an active volatile component that is produced as a result of the enzymatic hydrolysis of the glucosinolate species that exist in these seeds.

This hydrolysis takes place to a greater or lesser extent depending on the humidity and the temperature in the package, so the control of these conditions in the storage will allow to modulate the liberation and concentration of the AITC inside.

In this work, a study of the release kinetics as well as the *in vitro* antifungal activity of the AITC at room temperature (20-22 ° C) and with a relative humidity of 95-100% has been carried out. To do this, a certain amount of mustard seed was placed in a hermetically sealed container and provided with a septum for sampling. The AITC release curve was recorded by solid phase microextraction gas chromatography (SPME). To evaluate antifungal activity, Rose Bengal Chloramphenicol Agar plates with known concentrations of *Penicillium expansum* and *Geotrichum candidum* were placed in the vessel. In parallel, a control treatment was performed without the presence of mustard seed in the container.

The results showed that in the control plates the growth of both microorganisms occurred during the 2 days of incubation whereas in the plates contained in the vessel with mustard seed this growth occurred at 7 days, which coincides with a stabilization in the decrease of the AITC concentration in the atmosphere.

Keywords: preservation, packaging, fruits, *in vitro*, molds

Introducción

La demanda de nuevos envases que permitan alargar la vida útil y mejorar la seguridad del producto está aumentando, debido al desarrollo de la comercialización global y las preferencias de los consumidores frente a productos mínimamente procesados. Así, las empresas invierten cada vez más en envases innovadores (Ozdemir and Floros, 2004), entre ellos el envasado activo, una de las técnicas más novedosas en el envasado de alimentos. Los envases activos están diseñados para incorporar intencionadamente componentes que liberarán sustancias en el alimento envasado o en su entorno, o bien absorberán sustancias del alimento o de su entorno. Los envases con efectos antimicrobianos son una de las más prometedoras sub-categorías de envases activos. El envase con actividad antimicrobiana es un sistema capaz de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos, extendiendo así la vida útil del alimento que contiene (Han, 2000). La eficacia de estos sistemas se logra generalmente incorporando sustancias capaces de alterar el espacio de cabeza del envase confiriéndole actividad antimicrobiana. Diversos estudios muestran el efecto antimicrobiano de extractos de plantas obtenidos a partir de especias, hierbas, frutas, y hortalizas (Gyawalii et al., 2015), presentando un gran interés las sustancias volátiles debido a su capacidad de difundir a la atmósfera del interior del envase (Kapetanakou and Skandamis, 2016) y al amplio espectro de propiedades antimicrobianas que presentan.

Tradicionalmente, las semillas de mostaza se utilizan como un condimento en la industria alimentaria, pero, recientemente, hay un interés creciente en su utilización como agente para aumentar la vida útil de los alimentos. El sinigrín es uno de los principales glucosinolatos presentes en las semillas de mostaza. Este compuesto en sí mismo tiene poca eficacia antibacteriana, pero tras la lesión de los tejidos vegetales, se somete a una reacción de hidrólisis por la enzima mirosinasa dando lugar a una serie de compuestos secundarios entre los que se encuentra el AITC.

El objetivo del presente trabajo es estudiar la cinética de liberación de AITC procedente de semilla de mostaza y su efecto sobre alguno de los principales microorganismos patógenos poscosecha en fruta.

Material y Métodos

La actividad de la enzima mirosinasa, se ve afectada por varios factores tales como temperatura, humedad, tamaño de partícula de las fracciones de semilla y contenido en grasa de la misma. Debido a esto, las semillas fueron trituradas, desengrasadas mediante extracción con hexano en un aparato Soxhlet durante 4 horas y nuevamente trituradas en un molino de bolas a 350 rpm durante 30 min. Posteriormente se cribaron con tamices de distinto paso de luz para obtener fracciones con distinto tamaño de partícula.

Para la realización de este estudio se utilizó la fracción de tamaño de partícula comprendida entre 320-65 μm . Las curvas de cinética de liberación del AITC se registraron a temperatura ambiente (20-22 °C) depositando 50 mg de la fracción de semilla en un recipiente cerrado herméticamente y provisto de un septum para la toma de muestras. En dicho recipiente se fijó una humedad relativa del 95-100% mediante el uso de una disolución sobresaturada de sulfato potásico.

La liberación del AITC se analizó mediante cromatografía de gases con microextracción en fase sólida (SPME) (Morra et al. 2002), tomando muestras a distintos intervalos de tiempo. Se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 7890A) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna del tipo HP-1- methyl siloxane (30 m \times 0.25 mm inner diameter).

Para evaluar la actividad antifúngica, dentro del recipiente se colocaron placas de rosa de bengala cloranfenicol (RBC) en las que se sembraron concentraciones conocidas ($\approx 10^3$ UFC/mL⁻¹) de una suspensión de *P. expansum* y *G. candidum*. De forma paralela, se realizó un tratamiento control sin la presencia de semilla de mostaza en el recipiente (fig. 1).

Resultados y Discusión

En el estudio de la cinética de liberación del AITC procedente de la semilla de mostaza (fig. 2) se observó que es en las 24-48 primeras horas cuando se alcanza el máximo en la liberación, produciéndose a continuación un descenso de aproximadamente el 50% con respecto a la cantidad inicial liberada y manteniéndose constante durante los nueve días que duró el ensayo. Este descenso del AITC en el espacio de cabeza de envases de alimentos, puede ser explicado por la interacción del mismo con los constituyentes del alimento o a su adsorción a las paredes del envase (Pieres et al. 2009; Otoni et al, 2014; Kapetanakoun & Skandemis, 2016).

En el estudio de la actividad antifúngica, en las placas contenidas en los recipientes control, a las 48 horas empieza a observarse crecimiento tanto de *P. expansum* como de *G. candidum*, presentando un micelio en el caso de *P. expansum* y colonias de *G. candidum* a las 72 horas (fig. 3). Sin embargo, en aquellas que están almacenadas con semilla de mostaza, el crecimiento de microorganismos no se observó hasta los 7 días, momento que coincide con una estabilización en el descenso de los niveles de AITC en el interior del recipiente (fig. 2). Nielsen y Rios (2000) estudiaron el efecto de los componentes volátiles de distintas especias frente a *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus flavus*, y *Endomyces fibuligera*. En este estudio se demostró que el aceite esencial de mostaza, cuyo componente principal es el alil-isotiocianato, (AITC), tuvo el mayor efecto en la inhibición de todos los hongos ensayados. Similares resultados, han sido obtenidos por otros autores, que han demostrado que AITC inhibe eficazmente una gran variedad de microorganismos patógenos y alterantes (Nazareth, et al., 2016; Quiles et al., 2015).

Conclusiones

En este estudio se observa que el AITC procedente de semilla de mostaza, a temperatura ambiente (22-25 °C) y 95-100 % de humedad relativa, inhibe el crecimiento de *P. expansum* y *G. candidum* en placas de RBC, a concentraciones altas respecto a envases que no contienen semilla de mostaza mantenidos en las mismas condiciones de temperatura y humedad. Cuando las concentraciones de AITC descienden, se produce el desarrollo de ambos mohos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Extremadura y los Fondos Feder (Proyecto GR10006).

Referencias

- Gyawali, R., Hayek, S.A. & Ibrahim S.A. 2015. Plant extracts as antimicrobials in food products: Mechanisms of action, extraction methods, and applications. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality, 49-68.
- Han, J.H. 2000. Antimicrobial food packaging. Food Technology-Chicago, 54(3), 56-65.
- Isshiki, K., Tokuoka, K., Mori, R. & Chiba, S. 1992. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 56(9):1476-1477.
- Kapetanakou, A.E. & Skandamis, P.N. 2016 Applications of active packaging for increasing microbial stability in foods: natural volatile antimicrobial compounds. Current Opinion in Food Science, 12, 1-12.
- Nadajarah, D., Han, J.H. & Holley, R.A. 2005. Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. International Journal of Food Microbiology, 99, 269-279.
- Nazareth, T.M., Bordin, K., Manyes, L., Meca, G., Mañes, J. & Luciano, F.B. 2016. Gaseous allyl isothiocyanate to inhibit the production of aflatoxins, beauvericin and enniatins by Aspergillus parasiticus and Fusarium poae in wheat flour. Food Control, 62, 317-321.
- Nielsen, P.V. & Rios R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. International Journal of Food Microbiology, 60 219-229.
- Otoni, C.G., Soares, N.F.F., Silva, W.A., Medeiros, E.A.A. & Baffa Junior, J.C. 2014 Use of allyl isothiocyanate-containing sachets to reduce Aspergillus flavus sporulation in peanuts. Packaging Technology and Science, 27, 549-558.
- Ozdemir, M. & Floros J.D. 2004. Active Food Packaging Technologies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44(3), 185-193.
- Quiles, J.M., Manyes, L., Luciano, F., Mañes, J. & Meca, G. 2015. Influence of the antimicrobial compound allyl isothiocyanate against the Aspergillus parasiticus growth and its aflatoxins production in pizza crust. Food and Chemical Toxicology, 83, 222-228.
- Siahaan, E.A., Pendleton, P., Wooc, H.C. & Chun, B.S. 2014. Brown seaweed (Saccharina japonica) as an edible natural delivery matrix for allyl isothiocyanate inhibiting food-borne bacteria. Food Chemistry, 152, 11-17.
- Suhr, K.I. & Nielsen, P.V. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal Applied Microbiology, 94, 665-674.

- Pires, A.C.S., Soares, N.F.F., Andrade, N.J., Silva, L.H.M., Camilloto, G.P. & Bernardes, P.C. 2009. Increased preservation of sliced mozzarella cheese by antimicrobial sachet incorporated with allyl isothiocyanate. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 1002-1008.
- Otoni, C.G., Soares, N.F.F., Silva, W.A., Medeiros, E.A.A., Baffa Junior, J.C. 2014. Use of allyl isothiocyanate-containing sachets to reduce *Aspergillus flavus* sporulation in peanuts. *Packaging Technology & Science*, 27, 549-558.
- Kapetanakou, A.E. & Skandamis, P.N. 2016 Applications of active packaging for increasing microbial stability in foods: natural volatile antimicrobial compounds. *Current Opinion in Food Science*, 12, 1-12.

Tabelas e Figuras

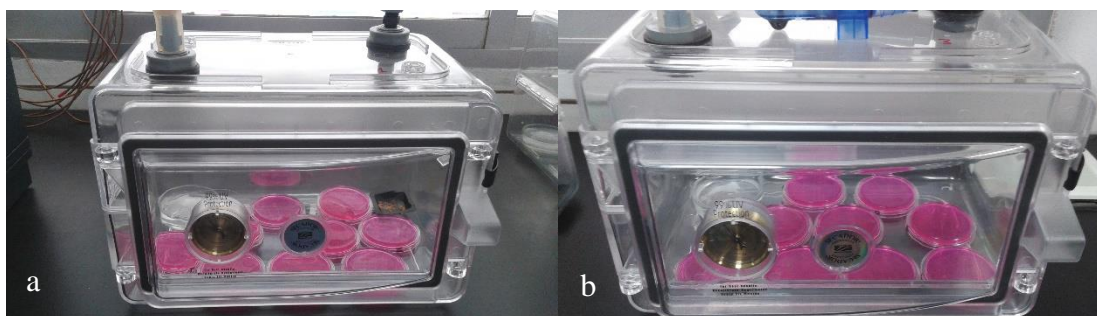


Figura 1- Estudio de la actividad antifúngica. (a) Recipiente con semilla de mostaza, (b) Recipiente control.

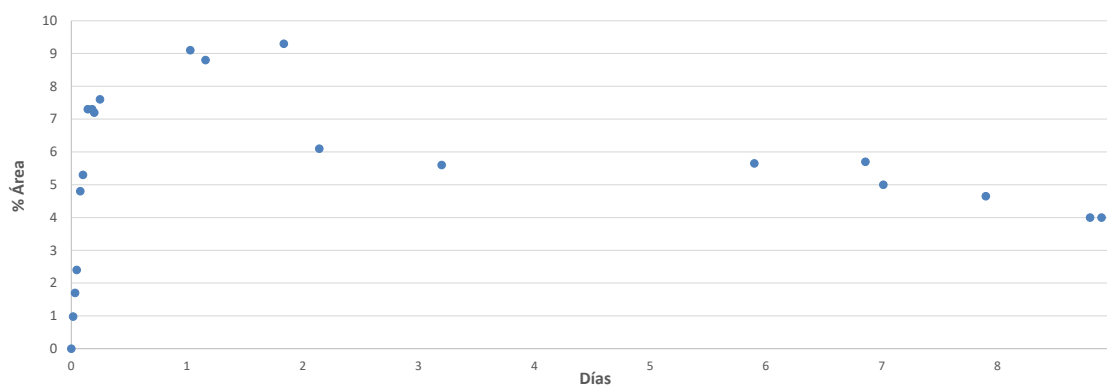


Figura 2- Evolución del AITC en el interior del recipiente a lo largo del tiempo, a 20-22 °C y 95-100% de humedad relativa.

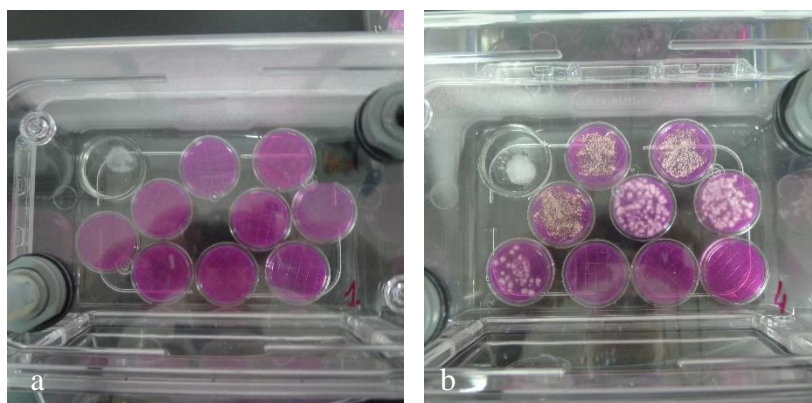


Figura 3- Estudio de la actividad antifúngica a las 72 h. (a) Recipiente con semilla de mostaza, (b) Recipiente control.

Valorisation of almond by-products as a substrate in the basil cultivation

Iva Prgomet^{1,*}, Azucena Ribera Gomez², Berta Gonçalves¹, Ana Barros¹, Núria Pascual-Seva²

¹ Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal; *ivap@utad.pt; bertag@utad.pt; abarros@utad.pt

² Department of Plant Production, Universitat Politècnica de Valencia, Spain; azrigo77@gmail.com; nupasse@prv.upv.es

Abstract

Almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) has, nowadays, high economic expectations, given the importance Mediterranean diet is achieving and its diffusion in new markets, such as China, India and other Asian countries. The change of the traditional rainfed crop to the irrigated fields has favoured the increase of the almond production, which, in turn, produces an increase of its by-products. Basil (*Ocimum basilicum* L.) is an aromatic plant that is used for its leaves, both fresh and dried, and for its flowers, to extract the essential oil as it has stimulating, and digestive properties, among many others.

The aim of this study was to analyse the potential agronomic use of the almond by-products (hulls and shells) as substrate for basil cultivation in pots. Different percentages (80%, 50% and 20%) of shells and hulls + shells were compared with similar percentages of perlite, all of them in combination with peat. Basil plants were cultivated in 1L pots, with controlled conditions in a greenhouse and fertirrigated. Every week, plant length, number of leaves and SPAD index were determined, while fresh and dry weights of root, stem and leaves, and foliar area were determined fortnightly.

Basil plants grown in the substrate with 50% of shells mixed with peat has reached similar values as the control ones. This substrate combination can be an interesting option to give an added value to the almond by-product, shell. The least appropriate substrate was the mixture with 80% of shells and hulls.

Plants grown in the substrate combinations containing hulls showed lower values compared to the control, making this almond by-product not suitable as substrate in the assayed conditions. On the other side, results suggested almond shells (in combination with peat) as acceptable growing media for basil.

Keywords: Agro-waste, Substrate, *Prunus dulcis*, *Ocimum basilicum*

Introduction

Almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) consumption and production has increased considerably in the last 10 years. World almond production in season 2015/2016 has achieved 93 percent up compared with the season 2005/2006 (INC 2016). This trend of increased production at the same time leads to bigger production and accumulation of almond by-products, such as hulls and shells. Hulls are the major almond by-product, being mostly used in cattle feed, while almond shells are utilized in particleboard manufacturing, production of activated carbon and nanopaper (Pirayesh and Khazaeian, 2012; Toles et al., 2000; Hayashi et al., 2002; Urruzola et al., 2014), among some others. However, while all these processes need some additional preparation and/or treatments, use of these by-products as substrate for vegetal production in pots might be an interesting option for farmers and producers, both for residues' utilization and as a

good ecologically-friendly alternative to widely used materials as substrates. With the global population growth, the intense agricultural production, and climate change threatening nature's biodiversity and freshwater supplies, the general idea of sustainable living should be: reuse, reduce and recycle.

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is an aromatic plant whose dried or fresh leaves are widely used in Mediterranean cuisine. This plant is a source of essential oils that can be extracted from leaves and flowers and used in fragrances, in pharmacy and food industry (Simon et al, 1999). Basil can be produced in the open field, where the production is limited just to few summer months, as well as in protected areas (greenhouses), where the production is being possible during the entire year. It also can be produced in a soilless (aquaponic and hydroponic) systems (Saha et al., 2016), or different substrates (Jelacic et al., 2005). However, up to now there are no studies related to the possible use of almond by-products for the pot production of basil plants under greenhouse conditions.

Materials and methods

Basil variety "Foglia di Lattuga" was grown in different mixtures of substrates, in following volume proportions:

- S-20% - shells and peat (20%: 80%)
- S-50% - shells and peat (50%: 50%)
- S-80% - shells and peat (80%: 20%)
- S+H-20% - shells, hulls and peat (10%: 10%: 80%)
- S+H-50% - shells, hulls and peat (25%: 25%: 50%)
- S+H-80% - shells, hulls and peat (40%: 40%: 20%)
- P-20% - perlite and peat (20%: 80%)
- P-50% - perlite and peat (50%: 50%)
- P-80% - perlite and peat (80%: 20%)

Different percentages of shells and shells + hulls were compared with similar percentages of perlite, all of them in combination with peat, as well as with the control one (100% peat).

The seedling was made on 8th November 2016, using expanded polystyrene trays and plants were transplanted on 13th December 2016 to 1L pots. Plants were grown with fertirrigation and controlled conditions in a greenhouse of Universitat Politècnica de Valencia (UPV). Every week (during 12 weeks, starting with 14th December 2016), plant length, number of leaves and relative chlorophyll content (using the SPAD apparatus) were determined, while fresh weight of root, stem and leaves were determined fortnightly.

All data obtained were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., 2010, USA). Significant different means were separated using LSD test at $P < 0.05$.

Results and discussion

Basil plants grown in the substrate with 20% and 50% of shells mixed with peat had reached similar values at several measurements as the control ones. These substrate combinations can be an interesting option to give an added value to the almond by-product, shell. Values of plant height (cm) and number of leaves of basil plant at harvest grown in the substrate with 50% of shells, together with control plants, had been significantly ($p \leq 0.05$) higher compared to the plants grown in all the other substrate mixtures.

Even if all the mixtures containing 80% of almond by-products or perlite have showed the lowest values, the least appropriate substrate was the mixture with 80% of shells and hulls.

Conclusions

Plants grown in the substrate combinations containing hulls showed lower values compared to the control, making this almond by-product not suitable as substrate in the assayed conditions. On the other side, results suggested almond shells (in combination with peat) as acceptable growing media for basil.

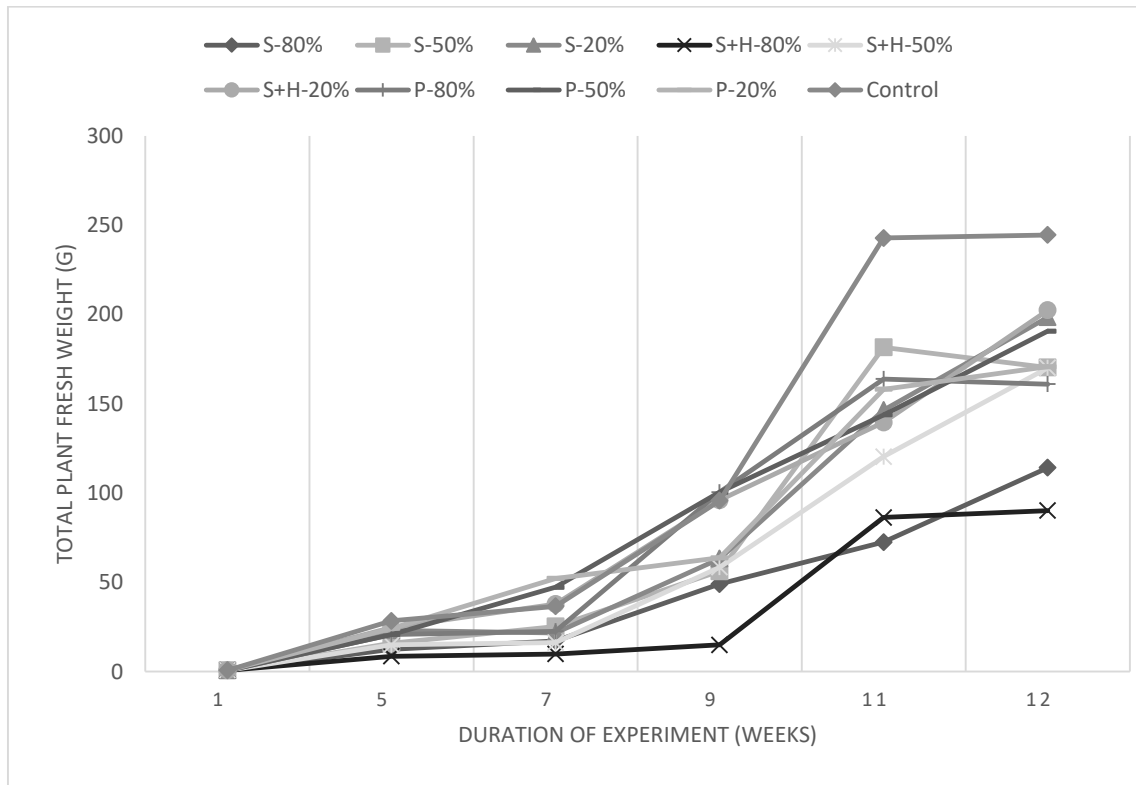
Acknowledgments

Authors acknowledge the financial support provided by the FCT-Portuguese Foundation for the Science and Technology (SFRH/BD/52539/2014) under the Doctoral Programme “Agricultural Production Chains – from fork to farm” (PD/00122/2012) and to the project INTERACT “Integrative Research in Environment, Agro-Chains and Technology”, NORTE-01-0145-FEDER-000017, in the line of research ISAC, co-financed by ERDF (European Regional Development Fund) through North Regional Operational Program 2014/2020 (Norte 2020).

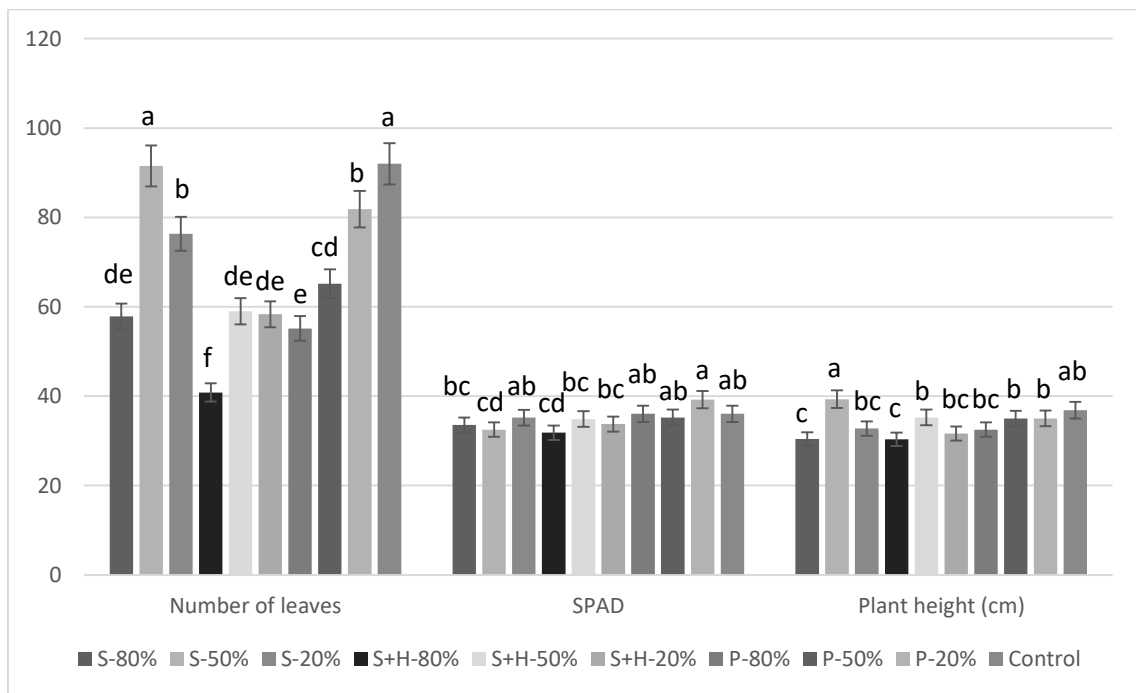
References

- Hayashi, J. I., Horikawa, T., Takeda, I., Muroyama, K., & Ani, F. N. 2002. Preparing activated carbon from various nutshells by chemical activation with K_2CO_3 . Carbon, 40(13), 2381-2386
- INC. 2016. World tree nut production. Reus, Spain: International Nut and Dried Fruit Council Foundation.
- Jelačić, S., Lakić, N. S., Beatović, D., & Vujošević, A. 2005. Effects of different substrates on basil seedlings quality (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agricultural Sciences, Belgrade, 50(2), 107-115.
- Pirayesh, H. & Khazaeian, A. 2012. Using almond (*Prunus amygdalus* L.) shell as a bio-waste resource in wood based composite. Composites Part B-Engineering 43(3): 1475-1479.
- Saha, S., Monroe, A., & Day, M. R. (2016). Growth, yield, plant quality and nutrition of basil (*Ocimum basilicum* L.) under soilless agricultural systems. Annals of Agricultural Sciences, 61(2), 181-186.
- Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B., Vieira R.F., & Hao, Z. 1999. Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb, Perspectives on new crops and new uses. J. Janick (ed.), ASHS Press, Alexandria, VA.
- Toles, C. A., Marshall, W. E., Johns, M. M., Wartelle, L. H., & McAloon, A. 2000. Acid-activated carbons from almond shells: physical, chemical and adsorptive properties and estimated cost of production. Bioresource Technology, 71(1), 87-92.
- Urruzola, I., Robles, E., Serrano, L., and Labidi, J. 2014. Nanopaper from almond (*Prunus dulcis*) shell. Cellulose, 21(3), 1619-1629.

Tables and Figures



Graph 1 – Total fresh weight evolution of basil plant during experiment (1-12 weeks).



Graph 2 – Basil plant mean values regarding number of leaves, SPAD and plant height (cm) at harvest.

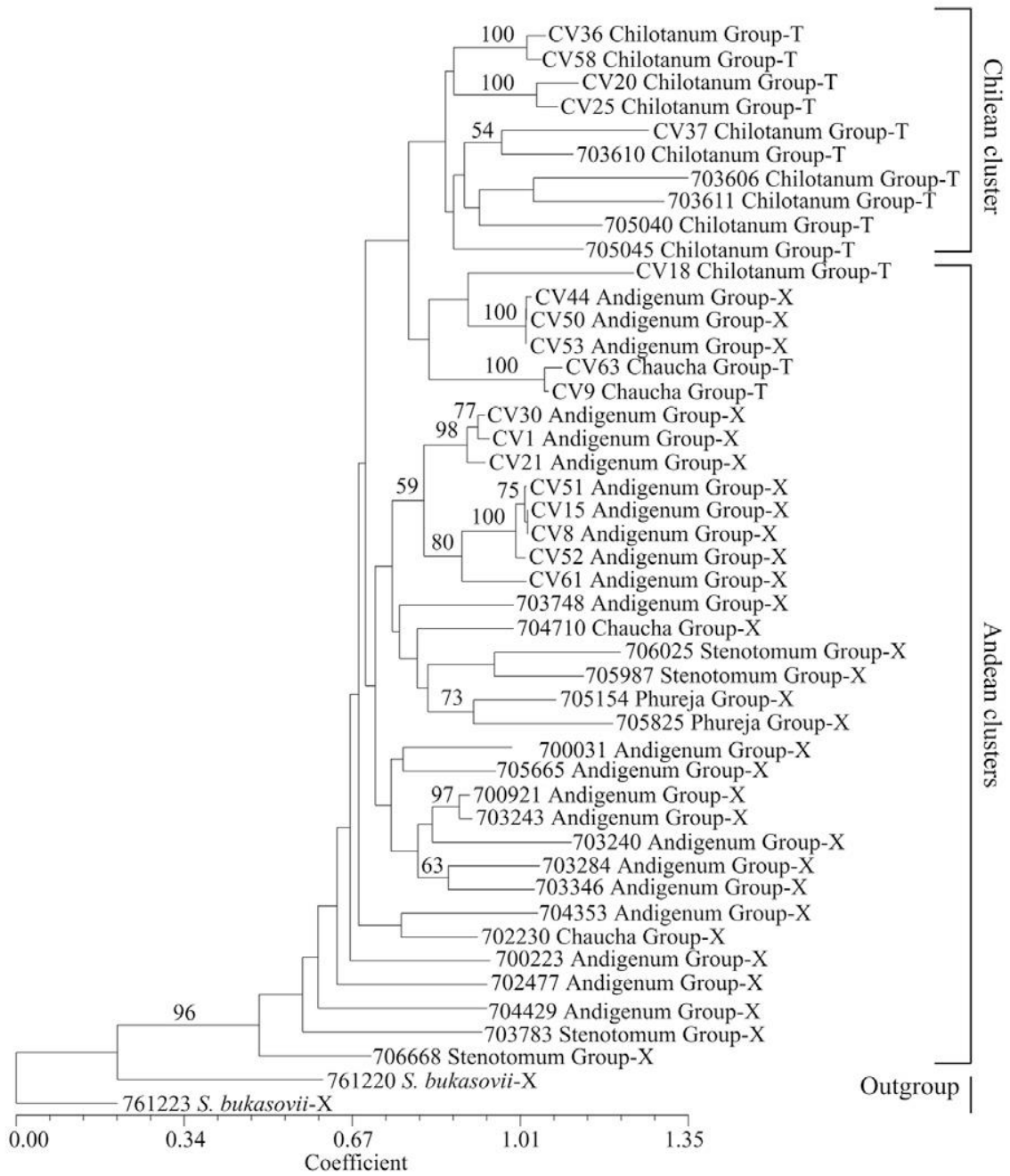


Figura 1 - Árbol obtenido por Rios *et al.* (2007)

Sessão Temática: Culturas protegidas e engenharia
hortícola

Un sistema de bajo coste para optimizar el drenaje en cultivos hidropónicos

Iván Nicolás¹, José M. De la Rosa¹, Juan A. López², Pencho Soto², Roque Torres², Alejandro Pérez² & Rafael Domingo²

¹Widhoc Smart Solutions S.L., CEDIT – Parque Tecnológico de Fuente Álamo, Ctra. del Estrecho-Lobosillo, km. 2 30320 – Fuente Álamo (Murcia), {jmdelarosa, ivan}@widhoc.com

²Univesidad Politécnica de Cartagena, Pza. del Cronista Isidoro Valverde, Edif. La Milagrosa, CP. 30202 Cartagena, {jantonio.lopez; pencho.soto, roque.torres, alex.perez, rafael.domingo}@upct.es

Resumen

Este trabajo describe el diseño de un sistema de instrumentación y gestión remota que permite monitorizar el drenaje en cultivo hidropónico, la humedad volumétrica, conductividad eléctrica y temperatura del sustrato. A partir de dicha información se gestionan los ciclos y tiempos de riego para conseguir un drenaje óptimo y un contenido hídrico y salino en el sustrato adecuado para el desarrollo del cultivo.

Dicho sistema consiste en un nodo inalámbrico de instrumentación vía WiFi/GPRS y en una plataforma de Cloud Computing desplegada sobre Google Cloud. El nodo, diseñado y desarrollado íntegramente en Widhoc Smart Solutions, es compatible con la mayoría de sensores comerciales existentes. En este caso se utilizan sensores de humedad volumétrica, temperatura y conductividad (GS3 Decagon Devices) y unos dispositivos diseñados para medir el riego aplicado y el drenaje obtenido. El nodo es autónomo, desde el punto de vista energético. Los datos obtenidos son enviados vía GPRS o WiFi a un servidor desde donde se puede gestionar el riego. Además, estos datos son registrados en una tarjeta microSD interna como soporte de seguridad.

El sistema descrito en este trabajo está siendo usado con éxito en cultivos hidropónicos de tomate sobre fibra de coco, se ha conseguido maximizar el rendimiento y calidad de la cosecha al mismo tiempo que se incrementa la eficiencia en el uso de agua y fertilizantes.

Palabras-clave: cultivos sin sustrato, fibra de coco, nodo GPRS, manejo del riego, pluviómetros.

Abstract

This work describes an instrumentation and remote management system that enables the monitoring of drainage in hydroponic culture, volumetric humidity, electrical conductivity and substrate temperature. From this information, irrigation cycles and times are managed to achieve optimum drainage and a saline and water content in the substrate suitable for the development of the crop.

This system consists of a wireless instrumentation node via WiFi/GPRS and a cloud computing platform deployed on Google Cloud Platform. The node, designed and developed entirely in Widhoc Smart Solutions, is compatible with most existing commercial sensors, in this case the used sensors are volumetric humidity, temperature and conductivity sensors (GS3 of Decagon Devices) and devices designed to measure applied irrigation and the obtained drainage. The node is autonomous from the energetic point of view. The data obtained are sent via GPRS or WiFi to a server from which the

irrigation can be managed. In addition, these data are recorded on an internal microSD card as a backup medium.

The system described in this work is being successfully used in hydroponic tomato cultivations on coconut fiber and it has been possible to maximize the yield and quality of the crop while increasing the efficiency in the use of water and fertilizers.

Keywords: Crops without substrate, coconut fiber, GPRS node, irrigation management, rain gauges.

Introducción

La agricultura ha experimentado en los últimos años una gran revolución gracias a las continuas innovaciones y a la, cada vez mayor, tecnificación de los cultivos. El resultado ha sido un aumento en el rendimiento de los cultivos, en la seguridad alimentaria y en la comodidad en el trabajo de los agricultores.

Por otra parte, los agricultores han identificado nuevas dificultades como el incremento de la competencia, lo limitados que resultan algunos recursos (agua, suelo y clima) y la creciente exigencia de los mercados y la sociedad en temas de calidad, seguridad alimentaria y disminución del impacto ambiental en la agricultura.

Ante este nuevo panorama sólo queda incrementar, aún más, la tecnificación de los cultivos a fin de optimizar los recursos, maximizar las producciones, incrementar la calidad y disminuir el impacto ambiental de las tareas agrícolas.

El cultivo hidropónico es un claro ejemplo del desarrollo de la agricultura. Esta técnica se caracteriza por desarrollarse en sustrato, prescindiendo de suelo y presenta diferentes ventajas respecto al cultivo en suelo (incremento de la producción, precocidad, disminución de costes relacionados con el agua y fertilizantes, etc.). Sin embargo, el cultivo hidropónico presenta un claro inconveniente que es la gran importancia que tiene la precisión en el riego y la fertirrigación, ya que pequeñas desviaciones pueden generar daños irreversibles en el cultivo. En este proceso el manejo del riego es más importante que el manejo de la nutrición. Para fertilizar bien hay que regar bien (García y Moreno, 2010).

En los cultivos sin suelo el riego tiene que satisfacer las necesidades hídricas del cultivo, pero además tiene que permitir un correcto drenaje que evite la acumulación de sales en el sustrato y que optimice los recursos de agua, fertilizantes y energía. Los agricultores, conocedores de la importancia que tiene manejar correctamente el drenaje en su cultivo, dedican mucho tiempo a la medida manual del drenaje en diferentes momentos del día.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la idoneidad de la utilización de un sistema de bajo coste que permite monitorizar el drenaje, la humedad y la temperatura del sustrato en cultivo hidropónico de tomate.

Materiales y Métodos

El trabajo se está realizando en un cultivo hidropónico de tomate bajo malla de una empresa comercial de la Región de Murcia (España). El riego aplicado y el drenaje se miden en una tabla de fibra de coco de 28 litros de volumen hidratado. En cada tabla hay 6 plantas que se riegan con 6 emisores de $2 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ de caudal nominal. Debajo de la tabla se colocó una bandeja rectangular donde se recoge todo el drenaje. La bandeja tiene un sumidero en la parte más baja que evacua el agua a un cubo de drenaje.

El riego y el drenaje se monitoriza mediante 2 pluviómetros (ECRN – 100 Decagon Devices Inc). El primer pluviómetro recoge el riego de un gotero y el segundo pluviómetro el drenaje de la tabla. El nodo registra el agua medida cada 5 minutos y en

función de las necesidades del cliente se representan datos de diferentes escalas de tiempo múltiplos de 5 minutos.

Por otra parte, un sensor GS3 (Decagon devices Inc.) mide la humedad, conductividad eléctrica aparente y la temperatura en el interior del sustrato. En este caso los datos se registran y se representan cada 15 minutos.

El nodo sensor GPRS (fig. 1) está basado en un diseño modular, compuesto por dos placas electrónicas:

1) Una placa principal denominada MEWIN Main-Board, que contiene los componentes básicos más importantes que permiten su utilización en cualquier aplicación dentro del ámbito de las WSNs (Wireless Sensor Networks). Estos componentes son el micro-controlador y el módulo de radio, que dotan al dispositivo de capacidad de procesamiento y comunicación. Sin embargo, en la mayoría de instalaciones de Widhoc las comunicaciones están basadas en GPRS y dicho módulo de radio no es utilizado.

2) Una placa secundaria, MEWIN GPRS-Board. Esta placa ha sido diseñada específicamente para su uso con un módem GPRS, concretamente el módulo SIM 900. Además, permite la conexión de una gran variedad de sensores en el ámbito de la denominada Agricultura de Precisión. Se conecta a la Main-Board a través de conectores de expansión tal y como indica en la fig. 1.

Una de las principales características de los dispositivos, es que son totalmente configurables por medio de la tarjeta microSD, de forma que, cambiando un archivo de configuración en la misma, se pueden especificar varios parámetros: el periodo de muestreo y envío de los datos, el número y tipo de sensores conectados y los parámetros de la conexión, entre otros. Una vez configurado, el nodo realiza la lectura de los sensores y almacena en la microSD el dato con su correspondiente marca de tiempo, así como una “flag” que indica si el dato se ha enviado, o no, a la Nube. Posteriormente, el nodo envía todos los datos almacenados y no enviados hasta ese momento, de esta forma, se optimiza al máximo el uso de la batería, ya que el mayor consumo del dispositivo se da cuando se establece la comunicación a través del modem GPRS.

Los datos se envían a la Nube a través de una petición HTTPS (de modo que la información se transmite cifrada, manteniéndose la privacidad y la seguridad de la misma).

Las operaciones que se proporcionan a través del Endpoint de Google diseñado se pueden llamar desde un cliente escrito en diferentes lenguajes, para diferentes plataformas. En este caso, se ha desarrollado un cliente WEB (con HTML5 y Javascript), que facilita el acceso a todos los datos relevantes a aquellos usuarios que superan un proceso de autenticación. Los datos se muestran de forma gráfica, pueden exportarse a formato Excel, es posible configurar alarmas, obtener la posición geográfica de los nodos y realizar otras operaciones interesantes para el usuario final (fig. 2).

Resultados y Discusión

En la fig. 3.A se representa el riego aplicado y el drenaje recogido horariamente en una tabla de fibra de coco. Los riegos se inician a partir de las 8 de la mañana y finalizan en torno a las 7 de la tarde. El riego horario máximo, en torno a $4 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{tabla}^{-1}$, se alcanza al mediodía, coincidiendo con el momento de máxima demanda atmosférica. El drenaje también presenta valores máximos a mediodía, cercanos a $2 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{tabla}^{-1}$.

El porcentaje de drenaje horario (fig. 3.B) alcanza valores máximos horarios en torno al 50 %. El agricultor utiliza esta información para ir reajustando los ciclos de riego a fin de conseguir que el porcentaje de drenaje medido sea igual al deseado. El porcentaje óptimo de drenaje depende de diferentes variables (momento del día, fase fenológica, conductividad eléctrica de la solución nutritiva, demanda climática, etc.). Habitualmente

los agricultores fijan porcentajes de drenajes entre el 20 y 30 %, entre el 40 y 50 % y entre el 20 y 30 % por la mañana, al mediodía y por la tarde, respectivamente.

La diferencia entre riego y drenaje representada en la fig. 3.C hace referencia al consumo horario de agua por el cultivo más el incremento de humedad en el sustrato. Esta información es útil para comprender el comportamiento fisiológico del cultivo y de esta manera poder diseñar ciclos de riego más ajustados a los requerimientos de las tomatas.

Si bien los valores horarios de drenaje informan de lo que está pasando en cada momento del día, otras veces es necesario conocer la evolución del riego y el drenaje a escala de tiempo más grande. En la fig. 4.A se representa el riego y drenaje acumulado a lo largo del día. Se puede observar que el riego diario oscila entre 24 y 32 L·tabla⁻¹·día⁻¹ mientras que el drenaje oscila entre 7 y 15 L·tabla⁻¹·día⁻¹ lo que supone un porcentaje entre 30 y 45 %.

Si se desprecia el incremento de humedad en el sustrato entre dos días consecutivos se puede decir que la diferencia entre el riego y el drenaje aplicado diariamente es lo que la planta consume diariamente más la evaporación (evapotranspiración del cultivo, ETc). A partir de esta información y con datos climáticos se puede relacionar la evapotranspiración potencial del cultivo de referencia (ET₀) con la ETc y determinar de esta forma los coeficientes de cultivo (kc), útiles para la programación del riego.

Otras variables medidas hacen referencia a las condiciones del sustrato, siendo en este caso la humedad volumétrica y la temperatura del sustrato (fig. 5). La monitorización de la humedad volumétrica del sustrato es útil para establecer el periodo entre riegos en base a una fracción de agotamiento permisible de la humedad del sustrato. Conocer la temperatura del sustrato es fundamental para determinar la actividad radicular.

Conclusiones

La utilización de la herramienta que se ha descrito en este trabajo ha disminuido la mano de obra necesaria para que un operario mida el drenaje varias veces al día. También ha disminuido los costes derivados de agua, riego y fertilizantes, y ha mejorado los parámetros productivos y de calidad del cultivo.

Widhoc Smart Solutions trabaja diariamente para mejorar el servicio ofrecido a los agricultores. En la actualidad, el equipo descrito en este trabajo ha sido claramente mejorado con la adición de medidas de conductividad eléctrica y pH del drenaje y radiación solar.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a los proyectos cDrone (ref. TIN2013-45920-R), RIDEFRUT (ref. AGL2013-49047-C2-1-R) y ARIFRUT (AGL2016-77282-C3-3-R) su apoyo para realizar este trabajo. Agradecer también a Widhoc Smart Solutions S.L. por permitir utilizar sus instalaciones para realizar las pruebas. Este trabajo también es resultado de la actividad llevada a cabo dentro del “Programa de Investigación para Grupos de Excelencia Científica en la Región de Murcia” de la Fundación Séneca (Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia).

Referencias

García-Lozano, M. y Moreno Inista, T. 2010. Diez años de Mejora en la fertirrigación de los cultivos sin Suelo. Caja Rural de Granada

Tablas y Figuras

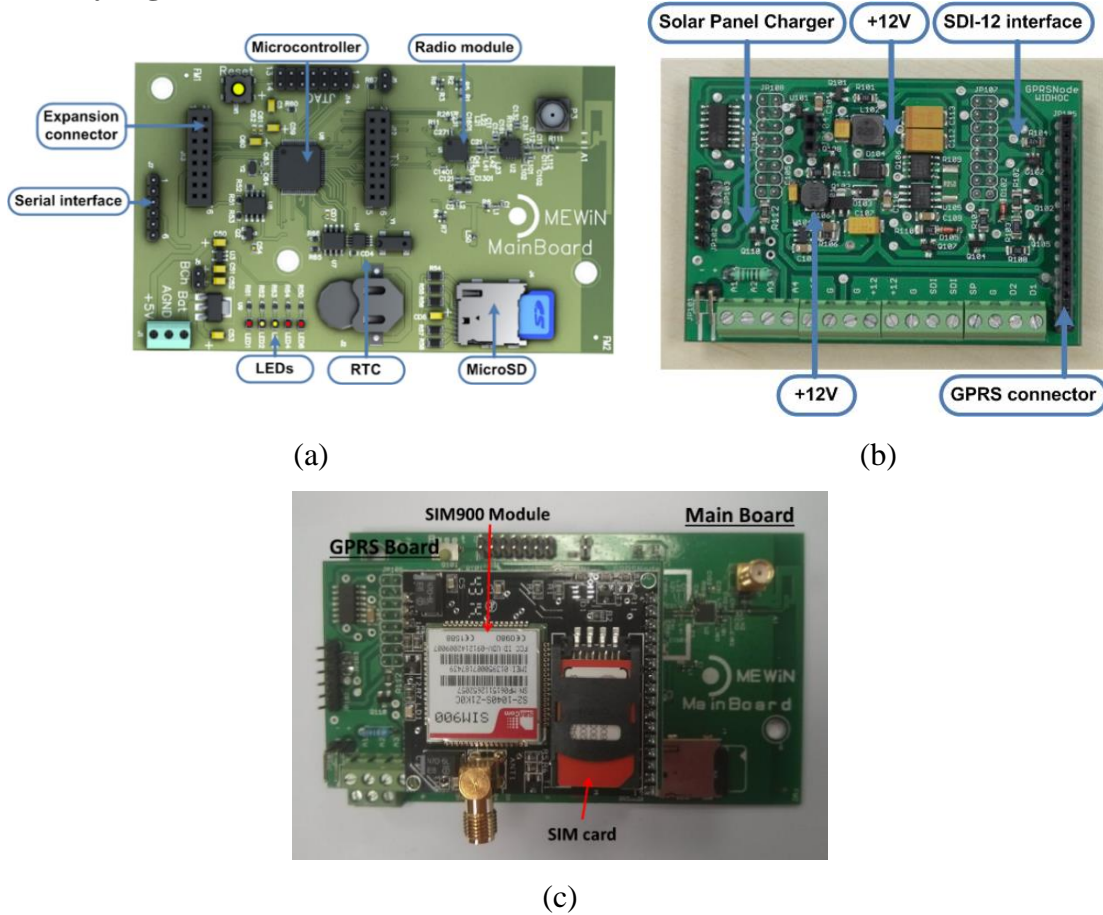


Figura 1 - PCBs del nodo sensor GPRS. (a) MEWIN Main-Board: placa base del dispositivo que incluye el micro-controlador MSP430F2618, el módulo de radio CC2520, el amplificador de radio CC2591, el RTC y la tarjeta microSD. (b) MEWIN GPRS-Board: PCB que se conecta sobre la anterior e incorpora conectores para los sensores agronómicos más habituales, así como pines de conexión para el módulo GPRS SIM900. (c) Vista del conjunto ensamblado con el módulo SIM900.

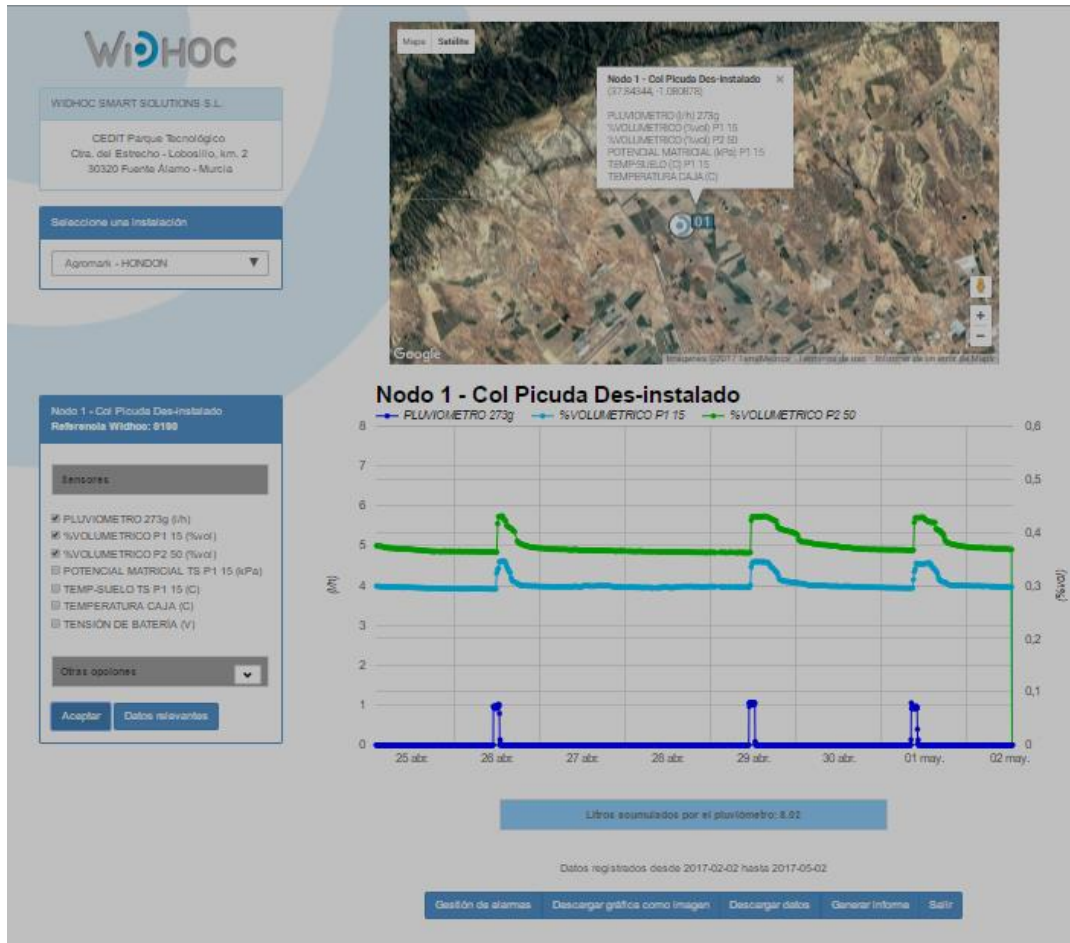


Figura 2 - Vista general de la Web que utilizan los usuarios del sistema descrito.

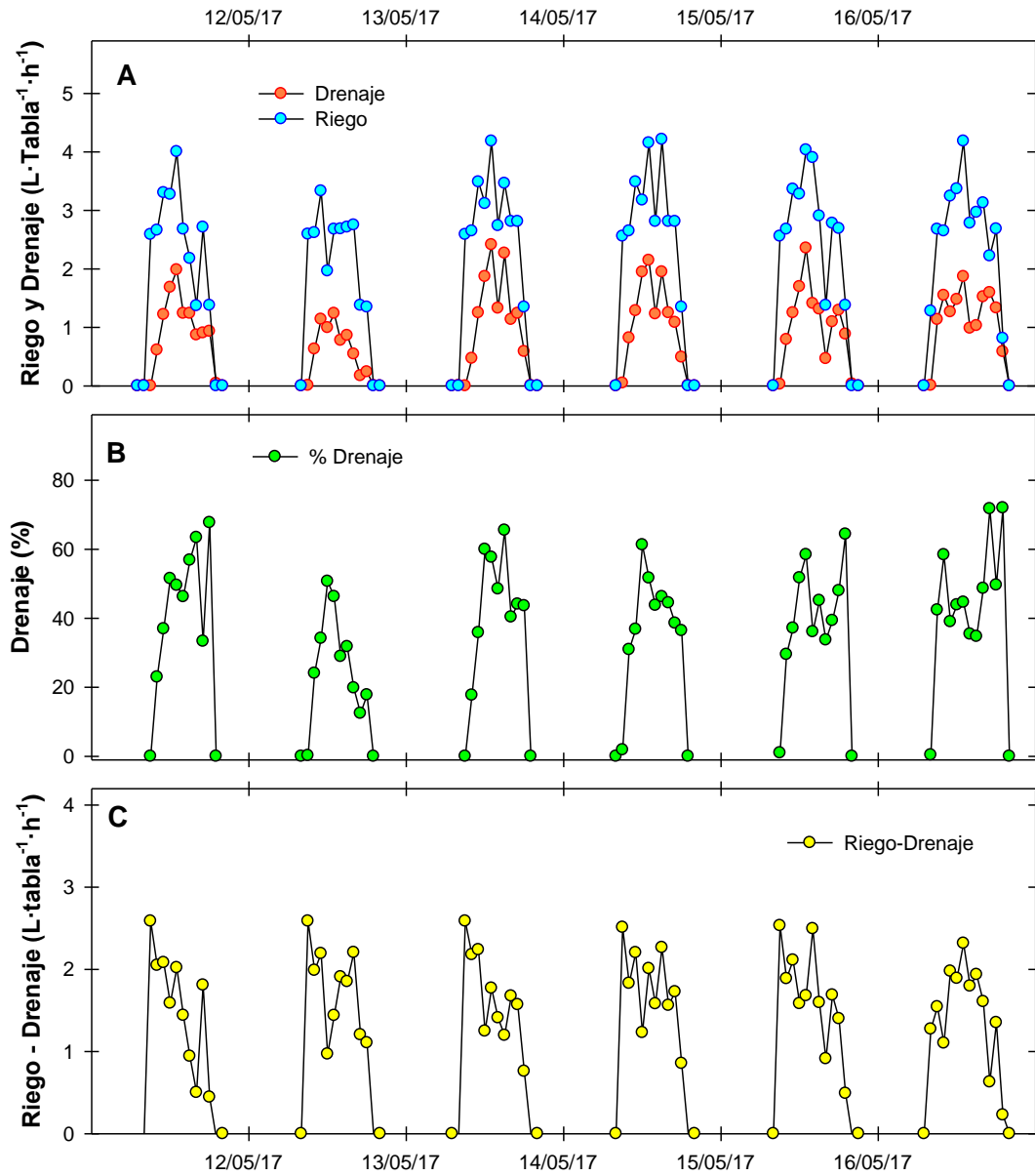


Figura 3 - Evolución de valores horarios de: A) Riego aplicado y drenaje recogido; B) Porcentaje de drenaje; C) Diferencia entre el riego y el drenaje.

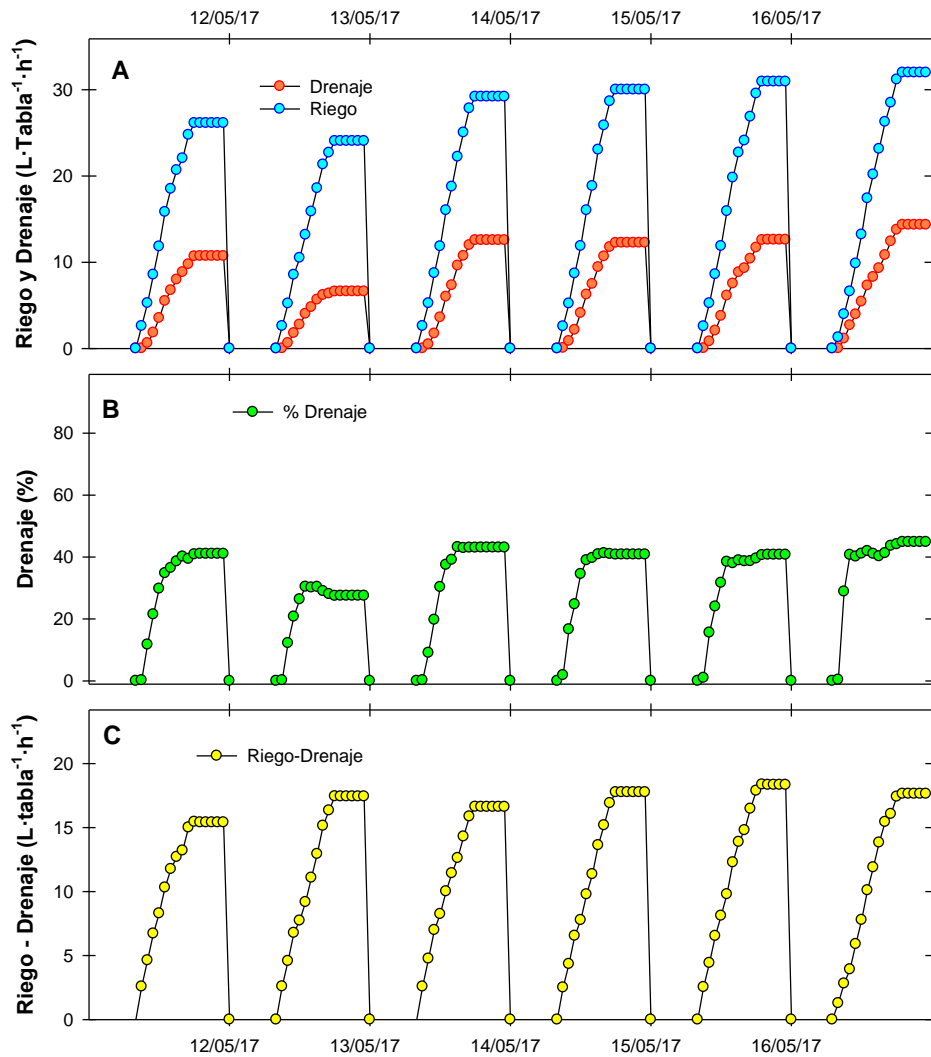


Figura 4 - Evolución de valores horarios acumulados de: A) Riego aplicado y drenaje recogido; B) Porcentaje de drenaje; C) Diferencia entre el riego y el drenaje.

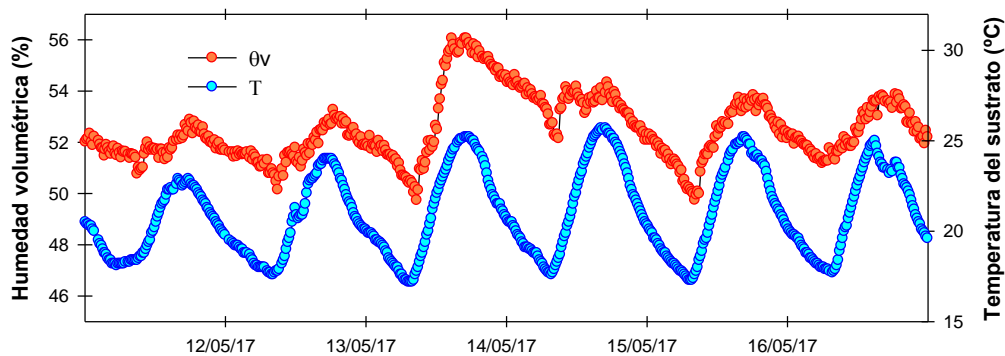


Figura 5 - Evolución de la humedad y temperatura del sustrato. Las curvas representan valores cada 15 minutos procedentes del sensor GS3 de Decagon Devices.

Influencia del potencial matricial de suelo en la eficiencia de uso del agua y nutrientes en cultivo de calabacín en invernadero

J.I. Contreras, F. Alonso, G. Cánovas, M.L. Segura y R. Baeza

IFAPA Centro La Mojonera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Camino San Nicolás nº1. 04745 La Mojonera (Almería).

Resumen

En áreas que presentan escasez de recursos hídricos y zonas vulnerables a la contaminación por nitratos resulta imprescindible maximizar la eficiencia en el uso del agua y nutrientes, y su productividad. En este trabajo se analiza la gestión del fertiriego automatizado con electrotensiómetros empleando distintas consignas de potencial matricial del suelo. El estudio se desarrolló en un invernadero del Centro IFAPA La Mojonera (Almería) sobre cultivo de calabacín (*Cucurbita pepo* L. var. Casiopee). Se establecieron tratamientos de fertiriego, T1: consigna de potencial matricial de suelo de -10 kPa y dotación de 1,5 L m⁻², T2: -25 kPa y 2 L m⁻² y T3: -40 kPa y 3 L m⁻². La concentración de nutrientes (mmol L⁻¹) en solución de fertirrigación fue la misma en todos los tratamientos: 12 de NO₃⁻, 1,5 de H₂PO₄⁻, 6,5 de K⁺, 4,5 de Ca²⁺ y 1,5 de Mg²⁺. Se determinó el volumen de fertiriego aplicado, volumen de drenaje, producción comercial, biomasa y absorción de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) calculando la eficiencia de uso del agua y nutrientes, y la distribución de nutrientes entre parte generativa y vegetativa. El volumen de agua total aplicado en el ciclo fue de 390, 315 y 272 L m⁻² para T1, T2 y T3 respectivamente, no existiendo drenaje en ninguno de los tratamientos. La producción comercial aumentó en los tratamientos con mayor volumen de fertirrigación aplicado. Los tratamientos T2 y T3 fueron los que presentaron mayores eficiencias productivas de uso de agua y nutrientes, sin embargo la eficiencia medioambiental de N, P y K, definida como nutriente absorbido en función del aplicado, no se vio modificada por los tratamientos. Los frutos fueron los mayores sumideros de N, P y K, independientemente del tratamiento.

Palabras clave: fertirrigación, electrotensiómetros, biomasa, extracción de nutrientes, automatización

Abstract

In areas where there is a shortage of water resources and areas vulnerable to nitrate pollution, it is essential to maximize the efficiency of water and nutrient use and its productivity. This work analyzes the management of automated fertigation using electrotensimeters with different soil matric potential. An experiment was conducted in greenhouse-grown zucchini on a sand-mulched soil and fertigation with inorganic fertilizer at the IFAPA La Mojonera Center (Almería). Automatic activation of fertigation through an electrotensimeter and three treatments were applied: Activation of fertigation to -10 kPa and application of volume of 1.5 L m⁻² (T1), activation of fertigation to -25 kPa and application of volume of 2.0 L m⁻² (T2) and activation of fertigation to -40 kPa and application of volume of 3.0 L m⁻² (T3). The concentration of nutrients (mmol L⁻¹) in fertigation solution was the same in all treatments: 12 NO₃⁻, 1.5 H₂PO₄⁻, 6.5 K⁺, 4.5 Ca²⁺ and 1.5 Mg²⁺. The volume of applied fertigation, drainage volume, commercial production, biomass and nutrient absorption (N, P, K, Ca and Mg) were determinate. The use of water and nutrients, and the distribution of nutrients between generative and vegetative parts were calculated. The total volume of water applied in the cycle was 390,

315 and 272 L m⁻² for T1, T2 and T3 respectively. In none of the treatments, drainage was obtained. The commercial production increased in the treatments with greater volume of fertigation applied. However, the environmental efficiency of N, P and K, defined as a nutrient absorbed with respect to applied, was not modified by the treatments. The treatments T2 and T3 presented greater water and nutrient productive use efficiencies. The fruits were the largest sinks of N, P and K, regardless of the treatment.

Keywords: fertigation, electrotensiómetros, biomasa, extracción de nutrientes, automatización

Introducción

El agua es un recurso escaso en regiones áridas y semiáridas, como la cuenca Mediterránea. La agricultura es el mayor consumidor mundial de agua dulce mundial, representando el riego el 70% de las extracciones (WWAP, 2009). El aumento de la eficiencia del uso del agua (EUA) en los sistemas agrícolas, definida como la producción obtenida por unidad de agua aplicada (Howell, 2003), es posible con una adecuada programación de riego (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015), reduciendo además los impactos ambientales asociados a las pérdidas de agua por percolación y nutrientes por lixiviación.

Las investigaciones más recientes se centran en optimizar la gestión del riego, basándose fundamentalmente en la medida del estado hídrico de la planta o en la medida directa de agua en el suelo (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015). La medida del estado hídrico de la planta todavía presenta muchas dificultades teóricas y prácticas, la mayoría de las cuales se discuten en la revisión realizada por Jones (2004). Sin embargo, la medida directa del agua en el suelo, ya sea el contenido de agua o el potencial mátrico del suelo, es más factible ya que tiene la ventaja de ser relativamente fácil de medir y automatizar (Van Iersel et al., 2013), resultando viable para su aplicación a nivel de parcela. Los tensiómetros determinan el potencial mátrico del suelo y son dispositivos rápidos, baratos, fáciles de manejar y adecuados para el seguimiento del estado hídrico del suelo. A menudo se prefieren a otro tipo de sensores de humedad de suelo debido a su bajo coste, simplicidad de uso, alta precisión de la medición, y a que las mediciones no están influenciadas por la temperatura o el potencial osmótico del suelo, además presentan la posibilidad de la adquisición electrónica de datos a través de transductores de presión diferencial (Thalheimer, 2003) permitiendo la automatización de la fertirrigación. Sin embargo es determinante establecer un valor del potencial mátrico de suelo adecuado para cada cultivo y condiciones de desarrollo que optimice la producción y la EUA y los nutrientes como demuestran Buttaro et al. (2015) y Létourneau et al. (2015).

En este trabajo se analiza la gestión del fertiriego automatizado con electrotensiómetros empleando distintas consignas de potencial matricial del suelo sobre la bioproductividad del cultivo de calabacín, y eficiencia de uso del agua y nutrientes.

Material y Métodos

El ensayo se desarrolló en un invernadero parral de “raspa y amagado” situado en el Centro IFAPA La Mojonera, con suelo enarenado de textura franco limosa. Se realizó un cultivo de calabacín (*Cucurbita pepo* L. var. Casiopee). El trasplante fue el 13 de enero de 2015, finalizando el ciclo de cultivo el 1 de junio de 2015. La densidad de plantación era de 1 planta m⁻². El sistema de riego fue localizado con emisores compensantes y antidrenantes de 3 L h⁻¹ y 2 emisores m⁻². La solución de fertirrigación establecida en mmol L⁻¹ fue: 12 de NO₃⁻, 1,5 de H₂PO₄⁻, 6,5 de K⁺, 4,5 de Ca²⁺ y 1,5 de Mg²⁺, basada en

Camacho (2009). El invernadero estaba dotado de 12 lisímetros de drenaje de 1 m^2 de superficie, instalados a 50 cm de profundidad, descontando la capa superior de arena.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con tres tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos establecidos basados en el potencial matricial del suelo fueron: T1: activación del riego a -10 kPa y dotación de $1,5 \text{ Lm}^{-2}$, T2: activación del riego a -25 kPa y dotación de $2,0 \text{ Lm}^{-2}$ y T3: activación del riego a -40 kPa y dotación de $3,0 \text{ Lm}^{-2}$. La dotación de riego se estableció considerando la curva de retención de la humedad del suelo. Para la medida del potencial matricial del suelo se instalaron 12 tensiómetros (Irrometer Co, inc. Riverside, Ca), 4 por tratamiento, a 15 cm de profundidad y 20 cm de distancia a la planta y el gotero. Estaban acoplados a un transductor electrónico que transfería los datos a un equipo de control (Sistema Red Himarcan®).

Las determinaciones realizadas fueron: volumen de fertirriego aplicado (L m^{-2}), volumen de drenaje (L m^{-2}), producción comercial (kg m^{-2}), biomasa y absorción de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) calculando la eficiencia de uso del agua y nutrientes, y la distribución de nutrientes entre parte generativa y vegetativa.

Se realizó un análisis de la varianza ANOVA para identificar el efecto de los tratamientos estudiados. Cuando el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre tratamientos se aplicó un test de comparación de medias (LSD; mínima diferencia significativa) con $p \leq 0.05$.

Resultados y Discusión

Volumen de fertirriego aplicado y drenaje

El volumen de fertirriego fue diferente según tratamiento. El volumen de agua total aplicado en el ciclo difirió según tratamiento y fue de 390, 315 y 272 L m^{-2} para T1, T2 y T3, respectivamente (Figura 1). Es de destacar que no se registró drenaje en ninguno de los tratamientos, así que el consumo de agua en los tratamientos estuvo asociado al desarrollo vegetativo del cultivo, siendo mayor en los tratamientos con mayor nivel de humedad en suelo.

Producción comercial, biomasa y absorción de nutrientes

La producción comercial de fruto se vio afectada por los tratamientos establecidos (Tabla 1). El descenso en la tensión matricial del suelo de -10 a -25 kPa afectó ligeramente la producción, reduciéndola significativamente en un 10%. Sin embargo, el descenso hasta -40 kPa (T3) supuso una reducción en la producción del 23%. La materia seca total producida por la parte aérea de la planta también fue afectada por la tensión matricial del suelo, el tratamiento con tensión más negativa (T3, -40 kPa) redujo la materia seca con respecto al tratamiento T1 (-10 kPa). Las extracciones de P, Ca y Mg no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, sin embargo, las extracciones de N y K se redujeron en el tratamiento T3 con respecto a T1 (Tabla 1).

Eficiencia de uso de agua y nutrientes

La EUA y nutrientes (EP: Eficiencia Productiva y EMA: Eficiencia Medio Ambiental) fueron modificadas por los tratamientos (Tabla 2). La mayor EUA fue alcanzada por los tratamientos T2 y T3, reduciendo T1 los valores de EUA. La reducción de la EUA al trabajar con una tensión matricial más alta (-10 kPa) coincide con los resultados obtenidos por Butaro et al. (2015) en tomate y pepino desarrollado en invernadero y con Létourneau et al. (2015) en cultivo de fresa. La EP de nutrientes también fue mayor en los tratamientos T2 y T3 para todos los nutrientes analizados (N, P, K, Ca y Mg), si bien no existieron diferencias significativas en la EMA para ninguno de los nutrientes.

Distribución de nutrientes

Los frutos fueron el mayor sumidero de N, P y K, independientemente del tratamiento (Figura 1), el porcentaje de nutrientes destinados al fruto con respecto al total absorbido por la parte aérea de la planta representó el 70% para el N, entre el 68-75% para el P, y entre el 63-66% para el K, según tratamiento. No hubo diferencias significativas entre tratamientos (Figura 1). Los resultados concuerdan con los trabajos publicados en diferentes cultivos hortícolas intensivos como tomate (Segura et al., 2009) y pimiento (Contreras et al., 2013) donde la parte generativa es el mayor sumidero de NPK, a diferencia de la judía verde donde la parte vegetativa es el mayor reservorio (Segura et al., 2012). El mayor porcentaje de Ca y Mg de la planta fue destinado a la parte vegetativa, con porcentajes que variaron según tratamiento entre el 82-86% para el Ca y entre 54-67% para el Mg, coincidiendo también con Segura et al. (2009) y Contreras et al. (2013) para cultivo de tomate y pimiento respectivamente, desarrollado en condiciones de cultivo similares.

Conclusiones

El incremento del volumen de fertirrigación aplicado produce un aumento en la producción comercial. Los tratamientos T2 y T3 fueron los que presentaron mayores eficiencias productivas de uso de agua y nutrientes, sin embargo la eficiencia medioambiental de N, P y K, definida como nutriente absorbido en función del aplicado, no se vio modificada por los tratamientos. Los frutos fueron los mayores sumideros de N, P y K, independientemente del tratamiento.

Aunando criterios productivos y medioambientales, el tratamiento T2 es el que mejor comportamiento presentó, con una eficiencia en el uso del agua y nutrientes muy elevada y una producción de fruto de 15 kg m⁻².

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del “Proyecto de Transferencia de Tecnología al Regadío (PP.TRA.TRA201600.3), siendo cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Rural (FEDER) y la Consejería de Agricultura y Pesca (IFAPA-Junta de Andalucía).

Referencia

- Buttaro, D., Santamaria, P., Signore, A., Cantore, V., Boari, F., Montesano, F.F. and Parente, A. 2015. Irrigation management of greenhouse tomato and cucumber using tensiometer: Effects on yield, quality and water use. *Agric. Sci. Procedia*. 4:440-444.
- Contreras, J. I., López, J. G., Lao, M. T., Eymar, E., and Segura, M.L. 2013. Dry-Matter Allocation and Nutrient Uptake Dynamic in Pepper Plant Irrigated with Recycled Water by Different Nitrogen and Potassium Rate. *Communications in soil science and plant analysis*, 44 (1-4), 758-766.
- Howell, T.A. 2003: Irrigation efficiency. p. 467-472. In: Stewart, B.A., Howell, T.A. (Eds.), *Encyclopedia of Water Science*. Marcel Dekker, New York.
- Jones, H.G. 2004. Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant-based methods. *J. Exp. Bot.* 55, 2427–2436.
- Létourneau, G., Caron, J., Anderson, L. and Cormier, J. 2015. Matric potential-based irrigation management of field-grown strawberry: Effects on yield and water use efficiency. *Agric. Water Manage.* 161:102-113.
- Segura Perez, M. L., Contreras Paris, J. I., Salinas Yasuda, R., and Lao, M. T. 2009. Influence of salinity and fertilization level on the nutrient distribution in tomato

- plants under a polyethylene greenhouse in the Mediterranean area. *Communications in soil science and plant analysis*, 40 (1-6), 498-513.
- Segura, M. L., Contreras París, J. I., Plaza, B. M., and Lao, M. T. 2012. Assessment of the nitrogen and potassium fertilizer in green bean irrigated with disinfected urban wastewater. *Communications in soil science and plant analysis*, 43 (1-2), 426-433.
- Thalheimer, M. 2003: Tensiometer modification for diminishing errors due to the fluctuating inner water column. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:737-739.
- Van Iersel, M.W., Chappell, M. and Lea-Cox, J.D. 2013. Sensors for improved efficiency of irrigation in greenhouse and nursery production. *HortTechnology*, 23: 735-746.
- WWAP. 2009: The 3rd United Nations World Water Development Report: water in a changing world. UNESCO and Earthscan.

Tabla y Figuras

Tabla 1- Producción comercial, materia seca total y extracción de nutrientes por la parte aérea de la planta.

	Producción Comercial	Materia seca total	N	P	K	Ca	Mg
	kg m ⁻²	g m ⁻²	g m ⁻²				
T1	16,6a	1376a	46,06a	14,95a	73,19a	26,15a	11,37a
T2	14,9b	1179ab	37,99b	12,67a	69,6a	22,67a	10,00a
T3	12,8c	1057b	34,37b	10,80a	51,52b	29,03a	11,54a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con $p \leq 0.05$

Tabla 2- Eficiencia de uso del agua, EUA (expresada en kg de fruto comercial por m³ de agua aplicado), eficiencia productiva de los nutrientes (expresada en kg de fruto comercial por kg de nutriente aplicado) y eficiencia medio ambiental de los nutrientes (expresada en kg de nutriente absorbido por la planta por kg de nutriente aplicado).

	EUA	Eficiencia productiva (EP)					Eficiencia medio ambiental (EMA)				
		N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
	kg m ⁻³	kg kg ⁻¹					kg kg ⁻¹				
T1	43b	253b	915b	167b	236b	1168b	70,2	82	74	37	80
T2	47a	282a	1017a	186a	262a	1298a	71,9	86	87	40	87
T3	47a	280a	1012a	185a	261a	1291a	75,2	85	75	59	116

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con $p \leq 0.05$

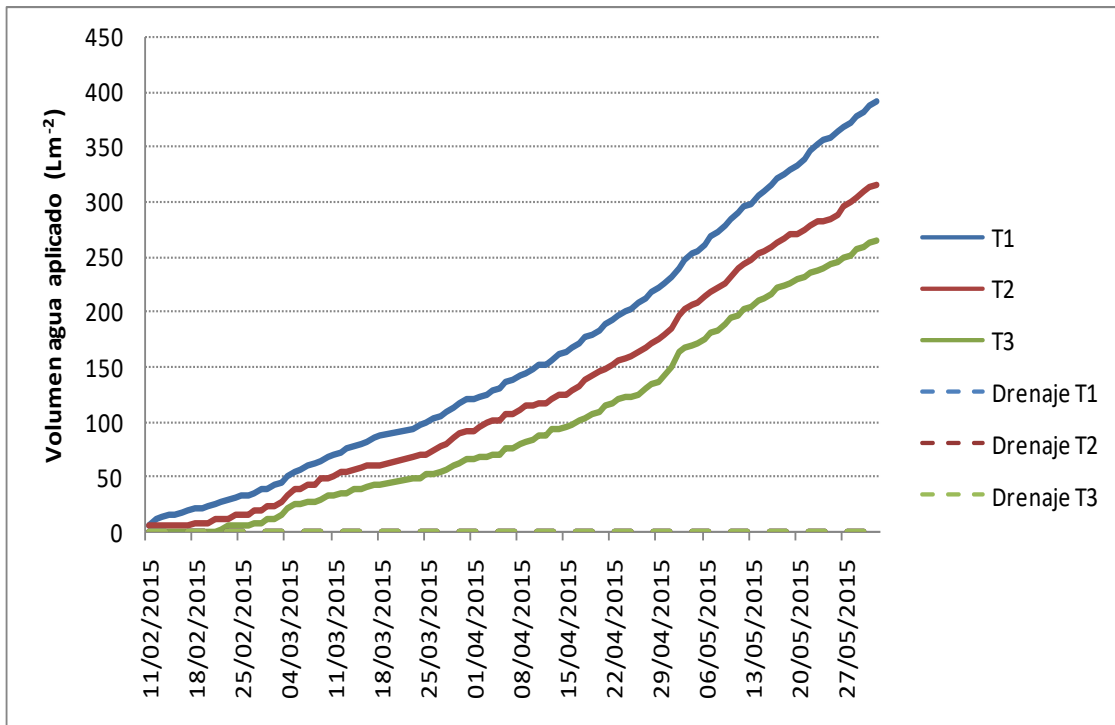


Figura 1- Volumen acumulado de agua aplicado en cada tratamiento y del volumen drenado.

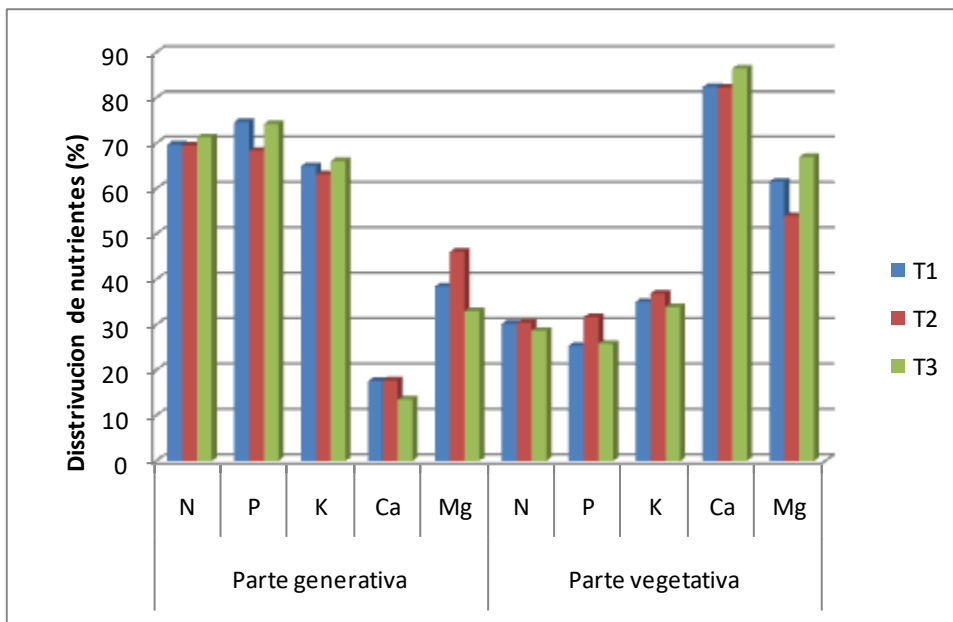


Figura 2- Distribución de nutrientes en la planta: parte generativa (fruto) y parte vegetativa.

Melhoria da produtividade do morangueiro no período outono-inverno com recurso à temperatura e luz suplementar

M.G. Palha¹ & P.B. Oliveira¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS-SAFPV, Av. da República, Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras, graca.palha@iniav.pt

Resumo

Tendo em vista a melhoria da produtividade e o alargamento da produção de morango no outono-inverno em cultura de substrato, avaliou-se o efeito do aquecimento de substrato e da temperatura do ar e de um suplemento de luz com lâmpadas de vapor de sódio no comportamento vegetativo e produtividade de 2 cultivares Capri e Zafir. Utilizaram-se dois tipos de plantas, *frigo* e *tip*, provenientes do viveiro italiano CIV (*Consorzio Italiano Vivaisti*). O ensaio foi conduzido em 2 compartimentos (sem e com aquecimento ambiental) do complexo de estufas de vidro do INIAV, I.P., em Oeiras. A programação da luz, que foi diária e com 2h de duração, teve início em outubro até ao final do ensaio (dezembro). Os valores de temperatura para o substrato (20 °C) e para o ambiente (superior a 7 °C) foram mantidos ao longo de todo o ensaio.

Em estufa aquecida, o aquecimento do substrato aumentou a produtividade das plantas *frigo* em ambas as cultivares, tendo este incremento sido maior na ‘Capri’, em média, com mais 73%. O mesmo efeito ocorreu com as plantas *tip*, contudo a produtividade destas plantas foi bastante inferior à das plantas *frigo*. A luz adicional melhorou a produção de frutos com maior efeito nas plantas *frigo* da ‘Capri’ e das plantas *tip* da ‘Zafir’. Na estufa não aquecida, o substrato aquecido aumentou apenas a produtividade das plantas ‘Zafir’.

Entre cultivares, a ‘Zafir’ revelou melhor comportamento vegetativo e reprodutivo que a ‘Capri’. As plantas ‘frigo’ mostraram estar melhor adaptadas a este sistema de produção em substrato com plantação estival. De um modo geral, a temperatura e luz adicional melhoraram a produtividade das cultivares na época de outono mas não contribuíram para o alargamento do período de produção.

Palavras-chave: *Fragaria* × *ananassa*, substrato aquecido, estufa aquecida, plantas *frigo*, plantas *tip*.

Abstract

The aim of this study was to quantify the effects of supplemental lighting with high pressure sodium vapor lamps, temperature (air heating) and substrate heating on yield and growth of two strawberry cultivars. Frigo and tip plants of ‘Capri’ and ‘Zafir’ from the Italian nursery CIV (*Consorzio Italiano Vivaisti*) were used, and the experiment was conducted in two compartments ((without (T0) and with (T1) environmental air heating)) of the INIAV, I.P. glasshouse located in Oeiras. Supplemental lighting was daily, 2h period after the sunset. Temperature values for substrate heating were between 20°C (to switch on) and 22°C (to switch of). The heating of air temperature started when the air temperature was below 7°C.

In T1 treatment, substrate heating increased the productivity of frigo plants in both cultivars, with an increase of 73% for ‘Capri’ plants. The same effect occurred with the tip plants; however the productivity of these plants was much lower than of frigo plants. The additional lighting improved fruit yield with greater effect on ‘Capri’ frigo plants and

'Zafir' tip plants. In T0 treatment the heated substrate only increased the productivity of 'Zafir' frigo plants.

Zafir plants had higher vegetative growth and fruit yield than 'Capri'. Frigo plants was more suitable to this type of substrate production system with summer planting. In general, additional temperature and lighting improved the productivity of the cultivars in the fall season but did not contribute to the extension of the season production.

Keywords: *Fragaria ×ananassa*, substrate heating, air heating, *frigo* plants, *tip* plants.

Introdução

Nas últimas duas décadas, a cultura protegida desenvolveu-se largamente a nível mundial para fazer face à crescente procura de produtos hortofrutícolas para consumo em fresco. No caso do morango, a crescente procura deste fruto durante o ano inteiro conduziu ao desenvolvimento de várias técnicas de produção e de cultivares e ao aumento da área de produção em cultura protegida de modo a aumentar a rentabilidade da cultura. Nos mercados europeus, Portugal tem vantagens em produzir e exportar morango na janela de mercado outono-inverno comparativamente aos países da Europa central e setentrional, onde a procura é grande e a oferta é escassa e o valor acrescentado é maior. No âmbito do projeto europeu FP7 - EUBerry com vários parceiros europeus, Portugal (através do INIAV, I.P.) integrou o WP2 “Melhoria das tecnologias de produção” cujo objetivo visava melhorar ou desenvolver novas técnicas de produção nos pequenos frutos com vista ao alargamento da época de produção e aumentar a disponibilidade de frutos frescos, com elevada qualidade, para o consumidor.

Na produção de morango fora de época, outono-inverno, diferentes estudos foram desenvolvidos em cultura protegida e com recurso às cultivares de dias-curtos (DC) e indiferentes (ID) (Palha et al., 2009; 2012a; Palha, 2015). Com as cvs. DC a plantação é feita no princípio de outono e com as cvs. ID no verão.

Fatores ambientais como a temperatura e radiação solar podem ser limitantes no crescimento e desenvolvimento do morangueiro, sendo o seu efeito variável com a cultivar e sistema de produção. Em sistemas de plantação outonal com a cv. Camarosa conduzida em túnel e no solo, Palência et al. (2013) observaram uma relação linear entre a temperatura e a produção precoce e uma relação quadrática entre a produção total e a temperatura. Na plantação de verão com cvs. ID, Palha et al. (2012b) verificaram que as altas temperaturas ocorridas durante a plantação foram um dos factores limitantes para a produtividade da planta, ocorrendo uma maior crise de transplantação (maior taxa de retanxa), atrasando o crescimento da planta e diminuindo, assim, a precocidade da produção. Este efeito foi mais acentuado na cultura em solo do que na cultura em substrato.

Durante a época de outono-inverno, em que o fotoperíodo é curto e a intensidade da radiação baixa, um suplemento de luz com lâmpadas tem conduzido a mecanismos que melhoram o crescimento da planta e a sua produtividade (Gottdenker et al., 2001; Folta & Childers, 2008). Esta tecnologia tem sido estudada no morangueiro por diversos autores com diferentes tipos de lâmpadas (LED, fluorescente e vapor de sódio) e diferentes modalidades de iluminação (Gottdenker et al. 2011; Park et al., 2014).

Com este trabalho, pretendeu-se avaliar o efeito da temperatura, através do aquecimento de substrato e da temperatura do ar, e de um suplemento de luz no comportamento vegetativo e produtividade de 2 cultivares de morangueiro num sistema de produção em substrato e em estufa, nas nossas condições de clima.

Material e Métodos

Os ensaios decorreram em dois compartimentos (1 e 2) do complexo de estufas de vidro do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.), localizado no *campus* de Oeiras. A condução do ensaio foi feita em caixas de hidroponia com um metro de comprimento, contendo no fundo argila expandida (para drenagem) e substrato comercial Siro *fragaria*, colocadas em bancadas a 1m de altura.

No compartimento 1, o ensaio decorreu em ambiente não aquecido (T0) e sem suplemento de luz (L0) com um delineamento experimental de 2 factorial, correspondente a 2 cultivares e 2 modalidades de aquecimento de substrato (S0 - sem e S1 - com), e 4 repetições num total de 16 talhões. No compartimento 2 com ambiente aquecido, estabeleceram-se 2 ensaios: um sem suplemento de luz (L0) em 3 factorial (2 cultivares x 2 tipos de planta x 2 modalidades de aquecimento de substrato) e 4 repetições; e outro com luz suplementar (L1) em 3 factorial (2 cultivares x 2 tipos de planta x 2 modalidades de aquecimento de substrato) e 4 repetições.

O aquecimento da temperatura do ar e o suplemento de luz foram controlados por um computador central que gere as temperaturas do ar (sistema de arrefecimento/ou aquecimento) e a iluminação. A programação da iluminação foi diária, com 2h de duração (17h30m às 19h30m) e teve início em outubro até ao final do ensaio (dezembro). Utilizaram-se lâmpadas de vapor de sódio de alta pressão (250W). O aquecimento da temperatura do ar foi programado para ser accionado sempre que os valores eram iguais ou inferiores a 7 °C. Durante os meses de julho, agosto e setembro programou-se, também, a abertura zenital das janelas para a ventilação do ar nos dois compartimentos, sempre que se verificava uma temperatura de ar igual ou superior a 26 °C. O aquecimento do substrato foi feito com um cabo eléctrico de aquecimento que se encontrava enterrado no substrato (10cm) dentro das caixas ligado a um termóstato programado para ligar a t=20 °C e desligar a t=22 °C.

Utilizaram-se 2 cultivares de morangueiro ‘Capri’ e ‘Zafir’, provenientes do viveiro italiano CIV (*Consorzio Italiano Vivaisti*). A cv. Capri é uma variedade remontante, de vigor médio e boa resistência à maioria das doenças fúngicas e a cv. Zafir é não remontante, com baixas necessidades em frio e adequada para climas mediterrânicos. Os dois tipos de plantas *frigo* (f) e *tip* (t) de cada cultivar foram testados para avaliar a sua adaptabilidade a este sistema de produção. Para melhor enraizamento das plantas *tip* foi acionado a rega por aspersão em nebulização, para além da rega localizada. Plantaram-se 6 plantas/caixa (em quicôncio) no dia 27 julho. A rega foi diária, utilizando a fita de rega T-tape e a fertilização foi ajustada ao longo do ciclo da cultura através da medição da condutividade eléctrica da solução nutritiva.

Antes da plantação, efectuou-se a caracterização do vigor das plantas, através de registos biométricos (diâmetro e número de coroas) e da determinação do peso verde da planta (raízes, coroas e folhas) em amostras de 20 plantas por tipo de material vegetal e cultivar. A medição do diâmetro de coroa foi feita com uma craveira digital, medindo-se a secção central da coroa.

A produtividade foi avaliada ao longo da frutificação, contabilizando-se o número e peso dos frutos por tratamento e data de colheita e também, por classe comercializável e refugo.

Os resultados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) recorrendo ao programa STATISTIC, versão 6.0, e a comparação de médias pelo teste LSD a $p < 0,05$.

Resultados e Conclusões

À plantação as plantas *frigo* apresentaram maiores calibres de coroa e maior massa verde total que as plantas *tip*. Estas plantas apresentam um maior volume de raízes enquanto as *tip* não possuem sistema radical, apenas primórdios de raízes, e apresentam entre 3 a 4 folhas iniciais verdes e túrgidas (Fig.1). As plantas da cv. Zafir eram maiores e possuíam mais massa verde que as da ‘Capri’ (Quadro 1).

Após a plantação, as plantas *frigo* de ambas as cultivares iniciaram o seu crescimento e desenvolveram-se mais rapidamente que as *tip* (Fig. 2). A crise de transplantação foi maior nestas plantas verificando-se que a desidratação das plantas foi uma das principais causas. Palha et al. (2009; 2012a) observaram que as plantas com maior desenvolvimento vegetativo inicial se estabelecem mais rapidamente evitando as crises de transplantação e são um indicador de um maior potencial produtivo.

Em estufa sem aquecimento ambiental, o substrato aquecido aumentou apenas a produtividade das plantas Zafir, em mais de 35% (Quadro 2). A qualidade da produção não foi afetada apresentando as plantas 78,3% de produção comercializável e 27,1 % de refugo. Na cv. Capri verificou-se que o substrato aquecido diminuiu a percentagem de refugo.

Em estufa aquecida, o aquecimento do substrato aumentou a produtividade das plantas *frigo* em ambas as cultivares, tendo este incremento sido maior na ‘Capri’, em média, com mais 73%. O mesmo efeito ocorreu com as plantas *tip*, contudo a produtividade destas plantas foi bastante inferior à das plantas *frigo* (dados não apresentados). A luz adicional melhorou a produção de frutos com maior efeito nas plantas *frigo* da ‘Capri’ e das plantas *tip* da ‘Zafir’.

Entre cultivares, a ‘Zafir’ revelou melhor comportamento vegetativo e reprodutivo que a ‘Capri’ demonstrando a sua maior adaptabilidade a esta época de produção. As plantas ‘frigo’ mostraram estar melhor adaptadas a este sistema de produção em substrato com plantação estival pois ao apresentarem um sistema radical inicial suportam melhor as condições adversas de temperatura, temperaturas altas, que podem ocorrer pós plantação. O aquecimento do substrato melhorou a produtividade das plantas, com maiores aumentos quando associado ao aquecimento ambiental ($t > 7\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante os meses mais frios.

De um modo geral, a temperatura e luz adicional melhoraram a produtividade das cultivares na época de outono, mas não contribuíram para o alargamento do período de produção facto que demonstra que neste período, e nas nossas condições climáticas, a luz e temperatura são os fatores limitantes da produtividade do morangueiro.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado no âmbito EU FP7 EUBerry Project 265942.

Referências

- Folta, K.M. & Childers, K.S. 2008. Light as a Growth Regulator: Controlling Plant Biology with Narrow-bandwidth Solid-state Lighting Systems. *HortScience* 43 (7): 1957-1964.
- Gottdenker, J.S., Giacomelli, G.A. & Durner, E. 2001. Supplemental lighting strategy for greenhouse strawberry production (*Fragaria x ananassa* Duch. Sweet Charlie). DOI 10.17660/ActaHortic.2001.559.45
- Palência, P., Martinez, F., Medina, J.J., Medina, J.L. 2013. Strawberry yield efficiency and its correlation with temperature and solar radiation. *Horticultura brasileira* 31: 93-99.

- Palha, M.G., Campo, J.L., Curado, T., Sousa, M.B., Oliveira, P.B. 2009. 'Elsanta' autumn crop performance using different plant types and planting dates. *Acta Hort. (ISHS)* 842:983-986.
- Palha, M.G., Campo, J.L., Oliveira, P.B. 2012a. Strawberry plant growth and dry matter partitioning as influenced by planting date and plant type in an autumn production system. *Acta Horticulturae (ISHS)* 926: 463-469.
- Palha, M.G., Campo, J.L., Oliveira, P.B., Sousa, M.B., Ramos, A.C., Serrano, M.C. 2012b. As cultivares indiferentes de morangueiro em sistemas de produção outonal. *Actas Portuguesas de Horticultura* 20: 35-43.
- Palha, M.G., 2015. Dupla produção de morangos no outono e na primavera seguinte com plantas *tray*. *Revista pequenosfrutos* 11: 4-7.
- Park, Y.H., Ryu, H.Y., Choo, H.M., Kim, M.H. & Seo, B.S. 2014. Effect of different supplement lights for strawberry growth and fruit quality. *Acta Hort.* 1049, 903-906. DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1049.146
- Cv. Capri – www.google.com/patents/US20140047597
- Cv. Zafir – www.google.com/patents/USPP2339

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Valores dos parâmetros biométricos e pesos verdes da planta por cultivar e tipo de planta (média±DP) à data de plantação

Cultivar	Tipo de planta	Coroa		Peso verde (g)			
		Diametro (mm)	Número	Raízes	Coroas	Folhas	Total
Capri	<i>frigo</i>	12,1±1,5	1,0±0,0	11,6±2,4	2,6±0,3	^{-y}	14,2
	<i>tip</i>	7,5±0,8	1,0±0,0	^{-z}	0,8±0,1	1,8±0,7	2,6
Zafir	<i>frigo</i>	19,8±4,4	1,9±0,6	15,0±2,6	9,4±1,9	^{-y}	24,4
	<i>tip</i>	8,6±0,7	1,0±0,0	^{-z}	1,2±0,1	2,3±0,3	3,5

^zAs plantas não apresentam raízes. ^yAs plantas não possuem folhas.

Quadro 2 – Valores da produção total, comercial e refugo das cvs. Capri e Zafir em substrato não aquecido (S0) e aquecido (S1), em estufa sem aquecimento ambiental

Cultivar	Substrato	Produção total (g/planta) ^z	Produção (%)	
			Comercial	Refugo
Capri	S0	251,5 b	72,0	28,0
	S1	247,1 b	82,7	17,3
Zafir	S0	282,7 b	79,0	21,0
	S1	382,4 a	77,6	22,4

^zvalores com letras diferentes diferem a $p < 0,05$.

Quadro 3 – Valores da produção total, comercial e refugo das cvs. Capri e Zafir em substrato não aquecido (S0) e aquecido (S1), em estufa com aquecimento ambiental

Cultivar	Substrato	Produção total (g/planta) ^z	Produção (%)	
			Comercial	Refugo
Capri	S0	149,3 c	60,3	39,7
	S1	257,8 b	72,1	27,9
Zafir	S0	359,5 ab	78,0	22,0
	S1	435,2 a	73,5	26,5

^zvalores com letras diferentes diferem a $p < 0,05$.

Quadro 4 – Valores da produção total, comercial e refugo das cvs. Capri e Zafir sem (L0) e com luz suplementar (L1), em estufa com aquecimento ambiental

Cultivar	Luz	Produção total g/planta ^z	Produção (%)	
			Comercial	Refugo
Capri	L0	149,3 c	60,3	39,7
	L1	247,4 b	71,0	29,0
Zafir	L0	359,5 a	78,0	22,0
	L1	395,8 a	80,0	20,0

^zvalores com letras diferentes diferem a $p < 0,05$.



Figura 1 – Planta *tip* de morangueiro (apenas com primórdios radiculares).

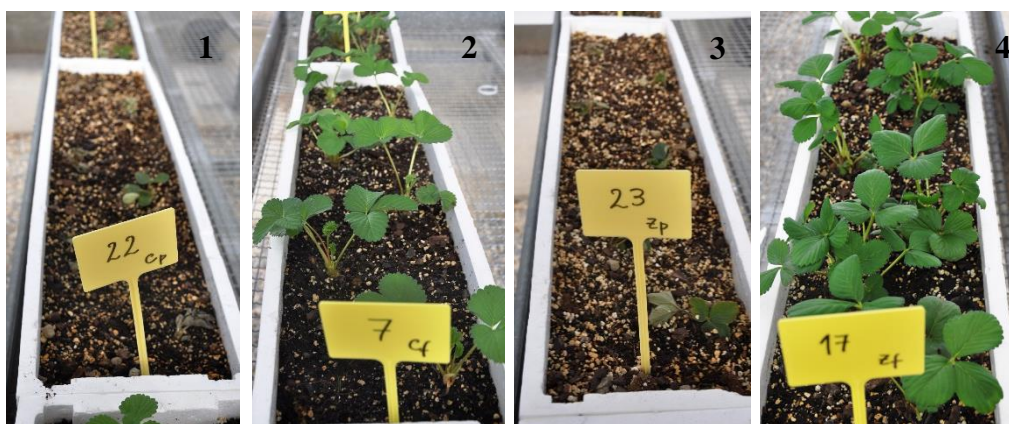


Figura 2 – Aspeto geral das caixas de substrato com plantas *tip* (1 e 3) e plantas *frigo* (2 e 4) quinze dias após a plantação.

Cultura da alface em semi-hidroponia com uma solução nutritiva normal e com a utilização de águas residuais tratadas.

Sónia Rodrigues¹, Fátima Carvalho¹, Adelaide Almeida¹, Idália Guerreiro¹, Ana Prazeres² & Mariana Regato¹.

¹Instituto Politécnico de Beja - Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares – Campus - 7800-295-Beja, mare@esab.ipbeja.pt

²Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo (CEBAL).

Resumo

Neste trabalho pretendeu-se avaliar os efeitos da utilização de três diferentes substratos na cultura semi-hidropónica da alface (*Lactuca sativa* L.) com recurso a duas soluções nutritivas distintas. Foi feito um primeiro ensaio com uma solução nutritiva rica em macronutrientes e micronutrientes adequada à cultura da alface, e um segundo ensaio com uma solução nutritiva com água residual pré-tratada proveniente de efluentes de uma queijaria.

O delineamento experimental foi efetuado em blocos casualizados com três repetições e utilizaram-se três substratos: perlite, fibra de coco e argila expandida, em ambos os ensaios.

Foram observados os seguintes parâmetros: número de folhas, diâmetro do repolho, peso fresco e seco da parte aérea, índice de clorofila e composição mineral da alface. Relativamente ao primeiro ensaio, o resultado mais alto relativamente ao número de folhas (20 folhas), peso fresco (142,0 g) e peso seco (7,2 g) da parte aérea foi obtido nas plantas que se desenvolveram na perlite. No segundo ensaio, o resultado mais alto para o número de folhas (28 folhas), diâmetro do repolho (26,7 cm), peso fresco (118,8 g) e peso seco (9,5 g) da parte aérea foram alcançados pelas plantas que se desenvolveram na fibra de coco.

Fez-se uma análise às soluções nutritivas, após cada ciclo de rega, no sentido de verificar a possibilidade da sua descarga no meio ambiente. Foram analisados vários parâmetros: pH, condutividade, potencial redox, nitratos, nitritos, azoto amoniacal, cloretos, dureza, cálcio, fosfatos, sódio, potássio, carência química de oxigénio (CQO) e magnésio.

Verificou-se que o azoto amoniacal foi o único nutriente que se pode tornar limitante à descarga das soluções nutritivas no meio ambiente.

Comprovou-se ainda, que as plantas, para além de obterem os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento no sistema semi-hidropónico com a solução nutritiva com água residual pré-tratada, funcionaram também como um sistema de purificação, permitindo que a referida solução nutritiva possa vir a ser descarregada no meio ambiente no final de cada ciclo.

Palavras-chave: substratos, queijaria, peso fresco e seco, diâmetro do repolho.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effects of the use of three different substrates in the semi-hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.) with two different nutrient solutions. A first trial was conducted with a nutrient solution rich in macronutrients and micronutrients suitable for lettuce and a second test with a nutrient solution with pretreated waste water from effluent from a cheese factory.

The experimental design was performed in randomized blocks with three replicates and three substrates: perlite, coconut fiber and expanded clay, in both assays.

The following parameters were observed: leaf number, head diameter, fresh and dry weight of shoot, chlorophyll index and mineral composition of lettuce. For the first trial, the highest leaf (20 leaves), fresh weight (142.0 g) and dry weight (7.2 g) of shoot was obtained in the plants that developed in perlite. In the second trial, the highest result for the number of leaves (28 leaves), head diameter (26.7 cm), fresh weight (118.8 g) and dry weight (9.5 g) of shoot, were obtained in the plants grown in coconut fiber.

The nutrient solutions were analyzed after each irrigation cycle in order to verify the possibility of their discharge into the environment. Several parameters were analyzed: pH, electrical conductivity, redox potential, nitrates, nitrites, ammoniacal nitrogen, chlorides, hardness, calcium, phosphates, sodium, potassium, chemical oxygen demand (COD) and magnesium.

It was found that ammoniacal nitrogen was the only nutrient that could become limiting to the discharge of nutrient solutions into the environment.

It was also verified that plants, in addition to obtaining the necessary nutrients for their development in the semi-hydroponic system with the nutrient solution with pretreated water, they also functioned as a purification system, allowing said nutrient solution can be discharged into the environment at the end of each cycle.

Keywords: substrates, cheese making, fresh and dry weight, head diameter.

Introdução

A reutilização de águas residuais na agricultura é de grande importância para atender às necessidades crescentes do uso da água que esta prática requer; para reduzir a poluição dos recursos hídricos provocada pelos efluentes e para aumentar os benefícios económicos dos produtores, devido à redução da aplicação de fertilizantes (Jiménez-Cisneros, 1995; Paranychianakis et al., 2006), uma vez que alguns dos efluentes tratados são ricos em azoto, fósforo, matéria orgânica, etc., podendo ser utilizados como fertilizantes (Fasciolo et al., 2002). No entanto, tem de haver um conhecimento preciso da sua composição química, para que não haja contaminação das culturas ou das águas subterrâneas, uma vez que esta pode ser um pouco diferente da da água normalmente utilizada na rega (Pereira et al., 2002).

A rega com água residual apresenta, ainda, benefícios diretos para os agricultores e meio ambiente, pois reduz os custos de energia e, assim, minimiza as emissões de carbono, para além de ser também uma medida de mitigação da escassez de água (Dawson & Hilton, 2011).

A alface pode ser cultivada em diversos sistemas de cultura sem solo. O sistema hidropónico chamado NFT (*Nutrient Film Technique*) tem alcançado destaque na produção desta hortícola, sendo o sistema de eleição de entre os vários sistemas disponíveis, pela sua eficácia na produção e pelo facto de ser um dos mais práticos em termos de utilização (Cometti, 2003).

O uso de águas residuais, como solução nutritiva num sistema NFT, conduziu à formação de maior área foliar e consequentemente de um teor mais elevado de peso fresco na cultura da alface (Sandri et al., 2007). Estudos sobre o efeito da fertirrega com águas residuais tratadas da indústria de laticínios e de matadouros indicaram que esta técnica teve uma contribuição significativa para o aumento da produtividade média da alface conduzida em estufa (Rodrigues et al., 2011).

Material e métodos

Realizaram-se dois ensaios em estufa no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja, com o objetivo de avaliar os efeitos da utilização de três diferentes substratos na cultura semi-hidropônica da alface (*Lactuca sativa* L.) num sistema NFT (*Nutrient Film Technique*), com recurso a duas soluções nutritivas e três substratos: argila expandida, perlite, e fibra de coco.

Foi ainda objetivo destes ensaios avaliar o desempenho do sistema hidropônico na remoção de nutrientes das soluções nutritivas de forma a permitir a sua descarga em meio hídrico.

No primeiro ensaio (realizado no período de novembro a janeiro) utilizou-se uma solução nutritiva normal para esta cultura (SNAS) e no segundo (realizado no período de março a maio), usou-se uma solução nutritiva obtida de um efluente de água residual de queijaria, pré-tratada através de processos de precipitação química básica + neutralização natural, os quais permitiram a remoção parcial de matéria orgânica, sólidos suspensos totais, gorduras e alguns nutrientes (SNART). A cultivar utilizada em ambos os ensaios foi a batávia 'Loura de Paris'.

O sistema NFT utilizado consistiu numa técnica de fluxo laminar de nutrientes, composto por um tanque onde se colocou a solução nutritiva, por um sistema de bombagem, por canais de cultivo e por um sistema de retorno ao tanque. A solução nutritiva foi bombada até aos canais e escorria por gravidade, formando uma fina lâmina de solução nutritiva que regava as raízes.

O delineamento experimental utilizado em ambos os ensaios foi o de blocos casualizados com três repetições.

Utilizou-se a mesma metodologia nos dois ensaios, ou seja, foi efetuada a transplantação das plântulas de alface para pequenos vasos de polietileno, perfurados na base, com 4 cm de diâmetro na base e 7 cm de diâmetro superior na parte superior e uma altura de 8 cm. Foram utilizados 27 vasos no total, sendo 9 para cada tipo de substrato.

A circulação da solução nutritiva realizava-se de 15 em 15 minutos (15 minutos a circular e 15 minutos sem circulação) no período diurno, das 07:00 horas até às 19:00 horas. No período noturno efetuaram-se duas regas de 15 minutos, uma delas às 23:00 horas e outra às 03:00 horas.

A bomba utilizada no sistema tinha um caudal de 10,4 litros por minuto.

Foi feita a renovação da solução quinzenalmente, de acordo com os protocolos descritos por Moraes (1997) e Martinez (2002) citados por Genúncio et al. (2006).

Foi realizada a contagem do número de folhas e medido o diâmetro do repolho e o índice de clorofila das alfaces ao longo do ciclo da cultura. Após a colheita, foram ainda observados os seguintes parâmetros: peso fresco e seco da parte aérea, e composição mineral da folha.

Fez-se uma análise às soluções nutritivas, após cada ciclo de rega (de 15 em 15 dias), no sentido de se verificar a possibilidade da sua descarga no meio ambiente. Foram analisados vários parâmetros: pH, condutividade elétrica, potencial redox, nitratos, nitritos, azoto amoniacal, cloretos, cálcio, fosfatos, sódio, potássio, magnésio e CQO (carência química de oxigénio).

No final de cada ciclo foi também avaliada a eficiência de remoção média para cada um dos parâmetros monitorizados, de acordo com a seguinte expressão: % de remoção = $[(C_i - C_f) / C_i] \times 100$, onde C_i é a concentração média inicial e C_f é a concentração média final.

Resultados e Discussão

Relativamente ao primeiro ensaio, em que se utilizou a solução nutritiva normal (SNAS), verificou-se que não existiram diferenças estatisticamente significativas entre os substratos relativamente ao número de folhas e índice de clorofila.

O peso fresco e o peso seco da parte aérea e o diâmetro do repolho manifestaram diferenças significativas entre os substratos, verificando-se os valores mais elevados com o substrato de perlite, embora o diâmetro do repolho não tenha apresentado diferenças relativamente à fibra de coco (quadro 1).

Os resultados referentes à perlite devem-se, provavelmente, à facilidade de circulação da solução nutritiva no substrato, e ao fato do mesmo permitir que a humidade e o oxigénio possam fluir livremente até às raízes.

Relativamente à composição mineral da alface, verificou-se que na fibra de coco, as folhas apresentaram o valor mais alto de fósforo (0,87%), na argila expandida os valores mais altos de potássio (0,74 %) e enxofre (0,22 %) e na perlite o teor mais elevado de boro (22,31 mg kg⁻¹) (quadro 2).

Os resultados obtidos não são esclarecedores para determinar qual dos substratos permite a obtenção de uma composição mineral da planta mais rica em nutrientes.

No que respeita ao segundo ensaio, em que se utilizou a solução nutritiva proveniente do efluente da queijaria (SNART) verificaram-se diferenças significativas entre os substratos para os parâmetros: fresco e seco da parte aérea, número de folhas e diâmetro do repolho, apresentando a fibra de coco, os valores mais elevados (quadro 3).

O tipo de substrato influenciou e teve efeitos na produtividade da cultura da alface, em ambos os ensaios. Contrariamente, Carneiro et al. (2000) não obtiveram influência dos substratos no peso da matéria seca da parte aérea e no número de folhas, na avaliação de cinco diferentes substratos na cultura de pepino.

Quando se utilizou a SNAS, o substrato que apresentou os resultados mais altos, na maioria dos parâmetros, foi a perlite, enquanto, que com a utilização da SNART, foi com a fibra de coco que se obtiveram os melhores resultados. Farias et al. (2011), também obtiveram resultados mais elevados em fibra de coco na cultura hidropónica em NFT de rúcula quando utilizaram os substratos, casca de arroz carbonizado e fibra de coco.

Visualmente pôde-se constatar que em ambos os ensaios, o substrato com mais dificuldade em reter a solução nutritiva foi a argila expandida. Contrariamente, o que mais água e nutrientes, reteve foi a fibra de coco, o que demonstrou ser uma vantagem no segundo ensaio, uma vez que este foi realizado no período de primavera-verão, uma época mais quente e com maior necessidade de água. Este pode ser um dos motivos pelos quais se obtiveram melhores resultados na fibra de coco no ensaio com SNART.

A composição do substrato influenciou os parâmetros analisados, possivelmente pelo espaço poroso e capacidade de retenção de água apresentados nos diferentes substratos (Smiderle et al., 2001).

Torna-se desta forma claro que, a escolha do substrato é muito importante na utilização de determinadas soluções nutritivas no sistema semi-hidropónico.

Para além de se verificar a possibilidade de produzir alfaces utilizando uma solução nutritiva proveniente de uma água residual pré-tratada, houve também interesse em observar se as alfaces produzidas no sistema hidropónico NFT teriam uma dupla função: retirarem os nutrientes das soluções SNAS e SNART em quantidade suficiente para se desenvolverem e, simultaneamente, ao retirarem esses nutrientes, funcionarem como um sistema de afinação para as soluções, permitindo as suas descargas no meio ambiente no final de cada ciclo. Normalmente os sistemas hidropónicos reutilizam a solução nutritiva por reposição contínua de nutrientes.

No quadro 4, podemos observar a composição química da solução nutritiva SNAS à entrada e à saída do sistema, assim como a percentagem de remoção dos elementos que a constituíam. Verifica-se que houve remoções na ordem dos 50 % para os fosfatos, potássio e sódio. Ocorreu remoção de azoto na forma nítrica (20,2 %) e amoniacal (49,3 %) e também de cálcio numa percentagem de apenas 8,1 %.

Observando o quadro 5, constata-se que o pH sofreu uma subida, passando de 7,3 par 7,8, a condutividade elétrica diminuiu, assim como o potencial redox e o SAR.

Analisando o comportamento da solução nutritiva SNART à entrada e saída do sistema (quadro 6) verifica-se que houve uma remoção elevada de nitratos, nitritos e azoto amoniacal. O sódio e os cloretos também sofreram remoção, mas numa percentagem menor (15,2% e 12,1%, respetivamente), o potássio apresentou uma remoção no valor de 41,8 %. Também se verificou a remoção de 23,9 % de matéria orgânica (quadro 7).

Relativamente à variação dos outros parâmetros analisados (quadro 7), verificou-se uma subida do pH e do potencial redox e uma descida da condutividade elétrica e do SAR.

As percentagens de remoção, em princípio estarão relacionadas com as quantidades dos nutrientes absorvidos pelas plantas, mas também se podem dever a fenómenos de evapotranspiração (Batista, 2010).

Para se verificar a possibilidade da descarga destas soluções em meio hídrico, ou da sua utilização como água de rega, compararam-se os parâmetros analisados com o estipulado no Decreto-lei nº 236 de 1 de agosto de 1998 (quadro 8).

Relativamente à possibilidade de utilizar as soluções nutritivas à saída do sistema, como água de rega, a SNAS apresenta um teor de nitratos superior (88,7 mg L⁻¹) ao valor máximo recomendado (50 mg L⁻¹), contrariamente à SNART, que apresenta um valor muito menor (3,8 mg L⁻¹), não sendo, portanto, este parâmetro limitante para a sua utilização como água de rega. No entanto, a SNART apresenta um teor de cloretos muito elevado (291,7 mg L⁻¹) relativamente ao valor máximo recomendado que é de 70 mg L⁻¹. Se considerarmos os valores máximos admissíveis não há qualquer limitação para que ambas as soluções possam ser usadas como água de rega (quadro 8).

No que respeita à descarga das soluções no meio ambiente após a saída do sistema, verifica-se que apenas o teor de nitratos se torna limitante para a SNAS, não apresentando a SNART, qualquer limitação relativa a este parâmetro (quadro 8).

Desta forma, podemos concluir que as águas residuais provenientes de queijarias, após tratamento, permitiram o desenvolvimento de alfaces num sistema semi-hidropónico e que no final de cada ciclo podem ser descarregadas no meio ambiente, resolvendo-se, desta forma, um problema preocupante, que é o da grande quantidade de subprodutos de queijarias, que são descarregados no meio ambiente, sem tratamento, constituindo uma grande fonte de poluição.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos e nas condições de realização dos ensaios, é possível retirar as seguintes conclusões.

Com a utilização da solução nutritiva denominada SNAS, o peso fresco e o peso seco da parte aérea obtiveram valores mais altos com o substrato de perlite.

Quando se utilizou a solução nutritiva SNART, os pesos fresco e seco da parte aérea, o número total de folhas e o diâmetro do repolho apresentaram os valores mais elevados no substrato de fibra de coco, talvez por se tratar do substrato a com maior capacidade de retenção de água e conseqüentemente maior capacidade de reter nutrientes.

A argila expandida, de acordo com os resultados obtidos, não é um substrato adequado para o cultivo em semi-hidroponia, comparativamente com a fibra de coco e a perlite.

O sistema hidropónico NFT com a cultura da alface revelou ter uma dupla ação, para além das plantas retirarem os nutrientes em quantidade suficiente para se desenvolverem, funcionou como um sistema de afinação da SNART, para que esta pudesse ser descarregada no meio ambiente no final de cada ciclo, sem causar poluição.

Referências

- Batista, L. M. M. (2010). Construção e instalação de zonas húmidas para tratamento de efluentes de aquacultura Disponível em: <http://www.repository.utl.pt>. Consultado a: 25/01/2016;
- Carneiro Jr., A.G.; Seno, S.; Ferreira Filho, H.F. Avaliação de cinco diferentes substratos para o cultivo de pepino fora do solo. Horticultura Brasileira. Brasília.
- Cometti, N. N. (2003). Tese: Nutrição Mineral da Alface (*Lactuca sativa* L.) em Cultura Hidropônica – Sistema NFT. Disponível em: <http://www.niltoncometti.com.br>. Consultado a: 25/11/2016;
- Dawson, C.J. & Hilton, J. (2011). Fertiliser availability in a resource-limited world: production and recycling of nitrogen and phosphorus. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Consultado a:30/11/2016.
- Farias, V. D. S, Sampaio, I. M. G., Gusmão S. A. L., (2011) Cultivo de rúcula em hidroponia NFT, submetido a diferentes substratos de produção de mudas e densidades de sementeira. Disponível em:<http://www.proped.ufra.edu.br>. Acedido a: 15/01/2015.
- Fasciolo, G.E., Meca, M.I., Gabriel, E., Morábito, J. (2002). Effects on crops of irrigation with treated municipal wastewaters. Water Science and Technology Disponível em: <http://www.iwaponline.com>. Consultado a: 30/11/2016.
- Genúncio G. C.; Majerowicz N.; Zonta E.; Santos A. M. Gracia D.; Ahmed C. R. M; Silva M. G. (2006). Crescimento e produtividade do tomateiro em cultivo hidropônico NFT em função da concentração iônica da solução nutritiva. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Consultado a: 20/01/2015.
- Jiménez-Cisneros, B. (1995). Wastewater reuse to increase soil productivity. Water Science and Technology. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Consultado a: 30/11/2016.
- Jiménez-Cisneros, B. (1995). Wastewater reuse to increase soil productivity. Water Science and Technology. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>. Consultado a: 30/11/2016.
- Pereira, L.S., Oweis, T., Zairi, A. (2002). Irrigation management under water scarcity. Disponível em: <http://www.researchgate.net>. Consultado a: 30/11/2016.
- Rodrigues, M. B. Vilas Boas, M. A., Sampaio, S.C., Reis, C. F. Gomes, S. D. (2011). Efeitos de fertirrigações com águas residuárias de laticínio e frigorífico no solo e na produtividade da alface. Disponível em: <http://www.periodicos.ufra.edu.br>. Consultado a: 30/11/2016.
- Sandri, D., Matsura, E. E., Testezlaf, R. (2007). Desenvolvimento da alface Elisa em diferentes sistemas de irrigação com água residuária. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental;
- Smiderle, O. J.; Salibe, A. B.; Hayashi A. H.;Minami K. (2001) Produção de mudas de alface, pepino e pimentão em substratos combinando areia, solo e Plantmax. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acedido a: 15/01/2015.

Quadros e Figuras**Quadro 1** – Efeito do substrato nos pesos fresco e seco da parte aérea (SNAS)

Substratos	Peso fresco da parte aérea (g)	Peso seco da parte aérea (g)	Diâmetro do repolho (cm)
Argila expandida	94,2 c	5,1 c	26,1 b
Perlite	142,0 a	7,2 a	28,2 a
Fibra coco	133,5 b	6,4 b	28,8 a

Quadro 2 - Teores médios de potássio, fósforo, enxofre e boro na parte aérea da alface (SNAS).

Substratos	P (%)	K (%)	S (%)	B (mg kg ⁻¹)
Argila expandida	0,74	6,83	0,22	21,83
Perlite	0,75	6,55	0,21	22,31
Fibra de coco	0,87	6,61	0,14	21,55

Quadro 3 – Efeito do substrato nos pesos fresco e seco da parte aérea, nº de folhas e diâmetro de repolho (SNART).

Substratos	Peso fresco da parte aérea (g)	Peso seco da parte aérea (g)	Número de folhas	Diâmetro do repolho (cm)
Argila expandida	30,3 c	3,2 c	17,1 c	18,4 c
Perlite	61,8 b	6,3 b	25,2 b	21,9 b
Fibra de coco	118,8 a	9,5 a	28,7 a	26,7 a

Quadro 4- Caracterização da SNAS à entrada e saída do sistema e a % de remoção.

Parâmetros Analisados	SNAS entrada (valores médios)	SNAS saída (Valores médios)	% Remoção
Nitratos (mg L ⁻¹)	111,1	88,7	20,2
Nitritos (mg L ⁻¹)	0,0	0,4	—
Azoto Amoniacal (mg L ⁻¹)	20,3	10,3	49,3
Cloretos (mg L ⁻¹)	36,5	43,8	—
Cálcio (mg L ⁻¹)	157,0	144,9	8,3
Fosfatos (mg L ⁻¹)	9,5	4,6	51,6
Sódio (mg L ⁻¹)	110,5	49,1	55,6
Potássio (mg L ⁻¹)	135,1	66,8	50,6

Quadro 5- Variação de parâmetros da SNAS à entrada e saída do sistema.

Parâmetros Analisados	SNAS entrada (valores médios)	SNAS saída (valores médios)	Varição dos parâmetros
pH	7,3	7,8	+ 0,5
Condutividade (mS cm ⁻¹)	1,6	1,5	- 0,1
CQO (mg L ⁻¹ O ₂)	38,8	55,5	—
Potencial Redox (mV)	113,4	111,4	- 2
SAR	5,6	2,5	- 3,1

Quadro 6- Caracterização da SNART à entrada e saída do sistema e a % de remoção.

Parâmetros Analisados	SNART entrada (valores médios)	SNART saída (valores médios)	% Remoção
Nitratos (mg L ⁻¹)	8,1	3,8	53,1
Nitritos (mg L ⁻¹)	0,2	0,1	50,0
Azoto Amoniacal (mg L ⁻¹)	19,8	4,3	78,3
Cloretos (mg L ⁻¹)	331,8	291,7	12,1
Cálcio (mg L ⁻¹)	90,2	121,7	—
Fosfatos (mg L ⁻¹)	0,6	1	—
Sódio (mg L ⁻¹)	229,5	194,7	15,2
Potássio (mg L ⁻¹)	128,1	74,6	41,8

Quadro 7- Variação de parâmetros da SNART à entrada e saída do sistema.

Parâmetros Analisados	SNART entrada (valores médios)	SNART saída (valores médios)	Varição dos parâmetros
pH	7,4	7,7	+ 0,3
Condutividade (mS cm ⁻¹)	1,7	1,4	- 0,3
CQO (mg L ⁻¹ O ₂)	65,9	50,1	- 23,9
Potencial Redox (mV)	67,3	97,1	+ 29,8
SAR	16,1	9,9	- 6,2

Quadro 8 – Comparação da SNAS e SNART à saída do sistema com DL 236/98.

Parâmetros Analisados	SNAS saída (valores médios)	SNART saída (valores médios)	Água de rega (DL 236/98) VMR	Água de rega (DL 236/98) VMA	Descarga de águas residuais (DL 236/98) VLE
pH	7,8	7,7	6,5-8,4	4,5-9,0	6,0-9,0
Condutividade (mS cm ⁻¹)	1,5	1,4	1	-	-
Potencial Redox (mV)	111,4	97,1	-	-	-
Nitratos (mg L ⁻¹)	88,7	3,8	50	-	50
Nitritos (mg L ⁻¹)	0,4	0,1	-	-	-
Azoto Amoniacal (mg L ⁻¹)	10,3	4,3	-	-	10
Cloretos (mg L ⁻¹)	43,8	291,7	70	-	-
Cálcio (mg L ⁻¹)	144,9	121,7	-	-	-
Fosfatos (mg L ⁻¹)	4,6	1	-	-	10
Sódio (mg L ⁻¹)	49,1	194,7	-	-	-
Potássio (mg L ⁻¹)	66,8	74,6	-	-	-
CQO (mg L ⁻¹ O ₂)	55,5	50,1	-	-	150
SAR	2,5	9,9	8	-	-

VMR – Valor máximo recomendado

VMA – Valor máximo admissível

VLE – Valor limite de emissão

Overview of greenhouse horticulture in Portugal: technology and environment

Costa, J.M.¹, Reis, M.², Palha, M.G.³, Passarinho, J.A.³, Carvalho, S.M.P.⁴, Almeida, D.¹, Nunes L.² & Ferreira, M.E.³

¹LEAF - Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food, Instituto Superior de Agronomia, ULisboa, Tapada da Ajuda, Lisboa, Portugal, miguelcosta@isa.ulisboa.pt, dalmeida@isa.ulisboa.pt

²Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 8005-139 Faro, Portugal, mreis@ualg.pt, lnunes@ualg.pt

³INIAV, I.P. Av. República, Nova Oeiras, Oeiras, 2784-505 Oeiras, Portugal, graca.palha@iniav.pt, jose.passarinho@iniav.pt, elvira.ferreira@iniav.pt

⁴Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua Campo Alegre, 687, 4169-007 Porto, Portugal, smcarvalho@porto.ucp.pt

Abstract

Total greenhouse production area in Portugal is about 3,000 ha with a tendency for expansion, and tomato is the most important greenhouse crop. Protected cultivation in Portugal modernized in recent decades but remains heterogeneous in terms of technology, yields and management. The sector organizational structure and technological trajectory is characterized by increased greenhouse area per grower and higher volume/covered area ratio, and soilless cultivation has expanded. Therefore, less expensive alternatives may arise as the common solution for the sector. Most of the greenhouse area (about 75%) corresponds to single and multiple plastic tunnels with semi automatic or automatic climate control. The use of glasshouses with fully controlled environment remains minor, due to the high costs of equipment, energy consumption, and limited expertise and technical support for local conditions.

Greenhouse horticulture has an undesirable environmental impact which must be properly monitored and minimized, while guaranteeing its socio-economic benefits. In addition, there is more strict environmental EU legislation and stakeholders are more informed which puts pressure on the greenhouse industry in order to use more efficiently resources and minimize its environmental impact. However, the Portuguese sector still lacks relevant quantitative information and standards on performance indicators, e.g. resource use efficiency (e.g. water, energy) and related economic/environmental performance. A SWOT analysis is presented for the most important greenhouse production areas in Portugal and guidelines are suggested for more competitive and environmental sustainable greenhouse production.

Keywords: Mediterranean, protected cultivation, sustainability, water use, SWOT.

Protected cultivation geography and labour

In the beginnings of the 1970's there were about 100 ha of greenhouses in Portugal, mostly localized in Algarve (south of Portugal). Nowadays, the total area is estimated to be around 3,000 ha. About 70% of this area is used to grow fruits and vegetables (F&V) and the remaining area to ornamentals. The three most important production regions are Lisbon and Tagus valley (LTV), Algarve, and the North (Entre Douro & Minho). Vegetable production is concentrated in the LTV region and in Algarve. Tomato, lettuce, small fruits (e.g. strawberry and raspberry), melon, and green beans are the most relevant F&V. Ornamentals (mainly cut-flowers) are produced in LTV region

(e.g. Montijo, North, and Alentejo (Odemira)). Carnation, rose, and gerbera are the most important ornamental crops. The horticulture sector is based on small farm units (< 1 ha), family owned and operated with low degree of specialization (several crop species) and limited economic resources. The largest greenhouse enterprises are mostly located in south Portugal, and are highly focused on exporting. Just like other agricultural sectors, the unqualified work is paid at 3-5 €/hour depending on the region which is still competitive as compared to EU countries but not with countries like Morocco (about 1€/hour). The recent trend, consists in the use of immigrant labour (e.g. from Ukraine, Romania, Thailand and Brazil) to compensate labour shortage and the limited attractiveness of the activity by locals.

Greenhouse technology evolution

Low cost greenhouse structures and technologies were commonly used in the 1960's, in the Algarve, where environmental conditions were highly favourable (Table 1), and also in the region south of Lisbon (Montijo). Chapel type greenhouses, with wooden structure with lateral ventilation, alone or combined with roof windows and a plastic film cover were used. Sector's evolution involved the increasing use of steel structures in combination with the slow expansion of greenhouse area to the north. A large expansion occurred in the mid 1980's concomitantly with Portugal join the EU. Chapel type wooden greenhouses, were progressively replaced by single and multiple span plastic film structures (Meneses & Castilla, 2009; Meneses 2011). Nevertheless, old greenhouses type still persists in Algarve and LTV accounting about 10% of the protected cultivated area. Currently, single or multi-span tunnels plastic greenhouses represent more than 75% of the greenhouse area (Costa et al., 2012).

The last decade has been characterized by an increase in the greenhouse area per grower, more modern greenhouses, higher yields, and larger use of soilless cultivation. Glass covered greenhouses area is minor due to high installation costs (100-120 €/m²) which is 5-10 times larger than 10-20 €/m² for a multi-tunnel with a metal structure) (table 2). Recent projects promoted by both foreign and Portuguese investors near Lisbon (e.g. Alcochete) and in Alentejo (e.g. Odemira) have adopted glasshouse technology and there are plans for the expansion of about 180 ha in Alentejo, near Odemira, mainly for berry production, with emphasis on raspberry. In Algarve, berries are being produced in modern 6 m high plastic greenhouse structures, whereas in the Ribatejo & Oeste, lettuce is cultivated in floating system. Unfortunately, most of the modern technology (structures, climate control systems, pesticides, substrates, fertilizers, know-how) supporting these investments, is imported, and there is in some cases a limited incorporation of national added value. However, the number of Portuguese companies specialized in greenhouse equipment that start competing in the international market has increased, although in some areas there might be limitations regarding assistance to glasshouse systems.

Some Portuguese companies produce substrates (namely for pot plant production and for berries) and are actively exporting. These companies may also take advantage of the expansion and modernization of the greenhouse sector attending to the fact that fertigation and drip irrigation become more generalized and soilless cultivation tends to increase to overcome soil limitations (low fertility, high salinity, and soil borne diseases). The use of substrates is estimated to reach 10% of the total greenhouse area, with particular incidence in Algarve and LTV regions. The use of active environmental control, artificial lightning and carbonic fertilization is not significant. Heating is almost exclusively applied to cut flowers production (e.g. rose, gerbera) to guarantee quality during the winter period and also in plant nurseries, attending to the high costs of energy and heating equipment. Energy costs vary from 2.5-15 €/m², depending on the heating

system and on the temperature inside and outside of the greenhouse (Meneses & Baptista, 2009). Heating with natural gas costs around 1/3 of heating with diesel (Baptista et al., 2012). The use of thermal and light screens also follows the most modern structures and is commonly used in nurseries. There is a large dependency (if not a total one) on foreign suppliers of starting material (e.g. cuttings or “stentings” for cut-roses and seeds for vegetables). In short, the Portuguese greenhouse cluster is still small and quite unbalanced, with very limited national capacity of technology supply.

Trends in the environmental impact

Intensive horticulture involves the intensive use of energy, water, biocides, nutrients (use and runoff) and the production of large amounts of organic (e.g. crop residues) and inorganic residues (e.g. cover plastics, mulching films or inorganic substrates) (Costa and Heuvelink, 2000; Costa et al., 2014; 2017; FAO, 2013; Andrade et al., 2014; Van Ruijven et al., 2014; Quintas-Soriano et al., 2016). Protected cultivation can optimize crop water use efficiency and minimize run-off (Stanghellini, 1988). However, the deficient control of irrigation and fertilization practices combined with high evapotranspiration typical of dry and hot climate of southern Europe (e.g. Portugal, Spain, Italy) may favour situations of over-irrigation and consequent overexploitation (and pollution) of aquifers (EEA, 2009; WWF, 2009). Predicted climate changes will exacerbate this problem in the southern Europe due to the increases in air temperature and decrease in rainfall (EEA, 2012). Water prices tend to increase, as policy measures are adopted to rationalize its use. Meanwhile, the amount of extracted groundwater is not properly monitored. This practice will become unsustainable on the medium-long term in southern regions like Algarve or Alentejo, due to their dryer and warmer conditions and increased competition for water resources with other sectors like tourism, especially during the summer.

Rules to control soil and water pollution with nitrates involved the creation of nine vulnerable areas located in different regions under the scope of the EU-Water Directive. However, the region of Odemira in Alentejo should be classified as another vulnerable area attending to the intensive greenhouse horticultural production.

The use of greenhouse closed cultivation systems in Portugal is limited and is being implemented only in recent projects. However, the problem of inaccurate management and related run-off nutrient solutions is common in intensive horticulture in the Mediterranean countries (Muñoz et al., 2012) and needs better control to avoid soil and ground water pollution. Recycling of plastic, crop residues and substrates should be considered by Portuguese growers and authorities to minimize the environmental impact of greenhouse horticulture. The EU Waste Framework Directive from 2008 emphasizes the need to improve management of substrate residues (e.g. improving the reuse) and reduce the volume of substrate used per plant/crop (Diara et al., 2012). Cogeneration has still a minor use. Recently a partnership between a Portuguese energy company and a growers association permitted to install a new large cogeneration unit in Oeste (north of Lisbon). Integrated pest management is increasing, and the improved quality of greenhouse structures facilitates this practice.

The method of life cycle assessment (LCA) has been the preferred method to quantitatively compare greenhouse against field production (Roy et al., 2009). LCA accounts for many quantifiable externalities of agriculture, including climate change (emission of greenhouse effect gases), stratospheric ozone depletion, photochemical ozone formation, acidification of water bodies, nutrient enrichment human toxicity via air, soil and water, and ecotoxicity. However, waste production is seldom included in the analysis (Bernstad et al., 2016), therefore under accounting the production of vegetable

waste, greenhouse plastic and chemical containers. Also, LCA lacks in spatial and temporal depth, and is unable to assess sufficiently some environmental impact categories such as biodiversity, land use etc. and most economic and social impact categories, including food security, water security, energy security (Arodudu et al., 2017), and visual impacts (Rogge et al., 2008).

Greenhouse production compares favourably in most LCA inventory (consumption) categories per unit produced (Almeida et al., 2012; Page et al., 2012), namely, for fertilizer consumption, active pesticides, water requirements, and fuel consumption. Given the much higher productivity of greenhouse systems (kg/m^2), its consumption per square meter of occupied land is higher, though.

In what regards the impacts, the results are mixed, being the magnitude of the impacts mostly dependent on type of production system and operational variables (Page et al., 2012; Bartzas et al., 2015). For instance, Page et al. (2012) found high-tech greenhouses to have a larger carbon footprint, per kilogram of tomato produced (mostly due to heating requirements) than medium and low-tech greenhouses and of field production. On the other hand, the water footprint was comparable to that of field production, but much lower than medium and low-tech greenhouses. Opposite results were found when comparing field production and greenhouse in Spain and Italy (Bartzas et al., 2015)

Modernization of the greenhouse management together with the implementation of closed fertigation systems, especially in large production areas and better territorial planning, may help to minimize many of the environmental impacts of the sector, though a casuistic approach should be used when deciding for alternative production systems, balancing economic and environmental aspects.

Marketing and agro-logistics

Only 10% of the production value results from grower's organizations, in contrast with an average of 30% in the EU (MADRP-GPP, 2008; 2009), reflecting a poor commercial organization of the upstream supply chain operators. The number of growers associations is excessive (e.g. 898 agricultural cooperatives and 133 agricultural finance cooperatives), weakening the bargaining position of growers and restricting their contribution towards the improvement of governmental policies. Marked changes occurred in the retailing sector with the introduction of modern distribution in the mid 80's (super and hypermarkets). The market of ornamentals was characterized by the expansion of garden centres, florists and open-markets. Flower bunches are also starting to be sold in the super and hypermarket.

In parallel, the agro-logistics have experienced a deep transformation to support the activity of the large retailers and the exporting companies. Several logistic platforms were installed near the large consumer centres (Lisbon, Oporto). Cooling stores have also expanded and modernized. However, the use of appropriate pre-cooling technologies remains limited, with most of the products being room cooled (e.g. flowers). Some large retailers have their own group of growers and also their own logistic structure. Others contract specialized logistic providers. This is particularly important when dealing perishable products like F&V. The large distribution "smashes" production prices. However, it is also a fact that only some few Portuguese growers can supply the large retailers, and even those, can find sometimes limitations to guarantee uniform quality of F&V along the year. In certain occasions, prices from French and Spanish growers can be more competitive than the Portuguese ones with regards to fruits and vegetables, respectively.

Prospects and strategies

A brief SWOT analysis for Portuguese greenhouse horticulture is shown in table 3. Portugal has strengths (climatic conditions, labour costs, investment prospects, etc.), but also some weaknesses that need to be overcome. One is the lack of up-to-date statistics, which affects negatively data availability for analysis. Statistical data must translate the specific characteristics of the sector and their publishing rate should be compatible with the changes occurring, namely in the cultivated area, technology, productivity, starting material, infrastructures, auxiliary industry and markets. Specific annual enquiries to cropping systems and biennial enquiries on the technological infrastructures, use of inputs (e.g. water, nutrients, energy) and financial data (input costs, selling prices) would provide useful information about the sector. This sector requires more qualified labour, and more professional organization at different levels of the production chain. Consolidation and scale are required at the production level, via larger grower associations with professional technical and commercial management, especially if the focus is to supply the large retailers and the exporting market. Nevertheless, small greenhouse operations can still coexist to supply proximity markets (e.g. small markets, open market places) with high quality products. In fact, direct sales from small farmers to the consumers should be promoted, as a way to (re)vitalize the local commerce either in the large or small cities.

Consumers are increasingly concerned with more environmental sustainable production, which involves strategies to minimize the impact on natural resources (Quintas-Soriano et al., 2016). This applies in particular to those areas or operations in more sensitive areas (e.g. Odemira, in Alentejo) or in the vulnerable areas, more prone to water and soil contamination by nitrates due to soil characteristics (e.g. Póvoa de Varzim in the north of Portugal, or the Campina de Faro in Algarve) (Costa et al., 2014). Optimized irrigation facilities, monitoring of soil and water quality or the recycling of nutrient solutions need to be seriously addressed in future investments, especially in the large scale projects and incorporated in new environmental legislation.

The private sector should be more involved in technological innovation but lacks the support of competitive research structures, with enough critical mass to cover the major areas of horticultural research (Almeida, 2012). Public and private research activities with more active participation of the bank sector can be envisioned. Most of the larger Portuguese growers still struggle to enter the international markets, but the case of foreign growers in the country, with deep knowledge of supply chains, may be spread as an example. The clusterization of the sector should be promoted to increase its competitiveness, at both the production and the related auxiliary industry. The greenhouse cluster in the Spanish region of Almeria (Aznar-Sánchez & Galdeano-Gómez, 2011) is an example, although at a quiet different scale from the Portuguese reality.

The acquisition of specialized competences in the F&V cluster by the agency to promote foreign trade and investment (AICEP) would benefit the sector. Since 2010, a new private association (PortugalFresh) was set up to promote Portuguese F&V and flowers, by presenting national products in different professional fairs of the sector. Increased competition from the greenhouse production in Morocco, where labour costs are low and the recent agreement with the EU will increase tomato imports and of other vegetables from that country. This is a matter of concern to south European greenhouse horticulture (CIHAM, 2012) although there are still limitations regarding logistics, road infrastructures and water resources in Morocco.

Acknowledgements

We acknowledge João Caço for supplying information.

Referencias

- Almeida, A. 2012. O desafio do conhecimento no sector das frutas, legumes e das flores. *Revista Frutas, Legumes e Flores*. Março 2012:42-47.
- Almeida, J., Achten, W.M.J., Verbist, B., Heuts, R.F., Schrevels, E. & Muys, B., 2014. Carbon and water footprints and energy use of greenhouse tomato production in Northern Italy. *J. Ind. Ecol.* 18:898-908.
- Andrade C.S., Palha M.G. & Duarte E., 2014. Biodegradable mulch films performance for autumn-winter strawberry production. *Journal of Berry Research* 4:193-202.
- Arodudu, O., Helming, K., Wiggering, H. & Voinov, A., 2017. Towards a more holistic sustainability assessment framework for agro-bioenergy systems? A review. *Environ. Impact Assess. Rev.* 62:61-75.
- Aznar-Sánchez J. & Galdeano-Gómez E. 2011. Territory, Cluster and Competitiveness of the Intensive Horticulture in Almeria (Spain). *The Open Geography Journal*, 4:103-114.
<http://repositorio.ual.es/jspui/bitstream/10835/368/1/TOGEOGJ2011F.pdf>.
- Baptista, F.J., San Jose, E., Guimarães, A.C., Navas, L.M. & Meneses, J.F. 2012. Greenhouse energy consumption for rose production in different regions of Portugal: importance of set-point definition and energy use. *Acta Hort.* 927:123-129.
- Bartzas, G., Zaharaki, D. & Komnitsas, K., 2015. Life cycle assessment of open field and greenhouse cultivation of lettuce and barley. *Inf. Process. Agric.* 2:191-207.
- Bernstad, A.K., Cánovas, A. & Valle, R., 2016. Consideration of food wastage along the supply chain in lifecycle assessments: A mini-review based on the case of tomatoes. *Waste Manag. Res.* 35:29-39.
- CIHAM. 2012. Press review. Current Events in Euro-Mediterranean Agriculture, Food and Environment March 2012.
- Costa, J.M. & Heuvelink, E. (eds.). 2000. Greenhouse horticulture in Almeria (Spain): A report on a study tour 24-29 January 2000. HPC Group, Wageningen Univ., NL.
- Costa, J.M., Palha, M.G., Ferreira, M.E., Vargues, A. & Almeida, D.P.F. 2012. Protected Cultivation in Portugal: an Investment for the 21st Century? *Acta Hort.* 927:139-148.
- Costa, J.M., Reis, M., Passarinho, J.A., Palha, M.G., Carvalho, S.M.P. & Ferreira, M.E. 2014. Sustentabilidade sócio-ambiental da horticultura protegida em Portugal. In: "VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas: Innovar y Producir para el Futuro" (F.G.UPM, ed.), Madrid, pp 1805-1810.
- Costa, J.M., Reis, M., Passarinho, J.A., Ferreira, M.E. & Almeida, D.P.F. 2017. Microeconomic and environmental sustainability of Portuguese greenhouse horticulture: a critical assessment. *Acta Hort.* (in press).
- Diara, C., Incrocci, L. & Pardossi, A. 2012. Reusing greenhouse growing media. *Acta Hort.* 927: 793-800.
- EEA 2009. Water resources across Europe - confronting water scarcity and drought. European Environment Agency, Report No 2/2009, ISSN 1725-9177.
- EEA 2012. Towards efficient use of water resources in Europe. European Envir. Ag., 2012. <http://www.eea.europa.eu/publications/towards-efficient-use-of-water>.
- EU 2009. Agricultural Policy Perspectives. Member States factsheets 2009-Portugal, 12p.
- FAO 2013. Good Agricultural Practices for greenhouse vegetable crops Principles for Mediterranean climate areas. FAO Plant Production and Protection Paper. <http://www.fao.org/docrep/018/i3284e/i3284e.pdf>

- MADRP-GPP 2008. Estratégia nacional para programas operacionais sustentáveis de organizações de produtores de frutas e produtos hortícolas. http://www.gpp.pt/MA/PO_FH/Estrategia_Nacional_HF.pdf
- MADRP-GPP 2009. National Strategic Plan Rural Development 2007-2013. http://www.gppaa.min-agricultura.pt/drural/PEN_Novembro_2009_EN.pdf
- Meneses, J.F. & Baptista, F.J. 2009. Improving greenhouse heating in Portugal. *Acta Hort.* 893:209-216.
- Meneses, J.F. & Castilla, N. 2009. Protected cultivation in Iberian horticulture. *Chron. Hortic.* 49 (4):37-39.
- Meneses J.F. 2011. Estufas e abrigos na Península Ibérica: situação actual e perspectivas futuras. *Revista da APH*, 67:31-35.
- Muñoz, P., Paranjpe, A., Montero, J.I. & Antón, A. 2012. Cascade crops: an alternative solution for increasing sustainability of greenhouse tomato crops in Mediterranean zone. *Acta Hort.* 927:801-805.
- Page, G., Ridoutt, B. & Bellotti, B. 2012. Carbon and water footprint tradeoffs in fresh tomato production. *J. Clean. Prod.* 32:219-226.
- Quintas-Soriano, C., Castro, A.J., Castro, H., & Garcia-Llorente, M. 2016. Impacts of land use change on ecosystem services and implications for human well-being in Spanish drylands. *Land Use Policy* 54:534-548.
- Rogge, E., Nevens, F. & Gulinck, H., 2008. Reducing the visual impact of “greenhouse parks” in rural landscapes. *Landsc. Urban Plan.* 87:76-83.
- Serviço Meteorológico Nacional 1965. O Clima de Portugal. Fascículo XXIII, Lisboa.
- Stanghellini, C. 1988. Microclimate and transpiration of greenhouse crops. *Acta Hort.* 229:405-414.
- Van Ruijven, J.P.M., Van Os, E.A., Van der Staaij, M. & Beerling, E.A.M. 2014. Evaluation of Technologies for Purification of Greenhouse Horticultural Discharge Water. *Acta Hort.* 1034:133-140.
- WWF 2009. Water footprint for Portugal. WWF Mediterranean 2010. 33pp. http://assets.panda.org/downloads/water_footprint_portugal2010.pdf (Accessed on 20 July 2010).

Tables and Figures

Table 1 - Climate data for some relevant regions in Portugal and other foreigner competitors (Spain, The Netherlands and Morocco).

Country/Region	City/Town	T (°C) (min. Jan)	T (°C) (max. Aug)	RH (%) (Aug)	Frost (n.days)	Insolation (n. hours/year)	Rain (mm)
Portugal ¹							
Algarve ¹	Faro	9.0	24.0	63	1	3158	453
	Tavira	7.0	29.8	60	5	3135	545
Alentejo (coast)	Zambujeira Mar	6.0	19.5	72-88	6	2550	---
	Alcácer do Sal	4.7	28.0	67	32	2907	589
Lisbon-Tejo Valley (Oeste)	Montijo *	6.0	28.0	70-75	20-30	>2900	---
	Lisboa	7.4	29.2	70	2	2788	694
	Caldas Rainha	6.6	23.8	78	16	2457	608
	Dois Portos	4.9	27.0	74	20	2486	596
Centre	Figueira Foz	6.6	22.9	85	0	2627	627
	Mira	5.2	24.1	78	32	---	1003
North	Póvoa Varzim	6.0	23.0	72-80		2390	---
	Porto	4.9	23.3	79	4	2427	1110
	Santo Tirso	3.7	28.5	70	11	2384	1337
Spain ²	Almeria	8.0	31.0	64	---	2972	196
The Netherlands ³	Rotterdam	1.0	22.0	---	---	1542	815
Morocco	Agadir	7.9	26.1	---	---	3037	292

Sources: ¹Serviço Meteorológico Nacional (1965); <http://www.meteo.pt/>.
^{2,3}<http://www.climatedata.eu/climate>, accessed at 22/05/2012; ^{2,3}Costa and Heuvelink (2000).

Table 2 - Non exhaustive characterization of the main structures used in greenhouse cultivation in Portugal and related technology, prices and trends.

Type of structure	Regions	Ventilation	Heating	Cogeneration	Cost (€/m ²)	Automation	Future trend
Tunnel (no vertical walls)	all	none or lateral	no	no	3-8	no	↓
Chapel type (low wood)	Algarve	lateral windows	no	no	6-8	no	↓
Chapel type, wood	LTV (Montijo)	lateral and permanent (roof)	no	no	8-10	for some crops	↓
Chapel type (wood and steel)	Centre	lateral and permanent (roof)	possible	no	10-12	for some crops	→
Multi-span (steel light structure)	all	lateral and/ or roof	yes	no	10-15	yes	↑
Multi-span (steel heavy structure)	all	lateral and/ or roof	yes	possible	15-20	yes	↑
Venlo type (glass, fully equipped)	all	roof	yes	possible	100-120	yes	→

Table 3 - Summarized SWOT analysis for the Portuguese greenhouse horticulture.

Strengths	Weaknesses
<ul style="list-style-type: none"> • Climate (mild winters) • Land price • Labour cost • Transportation infrastructure 	<ul style="list-style-type: none"> • Lack of robust and up-to-date statistics • Labour availability • Know-how/Education level of players, technical-scientific capacity • Technical skills and limited use of diagnosis tools (soil and plant analysis) • Weak organization (growers and markets) • Credit for investment • Legislation/bureaucracy • Monitoring and law enforcement • Environmental impact (pollution, in particular in vulnerable areas and Natural Parks)
Opportunities	Threats
<ul style="list-style-type: none"> • Increasing demand/quality • Investment prospects (private and public) • Agricultural education programs/facilities • Portuguese market and the need of food security • North European market (lettuce, tomato, small fruits) • Modernization of structures is needs 	<ul style="list-style-type: none"> • Foreign competition (Spain, North Africa) • Education, lack of professionalization • Appropriation of added value by the distribution • Pressure of urban areas (Ribatejo & Oeste, Algarve) • Climate change

Uso de casca de amêndoa como substrato para cultivo de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Saxa)

Ivo Oliveira¹, Anne Meyer², Rita Silva³, Sílvia Afonso¹, Berta Gonçalves¹

¹ Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas - CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. ivo.vaz.oliveira@utad.pt; safonso@utad.pt; bertag@utad.pt

² Dept. of Chemical and Biochemical Engineering (DTU Chemical Engineering), Technical University of Denmark (DTU), DK-2800 Lyngby, Denmark. am@kt.dtu.dk

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. rita.oliveiraesilva@gmail.com

Resumo

Na cultura da amendoeira, o principal subproduto é a casca da amêndoa, material até agora sem uso economicamente importante, sendo geralmente incinerado ou descartado sem controlo. No entanto, devido à enorme quantidade deste resíduo produzido a cada ano, há um elevado interesse em encontrar usos alternativos e que permitam a valorização deste subproduto. Assim, o objectivo deste trabalho foi avaliar a incorporação de casca de amêndoa em substratos para o cultivo de feijão verde (cultivar Saxa). Para isso, testaram-se três substratos distintos: mistura de perlite e turfa (1/3:2/3, como substrato controlo – PT); mistura de casca de amêndoa e turfa (20%:80% – CT) e usando a casca de amêndoa como cobertura do substrato controlo – CC), usando dois níveis de irrigação, 50% ou 100% da capacidade de campo (apenas para PT e CT). O ensaio foi efectuado em câmara de crescimento, avaliando-se características das vagens e seus parâmetros bioquímicos, nomeadamente pigmentos, fenóis totais e actividade antioxidante, açúcares solúveis e proteínas. O uso de CC resultou em dimensões semelhantes de vagens, quando comparado a PT, com quantidades semelhantes de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e açúcares solúveis e proteínas. Por outro lado, os dados de CT indicam um aumento significativo no teor de carotenoides. Estes resultados indicam que a casca de amêndoa poderá ser utilizada em substratos para cultivo de feijão-verde, misturada com turfa ou como cobertura vegetal.

Palavras-chave: casca de amêndoa; substratos; feijão-verde; caracterização morfológica; parâmetros bioquímicos.

Abstract

Use of almond shell as substrate for bean cultivation (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Saxa)

In the almond industry, the major by-product is the shell, a material that has no economically important use, being usually incinerated or discarded with no control. However, due to the quantities of this residue produced, there is great interest in finding alternative uses to it. Hence, the objective of this work was to study the effect of the use of almond shell, in a mixture of 20% shell and 80% peat (CT), or used as mulch (CC) on top of the control (PT) substrate, that was composed of 33.3% of vermiculite and 66.6% of peat, using low and well watering conditions (50% or 100% of field capacity) on green bean plant cultivated in a growth chamber. Evaluated parameters included green bean pod production and characteristics and their biochemical parameters, namely pigments, total phenolics and antioxidant activity, soluble sugars and proteins. The use of CC resulted in similar production and dimension of pods, when compared to the control assay, with

comparable amounts of phenolic compounds, antioxidant capacity and soluble sugars and proteins. By other hand, the data from the CT mixture indicates a significant increase of the carotenoid content, compared to the control substrate. These results indicate that almond shell has some potential to be added to growing medium for green bean cultivation, used mixed with peat, or as a mulch.

Keywords: almond bark; substrates; string beans; morphological characterization; biochemical parameters.

Introdução

A cultura da amendoeira (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) é uma atividade importante nas regiões temperadas do mundo, com os dados mais recentes a indicar uma produção superior a 2,9 milhões de toneladas (FAO, 2016). O principal valor económico deste fruto vem da comercialização do miolo, rico em compostos bioactivos, incluindo vitaminas e minerais (Shahidi et al., 2008). No entanto, o miolo representa uma pequena parte da amêndoa (geralmente menos de 30%), sendo o restante representado pela casca, o que resulta na produção de uma grande quantidade de resíduos (Ledbetter, 2008). A casca é composta principalmente por celulose, hemicelulose e lenhina (Valverde et al., 2013), e pode ser incinerada, utilizada como substrato para a produção de xilose (Poullinas et al., 1990), ou fraccionada em celulose, pentosanos e lenhina (Martinez et al., 1995). Além disso, foram sugeridos vários outros usos, nomeadamente como adsorvente para metais pesados ou corantes, para a preparação de carvões activados, antioxidantes dietéticos e como meio de cultura (Esfahlan et al., 2010). Alguns estudos anteriores indicam a utilização da casca de amêndoa como substrato para o cultivo de plantas, ornamentais ou hortícolas (Lao & Jiménez, 2004a; Urrestarazu et al. 2008). No entanto, tanto quanto sabemos, não existem trabalhos disponíveis sobre o uso de casca de amêndoa como substrato para cultivo de feijão verde. O feijão verde (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das culturas protegidas mais importantes do mundo, sendo amplamente cultivado nos países mediterrâneos, embora ainda pouco estudado em condições de cultura hidropónica ou em substratos (Bouchaaba et al., 2015). Deste modo, este trabalho pretende avaliar a possibilidade de utilização de casca de amêndoa como substrato de cultura ou cobertura para o cultivo de feijão verde. Para tal, foram avaliadas a produção, características das vagens e parâmetros bioquímicos de feijão verde cultivado em vários substratos com incorporação de casca de amêndoa e com diferentes condições de irrigação ".

Material e Métodos

Substratos

Foram preparados três substratos, com diferentes proporções volumétricas, para analisar o efeito da casca de amêndoa no cultivo de feijão verde. O substrato de controlo (PT) foi constituído por 33,3% de vermiculite e 66,6% de turfa. O substrato com incorporação de casca de amêndoa (CT) era composto por uma mistura de 20% de casca e 80% de turfa (Lao & Jiménez, 2004b). As cascas de amêndoa também foram usadas como cobertura (CC) do substrato controlo, que, neste caso, foi coberto com 1 cm de casca de amêndoa. Em todos os tratamentos contendo casca de amêndoa, os fragmentos de casca variaram de 0,5 a 2 cm, e foram obtidas por britagem manual, usando um martelo convencional. As amêndoas eram de diferentes cultivares tradicionais portuguesas, nomeadamente Amendoão, Bonita, Casanova, Pegarinhos e Refêgo, misturadas em proporções volumétricas iguais.

Condições de crescimento

O ensaio foi realizado com delineamento de blocos casualizados com cinco repetições para cada tratamento. Os vasos foram colocados aleatoriamente na câmara de crescimento, e cada tratamento foi arbitrariamente atribuído a um vaso. Feijão-verde pré-germinado e uniforme (sementes de cultivar *Phaseolus vulgaris* cultivar "Saxa") (um por vaso) foram colocados em vasos de plástico (13 cm de diâmetro, 12 cm de altura) contendo o respectivo substrato. Os vasos foram colocados em câmara de crescimento (FitoClima 10000 EHHF, Aralab), com condições controladas: 16h:8h luz: fotoperíodo escuro e 23°C e 18°C de temperatura, respectivamente, com densidade de fluxo fotónico fotossinteticamente ativo de 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ e uma humidade relativa de 75% durante o período de luz e 80% durante a noite. Os vasos foram regados uma vez por semana, com 50 ml de água da torneira, ou usando solução padrão de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950), 15 dias e trinta dias após o início do ensaio. Nesta data foram iniciadas duas condições de rega diferentes: 50% (R50) ou 100% da capacidade de campo (R100), uma vez por semana, utilizando água da torneira. Quinze dias após o início deste esquema de rega, foram aplicados 50 mL de solução padrão de Hoagland. Sessenta dias após o início do ensaio, foram avaliados o número total de vagens por plantas e foi realizada uma colheita de vagens. Foram recolhidas e avaliadas apenas as vagens visivelmente consideradas adequadas ao consumo. Para cada substrato e condições de rega, as vagens foram colhidas de cinco plantas homogêneas. As vagens de cada substrato e as condições de rega foram reunidas, congeladas em azoto líquido e armazenadas a -80 ° C até à análise.

Análises bioquímicas

Cada amostra previamente congelada (-80°C) foi pesada utilizando uma balança analítica, registando-se o seu peso. Para a quantificação de pigmentos fotossintéticos, as amostras foram maceradas em azoto líquido, realizando-se a extração com 80% (v/v) acetona/água destilada e seguindo os métodos espectrofotométricos de Sesták et al. (1971) e Lichtenthaler (1987), respectivamente, para clorofila (Cla e Clb) e carotenóides totais. As proteínas solúveis foram quantificadas por homogeneização das amostras em meio de extração, utilizando-se albumina de soro bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976). O teor de açúcares solúveis foi medido utilizando a metodologia de Irigoyen et al. (1992), por aquecimento (80 °C) de amostras em solução a 80% (v/v) de etanol/água destilada, durante 1 hora. Em seguida, foram misturados 0,2 mL do extrato anterior e 3 mL de antrona e colocados em banho-maria a 100°C, durante 10 minutos, usando-se a fração líquida para a quantificação dos açúcares solúveis, utilizando glicose como padrão. Para a quantificação do teor em compostos fenólicos, bem como para a avaliação da actividade antioxidante, foram usados os extractos obtidos para a quantificação de pigmentos fotossintéticos. Os compostos fenólicos foram quantificados usando o método de Folin-Ciocalteu (Tsao et al., 2003) com resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico. A actividade antioxidante foi avaliada utilizando os métodos do efeito bloqueador dos radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), poder antioxidante associado à redução de ferro - Ferric reducing activity (FRAP) e efeito sequestrante do radical Ácido 2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiozolino-6-sulfónico (ABTS•+), sendo os resultados expressos em μmol Trolox por g peso fresco (Huang et al., 2005).

Análise estatística

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão de cinco repetições, e os resultados apresentados em peso fresco (FW) de vagens de feijão verde. As diferenças entre médias foram determinadas por análise de variância (ANOVA), utilizando o software SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versão 19.0 (IBM Corporation,

Nova York, EUA). com ou sem correcção de Welch, dependendo se a exigência da homogeneidade das variâncias foi cumprida ou não. A comparação das médias foi realizada utilizando os testes de comparação múltipla de Tukey ou o teste de Dunnett T3, dependendo se as variâncias iguais poderiam ser assumidas ou não. Todos os testes estatísticos foram realizados a um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Produção e dimensões das vagens

Aos 60 dias de ensaio, verificaram-se diferenças significativas na produtividade das plantas, sendo que a utilização do substrato CT, em qualquer das condições de rega testadas, conduziu a uma produtividade mais baixa em do que com o substrato PT-R100 (quadro 1). Por outro lado, as plantas cultivadas no substrato CC apresentaram produção de vagens estatisticamente semelhante à registada nas plantas do ensaio controlo. Após a colheita das vagens visualmente consideradas adequadas ao consumo, observaram-se diferenças significativas causadas pelo uso de diferentes substratos, quanto ao peso das vagens, comprimento e número de feijões em cada vagem (quadro 1). Relativamente ao peso e comprimento das vagens foram observadas diferenças significativas apenas entre CT-R100 e os outros quatro substratos. De facto, no substrato CT-R100, as vagens apresentaram, pelo menos, 50% peso inferior e 25% menor comprimento. Ao analisar os resultados para o número de feijões por vagem, o substrato CT-R100 apresentou novamente o menor valor. No entanto, para este parâmetro, as diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas quando comparadas com os substratos PT-R50 e CC-R100, sendo semelhantes aos resultados obtidos para PT-R100 e CT-R50. Estes resultados terão sido obtidos, provavelmente, devido ao efeito causado pela incorporação da casca de amêndoa sobre as propriedades físicas do substrato. De facto, Lao & Jiménez (2004) mostraram que o uso de um substrato semelhante (20% de casca do mesmo tamanho aproximado do que o utilizado no presente trabalho - 0,5 a 2 cm e 80% de turfa), quando comparado com 33,3% de argila expandida e 66,6% de turfa, reduziu o conteúdo de ar no substrato, o que pode levar a problemas para a planta obter o oxigénio necessário para a atividade metabólica. Esses mesmos autores indicam que o substrato CT aumentou a condutividade eléctrica e reduziu a capacidade de troca catiónica para valores que podem ser restritivos para espécies com alta sensibilidade à salinidade, como o feijão verde (Pessaraki, 1999) ou fora dos limites recomendados para cultura em substrato.

Pigmentos fotossintéticos, açúcares solúveis e proteínas

A cor verde tem sido reconhecida como parâmetro de qualidade do feijão, tornando de grande importância a sua avaliação, nomeadamente a quantificação do teor de clorofila. A utilização de diferentes substratos resultou em variações significativas no teor de pigmentos fotossintéticos presentes nas vagens de feijão-verde (quadro 2). Para o teor de clorofila a, o substrato PT-R100 apresentou valores sempre menores, embora diferenças significativas só foram detectadas com PT-R50 e com CT-R100. O teor de clorofila pode ser considerado semelhante ao anteriormente referido em vagens de feijão-verde (Gross, 1991). Para a clorofila b, o substrato PT-R100 apresentou também a menor concentração. No entanto, diferenças significativas foram detectadas apenas com PT-R50. Um facto interessante é que no substrato PT-R100, uma maior presença de água levou a uma redução no teor de clorofila. Embora as condições de rega não possam ser descartadas como um factor que causou essas diferenças, sobretudo no substrato PT, pode haver outras explicações para esse fato: as vagens foram colhidas no estado de maturação ótimo podendo, no entanto, ocorrer pequenas diferenças entre as fases de desenvolvimento (não detectados na colheita), que poderão causar diferenças no teor de

clorofila de vagens de feijão verde (Martinez et al., 1995). Para o teor de carotenóides, as vagens colhidas das plantas controlo apresentaram os valores mais baixos, com CC-R100 apresentando um conteúdo estatisticamente similar. Por outro lado, houve um aumento considerável no teor de carotenóides nas vagens recolhidas a partir das plantas cultivadas em CT-R50 e CT-R100. Os valores registados nestas amostras são semelhantes aos que foram encontrados no estudo de Oruña-Concha et al. (1997). Este é um resultado muito interessante, uma vez que os carotenóides são compostos de interesse como precursores da vitamina A, mas também como antioxidantes biológicos, com efeitos protetores, nas células e nos tecidos, contra efeitos nocivos dos radicais livres e do oxigénio singlete (Maiani et al., 2009). O aumento do conteúdo de carotenóides em vagens de plantas cultivadas em substratos contendo casca de amêndoa pode estar relacionado a uma maior disponibilidade de nutrientes. De fato, López et al. (2014) encontraram maior teor de N e K no solo com cobertura de casca de amêndoa, e a presença desses nutrientes tem sido associada a um aumento no teor de carotenóides dos frutos (Fanasca et al., 2006). Além disso, provou-se que o uso de cascas de amêndoas aumenta a condutividade eléctrica de substratos e soluções nutritivas (Valverde et al., 2013; López et al., 2014), o que também pode levar a um aumento no teor de carotenóides (Krauss et al., 2006). A avaliação do conteúdo de açúcares solúveis e proteínas de vagens de feijão verde cultivadas nos diferentes substratos não resultou em diferenças significativas entre eles (quadro 2). Esses valores podem ser considerados semelhantes aos registados anteriormente com outras variedades de feijão verde (Singer et al., 2002), tendo sempre em conta as diferenças resultantes da variedade estudada. Além disso, pode-se esperar um aumento do teor de proteína de vagens de plantas que recebem uma quantidade maior de água, como previamente registado (Singer et al., 2002). No entanto, o referido trabalho foi realizado em solo arenoso, que como tem baixa capacidade de retenção de água, pode explicar os resultados que ocorrem com o aumento da rega das plantas.

Compostos fenólicos totais e actividade antioxidante

A quantificação do conteúdo fenólico total e a avaliação da atividade antioxidante das vagens de feijão verde cultivadas em diferentes substratos não apresentou variações significativas (quadro 3), com excepção do ensaio DPPH. Para o teor em fenóis totais, os valores variaram de $0,77 \pm 0,22$ mg GAE/g de peso fresco, nas vagens de PT-R50, para $1,00 \pm 0,24$ mg GAE/g, nas vagens do substrato CC-R100. Esses valores podem ser considerados semelhantes aos relatados anteriormente por outros trabalhos (Turkmen et al., 2005). No que diz respeito ao ensaio realizado com DPPH, os valores variam entre $3,10 \pm 1,28$ μ mol Trolox/g, em PT-R50 e o $4,46 \pm 0,66$ μ mol Trolox/g em CC-R100. Devido reduzida informação sobre a atividade antioxidante quantificada através deste método em vagens de feijão-verde, os nossos resultados parecem ser mais elevados do que os relatados por vários autores (Wolosiak et al., 20011) que indicam valores de atividade antioxidante inferiores. Tal pode estar relacionado com o fato das cultivares analisadas serem diferentes ou com o fato de existirem variações na extração e metodologia de quantificação.

Conclusões

Os presentes resultados indicam que a incorporação de casca de amêndoa em substratos para o crescimento de feijão verde é uma abordagem viável. Por um lado, o uso de uma cobertura de 1cm de casca de amêndoa não altera significativamente a produção e as dimensões das vagens, bem como o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante. Em contraste, o uso de casca de amêndoa misturada com turfa, embora resultando em produtividades mais baixas, parece aumentar a quantidade de carotenóides

presentes em vagens de feijão verde. Isto pode abrir a possibilidade de uma otimização adicional como método para aumentar a presença destes compostos importantes bioactivos nas vagens de feijão-verde.

Referências

- Bouchaaba, Z., Santamaria, P., Choukr-Allah, R., Lamaddalena, N. & Montesano, F. 2015. Open-cycle drip vs closed-cycle subirrigation: Effects on growth and yield of greenhouse soilless green bean. *Scientia Horticulturae* 182:77-85.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry* 72:248-254.
- Esfahlan, A., Jamei, R. & Esfahlan, R., 2010. The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. *Food Chemistry* 120:349-360.
- Fanasca, S., Colla, G., Maiani, G., Venneria, E., Roupael, Y., Azzini, E. & Saccardo, F. 2006. Changes in antioxidant content of tomato fruits in response to cultivar and nutrient solution composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:4319-4325.
- FAOstat. 2016 Agriculture data. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>.
- Gross, J., 1991. *Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Hoagland, D. & Arnon, D, 1950. *The Water-culture Method for Growing Plants Without Soil*, 2nd ed. Circular, California Agricultural Experimental Station, pp. 347.
- Huang, D., Ou, B. & Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1841-1856.
- Irigoyen, J., Emerich, D. & Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84:55-60.
- Krauss, S., Schnitzler, W., Grassmann, J. & Voitke, M. 2006. The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:441-448.
- Lao, M. & Jiménez, S. 2004a. Evaluation of almond shell as a culture substrate for ornamental plants. I. *Phyton* 73:9-78.
- Lao, M. & Jiménez, S. 2004b. Evaluation of almond shell as a culture substrate for ornamental plants. II. *Ficus benjamina*. *Phyton* 73:79-84.
- Ledbetter, C. 2008. Shell cracking strength in almond (*Prunus dulcis* Mill. D.A. Webb.) and its implication in uses as a value-added product. *Bioresource Technology* 99: 5567-5573.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- López, R., Burgos, P., Hermoso, J., Hormaza, J. & González-Fernández, J. 2014. Long term changes in soil properties and enzyme activities after almond shell mulching in avocado organic production. *Soil and Tillage Research* 143:155-163.
- Maiani, G., Periago Castón, M. J., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I. G., Bysted, A., Granado-Lorenzo, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer-Miebach, E., Behnlian, D. & Böhm, V. 2009. Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research* 53:S194-S218.

- Martinez, J., Granado, J., Montane, D., Salvado, J. & Farriol, X. 1995. Fractionation of residual lignocellulosics by dilute-acid prehydrolysis and alkaline extraction: Application to almond shells. *Bioresource Technology* 52:59-67.
- Oruña-Concha, M., González-Castro, M., López-Hernández, J. & Simal-Lozano, J. 1997. Effects of freezing on the pigment content in green beans and padrón peppers. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A* 205:148-152.
- Pessaraki, M. 1993. Response of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to salt stress, in: Pessaraki, M. (ed), *Handbook of Plant and Crop Stress*, Marcel Dekker, New York pp, 827-842.
- Pou-Ilina, J., Canellas, J., Driguez, H., Excoffier, G. & Vignon, M. 1990. Steam pretreatment of almond shells for xylose production. *Carbohydrate Research* 207:126-130.
- Sesták, Z., Castky, J. & Jarvis, P. 1971. *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods*. Dr. W. Junk Publishers, Hague, Netherlands
- Shahidi, F., Zhong, Y., Wijeratne, S., & Ho, C. 2008. In Alasalvar, C. and Shahidi, F. (eds.), *Almond and Almond Products: Nutraceutical Components and Health Effects*, *Tree nuts: composition, phytochemicals, and health effects*. CRC Press.
- Singer, S., Helmy, Y., Karas, A. & Abou-Hadid, A. 2002. Influences of different water-stress treatments on growth, development and production of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Horticulture* 614:605-611
- Tsao, R., Yang, R., Young, J. & Zhu, H. 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:6347-6353
- Turkmen, N., Sari, F. & Velioglu, Y. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry* 93: 713-718
- Urrestarazu, M., Mazuela, P. & Martínez, G. 2008. Effect of substrate reutilization on yield and properties of melon and tomato crops. *Journal of Plant Nutrition* 31:2031-2043.
- Valverde, M., Madrid, R., García, A., Del Amor, F. & Rincón, L. 2013. Use of almond shell and almond hull as substrates for sweet pepper cultivation. Effects on fruit yield and mineral content. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11:164-172.
- Wolosiak, R., Druzynska, B., Piecyk, M., Worobiej, E., Majewska, E. & Lewicki, P. 2011. Influence of industrial sterilisation, freezing and steam cooking on antioxidant properties of green peas and string beans. *International Journal of Food Science and Technology*. 46:93-100

Agradecimentos

Ivo Oliveira agradece à FCT a Bolsa de Pós-Doutoramento SFRH/BPD/111005/2015. Trabalho apoiado por: Fundos de Investimento Europeu FEDER/COMPETE/POCI-Programa Operacional de Competitividade e Internacionalização, no âmbito do Projecto POCI-01-0145-FEDER-006958 e Fundos Nacionais pela FCT no âmbito do projecto UID/AGR/04033.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Caracterização biométrica das vagens de feijão verde cv. Saxa. (Média \pm desvio-padrão). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos

Substrato	Nº total de vagens por planta	Peso das vagens (g)	Comprimento das vagens (cm)	Feijões por vagem
Controlo (PT) R50	5,20 \pm 1,48ab	4,36 \pm 0,84a	9,45 \pm 1,52a	4,50 \pm 1,29a
Controlo (PT) R100	6,20 \pm 1,78a	3,48 \pm 1,18a	8,45 \pm 1,74a	3,58 \pm 1,31ab
Casca incorporada (CT) R50	3,00 \pm 1,09b	3,42 \pm 1,28a	7,63 \pm 1,31a	3,43 \pm 0,98ab
Casca incorporada (CT) R100	3,33 \pm 1,21b	1,73 \pm 0,70b	5,77 \pm 1,28b	2,50 \pm 1,16b
Cobertura de casca (CC) R100	5,60 \pm 2,88ab	4,41 \pm 1,28a	9,18 \pm 1,52a	4,42 \pm 0,99a
<i>P</i>	0,021	0,000	0,001	0,000

($p < 0,05$).

Quadro 2 - Concentração de pigmentos fotossintéticos, açúcares e proteínas solúveis em vagens de feijão-verde cv. Saxa. (Média \pm desvio-padrão, PF – Peso fresco). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Substrato	Clorofila a ($\mu\text{g/g}$ PF)	Clorofila b ($\mu\text{g/g}$ PF)	Carotenoides ($\mu\text{g/g}$ PF)	Açúcares solúveis (mg/g PF)	Proteínas solúveis (mg/g PF)
Controlo (PT) R50	26,38 \pm 9,94a	23,28 \pm 8,27a	2,89 \pm 1,90c	28,63 \pm 7,03	4,38 \pm 0,77
Controlo (PT) R100	10,50 \pm 4,04c	7,87 \pm 1,93b	3,64 \pm 1,23c	27,37 \pm 4,41	4,58 \pm 1,05
Casca incorporada (CT) R50	20,78 \pm 7,61abc	10,22 \pm 2,17b	6,81 \pm 1,34a	33,31 \pm 10,06	4,46 \pm 0,65
Casca incorporada (CT) R100	22,50 \pm 4,09ab	11,57 \pm 1,97b	6,45 \pm 1,54ab	26,80 \pm 3,21	4,31 \pm 0,24
Cobertura de casca (CC) R100	14,35 \pm 2,71bc	12,88 \pm 3,02b	4,14 \pm 1,04bc	32,61 \pm 3,15	5,32 \pm 1,08
<i>P</i>	0,001	0,000	0,000	0,251	0,232

Quadro 3 - Concentração de compostos fenólicos totais em vagens de feijão-verde capacidade antioxidante (Média \pm desvio-padrão, PF – Peso fresco). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Substrato	Compostos fenólicos (mg GAE/g PF)	DPPH (μmol Trolox/g PF)	ABTS (μmol Trolox/g PF)	FRAP (μmol Trolox/g PF)
Controlo (PT) R50	0,77 \pm 0,22	3,10 \pm 1,28b	12,05 \pm 3,26	4,24 \pm 0,89
Controlo (PT) R100	0,84 \pm 0,12	4,21 \pm 0,42ab	14,62 \pm 5,99	5,32 \pm 1,36
Casca incorporada (CT) R50	0,83 \pm 0,06	3,55 \pm 0,12ab	10,36 \pm 4,82	4,04 \pm 0,90
Casca incorporada (CT) R100	1,00 \pm 0,13	4,40 \pm 0,87ab	15,71 \pm 5,69	3,39 \pm 1,33
Cobertura de casca (CC) R100	1,00 \pm 0,24	4,46 \pm 0,66a	14,97 \pm 5,10	4,24 \pm 0,54
<i>P</i>	0,074	0,022	0,342	0,062

Contributos da tecnologia de Indoor Farming para a produção de hortícolas

João Pereira¹, Patrícia Pires¹, Ana Diogo¹, Fernanda Delgado^{2,3,4} & José Grego⁵

¹G2Gi – Indoor Farming Solutions, Lda. (Grow to Green), Zona Industrial de Castelo Branco, Rua D, Lote 122, 6000-997 Castelo Branco, Portugal. jpereira@growtogreen.com

²Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Quinta da Senhora de Mércules, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal. fdelgado@ipcb.pt

³CERNAS/IPCB, Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade/ Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal

⁴Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (CBPBI), Quinta da Senhora de Mércules, Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

⁵Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Santarém, Quinta do Galinheiro - S. Pedro, 2001-904 Santarém, Portugal

Resumo

O elevado crescimento demográfico previsto pela ONU para os próximos 50 anos ameaça colocar grande pressão sobre os sistemas de produção agrícola. Um aumento superior a 30% da população mundial, a sua migração para as cidades e o impacto que a produção agrícola atual impõe ao meio ambiente exigem novas tecnologias de produção que permitam a produção de vegetais de qualidade, a redução das cadeias logísticas, a redução (ou mesmo eliminação) da utilização de pesticidas e o uso mais eficiente dos recurso e fatores de produção.

Esta realidade é amplificada em diversos países com a escassez de solos férteis, pelas alterações climáticas que inviabilizam muitas culturas, alteram os padrões de temperatura, pluviosidade e de propagação de pragas. Requer-se, assim, que se estabeleçam e estudem estratégias de produção hortícola que permitam a manutenção de uma vida saudável e sustentável, pelo consumo de bens essenciais à correta nutrição das populações.

Em Castelo Branco, Portugal, num laboratório do ISQ (Instituto de Soldadura e Qualidade) está instalado um dos maiores e mais sofisticados sistemas laboratoriais de Indoor Farming da Europa, tendo sido desenvolvidos numerosos ensaios laboratoriais de crescimento de hortícolas (maioritariamente saladas e ervas aromáticas) sem interferência climática externa e de forma rigorosa, controlada e previsível.

Neste laboratório tem sido possível avaliar as taxas de crescimento e consumo energético, de água e nutrientes de diversas espécies e cultivares de hortícolas em função da variação das condições ambientais e físico-químicas (temperatura, humidade, ventilação, concentração de CO₂, iluminação, fotoperíodo e nutrição) a que as mesmas são sujeitas.

Este trabalho apresentará os resultados de ensaios realizados, os quais revelaram vantagens do sistema *indoor farming* relativamente aos sistemas convencionais, em particular, na produção de vegetais química e biologicamente *super-limpos*, isentos de pesticidas e de metais-pesados, assim como na eficiência energética da produção.

Palavras-chave: Vegetais funcionais, Iluminação LED, Agricultura Vertical, Indoor Vertical Farming, Câmaras de Crescimento.

Abstract

The demographic evolution forecasted by the UN for the next 50 years is increasing the pressure over the main agricultural production systems. An increase of over 30% of the world population, its migration to large city areas and the environmental impact that current agriculture production systems have had for the last few decades demand new production technologies, that may enable the production of high quality vegetables, the decrease in logistical chains, the reduction (or even elimination) of pesticide use and a more efficient and sustainable use of resources and production inputs. This reality is amplified in many countries by the shortage of fertile land, by climate change that challenges many species, changes temperature, rain and pest propagation patterns. Thus, it is required that new horticultural strategies are studied, allowing to support a healthy and sustainable way of life for the worldwide population.

In Castelo Branco, Portugal, in an ISQ (Instituto de Soldadura e Qualidade) laboratory, one of Europe's largest Indoor Farming R&D facilities has been built. Numerous laboratory teste runs have been conducted regarding vegetable growth (mainly salads and herbs) without external climatic interference and in a rigorous, controlled and predictable way.

In this laboratory, we have been able to evaluate the growth rates, energy, water and nutrients uptake for several types of horticulture species, when varying their environmental and/or their physical and chemical growing conditions (temperature, humidity, wind speed, CO₂ concentration, lighting, photoperiod and nutrition).

This paper will present some of the achieved results, which indicate significant advantages of the Indoor Vertical Farming when compared to traditional systems when focusing on the production of chemical and biological super clean vegetables, with no pesticide use or heavy metals contamination, and in the energy efficiency of production cycles.

Keywords: Functional Vegetables, LED Light, Daily Light Integral, Indoor Vertical Farming, Growth Chambers.

Introdução

Tendo como base as novas estratégias de produção hortícola que permitam a produção de vegetais de qualidade, a redução das cadeias logísticas, a redução (ou mesmo eliminação) da utilização de pesticidas e o uso mais eficiente dos recursos e fatores de produção, o presente trabalho apresenta alguns resultados relativos a ensaios de produção de hortícolas em sistema de agricultura Indoor Farming. Os ensaios incidiram na obtenção de plantas com maior grau de assepsia (referidos conjuntamente como vegetais *super-limpos*) e otimização de crescimento em função do Daylight Integral (DLI) utilizado durante o ciclo cultural.

Os ensaios decorreram num laboratório de Indoor Farming, propriedade do Instituto de Soldadura e Qualidade (ISQ) e foram levados a cabo por colaboradores da Grow to Green (G2Gi – Indoor Farming Solutions, Lda.). Esta infraestrutura está equipada com oito câmaras climáticas de grandes dimensões de marca e modelo ARALAB PLH. Cada câmara climática encontra-se equipada com um sistema de hidroponia em NFT e LED's adequados ao crescimento de hortícolas.

No seu conjunto, estes sistemas permitem o ensaio de até 12.000 plantas por mês com controlo permanente e rigoroso dos principais fatores de crescimento, a saber: temperatura, humidade, concentração de CO₂, velocidade do ar, fotoperíodo, duração e intensidade de iluminação, controlo de pH, condutividade elétrica, periodicidade e duração de intervalos de rega.

Os equipamentos de hidroponia baseiam-se num sistema de 4 tanques de solução padrão de fertilizantes e um tanque de ácido, a partir dos quais se realizam os doseamentos e o ajuste de pH, respetivamente, através de um sistema automatizado.

A iluminação artificial disponível na instalação consiste em barras LED para aplicações de produção, com espectro otimizado para hortícolas.

É sabido que o principal custo operacional da produção agrícola em ambiente fechado – Indoor Farming – é referente ao consumo energético. Este sistema de produção implica o fornecimento de energia para iluminação das plantas e, devido a desse facto, a compensação do calor emitido pelas barras LED através do sistema de AVAC.

Assim, para manter um ambiente de crescimento ideal, o sistema tem que compensar - em permanência - o calor emitido pelas lâmpadas e a humidade libertada pelas plantas.

Atendendo ao exposto, foram desenvolvidos ensaios para estabelecer correlações entre o crescimento de biomassa da parte aérea em função do integral de iluminação diário (Daylight Integral – DLI).

O principal objetivo destes ensaios foi a minimização de consumos energéticos permitindo ao produtor ter a escolha entre produzir plantas de maior porte ou produzir plantas mais económicas. Num segundo plano, tentou-se o aumento da biomassa por aumento de outras variáveis não dependentes de consumo de energia elétrica (concentração de CO₂).

Material e Métodos

Vegetais Super-Limpos

Para o desenvolvimento do ensaio para a obtenção de vegetais *super-limpos*, foram definidas duas fases de desenvolvimento. Em ambas as fases foram utilizadas as mesmas câmaras de crescimento (Marca Aralab, modelo PLH), com sistema de hidroponia com controlo de pH e EC automático.

Em ambas as fases foram realizados procedimentos distintos no que respeita à origem das plantas, desinfeção do sistema de hidroponia (entre ciclos e na ausência de plantas), do substrato e material de manuseamento, utilização de equipamento pessoal individual e equipamentos de limpeza das câmaras.

Na primeira fase (1ª Fase) dos ensaios foram utilizados métodos de produção semelhantes aos utilizados numa estufa, ou seja, plântulas provenientes de viveiro, calçado e roupa corrente e substrato não desinfetado.

Na segunda fase (2ª Fase) dos ensaios foram implementadas medidas de limpeza mais exigentes e mais adequadas a um contexto laboratorial. Pelo que, para todas as câmaras as operações de sementeira, germinação e crescimento passaram a ser feitas exclusivamente dentro da instalação tendo sido eliminada a aquisição de plantas a viveiristas. Os substratos utilizados passaram a ser inertes ou a ser objeto de desinfeção térmica anterior à sementeira. Foi definido um perímetro de contenção ao redor das câmaras dentro do qual apenas poderão permanecer e/ou circular operadores devidamente equipados com touca, máscara, bata e proteção de pés. Todas as câmaras se encontram equipadas com filtros HEPA e pressão positiva em funcionamento. Apenas operadores equipados com luvas poderão manusear plantas dentro da instalação. A água utilizada provém exclusivamente da rede pública. Todas as câmaras foram equipadas com pé dilúvio e os equipamentos de limpeza não são partilhados entre câmaras.

Periodicamente, entre ciclos de cultivo e na ausência de plantas, os sistemas de hidroponia são drenados e é colocada em circulação uma solução de hipoclorito de sódio com concentração de 0,5 e 2 %.

Os vegetais analisados nesta fase foram várias variedades de alface, rúcula e ervas aromáticas.

Todas as análises foram efetuadas no LABIAGRO, laboratório acreditado para estes ensaios. «

Formação de biomassa em função do DLI (Day light integral)

Atendendo ao facto de o custo de energia ser o principal custo operacional de uma instalação de produção em ambiente fechado, foram desenvolvidos 12 ensaios para avaliação da formação de biomassa em função do aumento do integral de iluminação diário (DLI).

Os ensaios foram desenvolvidos com a cultivar de alface Roxa Frisada e a dimensão média de cada ensaio foi de 196 unidades, tendo sido colhida uma amostragem de 10% desse valor para a obtenção do crescimento médio em cada semana.

Na fertirrigação foi utilizada como referência uma receita nutricional standard para o cultivo de hortícolas, cujas soluções nutritivas apresentavam pH entre 5,5 e 6,5 e EC entre 1,0 e 1,6 $\mu\text{s}/\text{cm}^2$.

Para o cálculo de DLI foram realizadas medições de intensidade luminosa e espetro, que foram levados a cabo com um espetro-radiómetro da marca UPRTEK, modelo MK350S. A intensidade luminosa de referência em cada ensaio corresponde à média das intensidades entre o ponto central da prateleira e o seu ponto mais afastado (intensidades máximas e mínimas).

Para os diversos ensaios foram utilizados dois tipos de substratos, a saber, turfa e espuma fenólica. Num dos ensaios procedeu-se ao enriquecimento da concentração de CO₂ em concentração superior à ambiente.

Do ponto de vista de LED's utilizados, a intensidade variou com o ensaio a desenvolver, mas os espetros utilizados apresentam-se nas figuras 1,2 e 3, respetivamente, espetro DR/B/FR, Espetro DR/B/W e espetro DR/B.

Resultados e discussão

Vegetais Super-Limpos

O desenvolvimento de ambas as fases do ensaio conduziu a resultados bastantes distintos com os vegetais da 1ª Fase a apresentarem níveis significativamente superiores de contaminações químicas e biológicas.

Os resultados da aplicação dos métodos tradicionais de condução de plantas foram, previsivelmente, a obtenção de vegetais com grandes contaminações biológicas, evidenciadas por elevadas contagens de unidades formadoras de colónias (UFC) e presença de afídeos em alguns casos. Adicionalmente, análises laboratoriais efetuadas a estas plantas revelaram evidência de concentrações de metais pesados acima do regulamentado.

Pelo contrário, as plantas obtidas após a aplicação dos métodos produtivos identificados anteriormente e designados por 2ª Fase, revelaram que a estratégia surtiu efeito de forma imediata com resultados positivamente relevantes como se pode observar na tabela 2.

Os resultados das análises microbiológicas apresentam uma melhoria da 2ª Fase face aos valores da 1ª Fase, em particular na variável Enterobacteriaceae. Estes resultados estão, ainda, significativamente abaixo da média da indústria, que se situará entre as 30.000 e 300.000 ufc/g (dependendo do método de produção, estufa ou campo aberto) (Kozai, 2016).

Num pequeno ensaio de conservação pós-colheita, verificou-se – ainda que de forma informal – que a degradação dos vegetais, após as medidas implementadas na 2ª fase, foi mais lenta. Este facto parece ser de grande relevância para o prolongamento da *shelf life* no ponto de venda, devendo ser alvo de ensaios futuros.

Relativamente à concentração de metais pesados, salienta-se que o máximo legal para a concentração de Chumbo (Pb) em vegetais é de 0,30 mg/kg [1], valor largamente ultrapassado pelas duas amostras consideradas na 1ª Fase do ensaio, os resultados podem ser observados na tabela 3.

Além do Chumbo, o plano de análise incluiu ainda análise de concentração de Cádmio, Crómio, Níquel e Mercúrio numa gama ampla de espécies, nomeadamente, Alface Lisa e Frisada, Nabiça, Tomilho, Salsa e Coentros, os quais apresentaram teores abaixo dos limites legislados.

Formação de biomassa em função do DLI

Na série de ensaios efetuada registaram-se resultados relativos ao Peso fresco médio (g) em 4 semanas de desenvolvimento em função do DLI. Pela análise da figura 4 verifica-se uma tendência generalizada para a existência de uma relação de proporcionalidade entre o peso fresco da parte aérea da planta e o aumento do DLI.

Numa segunda análise, são ainda visíveis ganhos provenientes da utilização de um espectro estreito (DR/B) por oposição a um espectro mais amplo (DR/B/W).

De referir que fatores como a variabilidade da solução nutritiva e o tipo de substrato podem ter tido influência sobre os resultados obtidos e que os ensaios agora apresentados não têm em consideração aspetos como morfologia da planta, sabor ou textura.

Deve notar-se ainda que o único ensaio efetuado com enriquecimento de CO₂ revelou resultados bastante promissores, antecipando em uma semana os resultados do melhor ensaio sem enriquecimento. Crê-se que este fator pode ser um dos maiores contribuintes para a sustentabilidade de uma *plant factory* pois permite a substituição de maiores intensidades luminosas por um fator de produção mais barato.

Dos dados obtidos, fez-se ainda uma análise de relacionamento direto entre biomassa e DLI para um único espectro e sem enriquecimento de CO₂. Os resultados agrupados confirmam a existência de uma relação de proporcionalidade direta entre as duas variáveis dentro das condições de ensaio e para esta cultivar em particular (Figura 5).

Considerações finais

Os resultados dos ensaios apresentados anteriormente permitem concluir que o Indoor Farming pode ser uma das principais tecnologias para o combate à escassez alimentar e à volatilidade a que a produção de alimentos se encontra sujeita por efeito do clima. Esta tecnologia permite a produção de vegetais de qualidade superior, com menos químicos prejudiciais a serem utilizados no processo produtivo e isenção quase absoluta de contaminações químicas ou biológicas.

Do ponto de vista energético, verifica-se a existência de uma relação quase direta entre aumento da intensidade e duração da radiação – dentro dos parâmetros estudados – e a maior produção de biomassa. Verifica-se, ainda, que o aumento da concentração de CO₂ ou a seleção de um espectro luminoso favorável, pode permitir a aceleração do ciclo produtivo de forma significativa, aumentando a competitividade da tecnologia e reduzindo os custos de produção.

Além de hortícolas folhosas e dos ensaios descritos neste artigo, a Grow to Green também estudou uma vasta gama de espécies vegetais, como plantas aromáticas, flores, *microgreens*, espécies florestais e leguminosas, assim como também se desenvolveram ensaios incluindo técnicas específicas em determinadas fases de produção, como micropropagação, estacaria e enxertia.

Referências

- [1] REGULAMENTO (CE) Nº 629/2008 DA COMISSÃO de 2 de Julho de 2008 que altera o Regulamento (CE) nº 1881/2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios
- [2] REGULAMENTO (CE) Nº 1258/2011 DA COMISSÃO de 2 de Dezembro de 2011 que altera o Regulamento (CE) nº 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de nitratos nos géneros alimentícios
- [3] REGULAMENTO (CE) Nº 2073/2005 DA COMISSÃO de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios
- [4] Kozai, T., Niu, G., Takagaki, M. *PLANT FACTORY – An Indoor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production*, Elsevier, 2016, London

Tabelas e Figuras

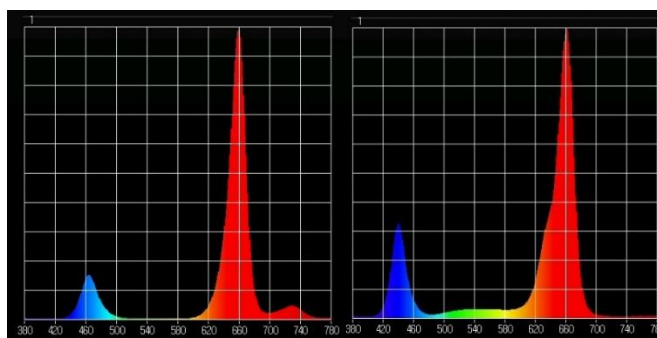
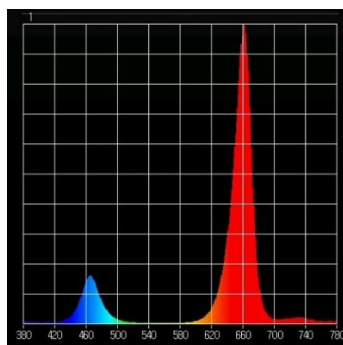


Figura 1 – Espectro DR/B/FR **Figura 2** – Espectro DR /B/W **Figura 3** – Espectro DR/B

Legenda: DR/B/W – Deep red/blue/white; DR/B/FR – Deep red/blue/far red; DR/B – Deep red/blue

As condições dos ensaios efetuados com referências de 1 a 12, encontram-se indicadas na tabela 1.

Tabela 1. Condições dos ensaios do estudo da biomassa em função do espectro, DLI e concentração CO₂

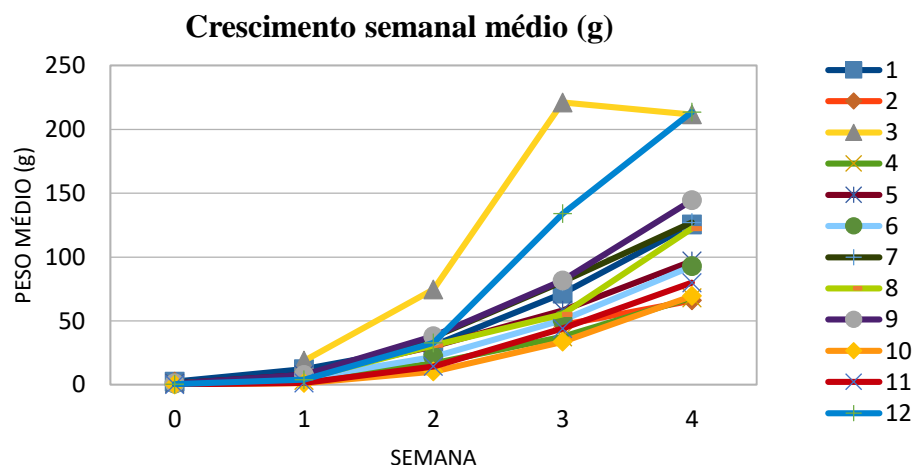
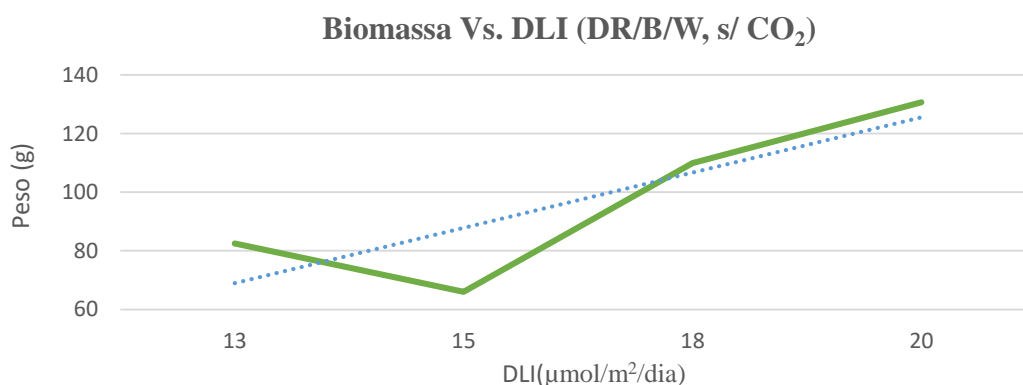
Ref.	Espectro	DLI ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{dia}$)	CO ₂
1	DR/B/W	20	Ambiente
2	DR/B/W	15	Ambiente
3	DR/B/W	14	Enriquecimento
4	DR/B/W	13	Ambiente
5	DR/B/W	13	Ambiente
6	DR/B/W	18	Ambiente
7	DR/B/W	18	Ambiente
8	DR/B/W	20	Ambiente
9	DR/B/W	20	Ambiente
10	DR/B/FR	11	Ambiente
11	DR/B/FR	13	Ambiente
12	DR/B	13	Ambiente

Tabela 2. Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) em alface

Contagem de UFC	1ª Fase	2ª Fase	Unidades
Enterobacteriaceae	2,90E+04	< 1,0E+01	ufc/g
Escherichia coli B-glucoronidase positiva a 44°C	< 1,0E+01	< 1,0E+01	ufc/g
Salmonella spp	Não detetada	Não detetada	25g
Listeria monocytogenes	Não detetada	Não detetada	25g
Clostridium perfringens	< 1,0E+01	< 1,0E+01	ufc/g
Enterococos intestinais	< 1,0E+01	< 1,0E+01	ufc/g
Estafilococos coagulase-positiva	< 1,0E+01	-	ufc/g

Tabela 3. Resultados dos níveis de metais pesados em Rúcula e Manjeriço

Metais Pesados	1ª Fase	2ª Fase	Unidades
Chumbo em Rúcula	0,79	< 0,030 (LQ)	mg/kg
Chumbo em Manjeriço	0,62	< 0,030 (LQ)	mg/kg

**Figura 4.** Peso fresco médio (g) de alface Roxa Frisada, em 4 semanas de desenvolvimento - função do DLI**Figura 5.** Gráfico de relação entre formação de biomassa e DLI, sem enriquecimento de CO₂, e respetiva linha de tendência

Cultura da beldroega em semi-hidroponia com a utilização de águas residuais tratadas

Daniela Caeiro¹, Fátima Carvalho¹, Adelaide Almeida, Idália Guerreiro¹ Ana Prazeres² & Mariana Regato¹

¹Instituto Politécnico de Beja - Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares – Campus - 7800-295-Beja, mare@esab.ipbeja.pt

²Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo (CEBAL).

Resumo

Com o presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito do substrato (perlite, fibra de coco e vermiculite) na cultura semi-hidropónica da beldroega (*Portulaca oleracea* L.), utilizando uma solução nutritiva com água residual pré-tratada proveniente de efluentes de uma queijaria, e verificar se a solução nutritiva estaria em condições de ser descarregada em meio hídrico, após cada ciclo de utilização.

O ensaio foi realizado em estufa num sistema Nutrient Film Technique (Técnica de Fluxo Laminar) (NFT), com um delineamento experimental em blocos casualizados, com três repetições. As águas residuais foram tratadas através de processos de precipitação química básica + neutralização natural e procedeu-se depois à diluição de 1:2, utilizando água proveniente de um furo.

Os parâmetros observados relativamente à planta foram os pesos fresco e seco da parte aérea e da raiz e a área foliar.

Nas soluções nutritivas, após a sua utilização, foram analisados os parâmetros: azoto amoniacal, azoto kjeldhal, pH, potencial redox, condutividade elétrica, nitratos, nitritos, fósforo, carência química de oxigénio (CQO) e carência bioquímica de oxigénio (CBO).

Verificou-se que no substrato de vermiculite as plantas apresentaram os valores mais altos relativamente aos pesos, fresco e seco da parte aérea e da raiz, assim como uma maior área foliar.

Relativamente à possibilidade de realizar a descarga da solução no meio ambiente, após a sua utilização em hidroponia, verificou-se que os compostos de azoto, avaliados pelo azoto de kjeldhal e pelo azoto amoniacal, limitavam a sua descarga.

No entanto, a solução nutritiva pode ser ainda reutilizada para rega de outras culturas e assim a água residual poderá ser reutilizada duas vezes, uma em hidroponia e outra em fertirrega.

O sistema hidropónico alimentado com a solução nutritiva apresentou um excelente desempenho na remoção de matéria orgânica da solução, com valores a rondar os 100%.

Palavras-chave: sistema NFT, substratos, solução nutritiva, peso fresco e seco, descarga no meio ambiente.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of the substrate (perlite, coconut fiber and vermiculite) on the semi-hydroponic culture of the purslane (*Portulaca oleracea* L.), using a nutrient solution with pretreated residual water from effluent and verify that the nutrient solution would be able to be discharged into the environment after each cycle of use.

The experiment was carried out in a greenhouse in a Nutrient Film Technique (NFT) system, with a randomized complete block design with three replications. The waste water was treated by basic chemical precipitation + natural neutralization and then diluted 1: 2 using normal irrigation water.

The parameters observed for the plant were fresh and dry weights of shoot and root and leaf area.

In the nutritive solutions, after their use, the following parameters were analyzed: ammoniacal nitrogen, kjeldahl nitrogen, pH, redox potential, electrical conductivity, nitrates, nitrites, phosphorus, chemical oxygen demand (COD) and biochemical oxygen demand (BOD).

It was verified that in the substrate of vermiculite the plants presented the highest values regarding the weights, fresh and dry of the shoot and of the root, as well as a greater leaf area.

Concerning the possibility of discharging the solution into the environment after its use in hydroponics, it was found that nitrogen compounds evaluated by kjeldahl nitrogen and ammoniacal nitrogen limited their discharge.

However, the nutrient solution can still be reused for irrigation of other crops and thus the waste water can be reused twice, one in hydroponics and the other in fertirrega.

The hydroponic system fed with the nutrient solution presented an excellent performance in the removal of organic matter from the solution, with values around 100%.

Keywords: NFT system, substrates, nutrient solution, fresh and dry weight, discharge into the environment.

Introdução

Dada a constante evolução do setor agrícola, surgiram novos sistemas de produção de alimentos que visam ser mais eficazes e menos dispendiosos para os agricultores. Assim sendo, surgiu o sistema de hidroponia, que tem como finalidade o cultivo de plantas em meio aquático, com ou sem a utilização de substratos inertes, utilizando uma solução nutritiva que fornece todos os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. A produção hidropónica tem cada vez mais importância, devido à menor utilização de área, precocidade na colheita, utilização mais eficiente de nutrientes, melhor qualidade dos produtos obtidos e, quando realizada em ambiente controlado, à possibilidade de controlo de fatores ambientais, que tornam limitantes o cultivo em determinadas épocas do ano.

A beldroega (*Portulaca oleracea* L.) pode ser cultivada em diversos sistemas de cultura sem solo. O sistema hidropónico denominado NFT (*Nutrient Film Technique*) tem alcançado destaque na produção de hortícolas, sendo o sistema de eleição dentro dos vários sistemas disponíveis, pela sua eficácia na produção e pelo facto de ser um dos mais práticos em termos de utilização (Cometti, 2003).

O sistema hidráulico é um sistema fechado, ou seja, a solução nutritiva é bombada de um reservatório, passa pelas raízes das plantas nos canais das bancadas e volta por gravidade ao reservatório (Faquin et al., 1996; Furlani et al., 1999).

A circulação da solução nutritiva é comandada por um sistema regulador de tempo, geralmente um temporizador. Esse equipamento permite que o tempo de rega e drenagem ocorra de acordo com a programação que se deseja (Furlani et al., 1999).

É de primordial importância usar-se uma solução nutritiva equilibrada, de modo a obter-se o êxito das culturas hidropónicas, uma vez que os substratos são inertes e não fornecem qualquer tipo de nutrientes (Regato, 2005).

A composição da solução nutritiva depende do tipo de cultura, da qualidade da água da rega e da fase de desenvolvimento vegetativo da planta (Regato, 2005).

Neste trabalho foi utilizada uma água residual pré-tratada por precipitação química básica + neutralização natural, proveniente de efluentes de uma queijaria. Este subproduto pode constituir uma fonte de nutrientes que podem ser reciclados. Neste contexto, a opção da sua reutilização em culturas com tolerância média à salinidade, como é o caso da beldroega (Lacerda, 2012), pode constituir uma alternativa viável e promissora para o destino destes subprodutos.

Material e Métodos

O ensaio foi realizado numa estufa situada no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja.

A cultivar utilizada no presente ensaio foi a ‘Beldroega Dourada’, que apresenta folhas espessas, tenras, carnudas e ligeiramente douradas. Desenvolve-se através de caules prostrados sobre o solo. A sua maior utilização é em sopas e saladas.

Foi utilizado um sistema de NFT (*Nutrient Film Technique*), que emprega uma técnica de fluxo laminar de nutrientes, é composto por um tanque que contém a solução nutritiva, um sistema de bombagem, canais de cultivo e um sistema de retorno ao tanque. A solução nutritiva é bombada até aos canais e escorre por gravidade formando uma fina lâmina de solução que rega as raízes.

O delineamento experimental do ensaio foi em blocos casualizados com 3 repetições. Como já foi referido, utilizou-se uma solução nutritiva, proveniente de uma água residual de queijaria (SNART), e três substratos perlite, vermiculite e fibra de coco.

A transplantação das plântulas de beldroega foi efetuada no dia 14 de abril, para pequenos vasos de polietileno, perfurados na base, com cerca de 7 cm de diâmetro superior, 4 cm de diâmetro na base, e uma altura de 8 cm. Foram utilizados 27 vasos no total.

Uma vez que o sistema utilizado não efetuava automaticamente a reconstituição da solução foi feita a sua renovação duas vezes por semana, de acordo com os protocolos descritos por Moraes (1997) e Martinez (2002) citados por Genúncio et al. (2006).

Os parâmetros observados relativamente à planta foram os pesos fresco e seco da parte aérea e da raiz e a área foliar.

Nas soluções nutritivas, antes e após a sua utilização, foram analisados os parâmetros: azoto amoniacal, azoto kjeldhal, pH, potencial redox, condutividade elétrica, nitratos, nitritos, fósforo, carência química de oxigénio (CQO) e carência bioquímica de oxigénio (CBO).

Foi calculada a percentagem de remoção para cada um dos parâmetros monitorizados, considerando a composição da solução à entrada e à saída do sistema, de acordo com a seguinte expressão: % de remoção = $[(C_i - C_f) / C_i] \times 100$, em que C_i = concentração inicial e C_f = concentração final.

Considerando a composição da solução à saída do sistema, verificou-se a possibilidade da sua utilização como água de rega e também da sua descarga no meio ambiente, de acordo com o Decreto-Lei nº 236/98.

Resultados e Discussão

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas, relativamente ao peso fresco e seco das folhas, matéria seca das folhas e área foliar entre os substratos fibra de coco e vermiculite, apresentando o substrato de perlite valores mais baixos para todos os parâmetros, com exceção da matéria seca das folhas (quadro 1).

Os substratos de vermiculite e fibra de coco têm um elevado poder de absorção e retenção de água, elevada porosidade e drenagem, facilitando deste modo o desenvolvimento das plantas, no período da primavera, altura em que se realizou o ensaio.

Para as variáveis peso fresco e seco e percentagem de matéria seca da raiz não se verificaram diferenças estatisticamente significativas para os diversos substratos em estudo (quadro 2).

Nos quadros 3 e 4 estão resumidas as características físico-químicas da solução nutritiva SNART à entrada e à saída do sistema hidropónico.

Verifica-se que houve remoção de 72,9 % do N-Kjeldhal e de 55,4 % de N-NH₄⁺ (quadro 3).

Aparentemente o fósforo não parece ser um parâmetro limitativo, já que a solução nutritiva não apresentava valores mensuráveis de P total e verificou-se o desenvolvimento da planta.

O sistema apresentou um excelente desempenho na remoção da matéria orgânica, avaliada pela carência química de oxigénio (CQO) (quadro 4).

Verificou-se um ligeiro aumento dos nitratos, o que pode ter sido devido a fenómenos de nitrificação.

Observou-se que a solução à saída do sistema não apresentava limitações à sua utilização como água de rega, mas quando se considera a possibilidade da sua descarga no meio ambiente, surgem como fatores limitativos, os teores elevados de N-NH₄⁺ e de azoto de Kjeldhal, de acordo com o Decreto-Lei nº 236/98 (quadro 5).

O sistema apresentou maior capacidade de remoção do azoto kjeldhal relativamente ao azoto amoniacal.

De salientar ainda que os nutrientes que a solução ainda possui à saída do sistema podem contribuir para a fertirrega de outras culturas e assim a água residual poderá ser reutilizada duas vezes, uma em hidroponia e outra em fertirrega.

Conclusões

Os valores mais altos do peso fresco e seco das folhas, matéria seca das folhas e área foliar foram obtidos com os substratos de fibra de coco e vermiculite.

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre substratos, no que se refere ao peso fresco e seco e percentagem de matéria seca da raiz.

Os compostos de azoto, avaliados pelo azoto de kjeldhal e pelo azoto amoniacal, limitam a descarga da solução nutritiva à saída do sistema no meio ambiente. No entanto, a solução nutritiva ainda pode ser reutilizada para rega de outras culturas e assim a água residual poderá ser reutilizada duas vezes, uma em hidroponia e outra em fertirrega.

Referências

- Cometti, N. N. 2003. Dissertação: *Nutrição Mineral da Alface (Lactuca sativa L.) em Cultura Hidropónica-Sistema NFT*. Disponível em: <http://www.niltoncometti.com.br/>. Consultado a 25/07/2015.
- Faquin, V.; Furtini, A. E.; Vilela, L. A. A. 1996. *Produção de alface em hidroponia*. UFLA. Lavras.
- Furlani P.R.; Silveira L.C.P.; Bolonhezi D.; Faquin V. 1999. Cultivo hidropónico de plantas. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Consultado a 01/07/2015.
- Genúncio G. C.; Majerowicz N.; Zonta E.; Santos A. M. Gracia D.; Ahmed C. R. M; Silva M. G. 2006. Crescimento e produtividade do tomateiro em cultivo hidropónico NFT em função da concentração iónica da solução nutritiva. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Consultado a 20/01/2015.

Lacerda, L: 2012. Utilização de plantas para redução de salinidade da água e produção de biomassa por meio de cultivo hidropônico. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte.

Regato, M. 2005. *Hidroponia*. Sebenta de Horticultura Especial. Escola Superior Agrária de Beja. Instituto Politécnico de Beja.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Comparação das médias relativamente ao peso fresco e seco das folhas, matéria seca das folhas e área foliar.

Substrato	Peso fresco folhas (g)	Peso seco folhas (g)	MS folhas (%)	Área foliar (cm ²)
Fibra de coco	15,77 a	1,45 a	9,23 b	63,19 a
Vermiculite	17,97 a	1,63 a	8,99 b	73,57 a
Perlite	9,02 b	0,95 b	10,47 a	36,98 b

Quadro 2 – Comparação das médias relativamente ao peso fresco e seco da raiz e matéria seca da raiz.

Substrato	Peso fresco raiz (g)	Peso seco raiz (g)	MS raiz (%)
Fibra de coco	0,79 a	0,08 a	10,29 a
Vermiculite	1,14 a	0,13 a	10,76 a
Perlite	0,92 a	0,09 a	9,92 a

Quadro 3- Caracterização da SNART à entrada e saída do sistema (percentagem de remoção).

Parâmetros Analisados	SNART entrada (valores médios)	SNART saída (Valores médios)	% Remoção
N-Kjeldhal (mg/L)	189,9	51,3	72,9
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	74,7	33,3	55,4
P total (mg/L)	0	0	0
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,5	7,7	--
NO ₂ ⁻ (mg/L)	1,4	3,8	--

Quadro 4- Variação de parâmetros da SNART à entrada e saída do sistema.

Parâmetros Analisados	SNART entrada (valores médios)	SNART saída (valores médios)	Varição dos parâmetros
pH	6,79	7,10	+ 0,31
Potencial Redox (mV)	320	286	-34
Condutividade (µS cm ⁻¹)	749	841	+ 92
CQO (mg O ₂ /L)	13,8	3,3	-10,5
CBO ₅ (mg O ₂ /L)	60	--	--

Quadro 5 – Comparação da SNART à saída do sistema com Decreto-Lei nº 236/98.

Parâmetros Analisados	SNART (valores médios)	saída Água de rega (DL 236/98) VMR	Descarga de águas residuais (DL 236/98) VLE
pH	7,10	6,5-8,4	6,0-9,0
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	841	1000	--
CQO (mg O ₂ /L)	13,8	--	150
CBO ₅ (mg O ₂ /L)	--	--	40
N-Kjeldhal (mg/L)	51,3	--	15
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	33,3	--	10
P total (mg/L)	0	--	10
NO ₃ ⁻ (mg/L)	7,7	50	50

VMR – Valor máximo recomendado

VLE – Valor limite de emissão

Gestión del riego automatizado con tensiómetros en pimiento cultivado en invernadero

F. Alonso¹, J.I. Contreras¹, G. Cánovas¹, P. Gavilán² y R. Baeza¹

¹IFAPA Centro La Mojonera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Camino San Nicolás nº1. 04745 La Mojonera, Almería. f.alonso@juntadeandalucia.es

²IFAPA Centro Alameda del Obispo. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Avenida Menéndez Pidal, S/N, 14004 Córdoba. pedrod.gavilan@juntadeandalucia.es

Resumen

El uso eficiente del agua se ha convertido en uno de los mayores desafíos para la producción hortícola intensiva de Almería (Andalucía), que cuenta con una superficie invernada de 30.230 ha. Una aproximación racional para optimizar la gestión del riego es el uso de controladores automáticos del riego. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar que consignas de potencial matricial del suelo permiten maximizar la eficiencia del uso del agua (EUA) y los nutrientes en un cultivo de pimiento en invernadero con control automatizado del riego. El estudio se desarrolló en el Centro IFAPA La Mojonera (Almería) sobre pimiento cv. Mazo (*Capsicum annuum* L.) cultivado en un invernadero de “raspa y amagado”. La parcela experimental disponía de un sistema de riego localizado con automatización de la activación de los pulsos de riego mediante la señal de electrotensiómetros. Se establecieron cuatro tratamientos de riego. T1, T2 y T3, con consignas de -10 kPa, -20 kPa y -30 kPa, respectivamente, y dotación de 2 L m⁻² para todos. El T4 recibió lo calculado con la programación del riego basada en la evapotranspiración de cultivo (ET_c). Cada tratamiento contaba con cuatro electrotensiómetros acoplados a un transductor electrónico que transfería los datos a un equipo de control. Se determinaron la producción comercial (kg m⁻²), el volumen de agua aplicado (L m⁻²), volumen de drenaje (L m⁻²), nutrientes aplicados (kg m⁻²), así como la EUA y nutrientes. En las condiciones de desarrollo del ensayo, el umbral de tensión matricial del suelo de -20 kPa es el que mejores resultados ha arrojado considerando criterios de EUA y nutrientes, así como la productividad. El tratamiento programado con la ET_c igualó en resultados a T2. La gestión del riego automatizado con tensiómetros ha resultado ser una herramienta eficaz comparándola con la programación clásica del riego basada en la ET_c.

Palabras clave: riego localizado, sensores de humedad de suelo, eficiencia en el uso del agua y nutrientes, cosecha.

Abstract

The water use efficiency (WUE) has become one of the mayor challenges for the intensive horticultural production in Almería (Andalusia), which has a greenhouse area of 30.230 ha. A more rational approach for optimizing irrigation is the use of automatic irrigation controllers. The objective of this work was to study that soil matric potential level allow to maximize the water use efficiency and nutrients use efficiency in greenhouse-grown pepper (*Capsicum annuum* L.) with automatic irrigation control. The experiment was conducted in pepper cv. Mazo grown in a “raspa y amagado” greenhouse with automatic irrigation control at the Institute of Research and Training in Agriculture and Fisheries (IFAPA), located in La Mojonera, Almeria province. The experimental greenhouse had a drip irrigation system with automatic activation of irrigation through

electronic tensiometers. Four treatments were established. T1, T2 and T3 with -10 kPa, -20 kPa y -30 kPa respectively and application of volume of 2 L m⁻² for all treatments. T4 received what was calculated with irrigation scheduling based on crop evapotranspiration (ET_c). Each treatment had four electronic tensiometers which were coupled to an electronic transducer that transferred the data to a control device. Commercial yield (kg m⁻²), water volume applied, drainage volume (L m⁻²), nutrients applied (kg m⁻²), as well as the WUE and nutrients were determined. Under the development conditions, the soil water tension threshold of -20 kPa is the one that has shown the best results considering WUE and nutrient criteria, as well as productivity. The treatment programmed with the ET_c equaled in results to T2. The management of automated irrigation with tensiometers has proved to be an effective tool comparing it with the classic programming of the irrigation based on the ET_c.

Keywords: drip irrigation, soil moisture sensors, water use efficiency, nutrient use efficiency, yield.

Introducción

En la provincia andaluza de Almería se concentra la mayor zona de producción hortícola invernada de España y la mayor concentración de invernaderos a escala mundial. La superficie agrícola cubierta bajo plástico asciende a un total de 30.230 ha (CAPDR, 2015), mientras que la superficie efectiva, aquella en la que se consideran los diferentes ciclos de explotación, alcanza las 53.720 ha (Servicio de Estudios de Cajamar, 2015). La provincia exporta el 68% de su producción total, situándose a la cabeza de las exportaciones agroalimentarias de Andalucía. Este próspero sector agrícola tiene como principal recurso hídrico las aguas subterráneas procedentes de sistemas acuíferos que, en la actualidad debido a la gran demanda, presentan serios problemas de sobreexplotación y salinización por intrusión marina (Domínguez et al., 2014). Para asegurar la sostenibilidad del sistema se está recurriendo al uso de otras fuentes de agua no convencionales, como son la desalación del agua de mar y la reutilización de aguas residuales tratadas. Sin embargo, en paralelo a estas acciones se debe mejorar la eficiencia en el uso del agua (EUA) tanto a nivel de cuenca como de parcela. El aumento de la EUA en los sistemas agrícolas, definida como la producción obtenida por unidad de agua aplicada (Howell, 2003), es posible con una adecuada programación de riego. Esto permitiría también reducir los impactos ambientales asociados a las pérdidas de agua por percolación y nutrientes por lixiviación.

Una aproximación racional para optimizar la gestión del riego es el uso de controladores automáticos del riego (Romero et al., 2012). La mayoría de las investigaciones relativas al control automático del riego de la última década ponen su atención en la regulación del contenido del agua en el suelo o de la tensión matricial del suelo con estrategias on / off basadas en la retroalimentación (Romero et al., 2012). La medida directa del agua en el suelo, ya sea el contenido de agua o el potencial matricial del suelo tiene la ventaja de ser relativamente fácil de medir y automatizar (Van Iersel et al., 2013), resultando viable para su aplicación a nivel de parcela. Los tensiómetros determinan el potencial matricial del suelo y a menudo se prefieren a otro tipo de sensores de humedad de suelo debido a su bajo coste, simplicidad de uso, alta precisión de la medición, y a que las medidas no están influenciadas por la temperatura o el potencial osmótico del suelo. Además presentan la posibilidad de la adquisición electrónica de datos a través de transductores de presión diferencial (Thalheimer, 2003) permitiendo la automatización de la fertirrigación. Sin embargo es determinante establecer un valor del potencial mátrico de suelo adecuado para cada cultivo y condiciones de desarrollo que

optimice la producción y la EUA y los nutrientes como demuestran Buttaro et al. (2015) y Létourneau et al. (2015).

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar que consignas de potencial matricial del suelo permiten maximizar la eficiencia en el uso del agua (EUA) y los nutrientes en un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) en invernadero con control automatizado del riego

Material y métodos

El ensayo se realizó en un invernadero tipo Almería de “raspa y amagado” en el Centro IFAPA La Mojonera (Almería), construido sobre un suelo enarenado artificial, característico de los cultivos hortícolas intensivos del sureste peninsular (Contreras et al., 2014). El invernadero con cubierta de polietileno contaba con el control automatizado de la apertura y cierre de las ventanas laterales y cenitales mediante un controlador de clima.

El material vegetal implantado fue un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) cv. Mazo. El trasplante se realizó el 9 de septiembre de 2015 a un marco de 2 plantas m⁻² y el ciclo finalizó el 16 de mayo de 2016. El riego se aplicó mediante un sistema de riego localizado con emisores autocompensantes y antidrenantes de 3 L h⁻¹ y un marco de riego de 2 emisores m⁻². El riego estaba automatizado con la activación de los pulsos de riego mediante la señal de electrotensiómetros. El volumen aplicado en cada tratamiento fue medido con contadores volumétricos (M120, Elster, Iberconta S.A). El invernadero contaba con 12 lisímetros de drenaje (uno por tratamiento y bloque) de 1 m² de superficie, instalados a 50 cm de profundidad, descontando la capa de arena. Previamente al trasplante y al finalizar el cultivo, se realizaron dos riegos de hidratación hasta superar el punto de saturación del suelo con los que se verificó el funcionamiento correcto de los lisímetros. La solución de fertirrigación establecida fue la misma para todos los tratamientos: 12 mmol L⁻¹ de NO₃⁻, 1,5 mmol L⁻¹ de H₂PO₄⁻, 6 mmol L⁻¹ de K⁺, 5 mmol L⁻¹ de Ca²⁺ y 2 mmol L⁻¹ de Mg²⁺. Esta solución se mantuvo constante a lo largo de todo el ciclo de cultivo.

Se estableció un diseño en bloques completos al azar con cuatro tratamientos y tres bloques. Los tratamientos establecidos en función del potencial matricial fueron: T1, T2 y T3 con consignas de -10 kPa, -20 kPa y -30 kPa, respectivamente y dotación de 2 L m⁻² para los tres. El tratamiento control, T4, recibió lo calculado con la programación del riego basada en la evapotranspiración de cultivo (ET_c). En este tratamiento los pulsos de riego fueron cortos, de 2 L m⁻², al igual que en el resto de tratamientos con objeto de evitar la percolación y lixiviación. La ET_c se estimó usando el software de riegos PrHo v 2.0 © 2008 (Fundación Cajamar). El programa calcula la evapotranspiración de referencia (ET_o) utilizando una variante simplificada del modelo FAO-Radiación (Fernández et al., 2010). El software ajusta el coeficiente de cultivo (K_c) utilizando el modelo K_c-TTA (Fernández et al., 2001). Los datos medios de temperatura interior del invernadero y radiación solar exterior empleados para el cálculo de la ET_c fueron obtenidos, respectivamente, a partir de las series de datos históricas de la Estación Experimental Las Palmerillas (15 años de datos) y la Estación de La Mojonera de la Red de Información Agroclimática de Andalucía (diez años de datos). En cada tratamiento se colocaron cuatro tensiómetros electrónicos (Irrometer Co, inc. Riverside, CA, USA) instalados a 15 cm de profundidad por debajo de la capa de arena (zona radicular) y a 15 cm de la planta y del gotero. Todos los tensiómetros estaban acoplados a un transductor electrónico que transfería los datos a un equipo de control (Sistema Red Himarcán®). Cada tratamiento de riego, salvo el T4, era activado con un tensiómetro electrónico, el resto se empleaban para registrar medidas del potencial matricial del suelo. Se realizaron determinaciones de la producción comercial (kg m⁻²) clasificada por calibres comerciales en categoría I y

categoría II (peso <150 g), del volumen de agua aplicada ($L m^{-2}$), volumen de drenaje ($L m^{-2}$), nutrientes aplicados, eficiencia en el uso del agua (EUA) expresada en kg de fruto comercial por m^3 de agua aplicado y eficiencia en el uso de nutrientes expresados en kg de fruto comercial por kg de nutriente aplicado.

Se realizó un análisis de la varianza ANOVA para identificar el efecto de los tratamientos estudiados. Cuando el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre tratamientos se aplicó un test de comparación de medias (LSD, mínima diferencia significativa) con $p \leq 0,05$ y $p \leq 0,01$.

Resultados y Discusión

La producción de pimiento se vio afectada por los tratamientos de riego establecidos en este trabajo. El descenso en el potencial matricial del suelo de -10 kPa a -20 kPa no tuvo efectos sobre la producción, sin embargo, el descenso a -30 kPa produjo una reducción de la cosecha (cuadro 1). La menor cosecha de T3 se debió a un menor número de frutos de categoría I (cuadro 1). El peso medio del fruto no se vio afectado por los tratamientos. Los frutos de categoría I presentaron valores en torno a los 394 g y los de categoría II en torno a los 116 g (cuadro 1). La distribución de la cosecha en categorías comerciales tampoco mostró diferencias entre tratamientos. Todos los tratamientos presentaron un porcentaje de frutos de categoría I y de categoría II similar. El porcentaje de cosecha de categoría I estuvo en torno al 85% frente al 15% de cosecha que fue de categoría II. Cabe destacar, que el tratamiento control, T4, sin activación automática del riego, que recibió lo programado mediante la ET_c , obtuvo una cosecha comercial igual a la alcanzada con los tratamientos T1 y T2 tanto en productividad como en número y peso de los frutos (cuadro 1).

El efecto del potencial matricial sobre la producción ha sido estudiado por numerosos autores en diferentes cultivos y sistemas de producción. Algunos de estos autores han observado que con un potencial matricial del suelo bajo se reduce la producción del cultivo (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015; Contreras et al., 2017), lo que coincide con los resultados obtenidos en este trabajo. Esta reducción de la producción probablemente esté asociada a un menor desarrollo vegetativo del cultivo tal y como observaron Contreras et al. (2017) en experiencias previas a ésta sobre calabacín. Cuanto menor era la tensión matricial de trabajo menor era el desarrollo vegetativo de las plantas (menor biomasa y área foliar).

Por otro lado, las curvas de evolución de la producción a lo largo del ciclo muestran que el tratamiento T3, a pesar de presentar menos cosecha, fue más precoz en la producción de pimiento que el resto de los tratamientos (fig. 1).

En lo que respecta a los volúmenes de agua aplicados, los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos. El consumo de agua fue gradual en función del potencial matricial del suelo establecido como consigna de riego. El tratamiento que recibió la mayor cantidad de agua fue T1 con $508 L m^{-2}$. Le siguió T2 con un 24% y finalmente, el tratamiento T3, con la consigna de potencial matricial de suelo más baja, recibió la menor cantidad de agua, casi un 40% menos que T1 (cuadro 2). De acuerdo con nuestros resultados, Buttaro et al. (2015) obtiene una reducción del consumo de agua del 40 y 46% en tomate y del 49% y 42% en pepino en los ciclos de otoño- invierno y de primavera-verano, respectivamente, cuando imponen el potencial matricial más bajo (-40 kPa para tomate y -30 kPa para pepino). El tratamiento T4 programado en función de las necesidades hídricas del cultivo presentó un consumo de agua similar al volumen aplicado con el tratamiento T2 ($372 L m^{-2}$ y $387 L m^{-2}$ respectivamente).

La evolución de los volúmenes de agua aplicados a lo largo del ciclo de cultivo mostró curvas divergentes entre los tratamientos con control automatizado del riego. El

tratamiento T1 tuvo un consumo muy superior al obtenido con el tratamiento T4 (ET_c) a lo largo de todo el ciclo. Por el contrario, la curva del tratamiento T3 muestra un volumen de agua aplicado inferior al del T4 a lo largo de todo el ciclo. Solo el tratamiento T2 presentó una evolución en el consumo de agua muy similar a la del tratamiento que fue programado en función de las necesidades hídricas del cultivo (fig.2).

Durante la campaña de cultivo no se produjo drenaje en ninguno de los tratamientos (cuadro 2). Este hecho pone de manifiesto que en ningún caso se alcanzó la saturación del suelo.

Teniendo en cuenta que tanto la producción como el consumo de agua se vieron afectados por los tratamientos aplicados, la EUA resultó estar igualmente afectada. Los tratamientos con control automático del riego que presentaron una mayor EUA fueron T2 y T3. El tratamiento programado con la ET_c , igualó el valor de estos tratamientos (cuadro 3). El elevado consumo de agua del tratamiento T1 y una producción comercial similar a la obtenida con los tratamientos T2 y T4 arrojaron los peores resultados para este tratamiento en términos de EUA (cuadro 3). Estos resultados coinciden con estudios en los que se relaciona la EUA con el potencial matricial del suelo, potenciales altos causan una baja eficiencia (Buttaro et al., 2015; Letourneau et al., 2015). Además, como la cosecha también está asociada al potencial matricial del suelo en una relación inversa con la EUA (un mayor potencial aumenta la producción del cultivo), resulta esencial encontrar un umbral de potencial matricial de suelo que no disminuya la EUA y la cosecha (Contreras et al., 2017). En este estudio, ese potencial matricial del suelo se correspondería con el establecido en el tratamiento T2 (-20 kPa).

En lo que respecta a la eficiencia en el uso de nutrientes, las diferencias encontradas entre tratamientos se debieron a las diferencias en el volumen aplicado de agua. Esto es así porque la solución fertilizante fue la misma para todos los tratamientos y el aporte de fertilizantes fue proporcional a la aplicación de agua. La mayor eficiencia en el uso de los nutrientes se logró con los tratamientos de riego automatizado T2, T3 y con el tratamiento control (T4). T1 redujo los valores de eficiencias (cuadro 3). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Contreras et al. (2017) en experiencias previas a ésta con cultivo de calalacín. En ellos la consigna de potencial matricial más alta redujo la eficiencia en el uso de nutrientes.

Conclusiones

Considerando aspectos productivos y medioambientales, la mayor eficiencia en el uso del agua y los nutrientes se obtuvo con la consigna de potencial matricial del suelo de -20 kPa (T2), consiguiendo una producción comercial de $9,8 \text{ kg m}^{-2}$. El tratamiento con la consigna de activación del riego más baja, -10 kPa (T1), redujo significativamente la eficiencia en el uso del agua y los nutrientes, mientras que la consigna más baja, -30 kPa (T3) produjo una reducción significativa de la cosecha.

Por tanto, en las condiciones de este ensayo, el tratamiento T2 con una consigna de activación del riego de -20kPa ha arrojado los mejores resultados en términos productivos y de EUA y nutrientes para el cultivo de pimiento. La gestión del riego automatizado con electrotensiómetros ha resultado ser una herramienta eficaz comparándola con la programación clásica del riego basada en la evapotranspiración del cultivo (ET_c).

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del “Proyecto de Transferencia de Tecnología al Regadío (PP.TRA.TRA201600.3), siendo cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Rural (FEDER) y la Consejería de Agricultura y Pesca (IFAPA-Junta de Andalucía).

Referencias

- Buttaro, D., Santamaria, P., Signore, A., Cantore, V., Boari, F., Montesano, F.F. & Parente, A. 2015. Irrigation management of greenhouse tomato and cucumber using tensiometer: Effects on yield, quality and water use. *Agric. Sci. Procedia*. 4:440-444.
- Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural (CAPDR). 2015. Boletín Final. Avance de la Valoración de Campaña 2014/15. Hortalizas protegidas. Almería. 36 pp.
- Contreras, J.I., Martín, F., Zapata, A.J., López, J.G. & Baeza, R. 2014. Caracterización de suelos enarenados para la producción de pimiento en invernadero en la comarca del Campo de Dalías (Almería). XXXII Congreso Nacional de Riegos. Madrid 10-12 de junio de 2014.
- Contreras J.I., Alonso, F., Cánovas G. & Baeza, R. 2017. Irrigation management of greenhouse zucchini with different soil matric potential level. *Agronomic and environmental effects*. *Agric. Water Manage.* 183:26-34.
- Domínguez, P., Franqueza, P.A. & Fernández, M.A. 2014. Estado actual de los acuíferos del Sur de Sierra de Gádor - Campo de Dalías. En: Jornada Técnica "Los recursos hídricos en el Campo de Dalías". Consejería de Agricultura Pesca y Desarrollo Rural Almería. p.11-31. (Ebook, Servifapa). <http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/servifapa>
- Fernández, M.D., Bonachela, S., Orgaz, F., Thompson, R., López, J.C., Granados, M.R., Gallardo, M. & Fereres, E. 2010. Measurement and estimation of plastic greenhouse reference evapotranspiration in a Mediterranean climate. *Irrigation Sci.* 28:497-509.
- Fernández, M.D., Orgaz, F., Fereres, E., López, J.C., Céspedes, A., Pérez, J., Bonachela, S. & Gallardo, M. 2001. Programación del riego de cultivos hortícolas bajo abrigo en el sudeste español. Fundación Cajamar.
- Howell, T.A. 2003. Irrigation efficiency. p. 467-472. In: B.A. Stewart and T.A. Howell (eds.), *Encyclopedia of Water Science*. Marcel Dekker, New York.
- Létourneau, G., Caron, J., Anderson, L. & Cormier, J. 2015. Matric potential-based irrigation management of field-grown strawberry: Effects on yield and water use efficiency. *Agric. Water Manage.* 161:102-113.
- Romero, R. Muriel, J.L., García, I. & Muñoz de la Peña, D. 2012. Research on automatic irrigation control: State of the art and recent results. *Agric. Water Manage.* 114:59-66.
- Servicio de Estudios de Cajamar. 2015. Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería. Campaña 2014/2015. <http://www.publicacionescajamar.es>
- Thalheimer, M. 2003. Tensiometer modification for diminishing errors due to the fluctuating inner water column. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:737-739.
- Van Iersel, M.W., Chappell, M. & Lea-Cox, J.D. 2013. Sensors for improved efficiency of irrigation in greenhouse and nursery production. *HortTechnology*, 23: 735-746.

Cuadros y Figuras

Cuadro 1. Producción comercial, número y peso medio de los frutos de pimiento obtenidos por tratamiento. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Tratamiento	Categoría I			Categoría II (peso < 150 g)		
	Producción comercial (kg m ⁻²)	Número frutos (n° m ⁻²)	Peso frutos (g m ⁻²)	Producción comercial (kg m ⁻²)	Número frutos (n° m ⁻²)	Peso frutos (g m ⁻²)
T1	8,1 a	20,8 a	390,8	1,7	13,5	123,4
T2	7,8 a	19,6 a	397,9	1,5	14,4	108,3
T3	6,9 b	17,3 b	395,5	1,0	10,2	108,9
T4	7,7 a	19,6 a	392,2	1,1	8,8	125,0

Cuadro 2. Riego aplicado y volumen de drenaje por tratamiento.

Tratamiento	Riego aplicado (L m ⁻²)	Drenaje (L m ⁻²)
T1	508	0,0 a
T2	387	0,0 a
T3	312	0,0 a
T4	372	0,0 a

Cuadro 3. Eficiencia en el uso del agua (EUA) y eficiencia en el uso de nutrientes. EUN: eficiencia de uso del nitrógeno, EUP: eficiencia de uso del fósforo, EUK: eficiencia de uso del potasio. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Tratamiento	EUA	EUN	EUP	EUK
	kg m ⁻³	kg kg ⁻¹		
T1	19,3 b	116,5 b	1912,9 b	106,1 b
T2	24,0 a	145,1 a	2383,8 a	132,2 a
T3	25,0 a	150,7 a	2475,7 a	137,3 a
T4	23,6 a	141,1 a	2317,9 a	128,5 a

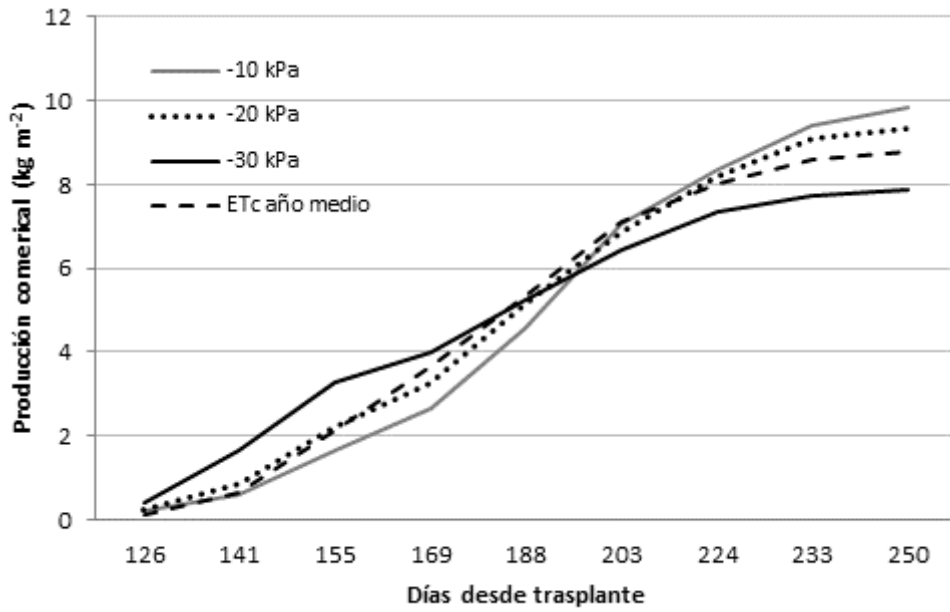


Figura 1. Evolución de la producción comercial acumulada en cada tratamiento de riego.

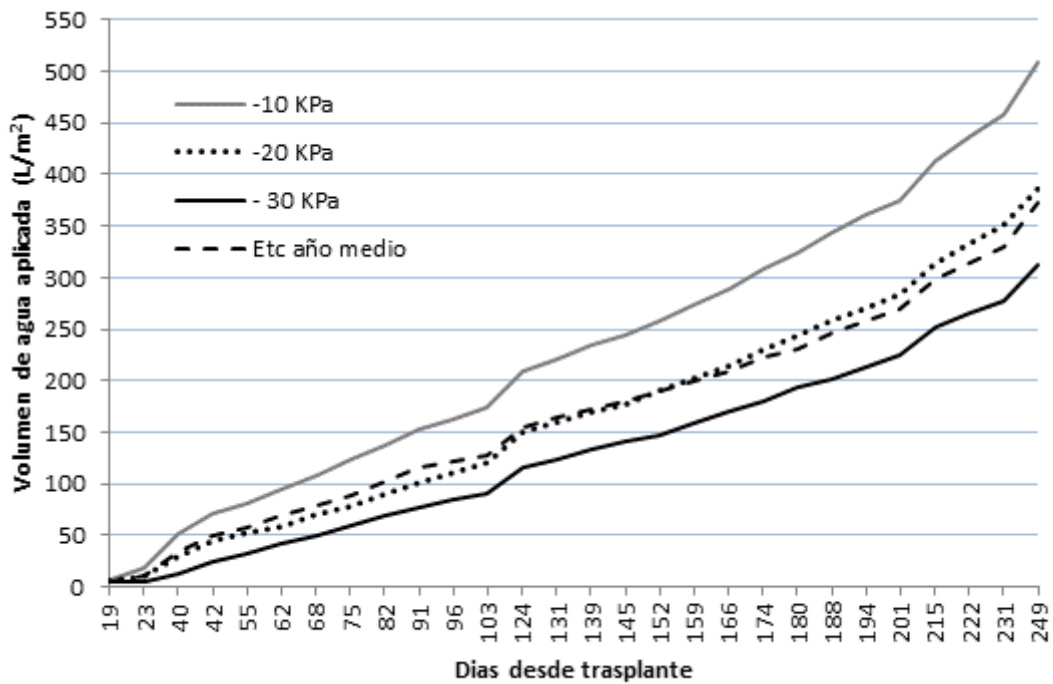


Figura 2. Volúmenes de agua aplicados en cada tratamiento de riego a lo largo del ciclo de cultivo de pimiento.

Riego con electrotensiómetros en cultivo intensivo de pimiento: control del drenaje y salinidad de suelo

Cánovas, G.¹, Contreras, J.I.¹, Alonso, F.¹, Baeza, R.¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Centro La Mojonera, Camino San Nicolás, nº1, 04745 La Mojonera, Almería.

Resumen

La comarca del Campo de Dalías (Almería) está declarada como zona vulnerable a la contaminación por nitratos. El recurso hídrico mayoritario son las aguas subterráneas que, como consecuencia de la sobreexplotación, presentan niveles crecientes de salinidad, con lo cual es necesario desarrollar técnicas de manejo del riego que minimicen los impactos ambientales negativos. En este trabajo se analiza la influencia de la tensión matricial del suelo sobre la pérdida de agua en profundidad y el nivel de nitratos en la solución del suelo. El estudio se desarrolló en un invernadero del Centro IFAPA La Mojonera (Almería) sobre cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) durante dos campañas, la primera con cv. Mazo y la segunda con cv. Parejo. El agua de riego, de calidad media, tenía una C.E. de $1,4 \text{ mS m}^{-1}$. Durante la primera campaña se establecieron tres tratamientos de riego gestionados automáticamente con electrotensiómetros, P1-T1, P1-T2 y P1-T3, con consignas de activación de -10 kPa, -20 kPa y -30 kPa, respectivamente; durante la segunda campaña las consignas fueron -6 kPa, -10 kPa, -15 kPa y -20 kPa para los tratamientos P2-T1, P2-T2, P2-T3 Y P2-T4 respectivamente. La dotación fue en todos los casos de 2 L m^{-2} . Se determinó el volumen de agua aplicado (L m^{-2}), volumen de drenaje (L m^{-2}), producción comercial (kg m^{-2}) y evolución del nivel de nitratos en la solución del suelo con periodicidad quincenal. Durante la primera campaña de cultivo en ninguno de los tratamientos se registró drenaje, sin embargo, durante la segunda campaña de cultivo, el tratamiento P2-T1, que se gestionó con un nivel de humedad muy elevado, si presentó un drenaje continuo a lo largo del ciclo. En los tratamientos sin drenaje, independientemente del umbral de tensión matricial, se produjo un aumento en la salinidad de la solución de suelo.

Palabras clave: Tensión matricial, conductividad eléctrica, nitrato, lixiviación, solución de suelo.

Abstract

The region of Campo de Dalías (Almería) is declared an area vulnerable to nitrate pollution. The majority water resource is groundwater, which as a consequence of overexploitation, present increasing levels of salinity, which requires the development of irrigation management techniques that minimize negative environmental impacts. In this work the influence of soil matric tension on the loss of water in depth and the level of nitrates in the soil solution is analyzed. The study was carried out in a greenhouse of the IFAPA La Mojonera Center (Almería) on pepper cultivation (*Capsicum annuum* L.) during two seasons, the first pepper cv. Mazo and the second pepper cv. Parejo. The irrigation water, of medium quality, had a C.E. of 1.4 mS m^{-1} . During the first campaign three irrigation treatments were established automatically with electrotensimeters, P1-T1, P1-T2 and P1-T3, with activation setpoints of -10 kPa, -20 kPa and -30 kPa, respectively; During the second campaign the setpoints were -6 kPa, -10 kPa, -15 kPa and -20 kPa for the treatments P2-T1, P2-T2, P2-T3 and P2-T4 respectively. The envelope was in all cases 2 L m^{-2} . The volume of water applied (L m^{-2}), volume of drainage (L m^{-2}), commercial production (kg m^{-2}) and evolution of the nitrate level in the soil solution with 15-day periodicity. During the first cultivation campaign in none of the treatments drainage was recorded, however, during the second cultivation campaign, the P2-T1 treatment, which was managed with a very high humidity level, presented continuous drainage throughout the cycle. In the treatments without drainage, independently of the matric tension threshold, an increase in the salinity of the soil solution was produced.

²) commercial production (kg m^{-2}), and evolution of the nitrate level in the soil solution were determined biweekly. During the first cropping season in none of the treatments, drainage was recorded, however, during the second cropping season, the P2-T1 treatment, which was managed with a very high humidity level, if it presented a continuous drainage along the cycle. In the treatments without drainage, regardless of the matrix voltage threshold, there was an increase in the salinity of the soil solution.

Keywords: matric potential, electrical conductivity, nitrate, leaching, soil solution.

Introducción

La producción hortícola intensiva desarrollada en el litoral del sureste andaluz presenta una alta eficiencia en el uso del agua. Si bien, el importante incremento de la superficie de cultivo de las últimas décadas ha afectado a la sostenibilidad de los principales recursos hídricos, de origen subterráneo. La demanda hídrica de más de 30.000 ha de cultivos en invernadero (CAPDR, 2015) ha desencadenado el deterioro del agua disponible, en términos de cantidad y de calidad, con una sobre-explotación generalizada y salinización de los principales acuíferos. Los niveles de nitratos en los acuíferos superficiales asociados a la principal comarca productora, el Campo de Dalías, y a otras comarcas productoras han obligado a que todas ellas sean declaradas como zonas vulnerables a la contaminación por nitratos (Consejería de Agricultura y Pesca, 2009). El desplazamiento de nitratos desde los suelos cultivados hacia los estratos inferiores requiere la conjunción de dos factores: elevados niveles de nitrógeno disponible en el suelo y percolación de la solución del suelo.

En este contexto es imprescindible aplicar medidas para garantizar la sostenibilidad del sistema. En lo que respecta a la disponibilidad de los recursos hídricos, las soluciones que se plantean, una vez descartada la posible reducción de la superficie cultivada son: la utilización de nuevas fuentes no convencionales de agua (desalada y regenerada principalmente) y la mejora de la eficiencia en el uso del recurso. En cuanto a la contaminación por nitratos, las medidas de mitigación pasan por la reducción de los procesos de percolación y por el control de la fertilización nitrogenada. Un adecuado control requiere del conocimiento de los niveles de nitrato disuelto en la solución de suelo. Diversos estudios muestran la posibilidad de mantener niveles bajos en la concentración de nitrato en suelo que no afecten a la producción en cultivo de pimiento en invernadero. Para ello plantean actuar sobre el equilibrio de fertirriego en función de los valores observados en solución de suelo extraída mediante sondas de succión de bajo coste (Fernández et al., 2011).

Recientes investigaciones para optimizar la gestión del riego, se basan en la medida del estado hídrico de la planta o en la medida directa de agua en el suelo (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015). La medida directa del agua en el suelo, ya sea el contenido de agua o el potencial mátrico del suelo, es más factible por presentar la ventaja de ser relativamente fácil de medir y automatizar (Van Iersel et al., 2013), resultando viable para su aplicación a nivel de parcela. Los tensiómetros determinan el potencial mátrico del suelo y son dispositivos rápidos, baratos, fáciles de manejar y adecuados para el seguimiento del estado hídrico del suelo. A menudo se prefieren a otro tipo de sensores de humedad de suelo debido a su bajo coste, simplicidad de uso, alta precisión de la medición, y a que las mediciones no están influenciadas por la temperatura o el potencial osmótico del suelo, además presentan la posibilidad de la adquisición electrónica de datos a través de transductores de presión diferencial (Thalheimer, 2003) permitiendo la automatización de la fertirrigación.

El presente trabajo tiene por objetivos analizar la influencia del nivel de humedad del suelo (gestionado automáticamente con electrotensiómetros) sobre el nivel de salinidad y nitratos en la solución del suelo y en el drenaje.

Material y Métodos

El ensayo se realizó en un invernadero tipo Almería de “raspa y amagado” situado en el Centro IFAPA La Mojonera (Almería), construido sobre un suelo enarenado artificial, característico de los cultivos hortícolas intensivos del sureste peninsular. El suelo presentaba los siguientes perfiles: capa superior de arena de granulometría 1-5 mm y 6-8 cm de espesor, capa de tierra de cañada aportada de textura franco-limosa y 20-30 cm de espesor y capa de suelo fértil original de textura franco arenosa, elevada pedregosidad y 20-30 cm de espesor.

El material vegetal implantado fue un cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) durante dos campañas, la primera con cultivar Mazo (de gran desarrollo vegetativo) trasplantado el 09 de septiembre de 2015 que finalizó el 15 de mayo de 2016, y la segunda con cultivar Parejo (de menor desarrollo vegetativo) trasplantado el 15 de septiembre de 2016 y finalizado el 11 de mayo de 2017, ambos con un marco de 2 planta m⁻².

El agua de riego, de calidad media, tenía una C.E. de 1,4 dS m⁻¹. El riego se aplicó mediante un sistema de riego localizado con emisores autocompensantes y antidrenantes de 3 L h⁻¹ y un marco de riego de 2 emisores m⁻².

El diseño experimental establecido en las dos campañas fue un diseño de bloques completos al azar. En la primera campaña se establecieron tres tratamientos de riego gestionados automáticamente con electrotensiómetros con las siguientes consignas de activación P1-T1: -10 kPa, P1-T2: -20 kPa y P1-T3: -30 kPa. Durante la segunda campaña, se establecieron cuatro tratamientos con las siguientes consignas de activación, P2-T1: -6 kPa, P2-T2: -10 kPa, P2-T3: -15kPa y P2-T4: -20 kPa. La dotación de riego establecida fue de 2 L m⁻² en las dos campañas y en todos los tratamientos. El invernadero estaba dotado de 12 lisímetros de drenaje de dimensiones 1 m² colocados a 50 cm de profundidad.

En cada tratamiento se colocaron cuatro electrotensiómetros (Irrometer Co, inc. Riverside, CA, USA) instalados a 15 cm de profundidad por debajo de la capa de arena (zona radicular) y a 15 cm de la planta y del gotero. Todos los tensiómetros estaban acoplados a un transductor electrónico que transfería los datos a un equipo de control (Sistema Red Himarcán®). Cada tratamiento de riego era activado con un tensiómetro electrónico, el resto se empleaban para registrar medidas del potencial matricial del suelo.

El equilibrio de fertirriego fue el mismo en todos los tratamientos. La solución de partida en la primera campaña de cultivo fue la siguiente: 12 de NO₃⁻, 1,5 de H₂PO₄⁻, 6,5 de K⁺, 4,5 de Ca²⁺ y 1,5 de Mg²⁺. A lo largo del ciclo de cultivo, en base a la información obtenida de los análisis de solución de suelo, se realizaron dos correcciones a esta solución, disminuyendo la concentración iónica, manteniendo la relación entre iones (Figura 4). En la segunda campaña el equilibrio de fertirriego fue el mismo en todos los tratamientos y se mantuvo la misma relación entre iones que en la primera campaña, incrementando proporcionalmente la concentración (Figura 5).

Se determinó el volumen de agua aplicado (L m⁻²) con contadores volumétricos, el volumen de drenaje (L m⁻²) en 12 lisímetros instalados a 0,5 m de profundidad (Figura 1), la producción comercial (kg m⁻²) durante todo el periodo de recolección, y evolución del nivel de nitratos y CE en la solución del suelo con periodicidad quincenal el empleo sondas de succión Rhizon SMS Rhizosphere®. Se instalaron 6 sondas por tratamiento a una profundidad de 15 cm y en una posición equidistante entre el emisor de riego y la planta, en la zona central de la línea de humedad. Se hicieron extracciones quincenales

de solución de suelo, utilizando para ello tubos de vacío de 9 mm. Los análisis de concentración de nitrato se realizaron con el medidor de iones B-743 LAQUAtwin Compact Nitrate Meter (Horiba Co. Ltd., Japón).

Se realizó un análisis de la varianza ANOVA para identificar el efecto de los tratamientos estudiados. Cuando el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre tratamientos se aplicó un test de comparación de medias (LSD; mínima diferencia significativa) con $p \leq 0.05$.

Resultados y Discusión

El sistema de activación automática del riego se ha mostrado eficaz en el mantenimiento de la humedad del suelo. Los tratamientos P1-T1, P1-T2 y P1-T3 se han mantenido en el mismo rango de tensión matricial a lo largo de todo el ciclo de cultivo.

En cuanto al consumo de agua durante la primera campaña (P1) el tratamiento que recibió la mayor cantidad de agua fue P1-T1 (-10 kPa) con 508 L m^{-2} . Le siguieron los tratamientos P1-T2 (-20 kPa) con un 24% y finalmente el tratamiento P1-T3 (-30 kPa) recibió la menor cantidad de agua, casi un 40% menos que P1-T1 (cuadro 1). En ninguno de los tratamientos se registró drenaje durante este ciclo (cuadro 1). En el segundo ciclo, el volumen de agua consumido fue menor que en la anterior campaña, debido a la variedad de pimiento estudiada. El consumo de agua fue mayor en P2-T1 (-6 kPa) con 462 L m^{-2} , los demás tratamientos P2-T2 (-10 kPa), P2-T3 (-15 kPa) y P2-T4 (-20kPa) le siguieron con un 56%, un 71% y casi un 76% menos que P2-T1 (Cuadro 1). En este ciclo se registró drenaje en el tratamiento con la menor consigna de riego (P2-T1) drenando un 32% del volumen aplicado (fig. 1).

La producción fue significativamente inferior en el tratamiento P1-T3, no existiendo diferencias entre los demás tratamientos en el primer ciclo. En la segunda campaña las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos P2-T1 y P2-T2 sin embargo, sí lo fueron con respecto a los tratamientos menos regados (P2-T3 y P2-T4) (cuadro 1). La evolución de la producción comercial acumulada muestra mayor precocidad en el tratamiento P1-T3 (fig. 2) en la primera campaña, lo mismo ocurre en los tratamientos P2-T3 y P2-T4 en el siguiente ciclo (fig. 3).

En lo que respecta a la concentración de nitrato de P1 en la solución de suelo no se han observado diferencias significativas entre tratamientos, mostrando todos ellos curvas de evolución similares (fig. 4). Dado que la solución nutritiva ha sido la misma en todos los tratamientos, el consumo de fertilizante nitrogenado ha sido proporcional al consumo de agua. Esto indica que las extracciones han sido variables en función del desarrollo alcanzado por el cultivo, ya que no se ha observado acumulación de nitratos al final del ciclo, ni pérdidas por drenaje en ninguno de los casos. Al final del ciclo, tras la segunda reducción de la concentración de la solución nutritiva, ha bajado la concentración de nitrato en solución de suelo por debajo de los niveles iniciales, con valores inferiores a 620 mg L^{-1} . En la segunda campaña los tratamientos han tenido un comportamiento diferente. Se ha aplicado una solución nutritiva con niveles de nitratos más elevados, lo cual ha originado un incremento en los niveles en solución de suelo en los tratamientos que no han registrado drenaje (P2-T2, P2-T3 y P2-T4), lo cual denota que las cantidades aplicadas han superado las extracciones del cultivo. Sin embargo, el tratamiento P2-T1, que ha registrado drenaje durante todo el ciclo de cultivo, ha mantenido una concentración en solución de suelo con tendencia constante y similar a la solución nutritiva aplicada (figuras 5 y 6).

La evolución de la C.E. y la concentración de NO_3^- determinados en el drenaje de P2-T1 mostraron la misma tendencia entre ambos y similar a la de la solución nutritiva. Por tanto, en estas condiciones de cultivo, con gestiones del riego con niveles de humedad

muy elevada se produce un constante desplazamiento de nitrato desde el suelo hacia capas inferiores, siendo una fuente potencial de contaminación (fig. 7).

Conclusiones

El sistema de activación automática del riego se ha mostrado eficaz en el mantenimiento de la humedad del suelo. El consumo de agua ha variado en función del nivel de humedad establecido. En todos los tratamientos con valor umbral de activación del riego de -10 kPa e inferior no se ha producido drenaje. La modificación de la solución nutritiva aplicada tiene una repercusión directa en la concentración de nitrato y CE en la solución de suelo. La gestión del riego con una fracción de drenaje continuo ha evitado la acumulación de nitrato en la solución de suelo, sin embargo se ha mostrado como el tratamiento más contaminante.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del “Proyecto de Transferencia de Tecnología al Regadío (PP.TRA.TRA201600.3), siendo cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Rural (FEDER) y la Consejería de Agricultura y Pesca (IFAPA-Junta de Andalucía).

Referencias

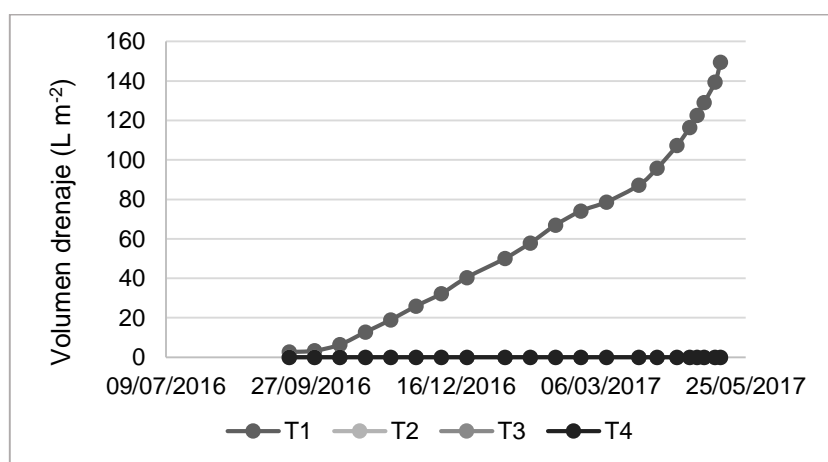
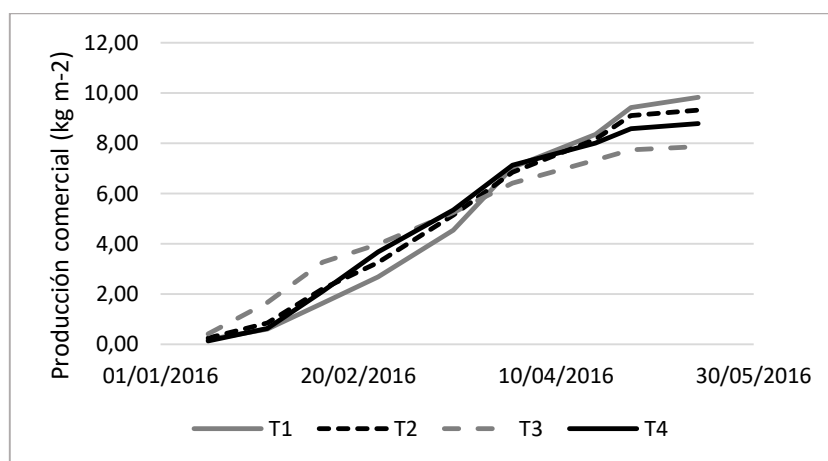
- Buttaro, D., Santamaria, P., Signore, A., Cantore, V., Boari, F., Montesano, F.F. & Parente, A. 2015. Irrigation management of greenhouse tomato and cucumber using tensiometer: Effects on yield, quality and water use. *Agric. Sci. Procedia*. 4:440-444.
- Consejería de Agricultura y Pesca. 2009. Orden 7 julio de 2009 por la que se aprueba la modificación de las zonas vulnerables designadas mediante Decreto 36/2008, de 5 de febrero, por el que se designan las zonas vulnerables y se establecen las medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. *Boletín Oficial de la Junta de Andalucía (BOJA) nº 157, 13/08/2009:48-51.*
- Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural (CAPDR). 2015. *Boletín Final Avance de la Valoración de Campaña 2014/15. Hortalizas protegidas. Almería.* 36 pp.
- Fernández, M., Baeza, R., Cánovas, G. & Martín, E. 2011. Protocolo de actuación para disminuir la contaminación por nitratos en cultivos de pimiento y tomate bajo abrigo. 17 pp.
- Létourneau, G., Caron, J., Anderson, L. & Cormier, J. 2015. Matric potential-based irrigation management of field-grown strawberry: Effects on yield and water use efficiency. *Agric. Water Manage.* 161:102-113.
- Thalheimer, M. 2003. Tensiometer modification for diminishing errors due to the fluctuating inner water column. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:737-739.
- Van Iersel, M.W., Chappell, M. & Lea-Cox, J.D. 2013. Sensors for improved efficiency of irrigation in greenhouse and nursery production. *HortTech.* 23: 735-746.

Cuadros y Figuras

Cuadro 1. Producción comercial, riego aplicado y drenaje para cada tratamiento.

Tratamientos	Producción comercial (kg m ⁻²)	Riego aplicado (L m ⁻²)	Drenaje (L m ⁻²)
P1-T1	9,8 a	508	0
P1-T2	9,3 a	387	0
P1-T3	7,8 b	312	0
P2-T1	7,3 a	462	213,26
P2-T2	6,5 a	202	0
P2-T3	5,2 b	133	0
P2-T4	4,4 b	111	0

¹Letras diferentes en la misma columna y cultivo indican diferencias significativas con una $p \leq 0,05$.

**Figura 1.** Evolución del volumen de drenaje obtenido durante la campaña 2016-2017.**Figura 2.** Evolución de la producción comercial acumulada de la campaña 2015-2016.

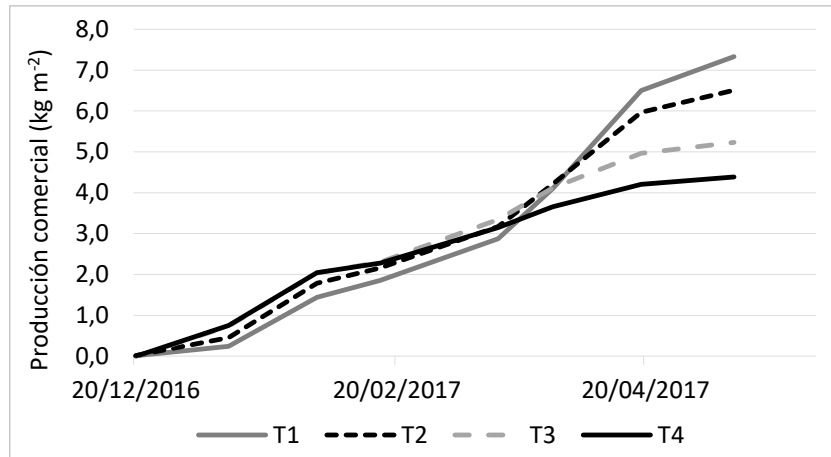


Figura 3. Evolución de la producción comercial acumulada durante la campaña 2016-2017.

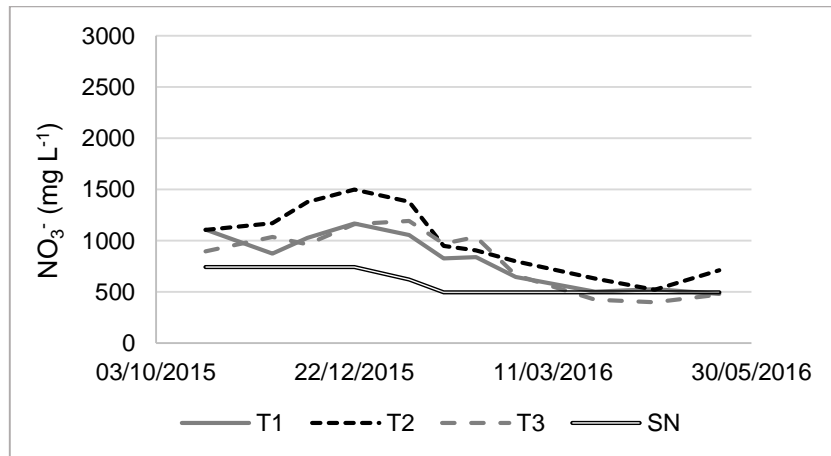


Figura 4. Evolución de la concentración de nitrato en la solución de suelo para cada tratamiento durante la campaña 2015-2016. SN: solución nutritiva.

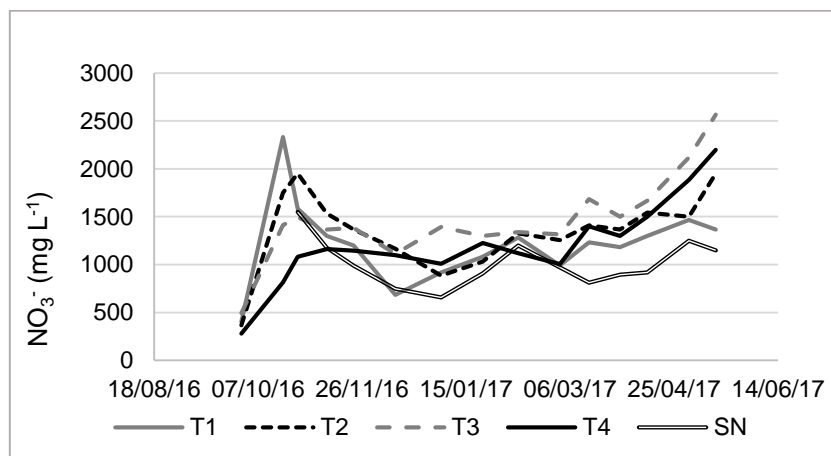


Figura 5. Evolución de la concentración de nitrato en la solución de suelo para cada tratamiento durante la campaña 2015-2016. SN: solución nutritiva. SS: solución de suelo.

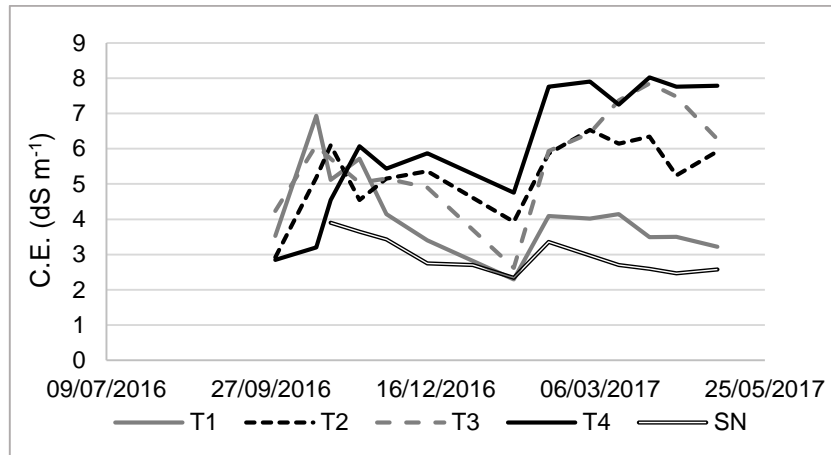


Figura 6. Evolución de la C.E. en la solución de suelo para cada tratamiento durante la campaña 2015-2016. SN: solución nutritiva. SS: solución de suelo.

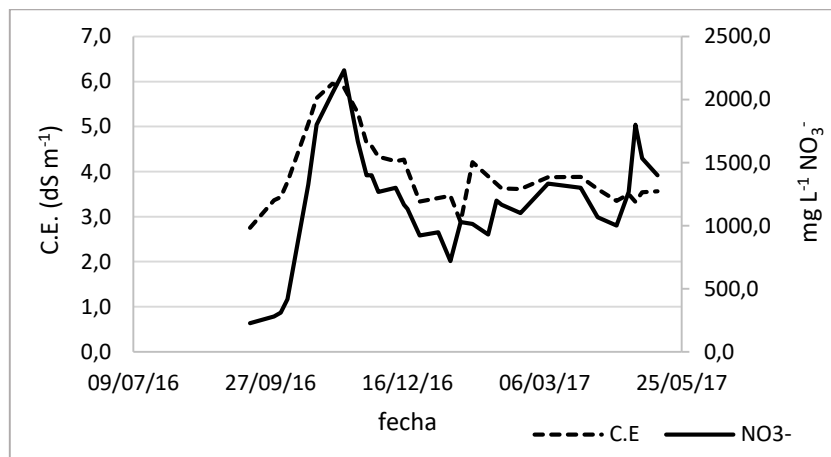


Figura 7. Evolución de la C.E. y la concentración de nitrato determinados en el drenaje obtenido en T1 durante la campaña 2016-2017.

Análisis estructural del recipiente de cultivo y el cajón exterior de un lisímetro de pesada de bajo coste

Juan Antonio Nicolás Cuevas¹, Dolores Parras Burgos², Leandro Ruiz Peñalver³ y José Miguel Molina Martínez⁴

¹ Departamento de Estructuras y Construcción, Universidad Politécnica de Cartagena, C/ Doctor Fleming, s/n, 30202 Cartagena, juan.nicolas@upct.es

² Departamento de Expresión Gráfica, Universidad Politécnica de Cartagena, C/ Doctor Fleming, s/n, 30202 Cartagena, dolores.parras@upct.es

³ Departamento de Tecnología Naval, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 52, 30203 Cartagena, leandro.ruiz@upct.es

⁴ Departamento de Ingeniería de los Alimentos y del Equipamiento Agrícola, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203 Cartagena, josem.molina@upct.es

Resumen

Los lisímetros de pesada utilizados habitualmente en la agricultura son de grandes dimensiones y precisan de una costosa obra civil para la construcción del contenedor que alberga el recipiente lisimétrico. En esta comunicación se analiza el recipiente de cultivo y el cajón exterior de un lisímetro de pesada de bajo coste diseñado para su uso en plantaciones hortícolas. El cajón exterior es el conjunto de elementos que aseguran la contención del terreno, separándolo del recipiente de cultivo. El cajón de cultivo alberga el terreno reconstituido donde se desarrolla la plantación y descansa sobre un sistema de pesaje. El sistema de pesada registra los cambios de peso del flujo de agua que entra y sale del cajón, permitiendo cuantificar la evapotranspiración. Para asegurar un buen funcionamiento del lisímetro, el recipiente de cultivo y el cajón exterior deben quedar separados, evitándose que las deformaciones de sus elementos interfieran entre sí y modifiquen las mediciones del sistema de pesada. El recipiente de cultivo y el cajón exterior se han diseñado con el programa SolidWorks y su comportamiento estructural se estudia mediante SolidWorks Simulation. Se analizan los esfuerzos para comprobar la resistencia de los elementos principales y las deformaciones que experimentan, lo que permite establecer las limitaciones durante su uso. Los resultados obtenidos permiten comprobar la validez del diseño y su optimización.

Palabras-clave: Lisimetría, agricultura de precisión, elementos finitos, diseño, construcción.

Abstract

Structural analysis of the lysimeter vessel and the container of a low-cost lysimeter.

The lysimeters commonly used in agriculture are large and require an expensive civil engineering work for the construction of the container that houses the lysimeter vessel. In this communication we analyse the lysimeter vessel and container of a low cost lysimeter designed to be used in horticultural farms. The container is the set of elements that ensure the containment of the ground, separating it from the lysimeter vessel. The lysimeter vessel houses the reconstituted land where the plantation is developed and rests on a weighing system. The weighing system records the weight changes of the water flow inputs and outputs in the lysimeter vessel, allowing the quantification of the evapotranspiration. In order to ensure a good performance of the lysimeter, the lysimeter

vessel and the container must be separated, to prevent the deformations of its elements from interfering with each other and modifying the weighing system measurements. The lysimeter vessel and container were designed with the SolidWorks software and its structural behaviour is studied using SolidWorks Simulation. The resistance of the main elements and the deformations that they undergo are analysed to performance verification, which allows to establish the limitations during their use. The results obtained allow to check the validity of the design and its optimization.

Keywords: Lisimetry, precision agriculture, finite elements, design, construction.

Introducción

Uno de los principales retos de la agricultura de regadío es la gestión eficiente del agua de riego para aumentar la productividad de una plantación, utilizando menos recursos hídricos y energéticos (López-Urrea et al., 2006). Para determinar las necesidades hídricas de los cultivos se precisa obtener la evapotranspiración del cultivo (ETc), pudiéndose calcular mediante la utilización de lisímetros de pesada. Estos equipos establecen un balance hídrico entre el agua suministrada (riego y lluvia) y el agua drenada en un determinado intervalo de tiempo. Para ello se mide el incremento o pérdida de agua del suelo mediante el pesaje del recipiente en el que se encuentra el terreno.

En la actualidad, los lisímetros de pesada utilizados en la agricultura son de grandes dimensiones y precisan de una costosa obra civil para su construcción. Además, requieren de un especial cuidado para su mantenimiento, por lo que su uso suele estar limitado a centros de investigación (Allen et al., 2006). La tecnología existente permite diseñar lisímetros de pesada de menores dimensiones, reduciendo los costes de inversión y mantenimiento, posibilitando su uso comercial (Meissner et al., 2014; Hertel y von Unold, 2014).

El objetivo de esta comunicación es analizar estructuralmente el recipiente de cultivo y el cajón exterior de un lisímetro de pesada de bajo coste diseñado para su uso en plantaciones hortícolas y determinar los esfuerzos y deformaciones que experimentan.

Material y Métodos

Para diseñar el recipiente de cultivo y el cajón exterior se ha utilizado el programa informático SolidWorks, estudiándose su comportamiento estructural mediante SolidWorks Simulation. Se ha efectuado un análisis estático para simular las tensiones y las deformaciones que se producen en las paredes del cajón interior y el cajón exterior bajo diferentes condiciones de carga. Los estados de carga simples y los estados combinados se indican en las tablas 3 y 4.

El cajón exterior del lisímetro de pesada está formado por un conjunto de elementos que aseguran la contención del terreno, separándolo del recipiente de cultivo. El cajón de cultivo alberga el terreno reconstituido donde se desarrolla la plantación y descansa sobre un sistema de pesaje. El sistema de pesada registra los cambios de peso del flujo de agua que entra y sale del cajón, permitiendo cuantificar la evapotranspiración del cultivo. Para asegurar un buen funcionamiento del lisímetro, el recipiente de cultivo y el cajón exterior deben quedar separados, evitándose que las deformaciones de sus elementos interfieran entre sí y modifiquen las mediciones del sistema de pesada.

Para el lisímetro de pesada propuesto, las dimensiones exteriores en planta del recipiente de cultivo son 1000 x 600 mm, y las dimensiones interiores del cajón exterior son 1026 x 626 mm, de modo que, una vez colocados en su posición final, entre ambos cajones hay una separación de 13 mm antes de la puesta en carga.

La estructura del cajón exterior está formada por perfiles tubulares cuadrados 40x2,6 y 50x3,2 y chapas de espesor 2 mm. La estructura del recipiente de cultivo está compuesta por perfiles tubulares cuadrados 20x2 y chapas de espesor 2 mm. Todo el conjunto se proyecta en acero inoxidable AISI 304. Para realizar el modelo de elementos finitos se han utilizado elementos tipo “BEAM” para los perfiles tubulares y elementos tipo “SHELL” para las chapas.

Resultados y Discusión

Los resultados de los análisis realizados se encuentran en las tablas 3 y 4. En las figuras 1 y 2 aparecen unas representaciones gráficas de los mismos. Para el cajón interior, la mayor deformación es de 0,147 mm y la tensión equivalente de Von Mises es de 12,982 MPa. Para el cajón exterior la deformación y la tensión equivalente de Von Mises son de 2 mm y 113,85 MPa respectivamente.

Para los análisis de los modelos tridimensionales con SolidWorks Simulation ha sido necesario simplificar los modelos originales, lo que ha permitido optimizar el tamaño de malla y los recursos computacionales (Gómez González, 2010).

El análisis estático indica que las deformaciones máximas que experimentan cada uno de los cajones no rebasa la separación entre ellos para las diferentes situaciones de carga consideradas. Para el cajón exterior, en varias combinaciones las deformaciones experimentadas por las chapas superan la mitad del espesor de las mismas, por lo que dejaría de ser válido el principio de pequeñas deformaciones. La teoría lineal supone que existen desplazamientos pequeños, por lo que este método puede generar resultados inexactos en los casos donde estas suposiciones no son válidas (SolidWorks simulation, 2016).

Conclusiones

Se ha conseguido realizar el análisis estático del cajón exterior y el cajón interior del lisímetro de pesada de bajo coste diseñado. Los resultados de deformación y tensión equivalente de Von Mises de las paredes del cajón interior y del cajón exterior satisfacen los requisitos necesarios para un correcto funcionamiento. No obstante, el análisis estático de las chapas puede no ser adecuado en los casos donde los desplazamientos superan la mitad de su espesor.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) para la realización de proyectos de investigación. Referencia: AGL2015-66938-C2-1-R. También se agradece la colaboración de la empresa Telenatura EBT, S.L.

Referencias

- Allen, R. G. 2006. *Evapotranspiración Del Cultivo: Guías Para La Determinación de Los Requerimientos de Agua de Los Cultivos*. Estudio FAO Riego Y Drenaje. FAO.
- Dassault Systèmes SolidWorks. *SolidWorks simulation*. 2016. Massachusetts : Dassault Systèmes SolidWorks Corporation.
- Gómez González, S. 2010. *SolidWorks simulation*. Paracuellos de Jarama, Madrid : Alfaomega.
- Hertel, Christian, and Georg von Unold. 2014. “Third-Generation Lysimeters: Scientific Engineered Monitoring Systems.” In *Novel Measurement and Assessment Tools for Monitoring and Management of Land and Water Resources in Agricultural Landscapes of Central Asia*, edited by Lothar Mueller, Abdulla Saparov, and

- Gunnar Lischeid, 175–84. Cham: Springer International
- López-Urrea, R, F Martín de Santa Olalla, C Fabeiro, and A Moratalla. 2006. “Testing Evapotranspiration Equations Using Lysimeter Observations in a Semiarid Climate.” *Agricultural Water Management* 85 (1–2): 15–26.
- Meissner, Ralph, Holger Rupp, and Manfred Seyfarth. 2014. “Advanced Technologies in Lysimetry.” In *Novel Measurement and Assessment Tools for Monitoring and Management of Land and Water Resources in Agricultural Landscapes of Central Asia*, edited by Lothar Mueller, Abdulla Saparov, and Gunnar Lischeid, 159–73. Cham: Springer International

Tablas y Figuras

Tabla 1. Estados de carga y combinaciones consideradas para el cajón interior.

Estado	Valor de la carga (N/m ²)	Distribución de la carga
1. Peso propio	-	-
2. Empuje del terreno	10000	Triangular
Combinación 1	Estados 1 y 2	

Tabla 2. Estados de carga y combinaciones consideradas para el cajón exterior.

Estado	Valor de la carga (N/m ²)	Distribución de la carga
1. Peso propio	-	-
2. Empuje del terreno	10000	Triangular
3. Empuje sobrecarga A	2640	Uniforme
4. Empuje sobrecarga B	5280	Uniforme
5. Empuje sobrecarga C	7920	Uniforme
Combinación 1	Estados 1 y 2	
Combinación 2	Estados 1, 2 y 3	
Combinación 3	Estados 1, 2 y 4	
Combinación 4	Estados 1, 2 y 5	

Tabla 3. Resultados del análisis para las paredes del cajón interior.

	Tensión equivalente de Von Mises (MPa)	URES: Desplazamiento resultante (mm)	Factor de seguridad
Combinación 1	12,982	0,147	10,76

Tabla 4. Resultados del análisis para el cajón exterior.

	Tensión equivalente de Von Mises (MPa)	URES: Desplazamiento resultante (mm)	Factor de seguridad
Combinación 1	36,254	0,746	5,633
Combinación 2	59,604	1,161	3,409
Combinación 3	84,979	1,576	2,402
Combinación 4	113,85	2	1,795

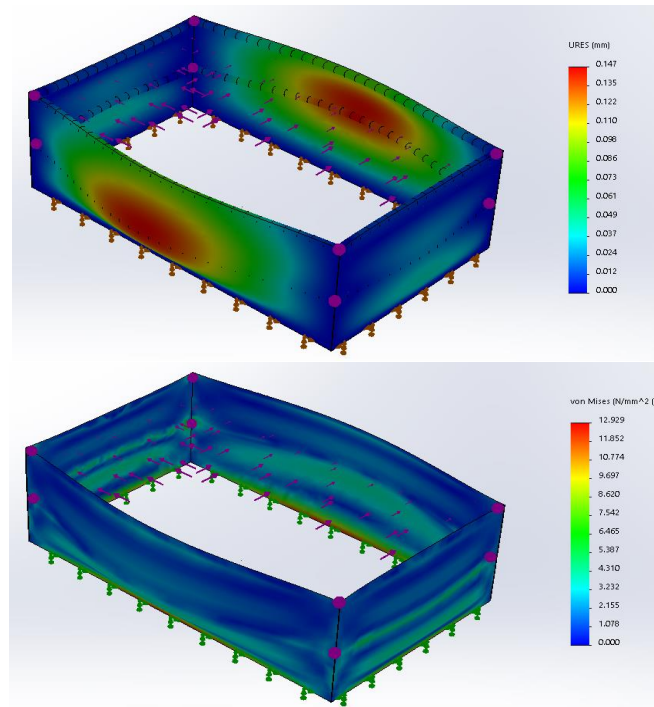


Figura 1. Vista tridimensional de los resultados obtenidos en la combinación 1 para las paredes del cajón interior del lisímetro de pesada de bajo coste. Desplazamiento resultante (mm) y tensión equivalente de Von Mises (MPa).

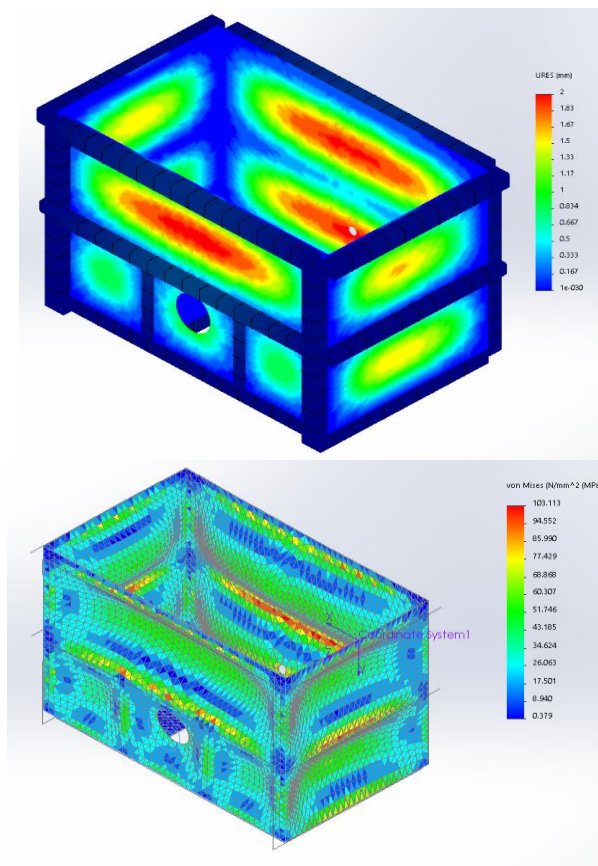


Figura 2. Vista tridimensional de los resultados obtenidos en la combinación 4 para el cajón exterior del lisímetro de pesada de bajo coste. Desplazamiento resultante (mm) y tensión equivalente de Von Mises (MPa).

Absorción de macronutrientes en fresa cultivada en fibra de coco en Tenerife (Islas Canarias)

Belarmino Santos¹, Domingo Ríos^{1,2}, Francisco Rodríguez² y Jose Luis Cruz³

¹Servicio Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife, Cl. Alcalde Mandillo Tejera, 8. Santa Cruz de Tenerife. belarmino@tenerife.es

²Departamento Ingeniería Agraria, Náutica, Civil y Marítima Universidad de La Laguna. Carretera Geneto, 2. La Laguna. djrios@ull.es

³Canarias Explosivos SA. Pol. Ind. Cueva Bermeja, Vía Servicio Puerto.Parcela 14. Santa Cruz de Tenerife. jlcg@canariasexplosivos.com

Resumen

Se ha intentado conocer la dinámica de absorción de macronutrientes en un cultivo de fresa en las condiciones del sur de Tenerife (Islas Canarias) para poder ajustar las soluciones nutritivas en cultivo sin suelo, que supone la gran mayoría de la superficie plantada de este cultivo en el archipiélago. Para ello se ha trabajado con un sistema con fibra de coco, con solución recuperada no recirculante utilizando el cv. Ventana en un ciclo de invierno (siembra en noviembre, recolección diciembre a junio). Se colocaron 3 estaciones, recogiendo en cada una la solución nutritiva y el drenaje de 2 sacos. Semanalmente se midieron los volúmenes, tanto de solución fresca como de drenaje y se analizaron nitratos, amonio, fosfatos, potasio, calcio y magnesio. Los macroelementos más consumidos fueron el potasio (25,4 g/m²), el nitrógeno (22,2 g/m²), el calcio (22,1 g/m²), el fósforo (4,8 g/m²) y el magnesio (2,1 g/m²). Las concentraciones de absorción obtenidas en el ensayo fueron inferiores a lo reportado en la bibliografía, entre un 15 y 60% más bajas. Teniendo en cuenta lo anterior, se propone un programa de fertirrigación en fresa para las condiciones del ensayo (Islas Canarias, cultivo en fibra de coco) más ajustada al consumo obtenido. Con respecto a la solución nutritiva aportada durante el ensayo, se bajarían las concentraciones entre un 15 y un 25%.

Palabras clave: cultivo sin suelo, hidroponía, *Fragaria x ananassa*, solución nutritiva, optimización uso fertilizantes.

Abstract

Strawberry is cultivated in Canary Islands mostly using substrate soilless cultivation. It has been tried to know the dynamics of macronutrients absorption in a strawberry crop in th conditions of Tenerife (Canary Islands) to be able to adjust the nutrient solutions. We used a system with coconut coir bags, with a non-recirculating recovered solution using cv Ventana in a winter cycle (transplant: november, harvesting: december to june). Three stations were placed, collecting in each the nutrient solution of 2 emitters and the drainage of 2 bags. The volumes of both fresh and drainage solutions were measured weekly. Nitrates, ammonium, phosphates, potassium, calcium and magnesium were analyzed.

Potassium was the most consumed macroelements (25.4 g/m²), followed by nitrogen (22.2 g/m²), calcium (22.1 g/m²), phosphorus (4.8 g / m²) and magnesium (2.1 g / m²). Absorption concentrations obtained were 15 to 60% lower than reported in the literature. A strawberry fertirrigation program is proposed for the conditions of the trial (Canary Islands, coconut coir substrate) more adjusted to the consumptions obtained. Concentrations proposed will be 15 to 25% lower tha the nutrient solution provided during the test.

Keywords: soilless cultivation, hydroponics, *Fragaria x ananassa*, nutrient solution, fertilizer use optimization.

Introducción

Una correcta aplicación del agua y los fertilizantes es cada vez más importante en Canarias por varias razones, entre ellas los altos precios del agua de riego (0,70 €/m³, Cabildo Insular de Tenerife, 2015) y la existencia de zonas declaradas como vulnerables a la contaminación por nitratos (BOC n° 149 de 13-11-2000). Por otra parte, tanto las normativas de producción controlada como las de producción integrada exigen un control estricto de la fertirrigación.

La introducción del cultivo sin suelo en fresa en Canarias a principios de este siglo ha permitido que siga presente en Tenerife con cierta importancia, obteniendo mayores producciones, mejoras en la recolección y menores problemas fitosanitarios. Al estar el cultivo con el sustrato sobre estructuras de más de 1 m de altura, se permite una fácil recolección mucho más fácil.

Para optimizar el uso de los recursos y disminuir el riesgo de contaminaciones, se hace necesario el estudio de ajustes en la fertirrigación (Sonnenveld y Voogt, 2001), optimizando la utilización de agua y fertilizantes, tanto más cuanto teniendo en cuenta las condiciones específicas de cultivo en Canarias, respecto de otras zonas productoras (agua, agroclimatología, ciclos, material vegetal) sin que se produzca una disminución en la producción y la calidad de la fresa.

En este trabajo se pretenden obtener los consumos nutricionales e hídricos del cultivo sin suelo de la fresa en invierno en las condiciones de cultivo de invierno-primavera en Tenerife.

Material y métodos

El ensayo se ubicó en una explotación comercial (SAT Fruten), en el municipio de Güímar (Las Cañadas, 95 msnm), en el sureste de Tenerife, dentro de la zona de cultivo. Se llevó a cabo al aire libre, en una instalación de cultivo sin suelo en ciclo semicerrado (se recogen los drenajes para utilizarlos en otros cultivos). El sustrato utilizado fue fibra de coco (Porosidad 95% v/v; Capacidad de aireación 37% v/v; Agua útil 27% v/v). Los sacos tenían una dimensión de 30 litros y una altura de 10 cm. Los sacos se colocaban sobre estructuras de acero corrugado a una altura de 1,2 m.

Se utilizó el cultivar de día corto, Ventana (provenientes de Viveros California SL), trasplantado el 5 de noviembre de 2008, a una densidad de 11 plantas/m². Las labores de cultivo y los tratamientos fitosanitarios fueron los normales en la finca, encuadrada dentro de las normas de producción controlada GLOBALGAP.. La recolección comenzó el 29 de diciembre y terminó el 15 de junio de 2009. La producción comercial obtenida fue de 5.36 kg/m².

Se utilizó un sistema de riego por goteo con 4 emisores autocompensantes antidrenantes de 2 L/h por saco (cada saco tenía 10 o 12 plantas) y un cabezal de riego automático con control de fertirrigación por consigna de pH y CE. Las consignas fueron CE =1.6 - 2.1 dS/m y pH= 5.5-6.5. La composición del agua de riego utilizada y de la solución nutritiva utilizada se presenta en la tabla 1. Hay que destacar que el agua de riego tiene una composición típica de acuíferos volcánicos, con altos contenidos relativos de sodio, magnesio y bicarbonatos.

Se colocaron 3 estaciones donde se recogía la solución nutritiva y el drenaje. Cada estación recogía la solución fresca de 2 emisores y el drenaje de 2 sacos (24 plantas). Semanalmente se midieron los volúmenes, tanto de solución fresca como de drenaje y se

analizaron macroelementos (nitratos, amonio, fosfatos, potasio, calcio y magnesio). Las mediciones comenzaron el 1 de enero y se dieron por finalizadas el 15 de junio de 2009 (28 semanas). La metodología de análisis fue la utilizada en los métodos oficiales de análisis, realizándose en el Laboratorio de I+D de Canarias Explosivos. S.A..

En la figura 1 se muestran los datos climáticos diarios (temperatura media y radiación) de la estación agrometeorológica más cercana (a 1000 m en línea recta del ensayo y a una cota de 156 msnm).

Se determinó la concentración de absorción para estimar los nutrientes a incorporar en el agua de riego, y mantener la concentración requerida para una óptima producción (Voogt y Sonneveld, 1997). Para el cálculo se empleó la siguiente fórmula:

$$C_{\text{absorción}} = [(C_{\text{aporte}} \cdot V_{\text{aporte}}) - (C_{\text{drenaje}} \cdot V_{\text{drenaje}})] / (V_{\text{aporte}} \cdot V_{\text{drenaje}}) \text{ (mmol/L)}$$

donde C = concentración (mmol/L) y V = volumen (L/m²)

Otra forma de expresar el consumo del sistema es la acumulación en el drenaje, que expresa la cantidad de cada nutriente en el drenaje con respecto a la aportada (Sonneveld y Voogt, 2001).

$$\text{Relación (aporte/drenaje)} = (C_{\text{drenaje}} / C_{\text{aporte}}) \cdot 100 \text{ (\%)}$$

Donde C = concentración del nutriente (mmol/L)

Resultados y discusión

Uso del agua: El consumo de agua durante el ensayo fue 230 L/m², lo que supuso una eficiencia de uso del agua sobre peso fresco (EUA_f) de 23 g/L (tabla 2). Los datos sobre la eEUA_f obtenidos en el ensayo resultaron muy similares a los obtenidos por Agüero et al. (1997), los cuales obtuvieron una EUA_f de 24,3 g/l. Como comparación, Medrano et al. (2013), determinaron una EUA_f de 28,7 g/l, en un ciclo cerrado.

Nitrógeno: El consumo de nitrógeno presentó un valor medio de 22,2 g/m², valor similar al determinado por Domenech (1987) y muy superior al presentado por Castell (1993) y Lieten y Misotten (1993) (tabla 3). Agüero et al. (1997) obtuvieron una dosis óptima de 19,6 g/m² para el cultivar Ventana en Florida. La concentración media de absorción (7.1 mmol/L) fue, la mitad de la obtenida por Lieten y Misotten (1993), con una acumulación media en el drenaje del 59%, algo mayor al obtenido por Peralbo et al. (2005) (tabla 4).

Si tenemos en cuenta la concentración de absorción del nitrógeno en forma nítrica, podemos observar valores máximos al inicio del cultivo para ir disminuyendo de forma progresiva hasta alcanzar los valores mínimos en la época de máxima fructificación (fig. 2).

Fósforo: El consumo medio fue 4,8 g/m² (tabla 3) resultando similar a los valores considerados como normales por Domenech (1987), pero superior al considerado por Castell (1993) y Lieten y Misotten (1993). La acumulación en el drenaje aumentó durante el periodo final (76-80%), con una media total del 41%, algo menor que los resultados de Peralbo et al. (2005) que superaron el 60% (tabla 4).

En el caso de los fosfatos la concentración de absorción media resultó de 0,78 mmol/L (tabla 3), siendo ligeramente inferior a los valores obtenidos por Lieten y Misotten (1993). Al igual que ocurre con el nitrógeno la concentración de absorción para el fósforo tiene los valores máximos al inicio del crecimiento de la planta, para ir disminuyendo hasta alcanzar los mínimos en recolección (fig. 3).

Potasio: En cuanto al consumo medio del potasio, éste fue de 25,4 g/m² (tabla 3), siendo el nutriente más consumido. De nuevo, se encontró dentro del intervalo al encontrado por Domenech (1987), pero resultando superior al obtenido por Castell (1993) y Lieten y Misotten (1993). Las concentraciones de potasio en el drenaje fueron

bastante constantes a lo largo de todo el ensayo (50-70% de acumulación), con una media del 58%, relativamente similar a los resultados de Peralbo et al. (2005). (tabla 4).

El potasio fue el elemento que presentó una mayor concentración de absorción a lo largo del ensayo, con una media de 4,34 mmol/L (tabla 3), inferior al obtenido por Lieten y Misotten (1993). Los valores más altos se obtuvieron en la semana 13, estabilizándose en 4.0 – 4.5 mmol/L a partir de ese momento hasta las dos últimas semanas en que alcanzó el valor máximo (fig. 4).

Calcio y magnesio: El valor medio del consumo del calcio resultó de 22,1 g/m² (tabla 3). Este consumo, como en el resto de nutrientes, salvo el potasio y el magnesio, fue dependiente del consumo hídrico, con altibajos debidos a la radiación durante todo el ensayo. El consumo fue superior al obtenido por Lieten y Misotten (1993), aunque el comportamiento durante el tiempo fue similar, con subidas hasta recolección y luego un consumo relativamente constante. La relación entre el aporte y el drenaje en el caso del fue muy similar al del fósforo, con los dos primeros meses donde los drenajes mostraron valores menores que los aportes, hasta casi llegar a un 100% de acumulación en junio. El resultado medio fue de un 59%, muy similar a los obtenidos por Peralbo et al. (2005) (Tabla 4). La concentración de absorción del calcio presentó un valor medio de 2,75 mmol/L (tabla 3), bastante inferior al considerado por Lieten y Misotten (1993). El valor máximo se alcanzó durante la floración, coincidiendo con lo descrito por los autores anteriores (fig. 5).

El magnesio tuvo un consumo de 2,2 g/m², inferior al obtenido por Domenech (1987) y al considerado como normal por Castell (1993) (tabla 3). Por otro lado, la concentración de absorción del magnesio presentó un comportamiento muy homogéneo durante todo el ensayo, manteniéndose en una media de 0,36 mmol/L. La acumulación media durante el ensayo estuvo en el 129% (tabla 4 y fig. 5).

Conclusiones

El buen desarrollo de las plantas, los niveles foliares obtenidos (datos no mostrados) unido a los resultados anteriores nos lleva a pensar que para las condiciones del ensayo se podrían reducir sustancialmente los aportes de nutrientes, de acuerdo a lo obtenido por otros autores como Andriolo et al. (2013) y Cantliffe et al. (2007) en condiciones similares. Esta bajada sería mayor en el periodo de mayor demanda evaporativa (meses de abril- mayo- junio),

Se propone una alternativa de fertirrigación para fresa para las condiciones de la zona productora de Fresa de Canarias en cultivo de recolección de invierno-primavera con aguas de 0.50-0.70 dS/m, más ajustada al consumo semanal y con una menor conductividad eléctrica que la inicialmente usada. Constaría de dos soluciones, que se cambiarían a mitad del ciclo (Tabla 5). Con respecto a la solución nutritiva aportada durante el ensayo, se bajarían las concentraciones totales entre un 15 y un 25%.

Referencias

- Agüero, J.J. & Kirschbaum, D.S. 2013. Approaches to nutrition use efficiency of different strawberry genotypes.. *Int. J. Fruit Sci.*, 13: 139-148.
- Andriolo, J.L., Erpen, L., Cardoso, F.L., Cocco, C., Casagrande, G.S. & Jänisch, D.I. 2011. Nitrogen levels in the cultivation of strawberries in soilless culture. *Horticultura Brasileira*, 29: 516-519.
- Cabildo Insular de Tenerife. 2015. Plan Hidrológico de Tenerife. www.planhidrologicodetenerife.org.

- Cantliffe, D.J., Castellanos, J.Z. & Paranjpe, A.V. 2007. Yield and quality of greenhouse-grown strawberries as affected by nitrogen level in coco coir and pine bark media. Proc. Fla. State Hort. Soc., 120, 157-161.
- Castell, V. 1993. El fresón: aspectos técnicos y perspectivas. Caja Rural de Valencia. 122 p.
- Domenech, M. 1987. Extracción dinámica de macroelementos en fresón Douglas.. En: I Simposio Internacional de riego localizado. Almería. p. 29-39.
- Lieten, F. & Misotten, C. 1993. Nutrient uptake of strawberry plants (cv. Elsanta) grown on substrate. Acta Horticulturae, 348: 299-306.
- Medrano, E., Sánchez, M.C., Alonso, F. & Lorenzo, P. 2013. El cultivo de fresón en sistema recirculante en Almería. VII Seminario Técnico Agronómico: Cultivo de fresón en invernadero. Fundación Cajamar. Almería. Disponible en línea en: <http://www.fundacioncajamar.es/es/pdf/viii-seminario-tecnico-agronomico/ponencia-pilar-lorenzo/ponencia-pilar-lorenzo.pdf>
- Peralbo, A., Flores, F. & López-Medina, J.. 2005. Recirculating nutrient solution in strawberry. Acta Horticulturae, 697: 101-106.
- Sonnenveld, C. & Voogt, W. 2001 Chemical analysis in substrate systems and hydroponics: use and interpretation. Acta Horticulturae, 548: 247-259
- Voogt, W. & Sonnenveld, C. 1997. Nutrient management in closed growing systems for greenhouse production. p.83-102. In. E. Goto, K. Kurata y M. Hayashi. Plant production in closed ecosystems. Kluwer Academic Publishers.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Solución nutritiva utilizada en el ensayo

	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻
	mmol/L									
Solución	9,0	0,5	1,0	5,0	3,0	1,32	4,25	2,05	0,96	0,5
aportes	0	0	0	0,27	0,96	1,32	4,25	2,05	0,96	3,36
a. riego										

Tabla 2- Datos medios de la eficiencia de uso del agua EUA_f

Aporte	Drenaje	Consumo	EUA _f	
	L/m ³		L/kg	g/L
328	98	230	42,9	23,3

Tabla 3- Consumo de nutrientes obtenido en el ensayo comparado con el de otras referencias

Referencia	Rendimiento t/ha	Consumo de nutriente (g/m ²)				
		N	P	K	Ca	Mg
Ensayo	56	22.2	4.8	25.4	22.1	2.2
Domenech (1987)	50 – 80	22.5-27.5	3.5-4.5	23.2-26.5	---	4.8-7.3
Castell (1993)	38 – 55	11.3-15.4	1.8-2.0	11.0-17.7	---	2.7-3.3
Lieten y Missoten (1993)	60	12.5	1.7	15.8	5.6	1.4

Tabla 4- Concentraciones de absorción y coeficientes de acumulación globales.

	Unidad	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
Concentración absorción	mmol/L	7.1	0.4	0.8	4.3	2.8	0.4
Coefficiente de acumulación	%	58.8	--	40.9	57.6	58.8	128.8

Tabla 5- Soluciones nutritivas propuestas para la zona de producción en función de los resultados del ensayo.

Periodo	CE	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻
	dS/m							
0 – 3meses	1.5	8.0	0.5	0.9	4.5	2.7	1.0	0.5
3 meses-fin cultivo	1.3	7.0	0.5	0.7	4.0	2.2	0.6	0.5

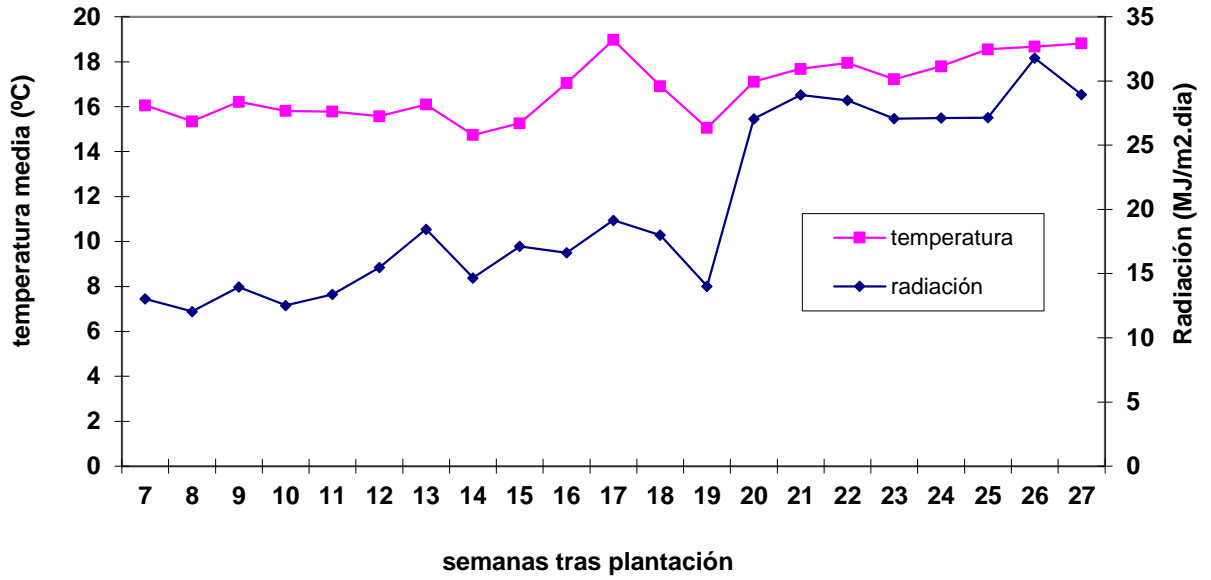


Figura 1- Evolución de las temperaturas y las radiaciones semanales durante el ensayo

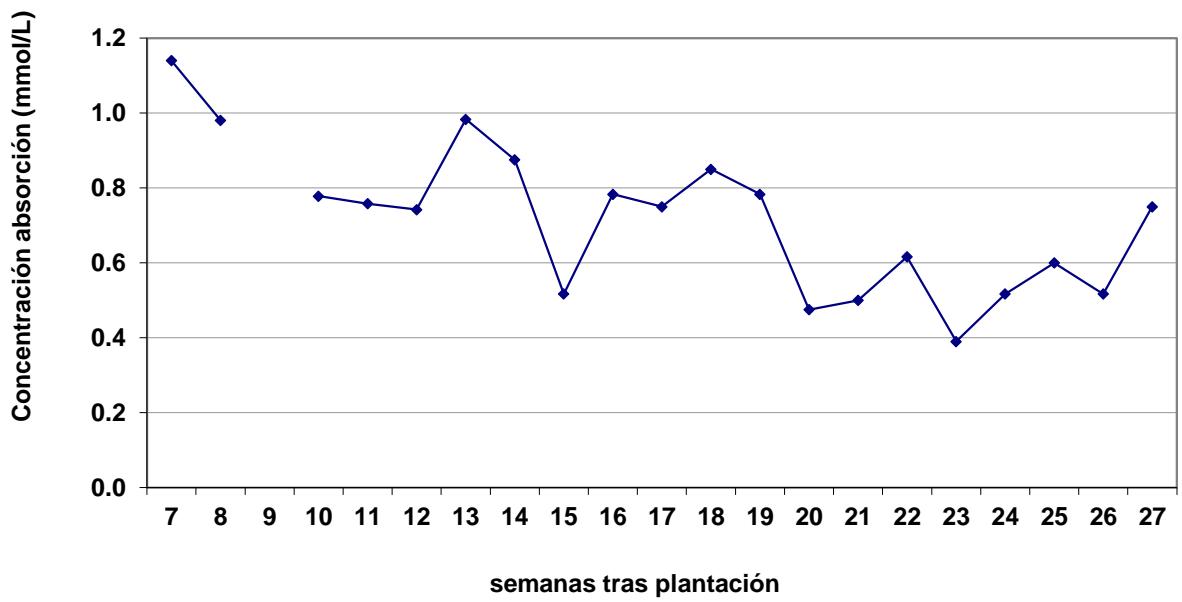


Figura 2- Evolución de la concentración de absorción de nitrato.

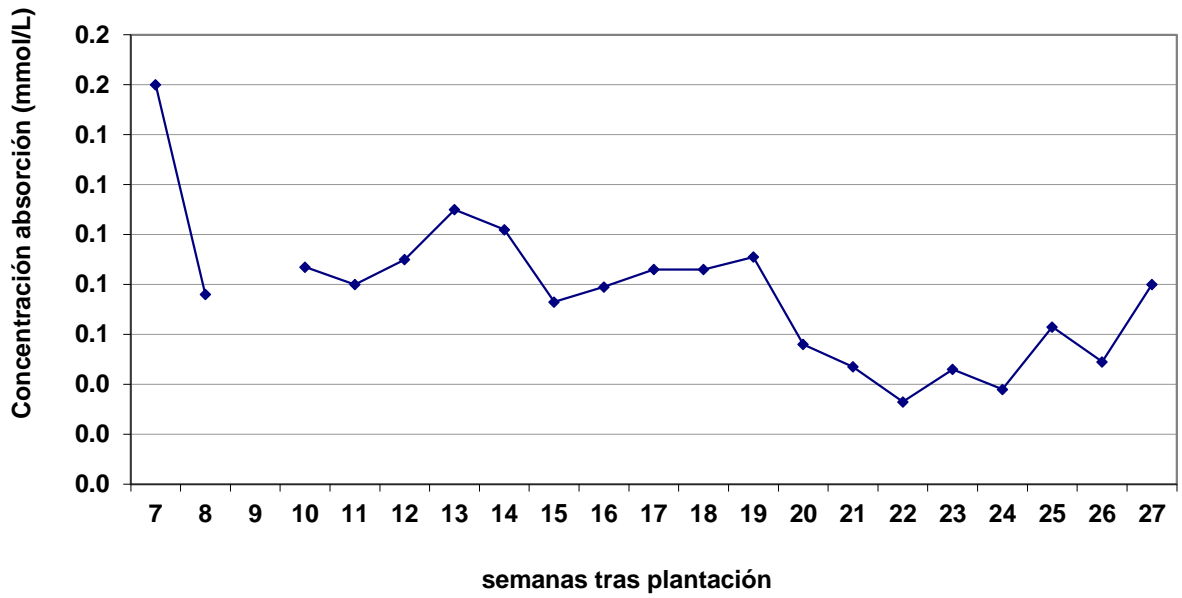


Figura 3- Evolución de la concentración de absorción de fósforo ($H_2PO_4^{2-}$).

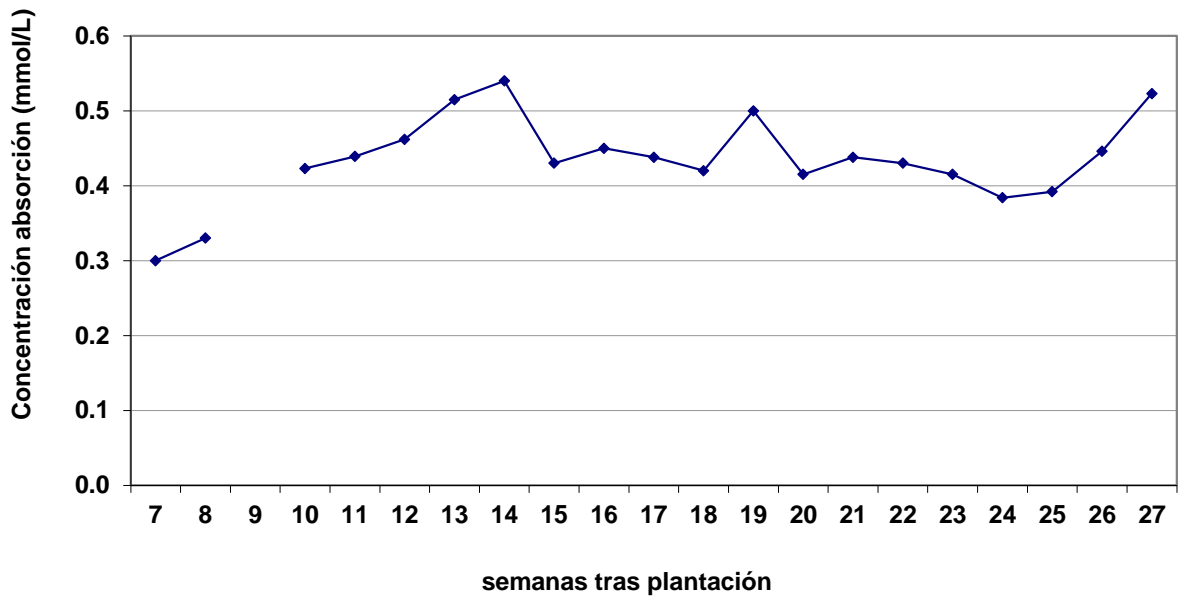


Figura 4- Evolución de la concentración de absorción de potasio.

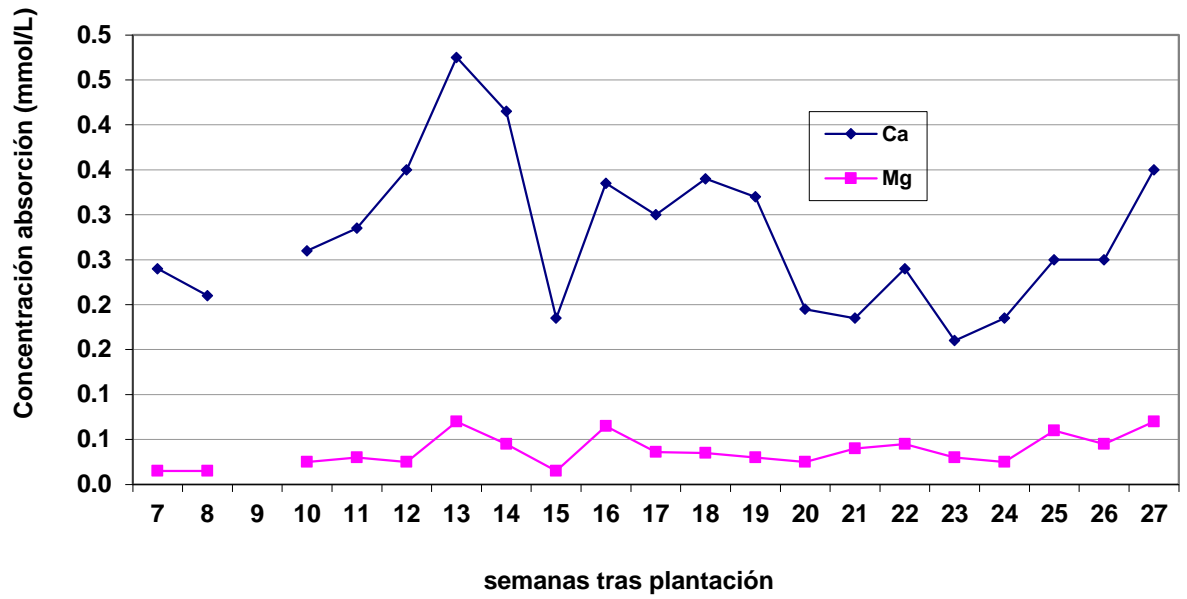


Figura 5- Evolución de la concentración de absorción de calcio y magnesio.

Comportamiento de tomate tipo raf en ciclo de otoño con sistema de cultivo sin suelo, comparando dos volúmenes de fibra de coco

Baixauli, C.¹, Aguilar, J.M.¹, Giner, A.¹, Núñez, A.¹, Nájera, I.¹

¹Centro de Experiencias de Cajamar en Paiporta. Apdo 194 46200 Paiporta (Valencia) España. carlosbaixauli@cajamar.com

Resumen

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tipo RAF es muy apreciado por los consumidores, debido a sus buenas características organolépticas. El cultivo sin suelo es una alternativa que permite soslayar plagas y enfermedades de suelo. En este estudio se compara el comportamiento agronómico de dos volúmenes de sustrato a base de fibra de coco y tres cvs de este tipo de tomate.

Para el desarrollo de la experiencia se utilizaron tres cultivares de tomate ‘RAF’, ‘Poesía’ y ‘Marmalindo’. La experiencia se desarrolló en sistema de cultivo sin suelo, en la que se compararon dos volúmenes de fibra de coco: sacos de 18 y 28,8 l. La experiencia se desarrolló en ciclo de otoño en un multitúnel con cubierta de malla de 14x10 hilos de polietileno. Se realizó un diseño estadístico de bloques al azar con 3 repeticiones y 6 plantas por parcela elemental. El riego fue independiente para cada volumen.

Un mayor volumen de sustrato mejoró la producción comercial total, redujo la incidencia de rajado de los frutos y redujo el destrío total. Un volumen más alto indujo un mayor vigor, se apreció una mayor susceptibilidad a *Alternaria* y amarilleo en las plantas. De los cultivares ensayados, el cv ‘RAF’ dio menor producción comercial y mayor producción de destrío total, debido a su mayor proclividad a presencia de cicatriz estilar y a virosis en sus frutos. El cv ‘Poesía’ fue el más susceptible a agrietado de sus frutos, fue más vigoroso y menos susceptible al amarilleo.

Palabras clave: Organolépticas, cultivo sin suelo, multitúnel, riego, volumen sustrato.

Introducción

Los sistemas de cultivo sin suelo son una alternativa eficiente para el cultivo de hortalizas sensibles a plagas y enfermedades de suelo (Baixauli y Aguilar, 2002). Reducir el volumen de sustrato puede ser interesante para minorar los costes de producción. En trabajos previos, se estudió el comportamiento de diferentes portainjertos con tomate tipo RAF y se constató que con cualquiera de ellos se mejora la producción, el vigor y se reduce el ataque de nematodos, frente a un tomate sin injertar, mejorando en general el comportamiento agronómico (Giner *et al.*, 2014).

En esta experiencia utilizando tres selecciones de tomate tipo RAF, se compara la respuesta agronómica de dos volúmenes distintos de fibra de coco, en un cultivo de ciclo otoñal, en un sistema de cultivo sin suelo.

Material y Métodos

Para el desarrollo de la experiencia se utilizaron tres variedades de tomate tipo raf: cv ‘raf’, ‘poesía’ y ‘marmalindo’

El tomate se desarrolló en sistema de cultivo sin suelo, para lo cual se compararon dos volúmenes de fibra de coco de la firma Projar (goldengrow) de 18 y 28,8 l, con dimensiones: 100x18x10 cm y 100x18x16 cm respectivamente, de segundo año y cuarto cultivo, siendo los cultivos precedentes tomate, compuestos de una mezcla de 70% de fibra de coco y 30% de chips de coco. La siembra se realizó en un semillero profesional

el 24 de julio de 2015 y la plantación tuvo lugar el 19 de agosto. Para ello se dispusieron 6 plantas por saco, realizando poda a 1 tallo, resultando una densidad de 2,86 plantas m⁻². La experiencia se desarrolló bajo una estructura de invernadero multitúnel con cubierta de malla de 14x10 hilos de polietileno. Se realizó un diseño estadístico de bloques al azar con 3 repeticiones y 6 plantas por parcela elemental. El riego fue independiente para cada volumen de sustrato, para ello se consideró una hipótesis de nivel de agotamiento del 10% y un drenaje previsto del 30%, como resultado se establecieron riegos de 11 a 12 minutos para los sacos de 18 l y de 14 a 15 minutos para los de 28,8 l.

Se midió la producción comercial, el peso medio de los frutos comerciales, utilizando 10 piezas por repetición, en cada uno de los meses de recolección. Se contabilizó también la producción de destrío, clasificada por las diferentes causas. El 22 de octubre se hizo una valoración de altura de la planta, índice de frondosidad puntuando de 0 a 5, de menor a mayor follaje, incidencia de daños por el hongo *Alternaria* y nivel de amarilleo de los folíolos de la planta. El día 27 de noviembre a partir de un panel de cata se valoró la textura, el sabor y aspecto general de los distintos cvs.

Resultados y Discusión

La recolección se inició el 21 de octubre de 2015 y el ensayo se dio por finalizado el 25 de enero de 2016, para lo cual se realizaron un total de 18 recolecciones.

La mayor producción comercial final se obtuvo con el tomate cultivado sobre los sacos de 28,8 l, detectando diferencias significativas a nivel estadístico (d.s.n.e.). Los cvs más productivos fueron ‘Poesía’ y ‘Marmalindo’, sin detectar d.s.n.e. entre ellos y detectando d.s.n.e. entre estas dos y el cv ‘RAF’, que fue el menos productivo. (tabla 1).

En relación al peso medio de los frutos comerciales, no se apreciaron d.s.n.e. entre los dos volúmenes de sustrato analizados. En la producción de octubre y noviembre, el menor peso medio se obtuvo con el cv ‘RAF’ y no se apreciaron diferencias s.n.e. para el peso medio de los frutos durante los meses de diciembre y enero. (tabla 1).

En relación a la producción de destrío, no se observaron diferencias en el destrío por frutos pequeños y deformes entre volúmenes de sustratos ni cultivares. Con el volumen menor se obtuvo una mayor producción de destrío por frutos agrietados, detectando d.s.n.e. El cv ‘Poesía’ fue el más sensible al agrietado de sus frutos, detectando d.s.n.e. entre éste y los otros 2 cvs. En relación al destrío por cicatriz estilar, se observó una mayor susceptibilidad en el cv ‘RAF’, seguido del cv ‘Marmalindo’ y la menor incidencia en el cv ‘Poesía’. En el cv ‘RAF’ se detectó una mayor incidencia de frutos afectados por los síntomas de virus. Aunque se observó una mayor cantidad de destrío total para el sustrato de menor volumen, no se apreciaron d.s.n.e. El cv ‘RAF’ fue el que produjo mayor cantidad de destrío total, detectando d.s.n.e. respecto los otros dos cvs. (tabla 2).

En relación al comportamiento de la planta, entre volúmenes de sustrato se observó una mayor frondosidad de las plantas, mayor susceptibilidad a *Alternaria* e índice a amarilleo en el sustrato de mayor volumen. El cv ‘Poesía’ se midió una mayor altura de planta, fue también el que presentó mayor frondosidad y un menor índice de amarilleo (tabla 3). En el resultado del panel de cata, no se apreciaron diferencias entre los cvs para la textura, sabor, aunque se apreció un peor aspecto general en el cv ‘Marmalindo’. (tabla 4).

Conclusiones

En esta experiencia el sustrato de mayor volumen mejoró la producción comercial total, redujo la incidencia de rajado y produjo algo menos de destrío total. Un mayor

volumen de sustrato indujo un mayor vigor, susceptibilidad a *Alternaria* y amarilleo en las plantas.

El cv 'RAF' fue el menos productivo, dando una mayor cantidad de destrío total, debido a su mayor susceptibilidad a la cicatriz estilar y a virosis. El cv 'Poesía' fue el más susceptible a agrietado de los frutos. El cv más vigoroso fue 'Poesía', siendo también el menos susceptible al amarilleo.

Referencias

- Baixauli, c. Y aguilar, j.m. 2002. Cultivo sin suelo de hortalizas, aspectos prácticos y experiencias. Ed. Generalitat valenciana consellería de agricultura, pesca y alimentación.
- Miguel, a., de la torre, f., baixauli, c., maroto, j.v., jordá, c., lópez, m. Y garcía jiménez, j. 2007. Injerto de Hortalizas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Giner, A., Aguilar, J.M., Baixauli, C., Nájera, I. y Núñez, A. 2014. Comportamiento agronómico de diferentes portainjertos en cultivo de tomate valenciano. Actas de Horticultura 65: 183-186. XIII Jornadas del Grupo de Horticultura y I Jornadas del Grupo de Alimentación y Salud. Logroño.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Datos productivos. Rendimiento comercial y evolución del peso medio

Volumen de sustrato x Cultivar	Rendimiento comercial (kg m ⁻²)	Peso medio mensual (g fruto ⁻¹)			
		Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
<i>Volumen de sustrato</i>					
18 litros	9,50 b	194,64	315,74	217,73	209,44
28,8 litros	11,50 a	186,35	321,79	231,20	209,99
<i>Cultivar</i>					
Poesía	12,44 a	215,47 a	289,51 b	223,62	202,77
Marmalindo	11,87 a	190,47 ab	361,68 a	220,39	204,21
RAF	7,18 b	165,54 b	305,11 b	229,37	222,16
Análisis de la varianza		Probabilidad (F)			
Parámetros (grados de libertad)		Probabilidad F			
Volumen sustrato (1)		**	n.s.	n.s.	n.s.
Cultivar (2)		**	*	*	n.s.
Volumen sustrato x Cultivar (2)		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

ns, *, **. No significativo, $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$ respectivamente. Las letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas $P \leq 0.05$, según el test LSD

Tabla 2- Producción destrío (kg m⁻²)

Volumen de sustrato x Cultivar	Frutos pequeños y deformes acumulados	Destrío por fruto rajado acumulados	Destrío por cicatriz estilar acumulada	Destrío por Virus acumulados	Destrío total acumulado
<i>Volumen de sustrato</i>					
18 litros	0,27	1,60 a	1,01	0,75	3,67
28,8 litros	0,39	0,52 b	1,02	0,87	2,86
<i>Cultivar</i>					
Poesía	0,18	2,06 a	0,30 c	0,44 b	3,02 b
Marmalindo	0,37	0,65 b	1,04 b	0,03 b	2,13 b
RAF	0,45	0,47 b	1,70 a	1,97 a	4,64 a
Análisis de la varianza					
Parámetros (grados de libertad)			Probabilidad (F)		
Volumen sustrato (1)	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.
Cultivar (2)	n.s.	**	**	**	**
Volumen sustrato x Cultivar (2)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

ns, *, **. No significativo, P≤0.05 y P≤0.01 respectivamente. Las letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas P≤0.05, según el test LSD

Tabla 3- Altura de planta y frondosidad a fecha 22/10/15

Volumen de sustrato x Cultivar	22-10-15			
	Altura planta (0-5)	Frondosidad (0-5)	Alternaria (0-5)	Amarilleo hoja (0-5)
<i>Volumen de sustrato</i>				
18 litros	168,87	2,44 b	1,89 b	2,44 b
28,8 litros	173,58	3,11 a	2,89 a	3,33 a
<i>Cultivar</i>				
Poesía	204,60 a	3,33 a	2,50	1,83 b
Marmalindo	156,13 b	2,33 b	2,50	3,50 a
RAF	152,93 b	2,67 b	2,17	3,33 a
Análisis de la varianza				
Parámetros (grados de libertad)			Probabilidad (F)	
Volumen sustrato (1)	n.s.	**	**	**
Cultivar (2)	**	**	n.s.	**
Volumen sustrato x Cultivar (2)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

ns, *, **. No significativo, P≤0.05 y P≤0.01 respectivamente. Las letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas P≤0.05, según el test LSD

Tabla 4. Cata realizada a fecha 27/11/15

Variedad	Textura (0-5)	Sabor (0-5)	Aspecto (0-5)
Poesía	2,50	2,33	3,83 a
Marmalindo	2,50	2,33	2,67 b
RAF	2,83	2,83	3,83 a
	n.s.	n.s.	*

ns, *, **. No significativo, P≤0.05 y P≤0.01 respectivamente. Las letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas P≤0.05, según el test LSD

Sessão Temática: Viticultura

Canopy and soil thermal patterns to support management of irrigated vineyards

Costa, J.M.^{1,2}, Egipto R.^{1,3}, Sanchez-Virosta^{2,4}, Lopes, C.M.¹, Chaves M.².

¹ LEAF, Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa, Portugal, miguelcosta@isa.ulisboa.pt,

² LEM, ITQB Nova, Universidade NOVA de Lisboa, Oeiras, Portugal,

³ INIAV, I.P. Pólo de Dois Portos, Quinta da Almoíña, 2565-191 Dois Portos

⁴ Centro de Investigación Agroforestal Albaladejito(CIAF), Ctra. Toledo-Cuenca, km 174, 30814 Cuenca, Spain

Abstract

Irrigated viticulture expanded fast in Southern European countries such as Portugal to optimize berry yield and quality and to increase vine's longevity. However, intensive irrigation increases pressure over the local and regional water resources, that are getting scarcer, and increases also management costs. Additionally, row crops such as grapevine, are more vulnerable to heat stress due to the additional effects of soil heat fluxes which can negatively influence canopy and berry thermal condition. Therefore, a better understanding of grapevine responses (diurnal and seasonal) to environmental factors (air temperature, soil water) and agronomic practices (deficit irrigation, soil management) are on demand by the industry.

Ground based thermography was used to monitor the vertical profile of canopy temperature as well as soil temperature patterns along the day and season as means to assess plant water status and predict risks of heat stress damage. As part of the EU-INNOVINE project, field trials were carried in 2013, 2014 and 2015 in Alentejo (South Portugal). We examined the diurnal and seasonal response of two *V. vinifera* varieties Aragonez (syn. Tempranillo) and Touriga Nacional subjected to sustained deficit irrigation (SDI), and regulated deficit irrigation (RDI, about 50% of the SDI). Diurnal canopy (T_C), and soil surface (T_{soil}) temperatures were assessed by thermography. Punctual measurements of leaf temperature with thermal couples, leaf water potential and leaf gas exchange were also done.

T_C values were above the optimal temperature for leaf photosynthesis during part of the day light period (11:00-14:00h to 17:00h), especially under stressful atmospheric conditions (high VPD, high T_{air}) and under regulated deficit irrigation. T_{soil} was on average about 10-15°C higher than T_C . We found strong correlation between T_C (derived from thermography) and major physiological traits (leaf water potential and leaf gas exchange). Our results suggest that T_C can be explored as a simple but robust non-intrusive thermal indicator of grapevine performance and also as a parameter to feed grapevine growth models and to estimate heat and water fluxes in irrigated vineyards.

Keywords: Mediterranean viticulture, water and crop management, thermal imaging, heat and water fluxes

Introduction

Climate change scenarios for South Mediterranean Europe predict longer and more severe soil water deficits and higher air and soil temperatures (Teskey et al., 2014; Hannan et al., 2014; Rogiers and Clarke, 2014). In addition heat waves are also striking more frequently and for longer periods in South European Mediterranean regions (Teskey

et al., 2014) which limits Mediterranean viticulture. Irrigation helps to mitigate the negative effects of drought and high air temperature (T_{air}); (Costa et al., 2007; Retallack 2012) by promoting evaporative cooling at the canopy via transpiration and contributing to decreasing surfacial soil temperature (T_s) minimizing the impact of heat wave conditions on the overheating of the cluster zone of the canopy. As a result, irrigation has been expanding in warm and dry wine regions worldwide including South Portugal (Costa et al., 2016). In parallel, sustainable water use in modern irrigated viticulture depends on more precise irrigation as well as soil and crop management. Genotype may influence grapevine responses to drought and heat stress namely via different leaf gas exchange behavior (Chaves et al., 2010; Bota et al., 2016). However, there are still knowledge gaps regarding the combined effect of drought and high temperatures on grapevine physiology. Moreover, we need more insight on the effect of T_s on grapevines in particular at the cluster level especially under extreme high T_{air} & T_s conditions. To that extent we examined the diurnal and seasonal response of two grapevine varieties Aragonez (syn. Tempranillo) and Touriga Nacional subjected to two deficit irrigation strategies.

Material and methods

The experiment was located in a commercial vineyard in Alentejo, Reguengos de Monsaraz, South Portugal (38° 23' 55.0'' N, 7° 32' 46.00'' W, elevation 200 m). The climate is typically Mediterranean, with mild temperatures in winter, rarely below to 5 °C, and dry and warm summers, with especially high temperatures in July and August, when average temperature reaches 25 °C, with maximum values above 40 °C punctually. We used 11 years-old vines of two red varieties Touriga Nacional (TOU) and Aragonez (ARA), grafted onto 1103 P, and planted at a density of 2,200 vines/ha. Vines were trained on a bilateral Royat Cordon system. Soil texture was a sandy-loam to silty-clay-loam, with a pH of 7,0 to 7,6, a low content in organic matter. Deficit irrigation was applied by drip irrigation (single pipe line, 1.8 emitters/per vine, flow rate of 2.1 L/h).

Two irrigation treatments were tested: Sustainable deficit irrigation (SDI – control, according to farm's scheduling and 30% ETC), with water applied 1 to 2 times a week from berry touch (berries beginning to touch - stage 77 of the BBCH-scale for grapes) and regulated deficit irrigation (RDI, 50% of the SDI in 2013 and 65% in 2014 and 2015) (Table 1). Diurnal curves of leaf water potential (ψ_{leaf}), canopy temperature (T_c) and leaf gas exchange were done along three consecutive years (2013, 2014 and 2015) for both varieties. Observations were done at flowering/berry touch, veraison and at full maturation. Leaf water potential was measured with a Scholander pressure chamber. Ground based measurements of T_c were done by using thermal imaging (Flir B20, 7-13 μm , 320x240 pixels; $\epsilon=0.96$). Thermal images were followed by visible RGB imaging. Thermal images were analysed with the ThermaCAM image analysis software (Flir, USA) and thermal patterns were analyzed in Excel. Leaf gas exchange was determined with a Licor 6400, Licor Inc, USA), equipped with a 2x3cm transparent leaf chamber. The experimental set up was a randomized complete block design with two irrigation treatments and four replications per treatment. The relationships between T_c and water potential and stomatal conductance (g_s) were assessed by correlation analysis for the two genotypes. Statistics were done by using Pearson correlations between variables (T_c , g_s , VPD), with the Statistix 9.0, analytical software.

Results and discussion

The seasons 2013, 2014 and 2015 showed marked differences with regards to climate conditions. Although solar radiation was similar along the three years, 2013 and 2015 were the warmest years and 2015 was also the driest. Because of that longest irrigation period and the highest volume of irrigation water was applied in 2015 (Tab.1). The year 2014 had also lower VPD_{air} and T_{air} which resulted in the lowest value of cumulative ET₀ for the triennia (Tab.1).

ARA showed a tendency for lower leaf water potential as compared to TOU (data not shown) suggesting that ARA is losing more water along the season. This can be due to different phenology (earlier shoot development than the cv TOU) and/or to larger total leaf area along the growing cycle, which results in larger transpiration.

Extreme T_{air} and low VPD_{air} resulted in T_c values clearly above the optimum T_{leaf} for photosynthesis and for long periods (> 8h). T_c was 3-8°C above the optimum temperature for photosynthesis (25-30°C) (Mullins et al., 1992). This occurred especially in the warmest years of 2013 and 2015. T_c was strongly negatively correlated with water potential and leaf stomatal conductance to water vapour (Fig 1) and correlations seem to be stronger in the afternoon and in the driest years. Frequency distribution of canopy and soil temperatures under clean sky conditions, for vines of the variety Aragonez subjected to RDI conditions, show different thermal patterns for the canopy (top and cluster zone) and soil (Fig. 2). T_s values were also significantly higher than T_c,

Conclusions

Inter-annual climate variation induced major variation in irrigation needs (Table 1). Differences between genotypes were only clear for ψ_{pd} . ARA had the lowest values of ψ_{pd} which should be due to larger canopy area/evaporative water loss. Overall T_c patterns were similar for the two genotypes. T_c is negatively correlated with g_s and leaf water potential indicating that T_c is a simple but still robust thermal indicator to assess water status/leaf gas exchange in grapevine (Garcia-Tejero et al., 2016).

T_s under sunlit conditions was about 10-15°C higher than T_c, suggesting that soil temperature and derived heat fluxes may influence canopy thermal condition especially under warm conditions. Further research on heat fluxes in vineyards is important to optimize irrigation and mitigate the effects of supra-optimal temperatures.

Acknowledgments

This research received funding from European Community's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under the grant agreement n° FP7-311775, Project INNOVINE. J.Costa had a scholarship from INNOVINE and FCT (SFRH/BPD/93334/2013), Portugal. A. Sanchez-Virosta was sponsored by pre-doc scholarship INIA FPI2015-017. We thank Herdade do Esporão (Reguengos de Monsaraz, Alentejo, PT) and all master students involved in the project.

References

- Bota J., Flexas J., Medrano H., 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Ann. Appl. Biol.*, 138: 353-361.
- Bota J., Tomás M., Flexas J., Medrano H., Escalona J.M., 2016. Differences among grapevine cultivars in their stomatal behavior and water use efficiency under progressive water stress. *Agric Water Manag.*, 164: 91-99
- Chaves M.M., Zarrouk O., Francisco R., Costa J.M., Santos T., Regalado A.P., Rodrigues M.L., Lopes C.M., 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Ann Bot.*, 105: 661-676;

- Costa, J.M., Ortuno, M.F., Chaves, M.M., 2007. Deficit irrigation as a strategy to save water: physiology and potential application to horticulture. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49: 1421-1434.
- Costa J.M., Ortuño M.F., Lopes C.M., Chaves M.M., 2012. Grapevine varieties exhibiting differences in stomatal response to water deficit. *Funct. Plant Biol.*, 39: 179.
- Costa J.M., Vaz M., Escalona J., Egipto R., Lopes C., Medrano H., Chaves M.M., 2016. Modern viticulture in southern Europe: Vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agric Water Manag.*, 164: 5-18.
- García-Tejero IF, Costa JM, Egipto R, Durán-Zuazo VH, Lima RSN, Lopes CM, Chaves MM (2016). Thermal data to monitor crop-water status in irrigated Mediterranean viticulture. *Agricultural Water Management*, 176: 80–90.
- Mullins, M.G., Bouquet A., Williams L.E. 1992. *Biology of the grapevine*. Cambridge University Press, UK, 239pp.
- Retallack, M., 2012. What *can be done* in the *vineyard* to manage risk in difficult seasons? *Aust. New Zealand Grapegrower Wine Maker* 586, 30-37.
- Rogiers SY, Clarke SJ 2014. Nocturnal and daytime stomatal conductance respond to root-zone temperature in ‘Shiraz’ grapevines. *Annals of Botany* doi:10.1093/aob/mcs298
- Teskey RO, Wertin TM, Bauweraerts I., Ameye M., McGuire M.A. Steppe K. 2014. Responses of tree species to heat waves and extreme heat events. *Plant Cell Environment*. DOI: 10.1111/pce.12417.
- Tomás M., Medrano, H., Pou A., Escalona JM., Martorell S., Ribas-Carbó M., Flexas J (2014). Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: effects of water stress at the leaf and whole-plant level. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 18, 164–172

Tables and Figures

Table 1 - Cumulative data for rainfall, ETo and irrigation water used along the trial in the SDI and RDI treatments.

ANO	Rainfall (growth phase) (Mar - Ago) (mm)	Cumulative ET0 (Mar - Ago) (mm)	SDI (May/Jun - Ago) (mm)
2013	255	820	112
2014	157	776	67
2015	95	940	163

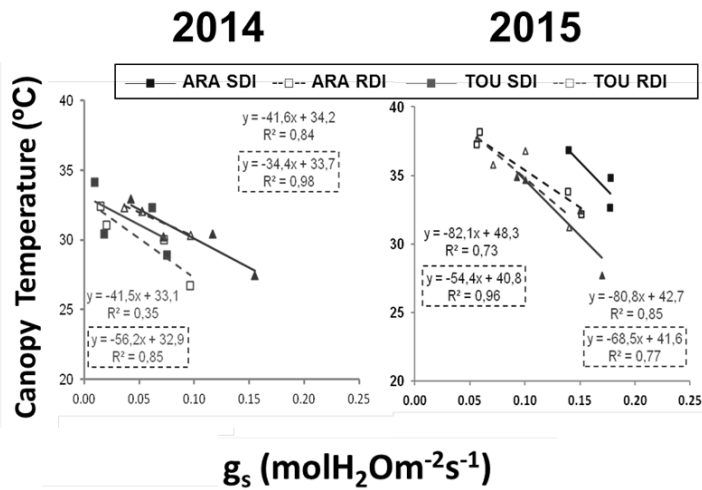


Figure 1 - Relation between sunlit Tc (°C) and stomatal conductance to water vapour (MPa) for the two *V. vinifera* varieties (Aragonez- ARA and Touriga Nacional- TOU) measured in 2014 and 2015, when subjected to deficit irrigation (RDI e SDI). Measurements were done between 14.00 and 17.00h.

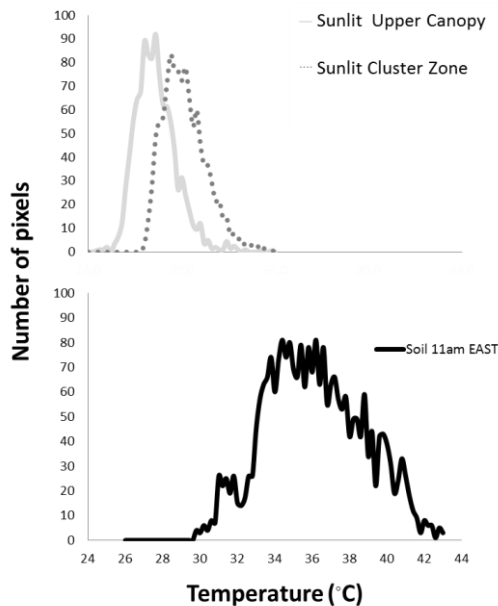


Figure 2 - Pixel frequency for temperatures of the sunlit canopy (upper canopy and cluster zone) (on the top) and from the sunlit soil (at the bottom). Temperature values derived from ground based thermography measurements made on 8-9 July 2015 at 11.00 a.m, for vines of the variety Aragonez subjected to RDI irrigation conditions.

Efecto de la intensidad del despampanado sobre la composición nitrogenada de uvas cv. *Tempranillo* cultivadas bajo diferentes condiciones hídricas

Daniel Moreno¹, David Uriarte², M. Victoria Alarcón², Luis Alberto Mancha², Samuel Frutos¹, M. Esperanza Valdés¹

¹ Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Ctra. de S. Vicente s/n, 06007 Badajoz, Spain.

² Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX). A-V, Km 372, Guadajira, Badajoz, Spain.

Resumen

Este trabajo tiene por objeto analizar la incidencia del número de pámpanos sobre el rendimiento productivo y la composición nitrogenada de las uvas procedentes de cepas sometidas a diferente régimen hídrico en distintos momentos del ciclo vegetativo-productivo. El estudio se llevó a cabo en un viñedo experimental cv. *Tempranillo* en Extremadura en la campaña 2014. Se establecieron dos regímenes hídricos: secano y riego 100% de la ETc (T0 y T100), y en cada uno de ellos dos niveles de pámpanos, 12 y 6 pámpanos/cepa (A y B), resultando los tratamientos: T0A, T0B, T100A y T100B. En vendimia, el menor número de pámpanos provocó una reducción de la producción debida al descenso del número de racimos por cepa en ambos regímenes hídricos. En diferentes momentos del ciclo de maduración, se muestrearon uvas de los distintos tratamientos y se clasificaron en función de su flotación en disoluciones de NaCl de diferente densidad. Posteriormente, se analizó mediante HPLC la composición aminoacídica de las uvas de similar contenido en sólidos solubles totales (SST, °Brix) procedentes de los diferentes tratamientos y se calculó el CAT, CAS y YAN (aminoácidos totales, azufrados y nitrógeno fácilmente asimilable por las levaduras respectivamente). Los resultados mostraron que en el envero (SST, 20 °Brix), el menor número de pámpanos prácticamente no tuvo efecto sobre la concentración de aminoácidos. En momentos más avanzados del ciclo de maduración (SST, 23-24 °Brix), se apreciaron incrementos significativos de los valores de la mayoría de los aminoácidos analizados, y por tanto de los parámetros nitrogenados. Este efecto fue más acusado en las uvas procedentes de las cepas no regadas.

Palabras clave: Técnicas de cultivo, Riego, Aminoácidos, Maduración, *Vitis vinífera*.

Abstract

The aim of this work is to analyze the effect of number of shoot on yield components and nitrogen berry composition in irrigated and rainfed vineyard. The study was carried out in an experimental vineyard cv. *Tempranillo* in Extremadura in 2014. Two water regimes were applied: rainfed and 100% irrigation of ETc (T0 and T100). In each one of them, two levels of shoots, 12 and 6 shoots/vine (A and B). The experimental treatments were: T0A, T0B, T100A and T100B. At harvest a decrease in yield was observed due to the reduction of cluster number induced by lower number of shoot. At different ripeness stages, berry samples of each treatment were randomly collected and subsequently classified according to their flotation in NaCl solutions. The amino acid composition was analyzed by HPLC on berries with similar total soluble solid (SST, °Brix) and CAT, CAS and YAN (total amino acid content, sulfur amino acid content and nitrogen easily assimilated by yeast respectively) were determined. The results showed

that at verasion (SST, 20 °Brix) lower number of shoot had low effect on amino acid profile. At the later stages of the maturation cycle (SST, 23-24 °Brix), significant increases were observed in the values of most amino acids analyzed, and therefore in the nitrogen parameters. This effect was more significant and had greater amplitude in grapes from non-irrigated vines.

Key words: Vineyard techniques, Irrigation, Amino acids, Ripeness, *Vitis vinifera* L.

Introducción

En regiones vitícolas como Extremadura, donde las condiciones climáticas durante el ciclo de maduración hacen que la aplicación del riego sea hoy en día una práctica usual, el exceso de vigor provocado por un elevado aporte hídrico puede requerir el control de la producción con el fin principal de regularizarla y estandarizar su calidad. Entre las técnicas vitícolas comúnmente más utilizadas se encuentra el despampanado, basado en la supresión de pámpanos fructíferos de la cepa con los objetivos de reducir la producción de uva y la densidad de la cubierta vegetal (Pool et al., 1978), la mejora del microclima del dosel vegetal y la calidad de la uva (Reynolds et al., 2005; Sun et al. 2011; 2012).

Los aminoácidos son esenciales para la nutrición de las levaduras, y, por lo tanto, ejercen una gran influencia sobre el proceso de fermentación de los mostos (Bell & Henschke, 2005), además de jugar un papel importante como precursores aromáticos del vino (Pripis-Nicolau et al., 2000). Actualmente se sabe que la composición amínica de los mostos depende de diversos factores: la variedad (Spayd & Andersen-Bagge, 1996; Hernández-Orte et al., 1999), el clon (Šuklje et al., 2016) el patrón (Huang y Ough, 1989), las condiciones climáticas (Wang et al., 2014), la fertilización nitrogenada (Schreiner et al., 2014), el grado de maduración de la baya (Gardé-Cerdán et al., 2009; Ortega-Heras et al., 2014), aplicación de fungicidas (Oliva et al., 2011) así como la exposición de los racimos a la radiación ultravioleta (Martínez-Lüscher et al., 2014) y técnicas vitícolas (Royer et al., 2014; Šuklje et al., 2015; Pascual et al., 2015).

Este trabajo tiene por objeto analizar la incidencia del número de pámpanos en cepas sometidas a diferentes regímenes hídricos sobre el rendimiento productivo y la composición general y aminoacídica de las uvas en diferentes momentos del ciclo de desarrollo del cultivo.

Materiales y métodos

El ensayo se llevó a cabo durante la campaña 2014 en un viñedo experimental de cv. Tempranillo perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura Finca La Orden-Valdesequera (CICYTEX), en Badajoz, Extremadura (España). Las cepas se plantaron en el año 2001 sobre patrón Richter 110, con un marco de plantación de 2,5 x 1,2 m, y están conducidas en espaldera mediante cordón bilateral y posicionamiento vertical de los brotes.

El ensayo consistió en dos tratamientos de riego establecidos en relación a la evapotranspiración del cultivo ETc:

- Secano (**T0**), sin riego.
- Riego no limitante (**T100**), regado al 100% de la ETc durante toda la campaña.

El consumo de agua se calculó con un lisímetro de pesada instalado en el viñedo experimental (Picón-Toro et al. 2012).

Sobre los tratamientos T0 y T100 se establecieron dos densidades de pámpanos en estado fenológico 15 según Coombe (1995):

- Carga alta, considerada control (**A**) (12 pámpanos/cepa), ajustado mediante la poda invernal, 6 pulgares a 2 yemas/pulgar y despampanado.
- Carga baja (**B**) (6 pámpanos/cepa) ajustado mediante la poda invernal, 6 pulgares a 2 yemas/pulgar y despampanado.

Las fechas de aplicación del despampanado, periodo de riego y momento de vendimia se muestran en la Tabla 1. El diseño experimental fue de parcelas subdivididas con 4 repeticiones, lo que supuso un total de 16 parcelas elementales. La parcela elemental constó de 6 líneas con 18 cepas cada una, considerando las líneas exteriores como bordes, dejando dos cepas borde en el extremo de cada fila.

En tres fechas diferentes, correspondientes a envero, vendimia y post-vendimia, (Tabla 1) se tomaron muestras de 700 g de uvas de las cepas de los 4 tratamientos experimentales (T0A, T0B, T100A, T100B). Con el objetivo principal de obtener muestras de similar estado de madurez, las uvas fueron clasificadas según su densidad (Carbonell-Bejerano et al., 2016). En el momento de envero se analizaron las uvas clasificadas en el rango de densidad de 120-140 g NaCl L⁻¹, correspondiente a un contenido en sólidos solubles totales (SST) de 20 °Brix, y en vendimia y post-vendimia las del 150-170 g NaCl L⁻¹ (SST, 23-24 ° Brix). En las bayas se analizaron: sólidos solubles totales (SST, °Brix), pH, acidez titulable (AT, g ácido tartárico L⁻¹) (OIV, 1990) y compuestos amínicos mediante HPLC (Biochrom 30, Biochrom Ltd., Cambridge Science Park, Inglaterra) (Valdés et al., 2011). Se identificaron y cuantificaron los siguientes aminoácidos: alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), citrulina (Ctr), ácido γ -aminobutírico (Gaba), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), ornitina (Orn), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). Además, los aminoácidos se agruparon en función de su ruta metabólica y se calculó la concentración de las siguientes familias: α -cetoglutarato (*Cet*), integrada por Pro, Arg, Glu, Gaba; ribosa -5-fosfato (*Rib*) constituida por His; fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato (*Fos*) compuesta por Tyr, Phe, Trp; oxalacetato (*Ox*) que agrupa Thr, Asp, Asn, Ile, Met, Lys; piruvato (*Pyr*) en la que se incluyen Ala, Val, Leu; 3-fosfoglicerato (*FGli*) compuesta por Ser, Gly (Nelson & Cox, 2005). Finalmente, a partir de los datos de las cantidades individualizadas de los aminoácidos se calculó el contenido aminoacídico total (CAT), contenido total de aminoácidos azufrados (CAS) y nitrógeno fácilmente asimilable por las levaduras (YAN), este último calculado como la suma del nitrógeno aportado por cada aminoácido menos el aportado por la Pro.

En vendimia se contabilizó el número de racimos por cepa, así como el peso unitario y total de racimos por cepa (10 cepas por repetición experimental).

La comparación estadística entre las medias de los valores en los diferentes regímenes hídricos fue realizada mediante el test de t-Student. El análisis de la varianza (ANOVA) y el test de Tukey se utilizaron para la comparación entre los diferentes momentos de muestreo. Para todos los análisis se ha empleado el paquete estadístico XLSTAT.

Resultados y discusión

Componentes del rendimiento y composición de la uva

La Tabla 2 muestra los componentes del rendimiento. Aunque en ambos regímenes hídricos el peso medio de los racimos B fue mayor al de los A, la reducción del número de racimos provocó descensos significativos de la producción en los tratamientos despampanados. Resultados similares fueron observados por Sun et al. (2011), en cv. Marechal Foch, sin embargo, únicamente encontraron un incremento en el peso de los racimos durante el segundo año de estudio. La menor densidad de

pámpanos/cepa estimuló el crecimiento de los anticipados y provocó aumentos del área foliar del pámpano que fueron del 111,9% y 37,4% en los tratamientos T0 y T100 respectivamente. Ese hecho, unido a la disminución de la producción observada, incrementó los valores del ratio área foliar/producción de las cepas despampanadas en el momento de vendimia (datos no mostrados).

La Tabla 3 muestra el efecto del despampanado sobre la composición físico-química de las uvas en tres momentos del ciclo de maduración. En el envero, independientemente del régimen hídrico a que se sometieron las cepas, el menor número de pámpanos provocó un adelanto en la madurez de las bayas (Tabla 1), de modo que las B, procedentes de cepas con 6 pámpanos por planta, presentaron mayores valores de SST y pH que las A, procedentes de cepas de mayor carga. En vendimia, la disminución del número de pámpanos únicamente tuvo efecto significativo en las uvas T100, hallándose aumentos de SST y AT y descensos de pH en las bayas T100B respecto de las T100A. Finalmente, en post-vendimia, las uvas B tuvieron valores de pH significativamente superiores e inferiores de AT que las correspondientes A en ambos regímenes hídricos. Trabajos previos (Reynolds et al., 2005; Bernizzoni et al., 2011) encontraron incrementos de SST en las uvas procedentes de cepas despampanadas respecto a las control. En el presente trabajo, dicha respuesta puede explicarse, por un lado, a la menor producción de las cepas con menor número de pámpanos, ya que los bajos rendimientos se han asociado a mayores contenidos de SST (Bravdo et al., 1984) y por otro, a los mayores ratios área foliar/producción de esas cepas en el momento de vendimia (Kliwer & Dokoozlian, 2005). Sun et al. (2011), también observaron un incremento en SST y en la AT de las uvas. En un reciente estudio (Parker et al., 2015) se observó que mediante técnicas de manipulación del ratio área foliar/producción se veía modificada la acumulación de SST pero no la AT.

Composición nitrogenada de las uvas

La Tabla 4 muestra las concentraciones de los aminoácidos identificados y cuantificados en las uvas de los diferentes tratamientos en los tres momentos analizados. Independientemente del tratamiento vitícola, los aminoácidos Gaba, Ile, Leu, Pro y Val aumentaron gradualmente su concentración a lo largo del ciclo de maduración, y también la Arg excepto en T0A. Resultados similares obtuvieron Asensio et al. (2002) al estudiar durante la maduración la evolución de la concentración de aminoácidos presentes en diferentes variedades de uva blanca.

En lo que respecta a la incidencia de los tratamientos, por lo general, en T0A se hallaron los valores mínimos de concentración en los tres muestreos realizados analizados (Tabla 4). En el muestreo de envero no se halló una tendencia clara del efecto del número de pámpanos en las uvas T0, en tanto que por lo general provocó descensos en las T100. En este muestreo únicamente se hallaron cambios significativos de Asp, Glu e Ile en las uvas T0A respecto a las T0B y ninguno en las T100B respecto de las T100A. En vendimia, la disminución del número de pámpanos incrementó la mayoría de los aminoácidos en ambos regímenes hídricos. Este efecto fue más amplio y tuvo mayor significación en las uvas procedentes de cepas no regadas, pues en éstas se hallaron aumentos significativos de Ala, Arg, Asp, Ctr, Glu, Gly, His, Met, Orn, Phe, en tanto que en las de riego únicamente en Asp y Glu. En las muestras de post-vendimia, el efecto del número de pámpanos en las uvas T0 fue muy similar al de vendimia pues se registraron incrementos significativos en la concentración de prácticamente los mismos aminoácidos que en el muestreo anterior. En las uvas de riego, además de los observados en vendimia, se hallaron aumentos de Ala, Arg, Asp, Citr, Glu, His y Ser. Como consecuencia de los anteriores resultados, en el envero el menor número de pámpanos no modificó

significativamente los valores del CAT y YAN en ninguno de los regímenes hídricos impuestos, en vendimia únicamente incrementó los de las uvas T0 y en posvendimia se observaron aumentos significativos de ambos parámetros en T0 y únicamente de YAN en T100.

La Figura 1, que muestra la evolución de la concentración de las diferentes familias aminoacídicas en los diferentes tratamientos, resume y ratifica lo anteriormente expuesto: en enero únicamente se observaron efectos significativos entre los valores de uvas T0 y T100 en Fos. En vendimia, el efecto del menor número de pámpanos dependió del estado hídrico de las cepas, ya que en secano provocó aumentos significativos en todas las familias excepto en Fos y FGli, y no afectó a ninguna de ellas en las uvas procedentes de las cepas regadas. Finalmente, en las uvas correspondientes al muestreo post-vendimia, el menor número de pámpanos aumentó la práctica totalidad de las familias aminoacídicas, con la excepción de Fos, en las uvas procedentes de secano, mientras que, en las uvas procedentes de cepas regadas, únicamente se observó un incremento en Rib provocado por despampanado mas intenso.

Los resultados obtenidos en relación a la composición amínica pueden explicarse en base al aumento del área foliar inducido por la menor competencia entre pámpanos en el tratamiento con despampanado mas intenso. El mayor desarrollo vegetativo de las cepas T0B y T100B ha podido tener como consecuencia una mayor actividad fotosintética de las cepas, lo que ha originado un incremento de la síntesis de hidratos de carbono (Hunter et al., 1995). La relación entre el área foliar y la concentración de aminoácidos libres ya fue mostrada por Kliewer & Ough (1970). En este sentido, Hunter & Ruffner, (1997) hallaron que la actividad de la enzima nitrato reductasa de las hojas estaba implicada en la síntesis de aminoácidos y de amonio. Además, en las cepas con despampanado mas intenso la producción fue menor y por tanto aumentó el valor de la relación fuente/sumidero, lo cual también habría favorecido la síntesis de precursores aminoacídicos.

Conclusiones

Tanto en secano como en riego (100% ETc), la disminución del número de pámpanos resultó ser una práctica útil para reducir la producción. Además, provocó un aumento de la superficie foliar del pámpano individual y del valor del ratio área foliar/producción, lo que repercutió en la composición de las bayas. En las uvas procedentes de cepas con menor número de pámpanos, a partir de un determinado estado de maduración, se observó un aumento de los valores de los aminoácidos. El efecto de dicha práctica fue más evidente en las cepas no regadas.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto INIA RTA2012-00029-C02. Los autores agradecen a INIA, fondos FEDER, Grupos de Investigación GR10006 y GR15112, Junta de Extremadura y proyecto CCESAGROS la financiación del mismo.

Referencias

- Asensio, M. L., Valdes, M.E. & Cabello, F. 2002. Characterisation of some Spanish white grapevine cultivars by morphology and amino acid analysis. *Scientia Horticulturae* 93: 289-299.
- Bell, S. & Henschke, P.A. 2005. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 11: 242–295.

- Bernizzoni F, Civardi S, Van ZM, Gatti M. & Poni, S. 2011. Shoot thinning effects on seasonal whole-canopy photosynthesis and vine performance in *Vitis vinífera*, L. cv. Barbera. *Aus. J. Grape and Wine Res.* 17: 351-357.
- Bravdo, B., Hepner, Y., Loinger, C., Cohen, S. & Tabacman. H. 1984. Effect of crop level on growth, yield and wine quality of a high yielding Carignane vineyard. *Am. J. Enol. Vitic.* 35:247-252.
- Carbonell-Bejerano, P., Rodríguez, V., Hernáiz, S., Royo, C., Dal Santo, S., Pezzotti, M. & Martínez-Zapater, J. M. 2016. Reducing sampling bias in molecular studies of grapevine fruit ripening: transcriptomic assessment of the density sorting method. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 28(1):109–129.
- Coombe B.G. 1995. Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 1:104-110.
- Gardé-Cerdán, T., Lorenzo, C., Lara, J.F., Pardo, F., Ancín-Azpilicueta, C. & Salinas, M.R. 2009. Study of the evolution of nitrogen compounds during grape ripening. Application to differentiate grape varieties and cultivated systems. *J. Agric. Food Chem.* 57:2410–2419.
- Hernández-Orte, P., Guitart, A. & Cacho, J. 1999. Changes in the concentration of amino acids during the ripening of *Vitis vinifera* Tempranillo variety from the Denomination d'Origine Somontano (Spain). *Am. J. Enol. Vitic.* 50:144-154.
- Hunter J.J., Ruffner H.P., Volschenk C.G. & Le Roux D.J. 1995. Partial defoliation of *Vitis vinifera*, L. cv. Cabernet Sauvignon/99 Richter: Effects on root growth, canopy efficiency, grape composition and wine quality. *Am. J. Vitic.* 46 (3):306-314.
- Hunter, J.J. & Ruffner, H.P. 1997. Diurnal and seasonal changes in nitrate reductase activity and nitrogen content of grapevines: Effect of canopy management. *Vitis* 36:1-6.
- Kliewer, W.M. & Dokoozlian, N. K. 2005. Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:170-181.
- Martínez-Lüscher, J., Torres, N., Hilbert, G., Richard, T., Sánchez-Díaz, M., Delrot, S., Aguirreolea, J., Pascual, I. & Gomès, E. 2014. Ultraviolet-B radiation modifies the quantitative and qualitative profile of flavonoids and amino acids in grape berries. *Phytochem.* 102:106–114.
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. 2005. *Principios de Bioquímica* (4º ED.). Lehninger. Ed. Omega. España.
- OIV. 1990. *Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts*. Paris: Organisation Internationale de la Vigne et du Vin.
- Oliva, J., Garde-Cerdán, T., Martínez-Gil, A.M., Rosario Salinas, M. & Barba, A. 2011. Fungicide effects on ammonium and amino acids of Monastrell grapes. *Food Chem.* 129: 1676–1680.
- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., Del-Villar-Garrachón, V., González-Huerta, C., Moro Gonzalez, L.C., Guadarrama Rodríguez, A., Villanueva Sánchez, S., Gallo González, R. & Martín de la Helguera, S. 2014. Study of the effect of vintage, maturity degree, and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of a white wine from the Verdejo variety. *J. Sci. Food Agric.* 94:2073–2082.
- Parker, A.K., Hofmann, R.W., van Leeuwen, C., Mclachlan, A.R.G. & Trought, M.C.T. 2015. Manipulating the leaf area to fruit mass ratio alters the synchrony of total soluble solids accumulation and titratable acidity of grape berries. *Aust. J. Grape and Wine Res.* 21:266–276.

- Pascual, M., Romero, M.P., Rufat, J., & Villar, J.M. 2015. Canopy management in rainfed vineyards (cv. Tempranillo) for optimising water use and enhancing wine quality. *J. Sci. Food Agric.* 95:3067–3076.
- Pool R.M., Pratt C. & Hubbard H.D. 1978. Structure of base buds in relation to yield of grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 29:36-41.
- Pripis-Nicolau, L., De Revel, G., Bertrand, A. & Maujean, A. 2000. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions. *J. Agric. Food Chem.* 48:3761-3766.
- Reynolds, A.G., Molek, T. & De Savigny, C. 2005. Timing of shoot thinning in *Vitis vinifera* Impacts on yield and fruit composition variables. *Am. J. Enol. Vitic*56:343-356.
- Royer Dupré (de), N., Schneider, R., Payan, J.C., Salançon, E. & Razungles, A. 2014. Effects of vine water status on dimethyl sulfur potential, ammonium, and amino acid contents in Grenache Noir grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.* 62:2760–2766.
- Schreiner, R.P., Scagel, C.F. & Lee, J. 2014. N, P, and K supply to pinot noir grapevines: Impact on berry phenolics and free amino acids. *Am. J. Enol. Vitic.* 65:43–49.
- Spayd, S.E. & Andensen-Bagge, J. 1996. Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. *Am. J. Enol. Vitic.* 47:389–402.
- Šuklje, K., Antalick, G., Coetzee, Z., Schmidtke, L.M., Baša, H., Ešnik, C., Brandt, J., du Toit, W.J., Lisjak K. & Deloire, A. 2015. Effect of leaf removal and ultraviolet radiation on the composition and sensory perception of *Vitis vinifera*, L. cv. Sauvignon Blanc wine. *Aust. J. Grape Wine Res.* 20:223–233.
- Šuklje, K., Antalick, G., Buica, A., Langlois, J., Coetzee, Z.A, Gouot, J., Schmidtke, L.M. & Deloire, A. 2016. Clonal differences and impact of defoliation on Sauvignon blanc (*Vitis vinifera*, L.) wines: a chemical and sensory investigation. *J. Sci. Food Agric.* 96:915–926.
- Sun, Q., Sacks, G., Lerch, S. & Vanden Heuvel, J.E. 2011. Impact of shoot thinning and harvest date on yield components, fruit composition, and wine quality of Marechal Foch. *Am. J. Enol. Vitic.* 62:32–41.
- Sun, Q., Sacks, G.L., Lerch, S.D. & Vanden Heuvel, J.E. 2012. Impact of shoot and cluster thinning on yield, fruit composition, and wine quality of Corot noir. *Am. J. Enol. Vitic.* 63:49–56.
- Valdés, E., Vilanova, M., Sabio, E. & Bernalte, M. J. 2011. Clarifying agents effect on the nitrogen composition in must and wine during fermentation. *Food Chem.* 125(2):430-437.
- Wang, L., Harada, J., Endo, Y., Hisamoto, M., Saito, F. & Okuda, T. 2014. Diurnal changes in amino acid concentrations in riesling and chardonnay grape juices and a possible role of sunlight. *Am. J. Enol. Vitic.* 65:435–442.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Fechas de aplicación de despampanado, inicio/fin de riego, vendimia y post-vendimia de los tratamientos experimentales.

Tratamiento	Despampanado	Inicio de riego	Fin de riego	Envero	Vendimia	Post-vendimia
T0A	23/04/2014	-	-	29/07/2014	19/08/2014	27/08/2014
T100A	23/04/2014	09/06/2014	27/08/2014	29/07/2014	19/08/2014	27/08/2014
T0B	23/04/2014	-	-	29/07/2014	12/08/2014	27/08/2014
T100B	23/04/2014	09/06/2014	27/08/2014	29/07/2014	12/08/2014	27/08/2014

T0A: Secano y carga alta de pámpanos; T0B: Secano y carga baja de pámpanos; T100A: Riego y carga alta de pámpanos; T100B: Riego y carga baja de pámpanos.

Tabla 2- Efecto de la intensidad del despampanado en secano y en riego (100% ETc) sobre los componentes del rendimiento (producción, número y peso medio de los racimos) en el momento de vendimia.

Parámetro	T0A	T0B	T100A	T100B
Nº Racimos cepa ⁻¹	15,2	9,3***	17,1	11,0***
Peso Medio racimo (g)	186,7	194,1	196,7	234,4*
Producción (Kg cepa ⁻¹)	3,0	1,8***	3,3	2,5*

Tratamientos idénticos a la Tabla 1.

* y *** indican diferencias significativas con $p < 0,05$, $p < 0,0001$ entre tratamientos de carga alta y carga baja para el mismo régimen hídrico de las cepas según t-Student.

Tabla 3- Efecto de la intensidad del despampanado en secano y en riego (100% ETc) sobre los parámetros generales de las uvas en envero, vendimia y post-vendimia.

Muestreo	Parámetro	T0A	T0B	T100A	T100B
ENVERO (20 °Brix)	SST (°Brix)	18,9	19,51***	18,58	19,45***
	pH	3,25	3,34***	3,22	3,26**
	AT (g L ⁻¹)	6,43	6,3	7,77	7,85
VENDIMIA (23-24 °Brix)	SST (°Brix)	24,7	24,35***	23,03	23,97***
	pH	3,62	3,61	3,63	3,52*
	AT (g L ⁻¹)	5,17	5,12	4,94	5,67***
POSTVENDIMIA (23-24 °Brix)	SST (°Brix)	23	23,03	23,03	23,7**
	pH	3,47	3,52**	3,47	3,6***
	AT (g L ⁻¹)	5,11	4,66**	4,93	5,28**

Tratamientos idénticos a la Tabla 1.

SST: Contenido en sólidos solubles totales (°Brix); AT: acidez titulable (g ácido tartárico L⁻¹)

*, **, y *** indican diferencias significativas con $p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,0001$ entre tratamientos de carga alta y carga baja para el mismo régimen hídrico de las cepas según t-Student.

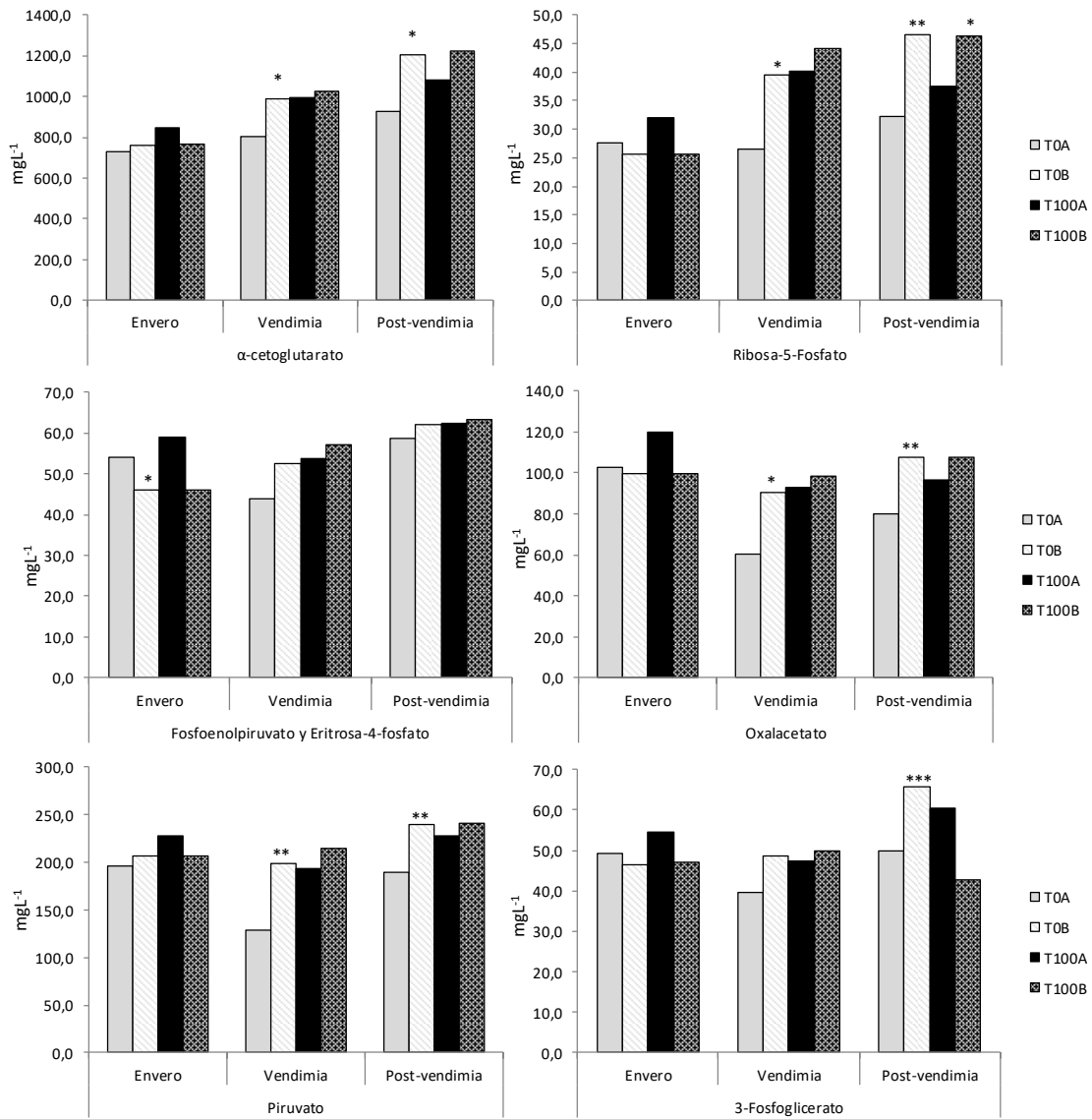
Tabla 4- Efecto de la intensidad del despampanado en seco y en riego (100% ETc) sobre la composición aminoácida y parámetros nitrogenados de las uvas en enero, vendimia y post-vendimia.

Aminoácido (mgL ⁻¹)	Enero				Vendimia				Post-Vendimia			
	T0A	T0B	T100A	T100B	T0A	T0B	T100A	T100B	T0A	T0B	T100A	T100B
Ala	163,0 c	174,5 a	186,8 b	174,3 a	91,4 a	159,3*** a	149,1 a	173,8 a	133,2 b	188,0*** a	163,6 ab	186,8*** a
Arg	297,7 ab	288,6 a	332,9 a	288,0 a	273,5 a	357,4* ab	363,9 a	378,7 b	309,8 b	410,8*** b	350,3 a	410,8* b
Asn	11,8 b	13,4 a	17,2 b	14,3 b	5,8 a	9,9 a	12,1 ab	11,6 ab	7,8 a	10,6* a	9,2 a	10,5 a
Asp	17,2 b	20,7* a	19,8 c	20,4 a	6,7 a	18,9*** a	14,9 b	21,5* a	8,2 a	20,5*** a	10,3 a	20,8*** a
Citr	2,3 b	2,4 a	3,4 b	2,4 a	1,0 a	2,2** a	2,0 a	2,5 a	1,2 a	2,7*** a	1,6 a	2,6** a
Gaba	71,3 a	79,2 a	91,9 a	81,3 a	98,7 b	84,5** a	93,8 a	83,5 a	110,7 b	101,3 b	126,2 a	103,8 b
Glu	123,2 c	165,8* b	150,7 b	165,7 a	39,2 a	130,6*** a	99,9 ab	142,7* a	53,3 b	156,3*** ab	83,7 a	160,7*** a
Gly	2,5 ab	2,9 ab	3,3 a	2,9 a	2,0 a	2,7*** a	2,9 a	3,1 a	2,7 b	3,5* b	3,5 a	3,4 a
His	27,5 ab	25,6 a	32,1 a	25,7 a	26,4 a	39,6* b	40,2 a	44,2 b	32,3 b	46,5** b	37,5 a	46,3* b
Ile	6,3 a	4,8* a	8,0 a	4,7 a	8,2 a	6,2*** a	8,5 a	6,4 b	13,6 b	9,3* b	16,0 a	10,0 c
Leu	9,3 a	8,5 a	12,0 a	8,5 a	11,6 a	11,6 a	13,6 a	12,1 b	19,0 b	16,4 b	22,3 a	17,1 c
Lys	4,4 a	4,0 a	5,4 a	3,9 a	3,5 a	3,8 a	5,3 a	4,2 a	4,4 a	5,2 a	5,7 a	5,1 a
Met	4,4 b	4,7 a	6,3 a	4,7 a	2,6 a	5,3*** a	5,0 a	5,8 a	3,8 b	6,3** a	5,7 a	6,3 a
Orn	2,2 b	1,8 a	3,6 b	1,8 a	0,4 a	1,5* a	1,8 ab	1,8 a	0,5 a	2,0** a	1,2 a	1,8 a
Phe	7,6 a	8,0 a	10,0 a	8,1 a	6,9 a	9,7** ab	9,1 a	10,5 b	9,5 b	10,8 b	11,4 a	11,1 b
Pro	238,5 a	230,1 a	271,7 a	234,1 a	390,6 b	414,6 b	434,6 b	418,8 b	451,8 b	534,2* c	518,3 b	549,9 c
Ser	42,9 b	46,5 a	52,4 b	46,8 a	32,8 a	46,5** a	45,1 a	48,3 a	44,2 b	62,2 b	51,9 b	61,3* b
Thr	58,4 c	51,8 a	63,1 b	51,4 a	33,9 a	46,3 a	47,3 a	49,0 a	42,0 b	56,0 a	49,9 a	55,0 a
Trp	27,3 ab	19,0 a	26,0 a	18,7 a	20,7 a	20,3 a	22,8 a	22,1 b	29,8 b	25,5 b	28,6 a	25,6 c
Tyr	19,2 b	19,0* a	22,9 a	19,3 a	16,4 a	22,6* ab	22,0 a	24,6 b	19,4 b	25,7 b	22,4 a	26,5 b
Val	24,3 a	23,2 a	29,3 a	23,3 a	25,2 a	27,6 a	30,3 a	29,0 b	37,4 b	35,8 b	42,5 a	36,9 c
TAN	0,5 b	0,5 a	0,7 a	0,5 a	0,3 a	0,6*** a	0,5 a	0,6 a	0,4 b	0,7 a	0,6 a	0,7 a
CAT	1247,7 ab	1277,9 a	1432,1 a	1285,0 a	1163,1 a	1502,1*** a	1498,4 a	1577,9 b	1430,2 b	1832,2 b	1667,3 a	1859,3 c
YAN(mg NL)	204,1 b	224,4 a	249,1 a	224,6 a	157,7 a	238,0** ab	235,4 a	253,9 ab	194,4 b	277,8 b	241,4 a	278,1* b
Pro Arg	0,8 a	0,8 a	0,8 a	0,8 a	1,4 b	1,2 b	1,2 b	1,1 b	1,5 b	1,3 b	1,5 c	1,3 c

Tratamientos idénticos a la Tabla 1.

*, **, y *** indican diferencias significativas entre tratamientos de carga alta y carga baja para el mismo régimen hídrico de las cepas según t-Student.

Figura 1- Efecto de la intensidad del despampanado en seco y en riego (100% ETc) sobre las diferentes familias aminoacídicas en enero, vendimia y post-vendimia.



Tratamientos idénticos a la Tabla 1.

*, **, y *** indican diferencias significativas entre tratamientos de carga alta y carga baja para el mismo régimen hídrico de las cepas según el test de t-Student.

Efecto del tratamiento con ácido salicílico sobre el desarrollo de la uva en la planta y sus implicaciones en la calidad durante la conservación

M. Serrano¹, M.E. García-Pastor², D. Valero², A. Martínez-Esplá², S. Castillo², P.J. Zapata², D. Martínez-Romero² y F. Guillén²

¹ Dept. Biología Aplicada. EPSO, Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante

² Dept. Tecnología Agroalimentaria. EPSO, Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto del tratamiento de uva de mesa ‘Magenta’ con ácido salicílico (AS) sobre el proceso de crecimiento y maduración de las bayas en la parra, así como en sus parámetros de calidad, tanto en el momento de la recolección como durante su conservación post-recolección. Los tratamientos se aplicaron a tres concentraciones, 1, 5 y 10 mM y en tres momentos claves del proceso del desarrollo de la uva. La uva se recolectó cuando habían alcanzado su estado de maduración comercial, según su coloración externa y contenido en sólidos solubles totales característico de esta variedad. Se analizó el efecto de los tratamientos sobre el proceso de crecimiento y maduración de la baya, así como en el tamaño de las bayas y producción total, para lo cual se cuantificó el número de racimos recolectados y su peso, en cada una de las recolecciones que se efectuaron. Además, se analizaron algunos parámetros de calidad organoléptica (tamaño, color y firmeza), nutritiva (contenido en sólidos solubles y acidez) y funcional (fenoles y actividad antioxidante) de las uvas en el momento de la recolección, así como después de la conservación en frío durante 30 días.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, crecimiento, maduración, antioxidantes, fenoles.

Abstract

In the present work the effect of pre-harvest salicylic acid (SA) treatments in table grape fruit development and ripening on tree was analyzed. SA treatments were applied at 3 concentrations, 1, 5 and 10 mM and at 3 key point of fruit development. The effects of SA treatments on quality (size, color and firmness), nutritive (soluble solids and acidity) and functional (phenolics and antioxidant activity) properties were analyzed at harvest and after 45 days of cold storage + 1 day at 20 °C. Results showed that SA treatments at 5 and 10 mM delayed the growth and ripening process of table grape, while 1 mM SA treatment just delayed ripening process. By other hand, at commercial harvesting, berry quality parameters, such as firmness, total phenolic concentration and antioxidant activity were significantly higher in berries from 1 mM SA treated plants than in controls and these differences were maintained after 45 days of storage at 1 °C.

Keywords: *Vitis vinifera*, berry growth, ripening, antioxidants, phenolics

Introducción

La uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) es uno de los cultivos más importantes en el mundo, siendo España el cuarto país productor de uva (FAOSTAT, 2015). No obstante, la uva presenta importantes pérdidas de calidad durante la conservación post-cosecha, debido a procesos de ablandamiento, pérdidas de peso, contaminación fúngica y sobre-maduración. Algunos tratamientos post-recolección con recubrimientos comestibles a base de quitosán (Guerra et al., 2016) o gel de *Aloe* (Martínez-Romero et al., 2006;

Serrano et al., 2006), con elevadas concentraciones de CO₂ (Rosales et al., 2016) o poliaminas (Champa et al., 2014) han resultado eficaces en mantener la calidad durante la conservación post-recolección. Sin embargo, recientemente se está investigando más sobre la posibilidad de realizar tratamientos pre-cosecha, especialmente con compuestos naturales, que tengan efectos manteniendo la calidad durante la conservación post-recolección. En este sentido, tratamientos de uvas con gel de *Aloe vera* 1 y 7 días antes de la recolección mantuvieron la calidad y disminuyeron la contaminación microbiana de la uva durante la conservación en frío (Castillo et al., 2010).

El ácido salicílico (AS) se considera una hormona vegetal con importantes funciones en el desarrollo de la planta, relacionadas fundamentalmente con los mecanismos de defensa frente al ataque de patógenos y de herbívoros y al estrés abiótico (Hayat y Ahmad, 2007; Peleg y Blumwald, 2011). Además, tratamientos post-recolección de diferentes frutos con AS o sus derivados: ácido acetyl-salicílico (AAS) y salicilato de metilo (SaMe), han mostrado beneficios reduciendo las podredumbres, los daños por frío y retrasando el proceso de maduración durante la conservación, tanto en frutos climatéricos como no climatéricos (Sayyari et al., 2011a y b; Valero et al., 2011; Fatemi et al., 2013; Yin et al., 2013). Sin embargo, la información del efecto de estos tratamientos, aplicados durante el desarrollo de fruto en el árbol, sobre los parámetros de calidad y los sistemas antioxidantes es escasa. Así, en algunos trabajos se ha encontrado que estos tratamientos disminuyen el ataque fúngico, en fresa (Babalar et al., 2007), jujube (Cao et al., 2013) y cereza (Yao y Tian, 2005). Asimismo, recientemente se ha encontrado que tratamientos con AS, durante el desarrollo de la cereza en el árbol incrementan el crecimiento del fruto y los parámetros de calidad, así como sus propiedades antioxidantes, en el momento de la recolección y durante su conservación en frío (Giménez et al., 2014; 2015; 2016; Valverde et al., 2015).

Sin embargo, no existen trabajos previos del efecto que los tratamientos de uva de mesa con AS pueda tener sobre la calidad y propiedades antioxidantes de las bayas en el momento de la recolección y sus implicaciones en la evolución de la calidad durante la conservación post-recolección, lo cual fue el objetivo fundamental de este trabajo.

Materiales y métodos

Material Vegetal y Diseño Experimental

El experimento se realizó en una finca comercial de la empresa El Ciruelo, situada en Cieza (Murcia, España), con uva de mesa (*Vitis vinifera*, L.) variedad 'Magenta'. Se seleccionaron 5 parras para cada uno de los tratamientos: ácido salicílico (AS) a concentraciones 1, 5 y 10 mM y control. Los tratamientos se realizaron mediante aplicación foliar de las disoluciones de AS conteniendo Twin-20 0,5 % o con agua y Twin-20 0,5 % a las parras control. Se realizaron tres aplicaciones a lo largo del desarrollo de la uva, el 30 de junio, el 7, y el 14 de julio de 2016. El día del primer tratamiento se marcaron 5 racimos al azar en cada parra y en ellos se medía semanalmente el diámetro ecuatorial de 5 bayas. Así se recogieron datos del crecimiento de la uva hasta el momento de la recolección. La recolección se realizó en el estado de maduración comercial, según criterios comerciales de color externo de los racimos, y se recolectó en 4 fechas: 21 y 27 de julio y 11 y 26 de agosto. En cada una de estas fechas se anotó el número y peso de los racimos recolectados de cada parra, calculando la producción media por parra en cada fecha de recolección (5 repeticiones por tratamiento). El día de la segunda recolección se llevaron al laboratorio 12 racimos procedentes de las parras control y otros 12 racimos de las tratadas con AS 1 mM. Estos racimos se confeccionaron en el campo en barquetas de plástico macroperforado (3 mm de diámetro) a partir de una mezcla de las uvas recolectadas de las 5 parras de cada tratamiento. Una vez en el laboratorio se pesaron y

etiquetaron las barquetas y 3 de ellas se analizaron en ese momento (datos del día 0) y el resto se conservaron a 1 °C. Después de 14, 28 y 42 días se tomaron al azar 3 barquetas de cada tratamiento y se analizaron los siguientes parámetros: tasa de respiración, producción de etileno, color, firmeza, sólidos solubles totales, acidez total, contenido en fenoles totales y actividad antioxidante.

Determinaciones analíticas

Para determinar la tasa de respiración y la producción de etileno se introdujeron los racimos durante 1 h en tarros de 1.8 L y se cuantificó el CO₂ y etileno acumulados en el interior mediante cromatografía gaseosa, según se indica en trabajos previos (Zapata et al., 2014). Los datos de la respiración se expresan en mg de CO₂ desprendidos por kg de uva y hora y los de producción de etileno en nL g⁻¹ h⁻¹ y son la media ± de las medidas realizadas por duplicado en cada uno de los tres replicados. De cada racimo se tomaron 20 bayas al azar en las que se determinó el color y la firmeza individualmente, y seguidamente, se realizó un zumo con cada lote que se usó para determinar en duplicado el contenido en sólidos solubles totales (SST) y la acidez total (AT) según se indica en trabajos previos (Martínez-Romero et al., 2006). Finalmente, otros 5 granos de cada racimo se usaron para determinar la actividad antioxidante y el contenido en fenoles totales (Valero et al., 2011). La extracción se realizó con metanol: agua (2:8) conteniendo NaF 2 mM y los fenoles se cuantificaron por duplicado en cada extracto, usando el reactivo de Folin-Ciocalteu y los resultados (media ± SE) se expresan en equivalentes de ácido gálico 100 g⁻¹ de peso fresco. La actividad antioxidante se determinó en el mismo extracto usando el Sistema enzimático compuesto por el cromóforo sal de diamonio del ácido 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfónico (ABTS), peroxidasa y H₂O₂ y los resultados se expresan en mg equivalentes de Trolox 100 g⁻¹ de peso fresco.

Análisis estadístico

Para los datos de crecimiento y de producción se aplicó un análisis de varianza, siendo las fuentes de variación tratamiento y tiempo y para los parámetros de calidad y bioactivos se aplicó una *t*-Student para encontrar diferencias significativas entre las uvas control y las tratadas con AS ($P < 0,05$) para cada día de muestreo.

Resultados y discusión

Crecimiento y maduración de la uva en la parra

Los tratamientos con SA a concentraciones 5 y 10 nM tuvieron un efecto significativo disminuyendo el crecimiento de la baya, efecto que se pudo observar a partir de la primera semana de realizar los tratamientos (Figura 1), sin diferencias significativas entre ambas dosis. Sin embargo, el tratamiento con AS 1 mM no tuvo efectos significativos con respecto al control. En cuanto a las recolecciones, se comprobó que todos los tratamientos retrasaron el proceso de maduración de la uva en la parra, ya que en las parras control se recolectaron la mayoría de las uvas el 11 de agosto y en todas las tratadas el 28 de agosto (Figura 2). Este retraso fue proporcional a la dosis de AS aplicada. Además con las dosis de 5 y 10 mM se produjeron algunos daños en las bayas, por toxicidad debida a alta concentración, lo que hizo disminuir los datos de producción total, ya que estas uvas no eran comercialmente válidas. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la producción total de las parras control y de las tratadas con AS a concentración 1 mM, aunque esta fue ligeramente superior ($34,23 \pm 1,34$ y $37,23 \pm 2,02$ kg/parra en control y tratadas, respectivamente) y habría que repetir este tratamiento con un mayor número de parras para comprobar si efectivamente se incrementa la producción total.

Parámetros fisiológicos, de calidad y propiedades funcionales

La producción de etileno fue muy baja, tanto en la recolección como durante la conservación, aunque después de 45 días de conservación fue mayor en las uvas tratadas que en las control (Tabla 1). La tasa de respiración disminuyó cuando las uvas se conservaron en frío y no se encontraron diferencias significativas atribuidas al tratamiento. Por otra parte, algunos parámetros de calidad, como SST, AT, índice de maduración y color, en el día 0 fueron similares en las uvas control y en las tratadas, ya que ambas se recolectaron en estado de maduración comercial. Sin embargo, durante la conservación la evolución del color y del índice de maduración fue menor en las tratadas con AS (Tabla 1). Además, los niveles de firmeza, así como el contenido en fenoles totales y la actividad antioxidante se vieron significativamente elevados por los tratamientos con AS y estos efectos eran aún evidentes después del almacenaje prolongado (Tabla 1). Este efecto del tratamiento con AS en pre-cosecha, incrementando algunos parámetros de calidad de los frutos y su contenido en compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes en el momento de la recolección, también se ha obtenido en diferentes variedades de cereza (Giménez et al., 2014; 2015; 2016; Valverde et al., 2015). Asimismo, un incremento en el contenido de fenoles totales se encontró en fresas tratadas mediante *espray* con AS durante su desarrollo (Jamali et al., 2013), lo que puede atribuirse a un efecto incrementando la actividad del enzima fenilalaninaamolioliasa.

Conclusiones

Los resultados muestran que el tratamiento con AS a 1, 5 y 10 mM retrasó el proceso de maduración de la uva en la parra, siendo el efecto proporcional a la dosis aplicada y que las dosis más elevadas provocaron toxicidad. No obstante, el tratamiento con AS a 1 mM incrementó la calidad de las uvas en el momento de maduración comercial y su contenido en compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes, efectos que aún fueron evidentes después de una conservación prolongada. Por tanto, el tratamiento con AS, aplicado durante el desarrollo de la uva podría ser una herramienta natural para incrementar la calidad de las uvas y su contenido en compuestos bioactivos, tanto en el momento de recolección comercial como después de su conservación prolongada.

Agradecimientos

Agradecemos a la empresa “El Ciruelo, S.A.” la provisión del material vegetal y el asesoramiento técnico durante el cultivo y la financiación al Ministerio Español de Economía y Competitividad y a la UE (fondos FEDER, AGL2012-35402/AL).

Referencias

- Babalar, M., Asghari, M., Talaei, A., Khosroshahi, A. 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chemistry*, 105, 449-453.
- Cao, J. K., Yan, J. Q., Zhao, Y. M., Jiang, W. B. 2013. Effects of four pre-harvest foliar sprays with b-aminobutyric acid or salicylic acid on the incidence of post-harvest disease and induced defence responses in jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) fruit after storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88, 338-344.
- Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology* 57, 183-188.
- Champa, W.A.H., Gill, M.I.S., Mahajan, B.V.C., Arora, N.K. 2014. Postharvest treatment of polyamines maintains quality and extends shelf-life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. *Postharvest Biology and Technology* 91: 57-63.

- FAOSTAT 2015. Dirección de Estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Datos 2013.
- Fatemi, H., Mohammadi, S., Aminifard, M. H. 2013. Effect of postharvest salicylic acid treatment on fungal decay and some postharvest quality factors of kiwifruit. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46, 1338-1345.
- Giménez, M.J., Serrano, M., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D., Guillén, F. 2016: Preharvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.7853.
- Giménez, M.J., Valverde, J.M., Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Serrano, M., Moral, J., Castillo, S. 2015. Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees improve fruit quality at harvest and during storage. *Scientia Horticulturae*, 197, 665-673.
- Giménez, M.J., Valverde, J.M., Valero, D., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Castillo, S. 2014. Quality and antioxidant properties on sweet cherries as affected by preharvest salicylic and acetylsalicylic acids treatments. *Food Chemistry*, 160, 226-232.
- Guerra, I.C.D., De Oliveira, P.D.L., Santos, M.M.F., Lucio, A.S.S.C., Tabares, J.F., Barbosa-Filho, J.M., Madruga, M.S., De Souza, E.L. 2016. The effects of composite coatings containing chitosan and mentha (*Mentha piperita* L. or x villosa Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella. *Food Science and Emerging Technologies* 34: 112-121.
- Hayat, S., Ahmad, A. 2007. *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Dordrecht: Springer.
- Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology* 39, 93-100.
- Peleg, Z., Blumwald, E. 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 290-295.
- Rosales, R., Romero, I., Fernandez-Caballero, C., Escribano, M.I., Merodio, C., Sanchez-Ballesta, M.T. 2016. Low temperature and short-term high-CO₂ treatment in postharvest storage of table grapes at two maturity stages: Effects on transcriptome profiling. *Frontiers in Plant Science* 7 (JULY2016), 1020.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D., 2011a. Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chemistry* 124, 964-970.
- Sayyari, M., Castillo, S., Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Serrano, M. 2011b. Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 136-142.
- Serrano, M., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D. 2006. Use of *Aloe vera* gel coating preserves the functional properties of table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 3882-3886.
- Valero, D., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Serrano, M. 2011. Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 5483-5489.

- Yao, H., Tian, S. 2005. Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 253-262.
- Yin, X. R., Zhang, Y., Zhang, B., Yang, S. L., Shi, Y. N., Ferguson, I.B., Chen, K.S. 2013. Effects of acetylsalicylic acid on kiwifruit ethylene biosynthesis and signaling components. *Postharvest Biology and Technology*, 83, 27-33.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Parámetros fisiológicos, de calidad, fenoles y actividad antioxidante de las uvas control y tratadas con ácido salicílico 1 mM en el momento de la recolección y después de 42 días de conservación a 1 °C más 1 día a 20 °C.

Parámetro	Control		Ácido salicílico (1 mM)	
	Día 0	Día 42	Día 0	Día 42
Etileno (nL g ⁻¹ h ⁻¹) ¹⁾	0,022±0,001 ^a	0,028±0,001 ^a	0,020±0,003 ^a	0,011±0,002 ^b
Respiración*	21,03±1,02 ^a	8,66±0,62 ^a	21,76±1,30 ^a	8,72±0,85 ^a
Color Hue	15,39±1,87 ^a	10,45±1,88 ^a	17,37±1,16 ^a	16,99±0,97 ^b
Firmeza (N mm ⁻¹)	2,00±0,04 ^a	1,37±0,03 ^a	2,20±0,06 ^b	1,54±0,04 ^b
SST (Brix)	18,15±0,40 ^a	18,83±0,22 ^a	17,92±0,23 ^a	18,15±0,22 ^a
AT (g 100 g ⁻¹)	0,83±0,02 ^a	0,64±0,02 ^a	0,86±0,03 ^a	0,71±0,02 ^b
IM (SST/AT)	21,79±0,85 ^a	29,31±0,71 ^a	20,89±0,91 ^a	25,87±1,01 ^b
Fenoles **	38,83±3,68 ^a	24,74±1,27 ^a	48,26±2,70 ^b	45,73±3,27 ^b
AAT**	228,8±15,7 ^a	179,1±14,5 ^a	292,5±20,7 ^b	345,6±15,1 ^b

* (mg kg⁻¹ h⁻¹), ** (mg 100 g⁻¹). Letras diferentes indican diferencias significativas entre uvas control y tratadas para cada parámetro y día de muestreo. SST: sólidos solubles totales, AT: acidez total, IM: índice de madurez, AAT: actividad antioxidante total.

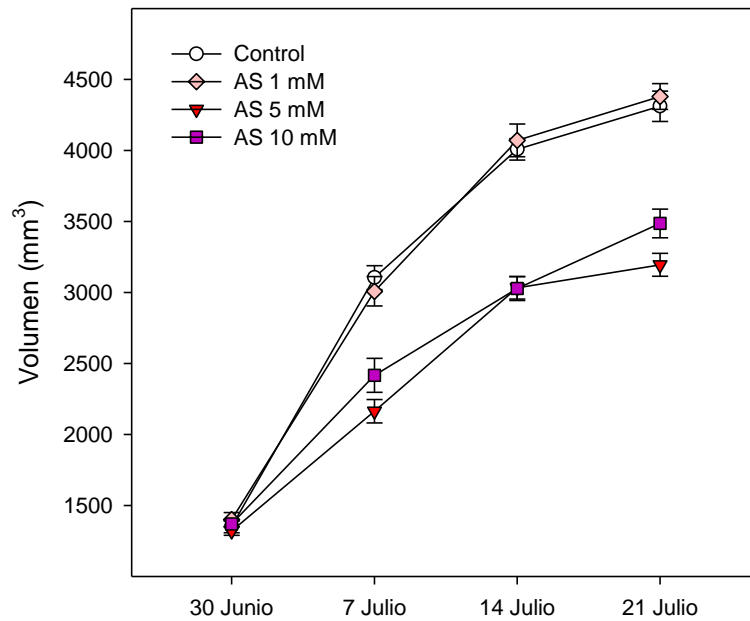


Figura 1- Efecto de los tratamientos con ácido salicílico (AS) sobre el crecimiento de la baya. Los datos son las media \pm ES de 5 bayas medidas en cada uno de los 5 racimos marcados por cada una de las 5 parras.

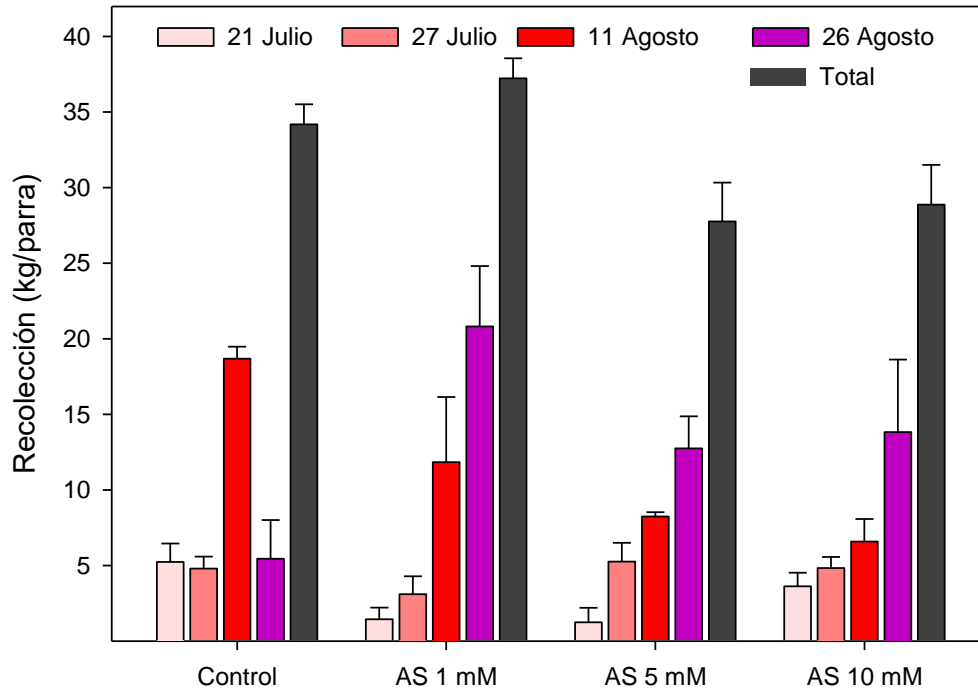


Figura 2- Efecto de los tratamientos con ácido salicílico (AS) sobre la producción de las parras en cada una de las recolecciones (21 y 27 de julio y 11 y 26 de agosto). Los datos son las media \pm ES parras.

Estudio plurianual del efecto del régimen hídrico sobre la composición nitrogenada de las variedades blancas Cigüente, Macabeo, Moscatel de Alejandría y Verdejo, cultivadas en diversas regiones de España

M.E. Valdés¹, J. Yuste², A. Montoro³, D. Uriarte¹, D. Moreno¹ y J.R. Castel^{1,4}

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, 06071 Badajoz. esperanza.valdes@juntaex.es

²Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, 47071 Valladolid.

³Instituto Técnico Agronómico Provincial, 02007 Albacete.

⁴Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada 46113 Valencia.

Resumen

Este trabajo analiza el efecto del régimen hídrico y del año sobre el perfil aminoacídico y el amonio de diferentes variedades blancas, conducidas en espaldera, en diferentes zonas vitícolas españolas. Las variedades, la localización y los tratamientos aplicados fueron: Cigüente (Ci) en Badajoz, secano y riego al 100% de ETc; Macabeo (Ma) en Albacete, 25% y 33% aprox de ETc; Moscatel de Alejandría (Mo) en Valencia, 50% y 100% de ETc; y Verdejo (Ve) en Valladolid, secano y 100% aprox. de ETc. En vendimia se analizó la composición aminoacídica y el amonio de la uva mediante HPLC y se calcularon el CTA (Contenido Amínico Total, mgL⁻¹), aminoácidos asimilables (AA, mgL⁻¹) y el YAN (Nitrógeno Fácilmente Asimilable por las levaduras). En Ci, Ma y Ve se hallaron diferencias significativas entre tratamientos para la mayoría de los aminoácidos. Debido a la variabilidad climática interanual observada, en la mayoría de ellos se encontró interacción significativa tratamiento*año, especialmente en Ci y Ma. La variación interanual y el efecto del riego fueron de poca amplitud y significación en Mo, observándose descensos en los valores medios de los aminoácidos individuales y de CTA y YAN en la uva de los tratamientos más regados. En Ma la aplicación de mayor dosis de agua durante el preverano provocó aumentos en la mayoría de los aminoácidos, de mayor amplitud en 2014. En Ci la tendencia, amplitud y significación del efecto tratamiento dependió incluso de la campaña analizada para un determinado aminoácido. El riego en Ve disminuyó la concentración de los aminoácidos presentes en las bayas. Aunque no se ha logrado establecer un grupo de aminoácidos común para todas las variedades que pudieran servir de indicadores del estado hídrico de la cepa, los resultados hallados en Ci y Ve sugieren la existencia de patrones comunes para determinados grupos de variedades cuando los estados hídricos son similares.

Palabras clave: amonio, nitrógeno, riego, YAN.

Abstrac

This work analyses the effect of the water regime and season on the amino acid profile and ammonium of different white varieties, conducted in trellis, in different growing zones. There were the varieties, location and treatments applied: Cigüente (Ci) in Badajoz, rainfed and irrigation 100% ETc; Macabeo (Ma) in Albacete, 25% and 33% approx. ETc; Moscatel de Alejandría (Mo) in Valencia, 50% and 100% ETc; and Verdejo (Ve) in Valladolid, rainfed and 100% approx. ETc. At harvest, grape amino acid and ammonium composition were analyzed by HPLC and the CTA (Total Aminic Content, mgL⁻¹) assimilable amino acids (AA, mgL⁻¹) and YAN (Yeast Assimilable Nitrogen) were calculated as well. In Ci, Ma and Ve, significant differences were found between treatments for most amino acids. The interannual variation and irrigation effect had low

amplitude and significance in Mo, showing a decrease in the individual grape amino acids, CTA and YAN mean values in those irrigated 100 % ETc. In Ma the application of higher doses of water during the pre-verasion induced increases in most amino acids, with the largest amplitude in 2014. In Ci, the trend, amplitude and significance of treatment effect even depends on the season for certain amino acid. Irrigation in Ve decreased the concentration of amino acids present in the berries. Although it has not been possible to establish a group of amino acids common to all the varieties as indicators of vine water status, the results found in Ci and Ve suggest the existence of common patterns for certain groups of varieties when the water states are similar.

Key words: ammonium, nitrogen, irrigation, YAN.

Introducción

Entre las técnicas culturales más ampliamente difundidas en los últimos años, el riego ocupa un lugar primordial. Son numerosos los estudios que analizan sus efectos sobre la composición de la uva tinta, pero el número de trabajos en variedades blancas es mucho menor. Por su importancia como nutrientes de las levaduras durante la fermentación y como precursores de compuestos responsables del aroma del vino, es importante conocer el efecto, a nivel cualitativo y cuantitativo, de las prácticas vitícolas sobre la composición nitrogenada de la uva. El mosto contiene alrededor de 30 aminoácidos y su concentración en la uva depende de factores como la variedad, el patrón, la añada, el grado de madurez y las prácticas culturales (Asensio et al., 2002; Ortega-Heras et al., 2013). Este trabajo analiza el efecto del régimen hídrico y del año sobre el perfil aminoacídico y el amonio de diferentes variedades blancas, conducidas en espaldera, en diferentes zonas vitícolas españolas con similar estado de maduración, evaluado mediante el contenido en sólidos solubles totales.

Materiales y métodos

Descripción de los viñedos

El estudio se realizó en cuatro lugares diferentes de España, con las siguientes variedades: ‘Macabeo’ (Ma, en Barrax, Albacete), ‘Cigüente’ (Ci, sinónimo ‘Doña Blanca’, en Lobón, Badajoz), ‘Moscatel de Alejandría’ (Mo, en Vilamarxant, Valencia) y ‘Verdejo’ (Ve, en Medina del Campo, Valladolid). En Ci, Ve y Mo se efectuó en las campañas 2012-2014 y en Ma, únicamente en 2013 y 2014. Las principales características de viña, suelo y fenología y las condiciones climáticas se presentan en la Tabla 1. En todos los casos, son viñedos conducidos en espaldera, mediante posicionamiento vertical de la vegetación, y sometidos a similares prácticas de cultivo. La poda fue en cordón Royat bilateral en Ci, Mo y Ve y en Guyot en el caso de Ma. En cada localización, la fertilización nitrogenada fue acorde a las prácticas culturales habituales de su zona e idéntica para todos los tratamientos. Los suelos en todos los sitios son de tipo calcáreo, de reacción alcalina y de mediana a alta capacidad de almacenamiento de agua, excepto en Badajoz y Albacete, donde la profundidad del suelo es inferior a 1 m.

Tratamientos de régimen hídrico

En la Tabla 2 aparecen descritos los tratamientos ensayados en las diferentes localizaciones. Las variables climáticas se midieron en estaciones agrometeorológicas automáticas ubicadas en cada parcela experimental o en su vecindad, y con ellas se calculó la evapotranspiración de referencia (ET_0) mediante la ecuación de Penman-Monteith, según Allen et al. (1998). La evapotranspiración del cultivo (ET_c) se calculó como producto de ET_0 y del coeficiente de cultivo (K_c). El riego se aplicó por goteo. La cantidad de agua aplicada se midió mediante contadores volumétricos en cada parcela

elemental. No hubo problemas de salinidad, dadas las características del suelo y la calidad del agua, que era de bajo contenido en sal en las cuatro localizaciones. El estado hídrico de las plantas se evaluó mediante la medida del potencial hídrico de tallo (Ψ_s) con cámara de presión. Las mediciones se realizaron a mediodía (11:30 a 12:30 horas solares) a intervalos semanales o bisemanales entre mayo y octubre. Se utilizaron al menos cuatro plantas por tratamiento y dos hojas por planta. En la Tabla 2 aparecen, junto a los tratamientos ensayados, los valores de Ψ_s medios interanuales registrados en cada uno de los tratamientos para los periodos de preverano, posteverano y toda la temporada, pudiéndose observar el efecto de los diferentes tratamientos. En todos los casos el diseño estadístico fue en bloques al azar.

Determinación del contenido en sólidos solubles y la composición aminoacídica de la uva

El contenido en sólidos solubles se determinó por refractometría. La composición aminoacídica de la uva y la concentración de ión amonio (NH_4^+) de todos los viñedos se llevó a cabo en el INTAEX mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en un autoanalizador de aminoácidos (Biochrom 30, de Pharmacia) (Valdés et al., 2011). A partir de los valores de los aminoácidos se calculó la concentración total de aminoácidos (Free aminoacid nitrogen FAN, mgL^{-1}) y la de aminoácidos asimilables (AA, mgL^{-1}) restando al FAN el valor correspondiente a la prolina. El valor del nitrógeno asimilable por las levaduras (YAN, mgL^{-1}) se obtuvo sumando al AA la concentración de amonio.

Análisis estadístico

Los datos de cada variedad se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para evaluar el efecto del régimen hídrico, la campaña y la interacción de ambos factores y a un análisis de componentes principales (ACP). Los análisis estadísticos se han efectuado con el paquete estadístico XLSTAT.

Resultados y discusión

La figura 1 muestra la media interanual de los valores de las concentraciones de aminoácidos hallados en los diferentes regímenes hídricos aplicados en las variedades estudiadas. La respuesta de la composición aminoacídica de las diferentes variedades frente al estrés hídrico es diferente en sentido, significación y amplitud. En Ci y Ma el mejor estado hídrico de las cepas Ci-100R y Ma-R3 provocó en las bayas aumentos en la concentración de la mayoría de los aminoácidos respecto a Ci-S y Ma-R1. Frente a ello, al comparar Ve-S con Ve-R se hallaron descensos en prácticamente todos los aminoácidos. Según los resultados del ANOVA (Tabla 3) los tratamientos provocaron diferencias significativas en las concentraciones medias interanuales de 11 aminoácidos en la uva de Cigüente (Ci), 13 en la de Macabeo (Ma), 6 en la de Moscatel (Mo) y 21 en la de Verdejo (Ve). En todas las variedades, para la mayoría de los aminoácidos se registraron diferencias significativas entre las concentraciones de los diferentes años, lo que refleja la importancia de las condiciones climatológicas de la campaña, que pueden llegar a condicionar el sentido y la amplitud del efecto del tratamiento como indica el hallazgo de interacciones significativas T*A. En este sentido, el menor número de estas interacciones significativas (únicamente en 8 aminoácidos) se halló en Ve. En esta variedad no se encontraron interacciones significativas en FAN, AA y YAN. Estos resultados revelan que, en Ve el estado hídrico modifica la concentración de estos parámetros independientemente del año. Sin embargo, en Ci y en Ma el efecto depende en mayor medida de las circunstancias climatológicas de la campaña en curso y en Mo apenas se observa incidencia.

La figura 2 muestra los resultados gráficos del PCA. En dichos gráficos se proyectan los diferentes tratamientos y los aminoácidos en los que se hallaron diferencias

significativas para Ci, Ma, Mo y Ve consecutivamente. En Ci, Mo y Ve, la primera componente principal F1 permite agrupar las muestras en función de la campaña. En Ci y Ve esta componente explica un 47,20 y un 53,10% de la variabilidad intermuestras. En Mo alcanza el 83,85%, permitiendo diferenciar las muestras de la campaña 2014, caracterizadas por mayores concentraciones de FAN, Gly, Pro, Sarc y Tau, de las procedentes de las otras dos campañas. En lo que respecta a F2, en Ci y Ve los tratamientos se distribuyen de igual forma en los tres años a lo largo de este eje y en ambas variedades de igual manera. Los tratamientos no regados (Ci-S y Ve-S) se agrupan en la parte positiva de este eje y los regados (Ci-100R y Ve-100R) en la negativa, con la excepción de Ve-100R-13, de 2013, de manera que los no regados ocupan posiciones superiores a los regados en todos los casos. En ambas variedades las muestras de secano se caracterizan por concentraciones superiores de Ile y Trp e inferiores de Glu que las regadas. Además, las gráficas también muestran cómo en 2013, las muestras de secano Ci-S-13 y Ve-S-13 ocuparon posiciones más cercanas a las correspondientes regadas (Ci-S-14 y Ve-100R-13) que en las dos restantes campañas. En el 2013, la diferencia entre los valores de Ψ s fue de menor amplitud que en las restantes campañas, especialmente los correspondientes al período preverano, pues únicamente alcanzaron -0,2 y -0,14 MPa en Ci y Ve frente a -0,52 del 2012 y -0,30 del 2014 hallados Ci y -0,19 y -0,16 en Ve (datos anuales no mostrados). Esta podría ser, entre otras, la razón de la menor intensidad del efecto tratamiento hallada ese año que refleja la figura.

Las muestras Ma-R3-13 y Ma-R3-14 también ocupan en F2 posiciones superiores que las respectivas Ma-R1-13 y Ma-R1-14, pero la distancia intermuestras es muy superior en el 2014, señalando la mayor amplitud del efecto del régimen hídrico dicho año sobre la concentración de aminoácidos y que, al igual que en el caso anterior, se corresponde con una mayor diferencia entre los valores de potencial. Además, en esta variedad el tratamiento R3, Ma-R3, posee una cantidad superior de Ile que Ma-R1, contrariamente a lo observado en Ci y Ve.

Los resultados hallados en este estudio concuerdan con los obtenidos en otros trabajos (Niculcea et al., 2013; Ortega et al., 2013) que muestran la importancia de la campaña y del estado hídrico de la cepa en la composición nitrogenada de la uva. Las circunstancias climatológicas anuales determinan el estado hídrico de la cepa que en gran medida regula la concentración de aminoácidos existentes en su uva. También se confirman resultados previos (Valdés et al., 2014) que indicaron que el sentido y la amplitud de la variación de la composición nitrogenada como respuesta a los diferentes estados hídricos de la cepa, dependen del cultivar. Además, para inducir esa variación es necesario que la diferencia de los valores de Ψ s alcance un determinado umbral, diferente para cada variedad. Finalmente, aunque no se ha logrado establecer un grupo de aminoácidos común para todas las variedades que pudieran servir de indicadores del estado hídrico de la cepa, los resultados hallados en Ci y Ve sugieren la existencia de patrones comunes para determinados grupos de variedades cuando los estados hídricos son similares.

Conclusiones

Los resultados hallados muestran que, cuando el riego provoca una diferencia de determinada amplitud en los valores de Ψ s de la cepa, puede llegar a modificar la concentración de los aminoácidos. Además, los resultados hallados en Ci y Ve sugieren que para diferencias de valores de Ψ s de magnitud similar, la respuesta en la concentración de determinados aminoácidos es también muy parecida.

Agradecimientos

Los resultados forman parte del proyecto RTA2011-00100 “Adecuación agronómica del riego y otras técnicas culturales en variedades blancas tradicionales de vid”. Los autores agradecen a INIA (Instituto Nacional de Investigación Agroalimentaria) y a fondos Feder la financiación del mismo y las ayudas concedidas a través de los grupos de investigación de la Junta de Extremadura, *Nutrición y Riego* AGA001 y *Hortofruenol* AGA002.

Referencias

- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage paper No 56, Rome, Italy.
- Asensio, M. L., Valdés, M.E. & Cabello, F. 2002. Characterisation of some Spanish white grapevine cultivars by morphology and amino acid analysis. *Scientia Horticulturae* 93: 289-299.
- Niculcea, M., Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Sánchez-Díaz, M., Morales, F., Ayestarán, B. & Antolín, M.C. 2013. Effects of water-deficit irrigation on hormonal content and nitrogen compounds in developing berries of *Vitis vinifera*, L. cv. Tempranillo. *Journal of Plant Growth Regulation* 32:551-563.
- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., del Villar–Garrachón, V., González-Huerta, C., Moro, L.C., Guadarrama, A., Villanueva, S., Gallo-González, R. & Martín de la Helguera, S. 2013. Study of the effect of vintage, maturity degree and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of white wine from the Verdejo variety. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:2073-82.
- Tonietto, J. & A. Cabonneau. 2004. A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agric. Forest Meteorol.* 124:81-97.
- Valdés, M. E., Vilanova, M., Sabio, E. & Bernalte, M.J. 2011. Clarifying agents effect on the nitrogen composition in must and wine during fermentation. *Food Chemistry*, 125, 430-437.
- Valdés, M.E., Moreno, D., Vilanova, M., Yuste, J., Montoro, Talaverano, M.I., Gamero, E., Uriarte, D., Mancha, L.A. & Castel, J.R. 2014. Composición nitrogenada de las variedades blancas Airén, Cigüente, Moscatel de Alejandría y Verdejo, cultivadas en España. Incidencia del régimen hídrico. I Jornadas del Grupo de Viticultura de la SECH, Logroño 2014.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Principales características del viñedo de cada variedad.

Parámetro	Cigüente	Macabeo	Moscatel de Alejandría	Verdejo
Coordenadas	38°51'N, 6°40'W	39°03'N, 2°06'W	39°33'N, 0°42'W	42°21'N, 4°56'W
Altitud (m)	200	679	197	785
Patrón	110R	110R	161-49	110R
Año de plantación	2005	1999	1996	2006
Marco (m)	2,95x1,35	3,00x1,5	2,75x1,8	2,6x1,25
Nº Cepas Rep ⁻¹	20-24	20	24-40	20
Nº de repeticiones	4	3	4	4
Textura de suelo	Franco-Arcilloso	Franco-Arcilloso-Arenoso	Franco-Arcilloso	Franco-Arcilloso-Arenoso
Prof. del suelo (m)	1	0,75	>1,5	1
Capacidad de retención de agua (mm m ⁻¹)	130	130	200	120
Tipo de clima (Toniento y Carbonneau, 2004)	Cálido, noches frías, muy seco	Muy cálido, noches muy frías, mod. seco	Cálido, noches templadas, mod. seco	Cálido, noches muy frías, mod. seco
Fecha de desborre	28-mar	01-may	18-abr	21-abr
Fecha de envero	18-jul	15-ago	07-ago	21-ago
Lluvias (1 abril-30 sep) (mm)	79	79	78	81
ETo (1 abril-30 sep)	1026	1013	924	1074

Tabla 2 - Descripción de los regímenes hídricos aplicados en cada ensayo.

Tratamiento	Descripción	ψ_{tallo} (MPa) Toda la temporada	Ψ_{tallo} (MPa) preenvero	Ψ_{tallo} (MPa) postenvero	SST(°Brix)
Ci-S	No regado	-1,19	-0,97	--1,41	21,3
Ci-100R	Riego toda la temporada (100% ETc)	-0,61	-0,61	-0,62	19,2
Ma-R1	Riego en preenvero de 25% ETc y en post-envero de 33% de ETc	-1,02	-1,09	-0,93	20,7
Ma-R3	Riego toda la temporada (33% de Etc)	-0,74	-0,71	-0,76	22,0
Mo-50R	Riego toda la temporada (50% del Mo 100R)	-0,75	-0,71	-0,88	22
Mo-100R	Riego toda la temporada (100% ETc)	-0,68	-0,61	-0,77	21,4
Ve-S	No regado	-1,10	-0,86	-1,49	21,8
Ve-100R	Riego toda la temporada (100% ETc)	-0,77	-0,69	-0,91	21,8

Tabla 3 - Significación estadística del efecto del régimen hídrico (T) y el año (A) en la composición nitrogenada de las variedades Cigüente (Ci), Macabeo (Ma), Moscatel (Mo) y Verdejo (Ve).

Aminoácido	Cigüente			Macabeo			Moscatel			Verdejo		
	T	A	T*A	T	A	T*A	T	A	T*A	T	A	T*A
<i>Ala</i>	**	***	n.s.	*	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.
<i>Arg</i>	***	***	**	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	n.s.
<i>Asn</i>	**	***	*	n.s.	n.s.	**	*	***	n.s.	n.s.	*	n.s.
<i>Asp</i>	*	***	***	n.s.	n.s.	**	n.s.	***	n.s.	***	***	**
<i>B-ala</i>	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	**	n.s.	***	***	n.s.	***	n.s.
<i>Citr</i>	n.s.	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	n.s.	n.s.
<i>Ethan</i>	*	***	n.s.	n.s.	***	*	n.s.	***	*	*	***	*
<i>Gaba</i>	***	***	***	n.s.	*	*	n.s.	***	*	n.s.	***	n.s.
<i>Glu</i>	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	***	n.s.	**	***	*
<i>Gly</i>	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	***	*	*	*	n.s.
<i>His</i>	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.
<i>Hypro</i>	n.s.	***	***	n.s.	**	n.s.	n.s.	***	n.s.	*	***	***
<i>Ile</i>	**	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	n.s.	n.s.
<i>Leu</i>	n.s.	***	n.s.	**	**	*	n.s.	***	n.s.	***	*	n.s.
<i>Lys</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	n.s.	n.s.
<i>Met</i>	n.s.	***	n.s.	***	***	***	n.s.	n.s.	*	**	**	n.s.
<i>Orn</i>	n.s.	***	***	n.s.	*	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	n.s.	n.s.
<i>Pea</i>	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	***	**
<i>Phe</i>	***	***	n.s.	**	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	**	n.s.	n.s.
<i>Phser</i>	n.s.	***	*	*	***	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	*	n.s.
<i>Pro</i>	*	***	*	n.s.	*	*	*	**	*	*	n.s.	**
<i>Sarc</i>	n.s.	***	**	*	n.s.	n.s.	*	***	***	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Ser</i>	n.s.	***	n.s.	*	***	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.
<i>Taur</i>	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	***	*	***	***	*	***	***
<i>Thr</i>	n.s.	***	**	*	***	***	n.s.	***	n.s.	*	***	n.s.
<i>Trp</i>	***	n.s.	n.s.	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.	***	*	*
<i>Tyr</i>	n.s.	***	n.s.	*	*	*	*	***	*	*	***	*
<i>Val</i>	n.s.	***	n.s.	*	***	**	n.s.	***	n.s.	**	*	n.s.
<i>Amm</i>	n.s.	***	***	*	***	***	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.
<i>AA</i>	**	***	**	*	***	*	n.s.	***	n.s.	*	***	n.s.
<i>FAN</i>	n.s.	***	n.s.	*	***	***	*	***	*	*	*	n.s.
<i>YAN</i>	**	***	**	*	***	*	n.s.	***	n.s.	n.s.	***	n.s.

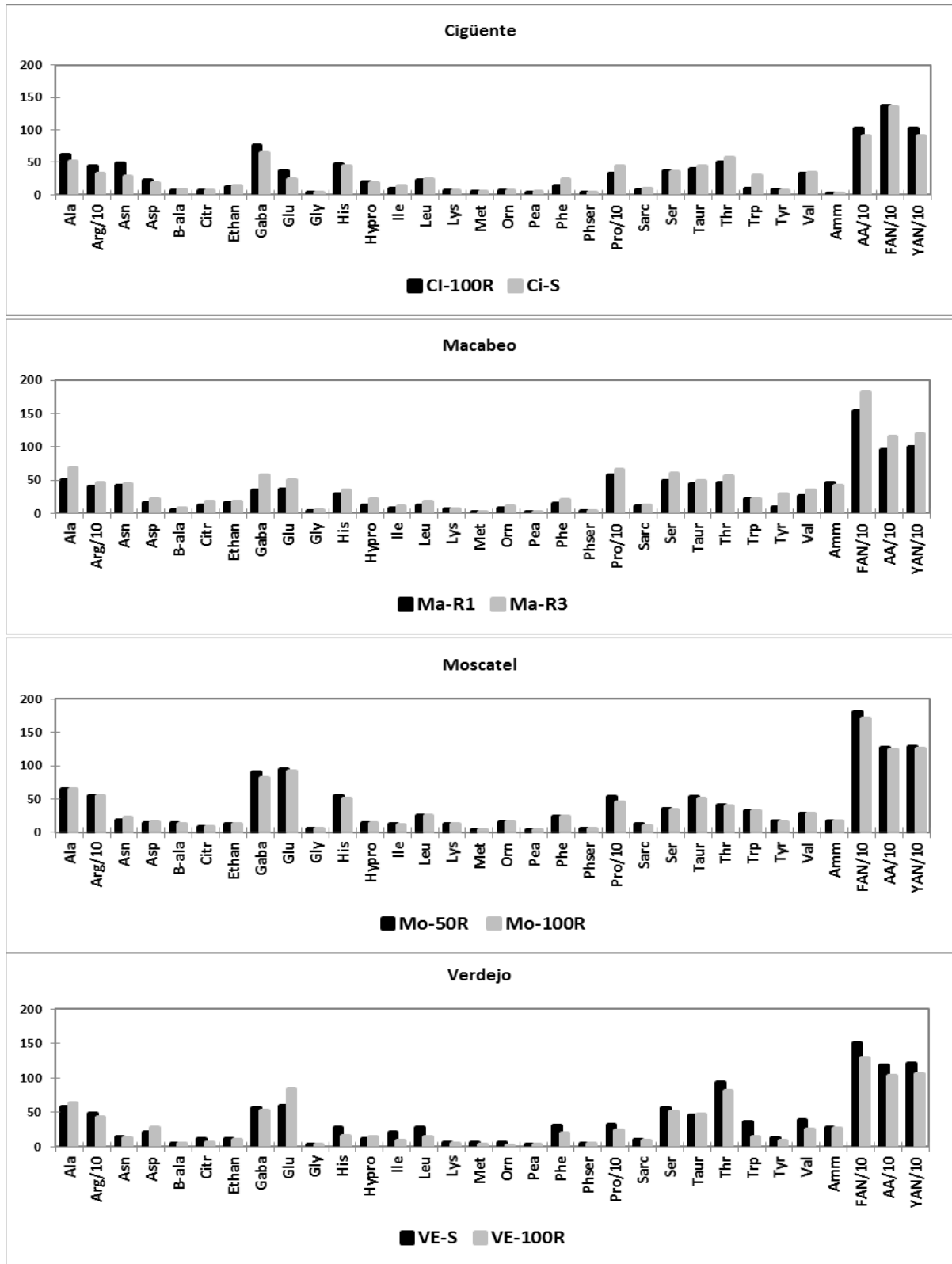


Figura 1 - Composición nitrogenada (media interanual) de las bayas procedentes de diferentes regímenes hídricos en las variedades Cigüente (Ci), Macabeo (Ma), Moscatel de Alejandría (Mo) y Verdejo (Ve).

La descripción de los tratamientos figura en la Tabla 2.

Para una misma variedad y aminoácido, *, ** y *** indican diferencias estadísticamente significativas para $p < 0,05$, $0,01$ y $0,001$,

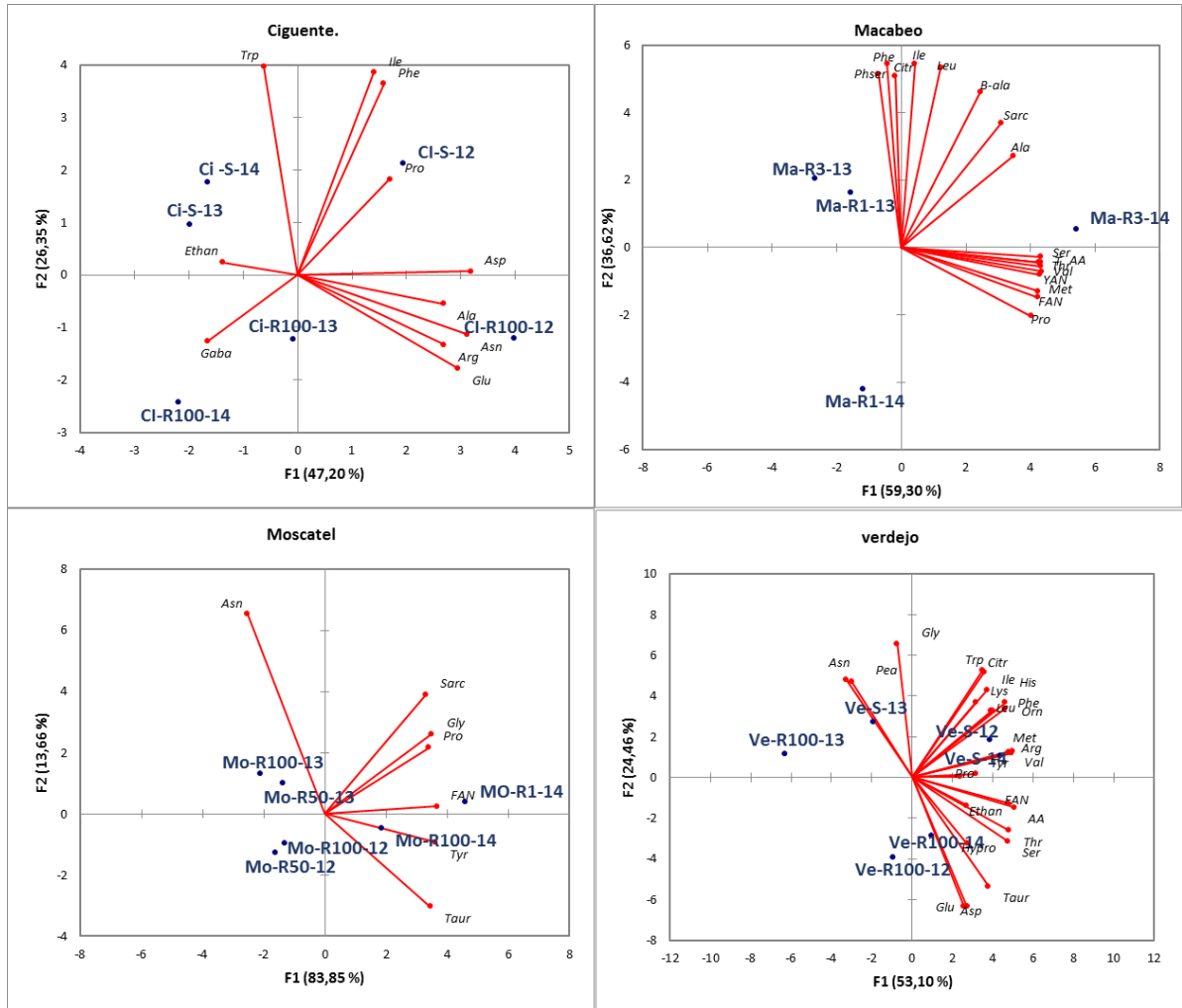


Figura 2 - Análisis de componentes principales (ACP) de aminoácidos en uva procedente de cepas sometidas a diferentes regímenes hídricos, en las distintas variedades.

La descripción de los tratamientos figura en la Tabla 2,

Calidad de la uva Monastrell cultivada sobre diferentes portainjertos en el sureste español

Josefa María Navarro¹, Jose Ignacio Fernández-Fernández², Juan Gabriel Pérez-Pérez¹, Eva María Arques¹, Pascual Romero¹

¹Equipo de Riego y Fisiología del Estrés. Departamento de Recursos Naturales. IMIDA, C/Mayor s/n, 30150, La Alberca, Murcia, e-mail:josefam.navarro2@carm.es

²Departamento de Viticultura, IMIDA, C/Mayor s/n, 30150, La Alberca, Murcia

Resumen

Se evaluó durante 5 años (2012-2016) el efecto del portainjerto en la calidad de la uva Monastrell en viñas bajo condiciones semiáridas del sureste español e injertadas sobre cinco portainjertos de diferente vigor (1103P, 140RU, 41B, 161-49 y 110R). El portainjerto 140RU, uno de los más vigorosos, produjo las bayas de mayor tamaño y bajo índice de color del mosto, indicando una posible dilución de los compuestos fenólicos. Portainjertos de menor vigor (41B, 110R y 161-49) produjeron bayas de pequeño tamaño, presentando mayores valores de índice de color y mayor concentración de polifenoles, antocianos totales y extraíbles y flavonoides. El portainjerto tuvo un marcado efecto en la actividad antioxidante: 140RU presentó la menor actividad antioxidante debido a su menor concentración de flavonoides. Las bayas de las plantas sobre 161-49 (poco vigoroso) presentaron los más altos contenidos de estilbenos y también de aminoácidos, encontrándose una alta correlación positiva entre de la actividad antioxidante de la baya y su concentración en flavonoides y estilbenos. Con los portainjertos 140RU y 161-49 las bayas presentaron elevada acidez, desequilibrándose la relación de azúcares y ácidos y retrasándose la maduración. Portainjertos vigorosos (1103P y 140RU) presentaron altos valores de ácido málico, con baja relación tartárico/málico lo que podría alterar el sabor de la baya. Estos resultados muestran que la elección del portainjerto determina de forma importante la calidad de la uva Monastrell en las condiciones semiáridas del sureste español.

Palabras clave: *Vitis vinífera*, vigor del patrón, calidad fenólica, calidad tecnológica, actividad antioxidante.

Abstract

The effect of the rootstock on the quality of Monastrell grapes under semi-arid conditions of Spanish southeast was evaluated for 5 years (2012-2016) in vines grafted on five rootstocks of different vigour (1103P, 140RU, 41B, 161-49 and 110R). The 140RU rootstock, one of the most vigorous, produced larger berries and must with low colour index probably due to a dilution of the phenolic compounds. Less vigorous rootstocks (41B, 110R and 161-49) produced small berries with higher values of colour index and higher concentration of polyphenols, total and extractable anthocyanins and flavonoids than more vigorous rootstocks. Also the antioxidant activity depended on rootstock: the lowest value was found in berries from 140RU with the lowest flavonoids concentration. The berries of the plants on 161-49 (non-vigorous rootstock) presented the highest contents of stilbenes and also of amino acids. A high positive correlation was found between the antioxidant activity and concentration in flavonoids and stilbenes found in berries. Due to the high acidity of berries from rootstocks 140RU and 161-49, sugars/acids ratio was unbalanced, producing a maturation delay. Vigorous rootstocks (1103P and 140RU) had high values of malic acid, with a low tartaric/malic ratio which

could alter the berry taste. All these results show that the rootstock is the quality of the Monastrell grape in the semi-arid conditions of the Spanish southeast.

Keywords: *Vitis vinífera*, rootstock vigour, berry polyphenolic quality, berry technological quality, antioxidant activity.

Introducción

La elección apropiada del portainjerto es uno de los factores primordiales para lograr la mejor calidad de la baya. El portainjerto, puede alterar la composición de la uva de forma indirecta ya que influye en la fenología de la vid, en los parámetros productivos y la composición de la baya. Por ejemplo, con las variedades Chardonnay y Pinot, la mejor calidad de vino se obtuvo con el portainjerto 110R comparado con otros portainjertos utilizados (Wooldridge et al., 2010). En la variedad Shiraz (Kodur et al., 2013), o Sauvignon Blanc (Pulko et al., 2012) injertadas sobre diferentes portainjertos, el contenido de TSS y los ácidos tartárico y málico dependían del portainjerto utilizado.

Las diferencias de la arquitectura del sistema radicular de los portainjertos pueden afectar directamente a la eficiencia de absorción y transporte de agua y nutrientes y regular el crecimiento de las plantas, su rendimiento y alterar de esta manera la composición de la baya (Main et al., 2002). El portainjerto modifica el intercambio gaseoso de la hoja, la conductancia estomática, transpiración, conductividad hidráulica (Bavaresco y Lovisolo, 2000), la producción (Stevens et al. 2010), la nutrición de K y el pH del mosto (Kodur et al., 2013,). Diferentes estudios muestran el papel del portainjerto en la producción de la vid y en los compuestos fenólicos, antocianos y taninos (Koundouras et al., 2009). Downey et al. (2006) encontraron que el excesivo vigor de la vid es el principal parámetro que reduce el contenido fenólico de las bayas. El portainjerto influye directamente en el tamaño de las bayas, alterando la relación de la piel/pulpa y, por lo tanto, la concentración de antocianos del vino ya que los estos se localizan en la piel de las bayas (Iland et al., 2011). Sin embargo no siempre el tamaño modifica el contenido de antocianos ya que puede variar el color sin variar el tamaño de la baya (Koundouras et al., 2009), o variar el tamaño sin variar el color. La concentración y composición de los compuestos fenólicos en uva pueden depender de otros factores cómo el grado de madurez alcanzado, las condiciones climáticas estacionales o el tipo de suelo.

Cada patrón debe estudiarse para cada cultivar y para la zona edafoclimática en la que se va a cultivar ya que la respuesta depende de las condiciones ambientales del cultivo y el tipo de suelo. El objetivo de este trabajo fue estudiar a lo largo de cinco años el efecto del portainjerto en la calidad de la uva en las condiciones semiáridas del sureste español, del cultivar Monastrell sobre cinco portainjertos de vid de diferente vigor.

Material y métodos

El ensayo se llevó a cabo durante el periodo 2012-2016 en una parcela experimental de viñedo (*Vitis vinífera* L. var. Monastrell) en Cehegín (Murcia) en las condiciones semiáridas del sudeste español, con un marco de plantación de 1,25x3 m. Se utilizaron cinco portainjertos: 1103P, 140RU, 41B, 161-49 y 110R y se regaron mediante riego por goteo con 800-900 m³/ha/año y fertilización de 30 kg N, 20 kg P, 30 kg K y 16 kg Mg por ha/año. El diseño experimental consistió en 4 bloques al azar con 2 repeticiones de cada portainjerto en cada bloque. Cada repetición constaba de 5 cepas, de las cuales en el momento de la vendimia, se muestrearon uvas de dos cepas del centro para evitar el efecto borde, constanding cada tratamiento de 16 muestras (2 cepas x 2 repeticiones x 4 bloques). Los análisis de calidad fenólica de uva se realizaron siguiendo la metodología previamente descrita (Romero et al., 2016).

Azúcares y aminoácidos se extrajeron con etanol sobre una muestra de baya triturada. La determinación de azúcares se realizó mediante HPLC Dionex ICS 3000 con Detector Integrado de Pulso Amperométrico, columna analítica CarboPac PA20 (3x150 mm) y dos precolumnas AminoTrap (3x30 mm) y CarboPac PA20 (2x30 mm). Los aminoácidos totales se seterminaron espectrofotométricamente con ninhidrina mediante el método de Rosen (1957). Para la determinación de flavanoides y actividad antioxidante se realizó una extracción metanólica sobre una muestra de baya triturada, determinando los flavonoides totales con el método de Dewanto et al. (2002) y la capacidad antioxidante con el método del radical ABTS^{•+} utilizando Trolox como estándar (Miller et al., 1993). Los estilbenos se extrajeron con acetato de etilo según Ribeiro de Lima et al. (1999) analizándolos con HPLC-MS/MS con un sistema de ionización por electoespray (ESI) operando en modo negativo. La separación se realizó con una columna analítica Agilent C₁₈ Licrosphere (250x4 mm) y las transiciones SRM utilizadas fueron m/z 389→227 y 389→185 para piceido y 227→185 y 227→143 para resveratrol.

Resultados y discusión

En general, durante todos los años de estudio, las plantas sobre el portainjerto 140RU, muy vigoroso, produjeron bayas más grandes (Tabla 1). En bayas de mayor peso puede producirse un efecto de dilución de compuestos fenólicos procedentes del hollejo ya que en bayas más pequeñas aumenta la relación superficie/volumen, favoreciendo la concentración de antocianos y compuestos fenólicos sintetizados en las células epiteliales (Iland et al. 2011). Aunque no se encontró una clara correlación del peso de la baya y su índice de color, las plantas sobre el portainjerto 140RU produjeron las bayas más grandes con un bajo índice de color del mosto, parámetro fundamental en la uva ya que juega un importante papel en la calidad organoléptica de las uvas, y a menudo, el portainjerto altera el contenido de antocianos en la piel (Jin et al., 2016).

Durante los cinco años de estudio, se observó un efecto global del vigor del patrón sobre la composición de compuestos fenólicos de la uva Monastrel, encontrándose en general, mayores concentraciones de antocianos totales en los patrones menos vigorosos (Tabla 1). Aunque en teoría las uvas más ricas en antocianos (responsables del color rojo azulado de la piel de las uvas tintas y del color del vino tinto) pueden producir vinos más coloreados debe tenerse en cuenta la facilidad para su extracción en el proceso de maceración de la vinificación de tintos, comparando el contenido de antocianos totales y extraíbles de la uva. Al igual que lo observado en antocianos totales, las concentraciones de antocianos extraíbles fueron mayores en los patrones menos vigorosos (161-49, 110R y 41B). La diferencia entre las concentraciones de antocianos totales y antocianos extraíbles indica la fragilidad de las membranas de las células de los hollejos, y por tanto la extractabilidad de estos compuestos; el índice de madurez celular (IMC) evalúa la extractabilidad y el estado de madurez de la baya. Uno de los patrones más vigorosos considerados en este estudio, 1103P, mostró valores de IMC más bajos que los encontrados en otros patrones menos vigorosos como 161-49 o 41B (Tabla 1). Los mayores valores de IMC obtenidos en los patrones menos vigorosos, muestran una mayor dificultad en la extracción de antocianos. Algunos autores mantienen que el valor de IMC disminuye a lo largo de la maduración (Glories, 1999), mientras que otros han constatado que la uva Monastrell mantiene un alto índice de extractabilidad durante todo el proceso de maduración, no produciéndose cambios significativos en el índice de extractabilidad de Monastrell durante la maduración (Bautista-Ortín et al. 2004). Las uvas de la variedad Monastrell tienen elevados valores de IMC debido a que su piel está caracterizada por una estructura más rígida que puede dificultar la extracción en comparación con otras variedades como Merlot, Cabernet Sauvignon o Syrah. La diferente facilidad de

extracción de antocianos entre variedades depende de la morfología y composición de la pared celular; variedades con mayor número de capas celulares en las paredes y más ricas en pectinas y azúcares totales presentan más dificultad para la extracción de sus antocianos (Ortega-Regules et al., 2006).

El índice de madurez de las pepitas (Mp) representa el porcentaje de taninos que aportarán las semillas. La facilidad con la que los taninos de las semillas son extraídos disminuye al aumentar la madurez de la uva, debido a una menor solubilización como consecuencia del aumento del grado de polimerización (González-Neves et al., 2010). Aunque sí se encontraron diferencias en el IMC entre los diferentes portainjertos, no se observó un efecto claro de la influencia del patrón sobre los valores de Mp (Tabla 1). En este sentido, no siempre hay una correspondencia entre la madurez de pulpa y hollejos con la madurez de las pepitas. Lasanta-Melero (2009) encontraron que los índices de madurez celular y de madurez de las pepitas no evolucionan de igual forma que la madurez tecnológica de la uva.

La actividad antioxidante de la uva está directamente relacionada con su contenido polifenólico. En este ensayo se determinó la actividad antioxidante de la uva Monastrell durante el periodo 2014-2016, encontrando una alta correlación positiva entre de la actividad antioxidante de la baya y su concentración en flavonoides ($r = 0.98$, $p < 0.001$), y aunque inferior pero también alta correlación con la concentración de estilbenos ($r = 0.67$ $p < 0.001$), por lo que un alto contenido de flavonoides y estilbenos en la uva aumentará la calidad nutracéutica de la misma al aumentar su potencial antioxidante. Por otra parte, el portainjerto tuvo un marcado efecto en el contenido polifenólico de la uva (Tabla 1) y por tanto en su actividad antioxidante (Tabla 2). El portainjerto 140RU presentó los menores valores de actividad antioxidante como consecuencia de los menores valores de polifenoles totales durante los años de estudio debido a su vez a un menor contenido de flavonoides (Tabla 2). El efecto del portainjerto también fue claro sobre la concentración de estilbenos en la baya encontrando una mayor concentración tanto de resveratrol, de sus formas glicosadas y de los piceidos en un portainjerto poco vigoroso 161-49 (Tabla 2).

La concentración de aminoácidos en la baya es importante para la vinificación porque las bacterias y levaduras los utilizan como sustratos durante la fermentación alcohólica y maloláctica, siendo además precursores de algunos compuestos aromáticos durante la fermentación. En este ensayo, aunque la intensidad de la respuesta ha dependido del año estudiado, el portainjerto modificó la concentración de aminoácidos totales encontrados (Tabla 2). La mayor concentración de aminoácidos se obtuvo con el portainjerto 161-49 respecto al resto de patrones estudiados (Tabla 2). Otros estudios muestran cómo el portainjerto influye en el contenido de aminoácidos, (Jin et al., 2016) y cómo el sabor de la baya está influenciado por la composición de aminoácidos; por ejemplo, Ala o Lys están correlacionados con el dulzor, y Phe o Tyr contribuyen al amargor mientras que Glu es responsable del buen sabor.

Respecto al contenido de azúcares y ácidos en la baya, su concentración así como la proporción de ambos determina en gran medida la calidad organoléptica y el sabor de la uva, utilizándose normalmente la relación entre TSS y TA (IM) para evaluar el sabor de la baya. La relación azúcares/acidez da información de la madurez de la pulpa. Conforme avanza la maduración aumenta el contenido de azúcares y disminuye la acidez de modo que una relación cercana al máximo constituye un índice de madurez total. El portainjerto a menudo modifica el contenido de azúcar y ácidos de las bayas, observándose grandes variaciones entre diferentes combinaciones de portainjertos (Aly et al., 2015). Bajo contenido de azúcar y alta acidez podrían resultar en una relación desequilibrada de azúcar a ácido y, por tanto, menos atractiva para los consumidores. En

este ensayo, las plantas sobre diferentes portainjertos produjeron bayas con una concentración similar de TSS en el mosto (Tabla 3). Sin embargo, los portainjertos sí modificaron la acidez siendo 140RU y 161-49 los portainjertos que produjeron la mayor acidez en las bayas, y a su vez la menor relación azúcares/ácidos (IM) en el momento de la vendimia, produciéndose cierto desequilibrio entre ambos parámetros y por tanto un retraso de la maduración de las bayas de estos patrones respecto a otras bayas obtenidas sobre el portainjerto 110R, con valores de IM superiores al resto de portainjertos. El portainjerto 140RU es un patrón vigoroso y en portainjertos vigorosos se prolonga el ciclo de crecimiento de los pámpanos, retrasando la maduración. Por otra parte, los valores de acidez del mosto obtenido durante las cinco campañas fueron bajos, con valores de pH superiores a 3,6 (Tabla 3). Estos valores bajos de acidez son típicos en climas cálidos, característica que debe tenerse en cuenta en este tipo de bayas ya que una acidez con valores de pH por encima de 3,6 incrementa la actividad de los microorganismos, y afecta a la estabilidad del vino en el tiempo.

Los azúcares solubles mayoritarios encontrados en la uva fueron glucosa y fructosa (Tabla 3). La bibliografía muestra que la composición de estos azúcares solubles puede modificarse por el portainjerto (Kubota et al., 1993) y los cambios en el contenido y composición de azúcares solubles alteran el dulzor de las bayas, ya que la glucosa y fructosa tienen diferente dulzor (0.75 glucosa, 1.75 fructosa). Sin embargo, nuestros resultados muestran que durante los tres años en los que se determinó la composición de azúcares solubles de la baya (2014-2016), el portainjerto prácticamente no tuvo ninguna influencia en la composición de azúcares solubles de la baya, resultados que concuerdan con los encontrados en estos años en los valores de SST (Tabla 3). Por otra parte, la relación glucosa/fructosa (G/F) es uno de los parámetros que se pueden utilizar para la determinación de la madurez comercial en uvas, con valores próximos a 1,0 en las últimas etapas de maduración. En este trabajo, las proporciones similares G/F entre las bayas de las vides de todos los portainjertos (Tabla 3) sugirieron madurez similar, a pesar de que la relación azúcares/ácidos fue diferente para entre el portainjerto 110R y los portainjertos 140RU y 161-49.

Del estudio comparativo de las concentraciones de los ácidos tartárico y málico se aprecia que el ácido que contribuye mayoritariamente a la acidez de las uvas Monastrell es el ácido tartárico, siendo su concentración 2-3 veces superior a la de ácido málico (Tabla 3). Estos ácidos son los más abundantes en las bayas y representan más del 90% de los ácidos totales, teniendo el ácido tartárico un sabor ácido más fuerte que el ácido málico. En general, las concentraciones de los ácidos tartárico y málico dependen del patrón (Kodur et al., 2013; Jin et al., 2016). Los patrones más vigorosos (1103P y 140RU) tienen los valores más altos de ácidos málico y tartárico (Tabla 3), presentando sin embargo una baja relación tartárico/málico lo que sugiere que estos dos patrones podrían producir grandes efectos en el sabor de las bayas. Sin embargo, otros patrones menos vigorosos tienen una mayor relación tartárico/málico debido principalmente a una baja concentración de ácido málico en relación al resto de portainjertos, lo que puede alterar el sabor ácido y el sabor de la baya.

Conclusiones

El vigor del portainjerto tiene una marcada influencia en la calidad de la uva Monastrell. Las bayas procedentes de los portainjertos menos vigorosos (110R, 41B y 161-49) mostraron mayor concentración polifenólica que el resto. Estos portainjertos tuvieron mayor concentración de polifenoles totales y extraíbles, antocianos totales y extraíbles, flavonoides totales, intensidad de color, actividad antioxidante, estilbenos y menor concentración de ácido málico comparado con los patrones más vigorosos y

productivos (1103P y 140RU). La menor concentración polifenólica de las bayas del patrón más vigoroso (140RU) fue en parte debido al mayor tamaño de las mismas que provocó un efecto de dilución pero también a que su mayor vigor aumenta la permanencia de los racimos, retrasando su maduración, alterando la composición polifenólica y la proporción de tartárico/málico respecto al resto de portainjertos estudiados.

Al tener el portainjerto un marcado efecto en el contenido polifenólico de la uva también lo tuvo sobre su actividad antioxidante: 140RU presentó la menor actividad antioxidante debido a los menores valores de polifenoles totales y en particular de flavonoides mientras que las bayas de las plantas sobre 161-49 (poco vigoroso) presentó los más altos contenidos de estilbenos y también de aminoácidos. Hay una alta correlación positiva entre de la actividad antioxidante de la baya y su concentración en flavonoides y estilbenos por lo que los portainjertos que incrementan el contenido de estos compuestos aumentarán su la calidad nutracéutica al aumentar su potencial antioxidante.

Con estos resultados concluimos que la elección del portainjerto determinó de forma importante la calidad final de la uva del cv. Monastrell en las condiciones semiáridas del Sureste español.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el INIA a través del proyecto de investigación RTA2012-00105-00-00 “*Aplicación de estrategias de riego deficitario en la variedad Monastrell sobre diferentes portainjertos*”.

Referencias

- Aly, M.A., Ezz, T.M., Harhash, M.M., El-Shenawe, S.E. & Shehata, A., 2015. Performance of some table grape cultivars grafting on different rootstocks in El-Nubaria region. *Asian Journal of Crop Science* 79:256–266.
- Bautista-Ortín, A.B., López-Roca, J.M., Fernández-Fernández, J.I., Martínez-Cutillas, A. & Gómez-Plaza, E. 2004. Colour characteristics of Monastrell wines depending on the date of harvest. In: L. Dufosse (ed), *Pigments in Food. More than color*. Université de Bretagne Occidentale, Quimper.
- Bavaresco, L. & Lovisolo, C., 2000. Effect of grafting on grapevine chlorosis and hydraulic conductivity. *Vitis* 39:89–92.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K. & Liu, R.H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:3010-3014.
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K. & Krstic, M.P., 2006. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wines: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture* 57:257–268.
- González-Neves, G., Ferrer, M., Gil, G. Charamelo, D., Balado, J., Bochicchio, R., Gatto, G. & Tessore, A., 2010. Adaptación de la vinificación en tinto en función del potencial polifenólico de uvas Tannat en el sur de Uruguay. *Agrociencia*. 14:10-21.
- Glories, Y. 1999. La maturità fenólica delle uve: primo parámetro da controlare per una corretta vinificazione in rosso. *Vignevini* 3:46-50.
- Iland, P., Dry, P., Proffitt, T. & Tyerman, S. 2011. *The grapevine: from the science to the practice of growing vines for wine*. Patrick Iland Wine Promotions: Campbelltown, SA. Australia.
- Jin, Z.X., Sun, T.Y., Sun, H., Yue, Q.Y. & Yao, Y.X. 2016. Modifications of ‘Summer Black’ grape berry quality as affected by the different rootstocks. *Scientia Horticulturae* 210:130–137.

- Kodur, S., Tisdall, J.M., Clingeleffer, P.R. & Walker, R.R. 2013. Regulation of berry quality parameters in 'Shiraz' grapevines through rootstocks (*Vitis*). *Vitis*. 52:125-128.
- Koundouras, S., Hatzidimitriou, E., Karamolegkou, M., Dimopoulou, E., Kallithraka, S., Tsialtas, J.T., Zioziou, E., Nikolaou, N. & Kotseridis, Y. 2009. Irrigation and rootstock effects on the phenolic concentration and aroma potential of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:7805–7813.
- Kubota, N., Li, X.G. & Yasui, K. 1993. Effects of rootstocks on sugar, organic acid, amino acid, and anthocyanin contents in berries of potted 'Fujiminori' grapes. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 62:363-370.
- Lasanta-Melero, C. 2009. Estudio y aplicación de nuevos procesos para la mejora de la elaboración de vinos tintos en zonas de clima cálido. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz.
- Main, G., Morris, J. & Striegler, K. 2002. Rootstock effects on chardonnay productivity, fruit and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture* 53:37-40.
- Miller, J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., & Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application for monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* 84:407–412.
- Ortega-Regules, A.E. 2006. Antocianos, taninos y composición de la pared celular en distintas variedades de uva. Evolución durante la maduración e implicaciones tecnológicas. Tesis doctoral, Universidad de Murcia.
- Pulko, B., Vrsic, S. & Valdhuber J. 2012. Influence of various rootstocks on the yield and grape composition of Sauvignon Blanc. *Czech Journal of Food Science* 30:467-473.
- Ribeiro de Lima, M.T., Waffo-Téguo, P., Teissedre, P.L., Pujolas, A., Vercauteren, J., Cabanis, J.C. & Mérillon, J.M. 1999. Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:2666-70.
- Romero, P., García García, J., Fernández-Fernández, J.I., Gil-Muñoz, R., del Amor, F. & Martínez-Cutillas, A. 2016. Improving berry and wine quality attributes and vineyard economic efficiency by long-term deficit irrigation practices under semiarid conditions. *Scientia Horticulturae* 203:69-85.
- Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for aminoacids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 67:10-15.
- Stevens, R.M., Pech, J.M., Gibberd, M.R., Walker, R.R. & Nicholas, P.R. 2010. Reduced irrigation and rootstock effects on vegetative growth, yield and its components, and leaf physiological responses of Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16:413–425.
- Wooldridge, J., Louw, P.J.E. & Conradie, W.J. 2010. Effects of rootstock on grapevine performance, petiole and must composition, and overall wine score of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay and Pinot noir. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 31:45-48.

Tablas y figuras

Tabla 1- Efecto del portainjerto sobre el potencial fenólico de la uva Monastrell. Los datos representan la media de los valores obtenidos durante 5 campañas (2012-2015).

Patrón	Peso baya (g)	Índice color	Antocianos totales	Antocianos extraíbles	IMC	Mp	Polifenoles extraíbles	IPT
140RU	1,54b	4,5a	483a	237a	51,9b	73,9	41,5a	20,8a
1103P	1,39a	4,9ab	465a	241ab	47,1a	75,9	47,0ab	23,5ab
41B	1,46a	4,7ab	501ab	255abc	51,0b	77,2	52,4bc	26,2bc
110R	1,44a	5,1b	555bc	279bc	49,8ab	75,0	50,8bc	25,4bc
161-49	1,42a	4,9ab	568c	285c	50,8b	74,9	53,5c	26,8c
Anova	***	*	**	*	*	ns	***	***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. ns no significativo. En una columna, los valores seguidos por la misma letra en una columna no son significativamente diferentes a un nivel 0.05 de probabilidad según el test de Duncan.

Tabla 2 - Efecto del portainjerto sobre la actividad antioxidante, aminoácidos, flavonoides y estilbenos de la uva Monastrell. Los datos representan la media de los valores obtenidos durante 5 campañas (2012-2015).

Patrón	Actividad antioxidante (índice TEAC)	Flavonoides totales (mg kg ⁻¹ FW)	Resveratrol (mg kg ⁻¹ FW)	Resveratrol 4- O-glucosido (mg kg ⁻¹ FW)	Piceido (mg kg ⁻¹ FW)	Aminoácidos (mg kg ⁻¹ FW)
140RU	3,56a	1080,5a	0,84a	0,59a	0,31a	890,3bc
1103P	4,13b	1306,4b	1,16a	0,75ab	0,36a	768,1ab
41B	4,33b	1363,5b	0,99a	0,91ab	0,31a	648,2a
110R	4,50b	1384,9b	1,05a	0,98b	0,32a	637,1a
161-49	4,42b	1377,4b	1,98b	1,67c	0,55b	924,0c
Anova	*	**	***	***	*	***

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. En una columna, los valores seguidos por la misma letra en una columna no son significativamente diferentes a un nivel 0.05 de probabilidad según el test de Duncan.

Tabla 3 - Efecto del portainjerto sobre la composición de azúcares y ácidos de la uva Monastrell. Los datos representan la media de los valores obtenidos durante 5 campañas (2012-2015).

Patrón	SST (°Brix)	Acidez (g tartárico L ⁻¹)	IM	Glucosa	Fructosa	G/F	Azúcares solubles	Ácido Tartárico (g L ⁻¹)	Ácido Málico (g L ⁻¹)	Tartárico /Málico
140RU	24,1	3,64b	6,7a	95,3	92,5	0,945	198,1	4,60	1,72cd	3,07a
1103P	23,6	3,41a	7,0ab	90,5	87,1	0,947	186,6	4,51	1,84d	2,92a
41B	23,8	3,44a	7,0ab	89,8	86,2	0,948	184,3	4,32	1,53ab	3,20ab
110R	24,3	3,38a	7,3b	96,1	92,6	0,949	197,2	4,44	1,61bc	3,19ab
161-49	24,4	3,65b	6,8a	102,8	99,3	0,946	210,2	4,49	1,42a	3,66b
Anova	ns	***	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	*

* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$. ns no significativo. En una columna, los valores seguidos por la misma letra en una columna no son significativamente diferentes a un nivel 0.05 de probabilidad según el test de Duncan.

Sessão Temática: Fruticultura

Crecimiento y caída de flores no polinizadas en ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) y ciruelo europeo (*Prunus domestica* L.)

M. Engracia Guerra¹, Ons Gharbi², M. Virtudes Andrés³ & Javier Rodrigo²

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), A-V km 372, 06187, Guadajira, Badajoz, España. mariaengracia.guerra@juntaex.es

²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón–IA2 (CITA–Universidad de Zaragoza). Avd. Montañana 930. 50059 Zaragoza, España. jrodrigo@aragon.es, onsilyes@live.fr

³Agrupación Española de Entidades Aseguradoras de los Seguros Agrarios Combinados S.A. (AGROSEGURO). C/ Gobelos, 23, 28023, Madrid, España. vandres@agroseguero.es

Resumen

La caída prematura de frutos en desarrollo en frutales de hueso en las semanas posteriores a la floración se suele achacar a factores meteorológicos adversos, aunque en muchos casos no se puede identificar una causa clara. En algunas especies frutales se ha observado crecimiento del ovario en flores sin polinizar en los días siguientes a la antesis. Para determinar el tamaño que pueden alcanzar los ovarios sin polinizar, y el tiempo que pueden permanecer en el árbol antes de desprenderse, en este trabajo se ha caracterizado el crecimiento de flores polinizadas y no polinizadas en dos variedades de ciruelo japonés (Angeleno y Larry Ann) y dos variedades de ciruelo europeo (Reina Claudia Verde y President). El trabajo se ha llevado a cabo mediante la recogida de flores polinizadas y sin polinizar, con y sin emasculación, secuencialmente desde antesis hasta el establecimiento de cuajado definitivo. Se han determinado las curvas de caída y de crecimiento en cada variedad, lo que ha permitido comparar el comportamiento entre variedades y entre las dos especies. En todos los casos se produjo una caída escalonada de flores no polinizadas, que siguió el mismo patrón. Se encontraron diferencias significativas entre variedades y especies, tanto en el tamaño de ovario alcanzado por las flores no polinizadas (entre 5 y 7 mm de diámetro) como en el periodo de permanencia de los ovarios sin polinizar en el árbol (entre 6 y 9 semanas).

Palabras clave: Polinización, emasculación, crecimiento de ovarios, frutos en desarrollo, tamaño de ovario.

Abstract

In stone fruit trees, the drop of developing fruits in the weeks after flowering is usually related to adverse weather conditions, although in many cases a clear cause cannot be identified. In some fruit species, ovary growth of non-pollinated flowers has been observed in the days following anthesis. In order to determine the size of ovaries from non-pollinated flowers, and the time that can remain in the tree until their abscission, in this work we characterized the growth of pollinated and non-pollinated flowers in two varieties of Japanese plum (Angeleno and Larry Ann) and two varieties of European plum (Reina Claudia Verde and President). The work was carried out by the collection of pollinated and non-pollinated flowers, with and without emasculation, from anthesis to the establishment of fruit set. The characterization of the pattern of drop and growth in each variety allowed comparing the behavior between varieties and species. In all cases two main waves of drop were observed in both pollinated and non-pollinated flowers, which followed the same pattern. Significant differences were found between varieties

and species in relation to the growth of non-pollinated flowers, both in the ovary size achieved (between 5 and 7 mm in diameter) and in the period of permanence in the tree (between 6 and 9 weeks).

Keywords: Pollination, emasculation, ovary growth, developing fruits, ovary size.

Introducción

En los frutales de hueso se produce una caída escalonada de flores y frutos en desarrollo desde floración hasta la maduración del fruto (Dorsey, 1919; Harrold, 1935; Kester y Griggs, 1959). Se han descrito tres fases de caída, la primera que tiene lugar en las dos primeras semanas después de la antesis se ha asociado a fallos en la polinización (Harrold, 1935) o en la fecundación (Sedgley y Griffin, 1989); la segunda caída se produce varias semanas después de floración, cuando se establece el cuajado inicial (Dorsey, 1919). La tercera caída está relacionada con la competencia entre frutos (Goldwin, 1992). En ocasiones, la caída prematura de flores y frutos se achaca a factores meteorológicos adversos, aunque en muchos casos no se puede identificar una causa clara.

En algunos frutales de hueso algunas flores no polinizadas continúan creciendo incluso después de que se produzca la fecundación de las flores polinizadas (Bard y Crane, 1965; Rodrigo y Herrero, 2002). El objetivo de este trabajo es determinar el tamaño que pueden alcanzar los ovarios de flores no polinizadas de ciruelo y el tiempo que permanecen en el árbol hasta su desprendimiento.

Material y métodos

El estudio se ha realizado en dos variedades de ciruelo japonés, Angeleno y Larry Ann, y dos variedades de ciruelo europeo, Reina Claudia Verde y President. En cada variedad se seleccionaron al azar dos árboles en los que se efectuaron tres tratamientos. En el primero, las flores fueron polinizadas manualmente con polen compatible ('Angeleno' y 'Larry Ann' con polen de 'Fortune'; 'President' y 'Reina Claudia Verde' con polen de 'Reina Claudia de Bavay'), y en los otros dos tratamientos las flores se dejaron sin polinizar, unas mediante la emasculación de las flores y otras mediante el aislamiento del árbol usando una malla mosquitera para impedir la llegada de abejas (Guerra et al., 2010). Para caracterizar el patrón de caída de frutos y obtener el porcentaje de cuajado de frutos respecto al número inicial de flores, se realizaron conteos semanales desde el inicio de la floración hasta la maduración de frutos (Rodrigo y Herrero, 2002).

Para caracterizar el crecimiento de flores y frutos, cada semana se recogieron diez flores/frutos de cada tratamiento, que se fotografiaron y se pesaron de forma individual. Para determinar las dimensiones de los frutos, las imágenes fueron procesadas mediante análisis de imagen, determinando el área, la longitud y la anchura de cada ovario.

Resultados y discusión

Caída y cuajado

En ciruelo japonés el cuajado definitivo tras la polinización quedó establecido entre los 35 y los 40 días después de floración para la variedad Larry Ann y entre los 55 y los 60 días para Angeleno (Cuadro 1). Estas diferencias entre variedades también se han observado en el momento del establecimiento del cuajado en otras variedades (Guerra et al., 2010) y puede estar relacionado con el distinto origen genealógico de cada variedad, ya que todas las variedades cultivadas en la actualidad no pertenecen a una sola especie sino que son el resultado de hibridaciones interespecíficas de la especie original *P. salicina* con hasta otras 15 especies de *Prunus* (Okie y Weinberger, 1996; Karp, 2015).

La emasculación afectó negativamente al desarrollo de las flores en las dos variedades, provocando su caída en las dos semanas después de la floración, antes que el desprendimiento de las flores no polinizadas sin emasculación. El efecto negativo de la emasculación en el cuajado de fruto también se ha descrito en otras variedades (Guerra et al., 2010).

En ciruelo europeo el cuajado definitivo se estableció entre los 45 y los 50 días después de la floración en las dos variedades, Reina Claudia Verde y President (Cuadro 1), varias semanas después de lo observado en otras variedades en las que el cuajado quedó establecido entre dos y cuatro semanas después de floración (Dorsey, 1919). No se observaron diferencias significativas en el patrón de caída entre los dos tratamientos de flores no polinizadas (emasculadas y no emasculadas) en ninguna de las dos variedades.

En las cuatro variedades de las dos especies, el momento del establecimiento del cuajado coincidió con la caída de las últimas flores no polinizadas (Cuadro 2). La caída de flores/frutos polinizadas se produjo escalonadamente a lo largo de los 45 días desde la floración hasta el establecimiento del cuajado, al igual que en las flores no polinizadas. Esta situación ha sido descrita en albaricoquero, donde se ha observado el mismo patrón de caída en ambas poblaciones de flores (Rodrigo y Herrero, 2002).

En las cuatro variedades analizadas se apreciaron dos momentos principales de caída, tanto en flores polinizadas como en flores sin polinizar. La tercera caída descrita en otras especies de *Prunus* no se ha observado en ninguna de las variedades estudiadas. Esta tercera caída parece ocurrir solo en ciertos años (Kester y Griggs, 1959) o en determinadas variedades (Lech y Tylus, 1983; Rodrigo y Herrero, 2002).

Crecimiento de flores y frutos

En ciruelo japonés el crecimiento de ovario en flores polinizadas y flores sin polinizar fue parecido hasta los 25-30 días después de floración en ambas variedades. En cada día de muestreo se observó gran variabilidad en los datos, con ovarios hasta 10 veces más grandes que otros.

En ciruelo europeo, las flores polinizadas y sin polinizar también presentaron unas curvas de crecimiento similares con valores medios parecidos en las dos variedades, entre 20 y 30 días. A partir de ese momento se produjo un incremento de peso en las flores polinizadas, mientras que las flores no polinizadas detuvieron su crecimiento (Cuadro 2).

La tendencia de crecimiento de los ovarios sin polinizar es similar en las variedades de ciruelo japonés y ciruelo europeo, aumentando durante un periodo que oscila entre 20 y 30 días hasta alcanzar un valor máximo y posteriormente produciéndose un ligero descenso de tamaño en los días previos a la caída. Este patrón de crecimiento también se ha observado en variedades de albaricoquero, en las que los ovarios crecen en los días posteriores a la antesis aunque no hayan sido polinizados (Rodrigo y Herrero, 2002).

Tamaño de ovarios sin fecundar

La digitalización de las fotografías de los ovarios ha permitido determinar con precisión el área, la longitud y la anchura de cada ovario de la población de flores no polinizadas mediante análisis de imagen. El tamaño máximo alcanzado por los ovarios sin polinizar varió entre variedades, oscilando entre 7 y 9 mm de longitud y entre 5 y 7 mm de anchura (Cuadro 2). En otras especies también se ha observado un crecimiento apreciable del ovario, tanto en frutales de hueso (Bard y Crane, 1965; Rodrigo y Herrero, 2002) como en olivo (Rapoport and Rallo, 1991) y aguacatero (Sedgley, 1980).

Conclusiones

En las dos variedades de ciruelo europeo, ‘Reina Claudia Verde’ y ‘President’, y en las dos variedades de ciruelo japonés, ‘Larry Ann’ y ‘Angeleno’, las flores sin polinizar no se cayeron todas a la vez, sino que lo hicieron de forma escalonada siguiendo el mismo patrón de caída que las flores polinizadas por lo que el crecimiento inicial de las flores y su permanencia en el árbol parece ser independiente de que estén polinizadas o no. Aunque un porcentaje variable de flores sin polinizar se desprendieron en las primeras semanas después de floración, algunos ovarios no fecundados siguieron creciendo durante un periodo que osciló entre 6 y 9 semanas hasta alcanzar un valor máximo de entre 7 y 9 mm de diámetro.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) - Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Unión Europea (AGL2013-43732-R); Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) (RFP2015-00015-00, RTA2014-00085-00); Gobierno de Aragón – Fondo Social Europeo, Unión Europea (Grupo Consolidado A-43); Junta de Extremadura (Grupo de investigación AG001) y por Agroseguro S.A.

Referencias

- Badr S., Crane J. C. 1965. Growth of unpollinated ovaries of several deciduous fruit species. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 87: 163-167.
- Dorsey M. J. 1919. A study of sterility in the plum. *Genetics*, 4: 417-489.
- Goldwin, G. K. 1992. Environmental and internal regulation of fruiting, with particular reference to Cox's Orange Pippin apple. En: Marshall, C. y Grace, J (Editores). *Fruit and Seed Production*. University Press: Cambridge, Reino Unido. pp. 75-100.
- Guerra, M.E., A. Wunsch, M. López-Corrales, J. Rodrigo. 2010. Flower emasculation as the cause for lack of fruit set in Japanese plum crosses. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 135:556–562.
- Harrold T. J. 1935. Comparative study of the developing and aborting fruits of *Prunus persica*. *Botanical Gazette*, 96: 505-520.
- Karp, D., 2015. Luther Burbank's plums. *Hortscience* 50, 189–194.
- Kester D. E., Griggs W. H. 1959. Fruit setting in the almond: the pattern of flower and fruit drop. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 74: 214-219.
- Lech, W., Tylus, K., 1983: Pollination, fertilization and fruit setting of some sour cherry varieties. *Acta Horticulturae* 139, 33-39.
- Okie, W.R., Weinberger, J.H., 1996. Plums. En: Janick, J., Moore, J.N. (Eds.), *Fruitbreeding Tree and Tropical Fruits*, vol. I. John Wiley & Sons Inc, New York, pp.559–607.
- Rapoport HF, Rallo L. 1991. Fruit set and enlargement in fertilized and unfertilized olive ovaries. *HortScience* 26: 896-898.
- Rodrigo J., Herrero M. 2002. The onset of fruiting in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik*, 76: 13-19.
- Sedgley M. 1980. Anatomical investigation of abscised avocado flowers and fruitlets. *Annals of Botany* 46: 771-777.
- Sedgley M., Griffin A. R. 1989 *Sexual reproduction of tree crops*, London: Academic Press.

Cuadros y Figuras

Cuadro 1. Porcentaje de cuajado final en flores polinizadas y momento del establecimiento del cuajado en variedades de ciruelo japonés y ciruelo europeo.

Especie	Variedad	Cuajado (%)	Establecimiento del cuajado (DDF*)
Ciruelo japonés	Larry Ann	4	35-40
	Angeleno	14	55-65
Ciruelo europeo	Reina Claudia Verde	48	45-50
	President	18	40-50

*DDF: Días después de floración

Cuadro 2- Tiempo de permanencia de las flores no polinizadas en el árbol y tamaño máximo de ovario alcanzado en variedades de ciruelo japonés y ciruelo europeo.

Variedad	Tiempo de permanencia en el árbol (DDF*)	Longitud máxima de ovario (mm)	Anchura máxima de ovario (mm)
Larry Ann	35-40	7,1	4,9
Angeleno	55-65	8,3	6,9
Reina Claudia Verde	40-50	7,8	6,3
President	45-50	8,9	5,8

*DDF: Días después de floración

Caracterização morfológica de ecótipos portugueses de figueira-da-índia

M.E. Ferreira¹, M.M. Oliveira¹, J.A. Passarinho¹ & G. Pereira²

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal, elvira.ferreira@iniav.pt, manuela.roldao@iniav.pt, jose.passarinho@iniav.pt

²Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, 7351-901 Elvas, Portugal, gracia.pereira@iniav.pt

Resumo

A figueira-da-índia é uma espécie com interesse crescente para alimentação humana e animal e para a indústria cosmética. Desde 2010 tem-se verificado o aumento de pomares desta espécie em Portugal, para produção de fruto. A falta de material de propagação vegetativa em Portugal levou à importação de cladódios melhorados da Sicília (Itália). Como em Portugal existem várias populações naturalizadas dessa espécie, optou-se por fazer um levantamento do material existente e avaliar a sua viabilidade para iniciar um programa de melhoramento e dispor no futuro de material de viveiro, sem recorrer à importação.

Em 2014-2015, recolheram-se cladódios e frutos de 40 ecótipos em seis regiões de Portugal Continental, para analisar a variabilidade morfológica dos mesmos. As 16 características morfológicas quantitativas, como as dimensões do cladódio e do fruto, o peso do fruto, a firmeza e o teor de sólidos solúveis da polpa, foram avaliadas segundo as normas UPOV para esta espécie. Submeteram-se os dados a uma análise estatística multivariada, seguindo-se a análise de grupos pelo método de aglomeração UPGMA.

Os resultados possibilitaram a divisão dos ecótipos em quatro grupos (G1, G2, G3 e G4). O G1 (nove ecótipos) caracteriza-se por ter os cladódios mais compridos (39,06 cm \pm 0,83), frutos mais pesados (83,02 g \pm 2,59), com maior diâmetro médio (47,07 mm \pm 0,78) e maior peso e número de sementes viáveis (3,481 g \pm 0,246 e 292,8 \pm 13,3). Quinze ecótipos (G2) têm os frutos com teores médios mais elevados de sólidos solúveis na polpa (13,53 °Brix \pm 0,41). Compõem o G3 onze ecótipos com os frutos com menor peso médio (57,43 g \pm 1,34), com a espessura média da casca mais elevada (3,94 mm \pm 0,22) e com menos número de sementes viáveis (202,9 \pm 16,0). Os restantes cinco ecótipos (G4) possuem cladódios mais curtos (35,26 cm \pm 1,11), menos espessos (1,71 cm \pm 0,17), mas mais largos (18,21 cm \pm 0,37), os frutos têm em média menos sementes inviáveis (0,052 g \pm 0,014), polpa menos firme (0,84 kg/0,5 cm² \pm 0,08) e são menos doces (11,15 Brix \pm 0,36).

Palavras-chave: acessos, biometria, cladódio, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Abstract

Prickly pear is a species of growing interest for food and feed and for the cosmetic industry. Since 2010 there has been an increase in orchards of this species in Portugal for fruit production. The lack of vegetative propagation material in Portugal led to the importation of cladodes from Sicily (Italy). As in Portugal there are several naturalized populations of this species, a survey of the existing material was done to evaluate its feasibility to initiate a breeding program and to have nursery material in the future.

In 2014-2015, cladodes and fruits of 40 ecotypes were collected in six regions of Portugal, to analyze its morphological variability. The 16 quantitative morphological

characteristics, such as the dimensions of cladodes and fruits, fruit weight, firmness and soluble solids contents of the pulp, were evaluated according to UPOV standards for this species. The data were submitted to a multivariate statistical analysis, followed by group analysis by the UPGMA agglomeration method.

The results allowed the division of the ecotypes into four groups (G1, G2, G3 and G4). The G1 (nine ecotypes) was characterized by having the longest cladodes ($39.06 \text{ cm} \pm 0.83$), heavier fruits ($83.02 \text{ g} \pm 2.59$), with a larger mean diameter ($47.07 \text{ mm} \pm 0.78$) and greater weight and number of viable seeds ($3.481 \text{ g} \pm 0.246$ and 292.8 ± 13.3). Fifteen ecotypes (G2) have the highest average soluble solids contents in the flesh ($13.53 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 0.41$). Eleven ecotypes integrate G3, with the lowest mean fruit weight ($57.43 \text{ g} \pm 1.34$), with the highest thickness of peel ($3.94 \text{ mm} \pm 0.22$) and the lowest number of viable seeds (202.9 ± 16.0). The remaining five ecotypes (G4) had shorter cladodes ($35.26 \text{ cm} \pm 1.11$), less thick ($1.71 \text{ cm} \pm 0.17$), but wider ($18.21 \text{ cm} \pm 0.37$), the fruits have on average less abortive seeds ($0.052 \text{ g} \pm 0.014$), less firm flesh ($0.84 \text{ kg}/0.5 \text{ cm}^2 \pm 0.08$) and less sweet flesh ($11.15 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 0.36$).

Keywords: biometrics, landraces, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Introdução

A figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., família das Cactáceas) é originária do México e foi trazida para a Europa nas primeiras viagens após a descoberta da América. Como os navegadores aportaram a várias regiões da América foram trazendo diversas espécies de *Opuntia* que se aclimataram na região mediterrânica (Oliveira et al., 2016).

Em Portugal, especialmente no centro e sul, encontram-se diversas populações naturais de figueira-da-índia bem adaptadas (ecótipos). Embora esta planta tenha tido pouco aproveitamento no passado recente, desde 2010 tem vindo a ser cultivada no nosso país, pelo potencial expectável de exportação dos seus frutos e produtos transformados, devido às suas características nutricionais e medicinais, assim como pela utilização forrageira, embora em menor escala.

Do ponto de vista agronómico, a cultura é fácil de realizar, por se tratar de uma espécie rústica de rápido crescimento, com pouca necessidade de água e por ser pouco suscetível a pragas e doenças (Passarinho et al., 2016). Esta espécie, que possui metabolismo fotossintético das crassuláceas (Black & Osmond, 2003), apresenta uma produtividade muito superior às plantas da nossa latitude, com outro tipo de fotossíntese (C3 e C4). Vegeta pois facilmente em solos com pouca disponibilidade hídrica e até em anos de seca, situação recorrente na região mediterrânica, devido às alterações climáticas.

Para a instalação desses pomares utilizaram-se cladódios de variedades melhoradas importados de Itália, pela inexistência em Portugal de material de propagação. Com o objetivo de suprir esta lacuna, recolheram-se cladódios e frutos de 40 ecótipos portugueses, para caracterização morfológica e avaliação da sua possível utilização como material de propagação, após melhoramento genético. Estudos idênticos têm sido desenvolvidos em diferentes regiões do mundo (Peña-Valdivia et al., 2008; Chalak et al., 2014; Omweri et al., 2016; Tütücü & Küden, 2016). Também em Portugal a caracterização de ecótipos portugueses de figueira-da-índia têm sido feitos, quer direcionados para a produção forrageira (Reis et al., 2014) com ecótipos de várias regiões, quer para a produção de frutos em ecótipos do Litoral Alentejano (Alves, 2011).

O objetivo deste trabalho foi analisar a variabilidade morfológica de 40 ecótipos portugueses de figueira-da-índia, de modo a permitir a identificação dos ecótipos com potencial para serem incluídos em programas de melhoramento genético da espécie.

Material e Métodos

No período 2014-2015 foram recolhidos 40 ecótipos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. em seis zonas de Portugal Continental: Algarve (13); Alto Alentejo (9); Baixo Alentejo (11); Beira Baixa (10); Ribatejo (8) e Sudoeste Alentejano (6). Os ecótipos, referenciados por GPS, distavam entre si de pelo menos de 30 km. A amostragem consistiu em seis cladódios adultos (1-2 anos) e dez frutos maduros por ecótipo. A avaliação dos cladódios e dos frutos foi efetuada segundo as normas UPOV (2006) para esta espécie, no respeitante às seguintes características quantitativas: dimensões do cladódio e do fruto; peso do fruto; firmeza e teor de sólidos solúveis da polpa (quadro 1).

Nos cladódios avaliou-se o comprimento, a largura máxima e a espessura. Nos frutos registou-se o comprimento, o diâmetro e a espessura da casca (epiderme + mesocarpo) com uma craveira digital. Registou-se o peso do fruto inteiro, da polpa (endocarpo) e da casca.

A firmeza da polpa ($\text{kg}/0,5 \text{ cm}^2$) foi determinada com um penetrómetro (PENEFEL, da CTIFL, França) montado num braço mecânico e com uma sonda de 8 mm de diâmetro, tendo-se efetuado duas medições em lados opostos na zona equatorial do fruto, onde previamente se retirou uma pequena porção da epiderme.

O teor de sólidos solúveis (SST) ($^{\circ}\text{Brix}$) foi medido com um refratómetro digital (ATAGO, PR 100).

O número de sementes viáveis e inviáveis, separadas manualmente, foi contabilizado em 10 meios frutos por ecótipo, utilizando-se um contador de sementes (NUMIGRAL, Paris).

Os dados quantitativos foram submetidos a uma análise estatística multivariada (análise de componentes principais - PCA e análise aglomerativa - *cluster analysis*) com o programa NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), versão 2.0 (Rohlf, 1997). Com os valores médios de cada parâmetro, calculou-se a matriz de distâncias recorrendo ao coeficiente de distância euclidiana, como medida de semelhança, seguindo-se a análise de grupos pelo método de aglomeração UPGMA. Determinou-se ainda o erro padrão das médias.

Resultados e Discussão

De entre as 16 características morfológicas estudadas, as que apresentaram maior variabilidade ($\text{CV} \geq 20\%$) e como tal diferenciadoras dos ecótipos, foram o peso e o número de sementes inviáveis ($61\% < \text{CV} < 55\%$), espessura do cladódio ($35\% < \text{CV} < 30\%$) e peso da polpa, peso e número de sementes viáveis, depressão do recetáculo e firmeza do fruto ($30\% < \text{CV} < 20\%$) (quadro 1).

Quando os frutos produzidos são para consumo humano é desejável que o número de sementes seja o menor possível ou que as sementes existentes sejam inviáveis. Nos 40 ecótipos, o número de sementes inviáveis variou entre 6,6 e 130,6. Se o objetivo da produção for a extração de óleo das sementes, deve optar-se por variedades com elevado número e peso de sementes viáveis. A espessura do cladódio é uma característica morfológica importante quando se pretende utilizar os cladódios para alimentação animal. Nos ecótipos em estudo a espessura variou entre 0,80 cm e 3,75 cm. A firmeza da polpa também é uma importante característica, uma vez que o fruto é muito manuseado durante a preparação do mesmo para o mercado, nomeadamente a limpeza de gloquídios. Os frutos mais duros apresentaram valores de firmeza de 1,54 e os menos duros 0,64 $\text{kg}/0,5 \text{ cm}^2$ (quadro 1).

Apesar de serem ecótipos de diferentes regiões e de 27 terem frutos com polpa de cor verde e os restantes de cor laranja, as características morfológicas estudadas são independentes da origem geográfica e da cor da polpa.

O dendograma baseado na análise das 16 características morfológicas em estudo (fig. 1) sugere que os ecótipos podem ser separados em 4 grupos (G1, G2, G3 e G4). O G1 é composto por nove ecótipos de seis regiões de origem, sendo cinco de frutos de polpa laranja (O6, O49, O59, O53 e O56) e os restantes de polpa verde (O1, O2, O19 e O22). Este grupo engloba os ecótipos com cladódios mais compridos ($39,06 \text{ cm} \pm 0,83$), mas menos espessos ($1,94 \text{ cm} \pm 0,24$) que os ecótipos dos grupos G2 e G3. Os frutos são, em média, os mais pesados, tanto o fruto inteiro ($83,02 \text{ g} \pm 2,59$), como a casca ($36,31 \text{ g} \pm 1,37$) e a polpa ($46,72 \text{ g} \pm 1,72$), com maior peso e número de sementes viáveis (respetivamente $3,481 \text{ g} \pm 0,246$ e $292,8 \pm 13,3$) e ainda de maior diâmetro médio ($47,07 \text{ mm} \pm 0,78$). O G2 é composto por 15 ecótipos de seis regiões de origem, sendo 11 de polpa verde (O3, O5, O18, O21, O36, O23, O68, O40, O60, O44 e O45) e quatro de polpa laranja (O32, O41, O42 e O55). Os frutos dos ecótipos deste grupo são em média mais pesados ($70,03 \text{ g} \pm 1,40$) e de maior dimensão ($74,01 \text{ mm} \pm 1,26$ e $44,00 \text{ mm} \pm 0,25$) do que os ecótipos dos grupos G3 e G4 e são os que têm teores médios mais elevados de SST ($13,53 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 0,41$). O G3 é composto por 11 ecótipos com frutos de cor verde, provenientes das regiões visitadas, com exceção da Beira Baixa. Os frutos dos ecótipos deste grupo são os que têm menor peso médio ($57,43 \text{ g} \pm 1,34$) e casca espessa ($3,94 \text{ mm} \pm 0,22$). As sementes viáveis também são em menor número ($202,9 \pm 16,0$) e o teor de SST é elevado ($13,45 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 0,38$). O grupo G4, formado por cinco ecótipos, destaca-se dos outros três grupos por ser composto por plantas com os cladódios mais curtos ($35,26 \text{ cm} \pm 1,11$), menos espessos ($1,71 \text{ cm} \pm 0,17$) mas com maior largura ($18,21 \text{ cm} \pm 0,37$); os frutos têm casca com menor peso ($26,10 \text{ g} \pm 0,96$), menor peso e número de sementes inviáveis ($0,052 \text{ g} \pm 0,014$ e $0,052 \pm 0,014$), polpa menos firme ($0,84 \text{ kg}/0,5 \text{ cm}^2 \pm 0,08$) e são menos doces ($11,15 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 0,36$).

Em populações de *Opuntia ficus-indica* do Litoral Alentejano, Alves (2011) recolheu cladódios com uma maior amplitude de comprimento médio ($30,0\text{-}48,5 \text{ cm}$) e de espessura ($1,0\text{-}3,0 \text{ cm}$) que os do presente trabalho, mas com largura idêntica ($12,0\text{-}18,5 \text{ cm}$). Os frutos eram também mais pesados (de $94,9 \text{ g} \pm 31,9$ a $137,8 \text{ g} \pm 16,4$), menos compridos (de $5,6 \text{ cm} \pm 0,4$ a $6,9 \text{ cm} \pm 0,4$), mas com uma amplitude de largura média idêntica (de $4,1 \text{ cm} \pm 0,3$ a $4,7 \text{ cm} \pm 0,2$). Em 35 acessos de *Opuntia* estudados no México, Peña-Valdivia et al. (2008) referem que o comprimento médio dos cladódios foi de $32,06 \text{ cm}$, a largura de $17,93 \text{ cm}$ e a espessura média de $1,28 \text{ cm}$, ou seja, são em média mais curtos, mais largos e menos espessos que os cladódios portugueses estudados. Os 43 acessos estudados no Líbano, apresentaram grandes amplitudes de valores das características morfológicas, como o peso do fruto ($48,2 \text{ g}$ a $141,13 \text{ g}$), peso da casca ($23,87 \text{ g}$ a $71,60 \text{ g}$), peso da polpa ($21,80 \text{ g}$ a $80,14 \text{ g}$) e número de sementes (171 a 353), o que confirma a heterogeneidade dos acessos (Chalak et al., 2014). Enquanto nos ecótipos em estudo o máximo valor médio de firmeza foi de $1,06 \text{ kg}/0,5 \text{ cm}^2$, Alves (2011) refere como valores médios mais elevados $1,5 \text{ kg}/0,5 \text{ cm}^2$, com um máximo de $2,2 \text{ kg}/0,5 \text{ cm}^2$. Também os teores de SST descritos pelo mesmo autor são superiores, quer em termos médios ($12,2 \text{ }^\circ\text{Brix} \pm 1,0$), quer como máximo absoluto ($17,6 \text{ }^\circ\text{Brix}$). Barbera et al. (1992) recomendam $13\text{-}15 \text{ }^\circ\text{Brix}$ para frutos de qualidade e Cefola et al. (2014) entre $14,6$ e $15,2 \text{ }^\circ\text{Brix}$.

As figuras 2 e 3 representam as projeções dos ecótipos e das características estudadas nos planos 1-2 e 1-3, respetivamente. A variação explicada pelas três primeiras componentes é de $59,7\%$, sendo o eixo 1 responsável por $29,6\%$, o segundo por $18,8\%$ e o terceiro por $11,3\%$. As características morfológicas responsáveis pela separação dos ecótipos ao longo da componente 1 são: o peso do fruto inteiro, o peso da polpa, o diâmetro do fruto e o peso de sementes viáveis (quadro 2). Esta componente separa os ecótipos pelo tamanho e peso do fruto. Neste eixo, os ecótipos situados na posição mais

à direita da figura 2 são os que apresentam as características morfológicas mais adequadas para a produção de frutos para consumo em fresco ou para a extração de óleo das sementes. Assim, destacam-se os ecótipos O1, O2, O6, O22, O44, O49, O56 e O59, que se caracterizam por ter frutos de maiores dimensões. Com exceção do ecótipo O44, os restantes encontram-se no grupo G1 do dendrograma (fig. 1). Quanto ao eixo 2, as características que mais contribuem para a definição do mesmo são: a largura do cladódio, o peso e o número de sementes inviáveis e a espessura da casca do fruto (quadro 2). Os ecótipos localizados na parte inferior do eixo 2 (fig. 2) apresentam cladódios mais largos, com menor número de sementes inviáveis e com frutos com casca mais fina. Os ecótipos com estas características encontram-se no grupo G4 do dendrograma (fig. 1) e poderão ser mais direcionados para a utilização das sementes. As características que mais contribuem para o eixo 3 são a largura do cladódio, o número de sementes viáveis, o peso e o número de sementes inviáveis e SST (quadro 2). Os ecótipos situados na parte superior do eixo (fig. 3) estão mais vocacionados para a utilização de cladódios, para alimentação animal ou para a utilização de jovens cladódios para a alimentação humana. Na parte inferior do eixo 3 (fig. 3) encontram-se os ecótipos com valores elevados de SST e maior firmeza da polpa, características que são desejáveis para frutos para consumo em fresco.

Conclusões

A caracterização morfológica dos 40 ecótipos estudados permitiu fazer uma primeira seleção dos que poderão ser utilizados como ponto de partida para futuros programas de melhoramento genético da espécie.

Assim, foi possível identificar os ecótipos O1, O2, O6, O19, O22, O44, O49, O53, O56 e O59, como sendo os que têm frutos de maiores dimensões e de melhores características gustativas, que poderão ser utilizados para a obtenção de variedades para produção de fruto. Se o objetivo do melhoramento for a obtenção de variedades para produção animal, os ecótipos O34, O39, O57, O58, O62 e O65 deverão ser escolhidos para iniciar o processo de seleção.

Agradecimentos

Os autores agradecem a colaboração dos investigadores Inocêncio Seita Coelho, Margarida Sapata e Armando Ferreira e do técnico superior Luís Andrada, bem como dos assistentes técnicos Alexandra Passos, Fernanda Vargues, Francisca Loureiro, Francisco Barreto e Ilda Pires.

Trabalho efetuado no âmbito do projeto ‘Cooperação para a inovação no figo-da-índia: fruto desidratado’ financiado pelo ProDeR, Medida 4.1. Cooperação para a Inovação.

Referências

- Alves, J.C.R. 2011. Perspectivas de utilização da figueira-da-índia no Alentejo: caracterização de *Opuntia* sp. no Litoral alentejano e na tapada da Ajuda e estudo da instalação de um pomar. Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 97pp.
- Barbera, G., Carimi, F., Inglese, P. & Panno, M. 1992. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Journal of Horticultural Science* 67:307-312.
- Black, C.C. & Osmond, C.B. 2003. Crassulacean acid metabolism photosynthesis: ‘working the night shift’. *Photosynthesis Research* 76:329-341.

- Cefola, M., Renna, M. & Pace, b. 2014. Marketability of ready-to-eat cactus pear as affected by temperature and modified atmosphere. *JFood Sci Technol* 51(1):25-33 (doi:10.1007/s13197-011-0470-5).
- Chalak, L., Younes, J., Roupael, S. & Hamadeh, B. 2014. Morphological Characterization on Prickly Pears (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill.) Cultivated in Lebanon. *IJSR* 3(6):2541-2553.
- Oliveira, M.M.R., Passarinho, J.A.P. & Candeias, D. 2016. A espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. In J.A. Passarinho (coord.), *A Cultura da Figueira-da-índia e a Valorização Agroindustrial do Fruto*, INIAV, Oeiras, p.13-21. (ISBN: 978-972-579-042-7).
- Omweri, A.H., Rimberia, F.K., Mwangi, S.G. & Sila, D.N. 2016. Morphological characterization and distribution of cactus species (Cactaceae) in arid and semi-arid lands of Kenya. *Int. J. Agr. Agri. R.* 9(1):182-191.
- Passarinho, J.A., Oliveira, M.M. & Ferreira, M.E. 2016. O cultivo da figueira-da-índia. In J.A. Passarinho (coord.), *A Cultura da Figueira-da-índia e a Valorização Agroindustrial do Fruto*, INIAV, Oeiras, p.22-39. (ISBN: 978-972-579-042-7).
- Peña-Valdivia, C., Luna-Cavazos, M., Carranza-Sabas, J.A., Reyes-Agüero, J.A. & Flores, A. 2008. Morphological Characterization of *Opuntia* spp.: a Multivariate Analysis. *J.PACD* 10:1-21.
- Reis, C.M.G., Ribeiro, M.M. & Gazarini, L. 2014. Caracterização e avaliação de populações portuguesas de figueira-da-índia *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Livro de Resumos das Jornadas Ibéricas da Figueira-da-índia, p.24-26.
- Rohlf, F. 1997. *NYSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. New York, Exeter Publishing, LTD.
- Tütüçü, M. & Küden, A.B. 2016. Evaluation of morphological patterns of Turkish cactus pear (*Opuntia* spp.). 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana, Turkey, Paper ID:687:2358-2366.
- UPOV. 2006. Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. Chumbero, nopal tunero, tuna y xoconostles. Directrices para la ejecución del examen de la Distinción, la Homogeneidad y la Estabilidad. TG/217/2, 37pp.

Quadros e Figuras**Quadro 1** – Valores médio, mínimo, máximo e coeficiente de variação (CV) de 16 características morfológicas em ecótipos portugueses de figueira-da-índia.

Características morfológicas	Referências		Médio	Mínimo	Máximo	CV (%)
	Estatística	UPOV*				
<i>Cladódio</i>						
Comprimento (cm)	CL_comp	4	37,61	29,30	46,40	9,01
Largura (cm)	CL_larg	5	14,28	10,60	19,40	16,92
Espessura (cm)	CL_esp	8	2,16	0,80	3,75	31,50
<i>Fruto</i>						
Comprimento (mm)	Fruto_comp	34	72,19	63,55	83,32	6,51
Diâmetro (mm)	Fruto_diam	35	43,75	38,74	49,98	6,07
Depressão do recetáculo	Rece_dep	42	2,6	1,0	3,0	20,98
Espessura da casca (mm)	Casca_esp	44	3,62	2,20	5,01	15,95
Peso do fruto (g)	P_inteiro	45	68,46	48,56	94,38	16,07
Peso da casca (g)	P_casca	---	31,40	22,30	42,46	16,19
Peso da polpa (g)	P_polpa	46	37,05	17,81	53,07	20,07
Firmeza (kg/0,5cm ²)	Dureza	51	0,94	0,64	1,54	21,20
Sólidos solúveis da polpa (° Brix)	SST	56	13,05	9,40	16,35	14,06
<i>Semente</i>						
Viáveis (n.º)	Nsem_v	53	246,4	142,0	393,4	25,25
Viáveis (g)	Psem_v	---	2,70	1,39	4,84	28,55
Inviáveis (n.º)	Nsem_iv	55	53,3	6,6	130,6	60,26
Inviáveis (g)	Psem_iv	---	0,07	0,003	0,17	59,26

*UPOV (2006)

Quadro 2 – Correlações das componentes principais com 16 características morfológicas em ecótipos portugueses de figueira-da-índia.

Referências	1	2	3
CL_comp	0,317	0,404	0,005
CL_larg	0,191	-0,714	0,475
CL_esp	-0,185	0,346	-0,336
Fruto_comp	0,235	0,382	0,237
Fruto_diam	0,889	-0,089	0,193
Rece_dep	-0,197	-0,491	0,037
Casca_esp	0,102	0,695	-0,354
P_inteiro	0,939	-0,007	0,201
P_casca	0,722	0,282	0,110
P_polpa	0,895	-0,203	0,222
Dureza	0,343	0,270	-0,329
SST	0,212	0,199	-0,417
Nsem_v	0,779	0,010	-0,430
Psem_v	0,823	-0,197	-0,254
Nsem_iv	-0,125	0,787	0,447
Psem_iv	-0,005	0,675	0,642

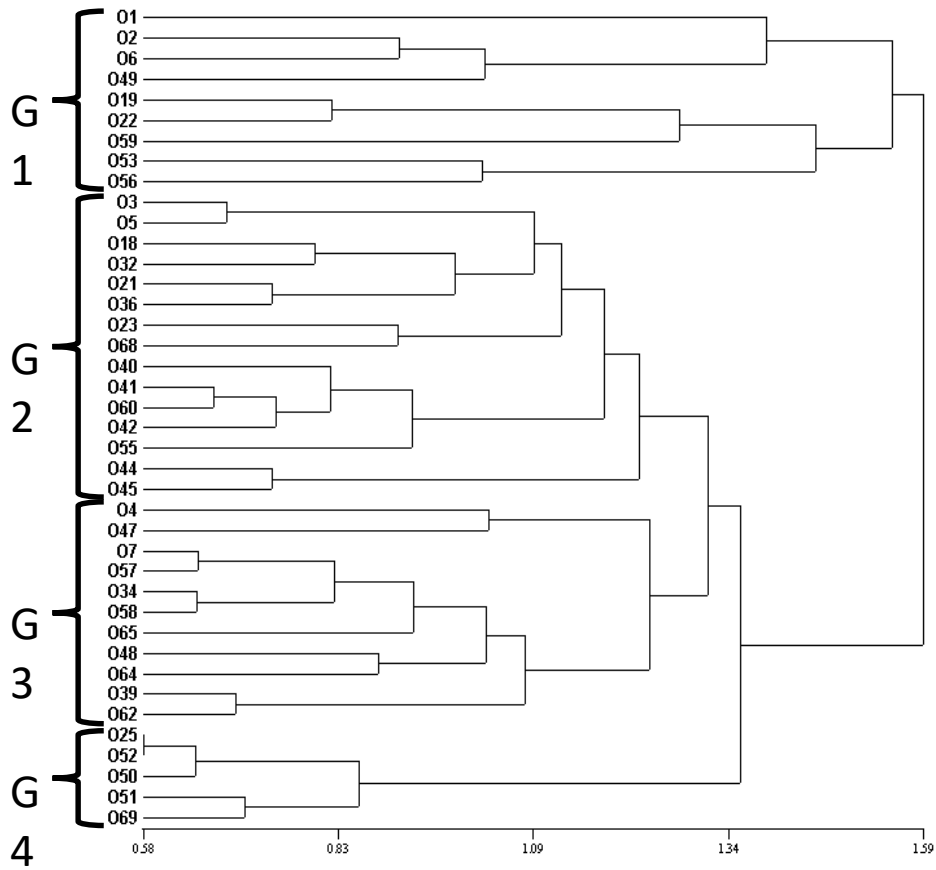


Figura 1 – Dendrograma de 40 ecótipos portugueses de figueira-da-índia obtido pela análise multivariada aglomerada baseada em 16 características morfológicas.

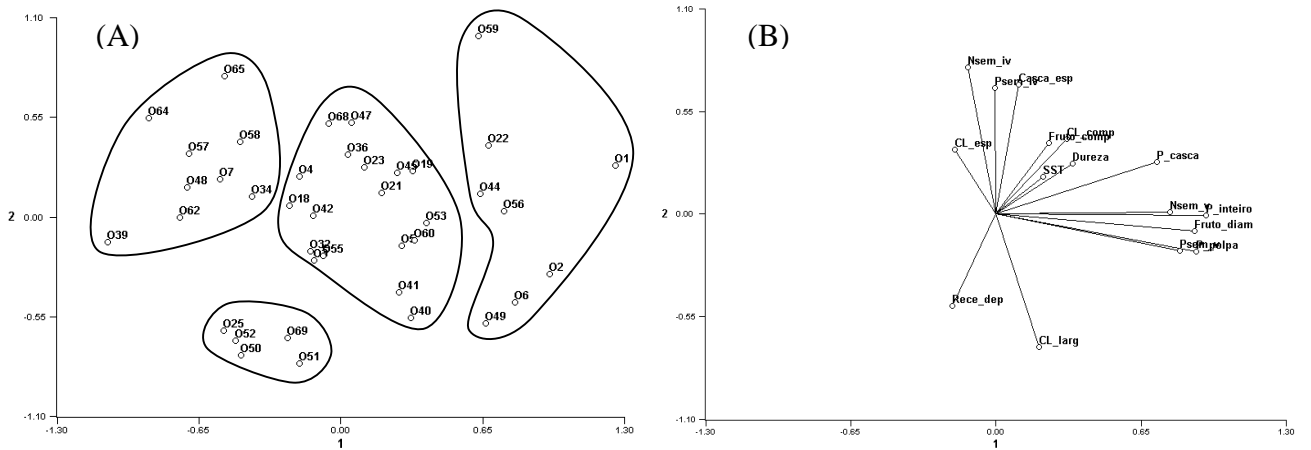


Figura 2 – Projeção dos 40 ecótipos (A) e das 16 características morfológicas (B) no plano definido pelas componentes 1 e 2.

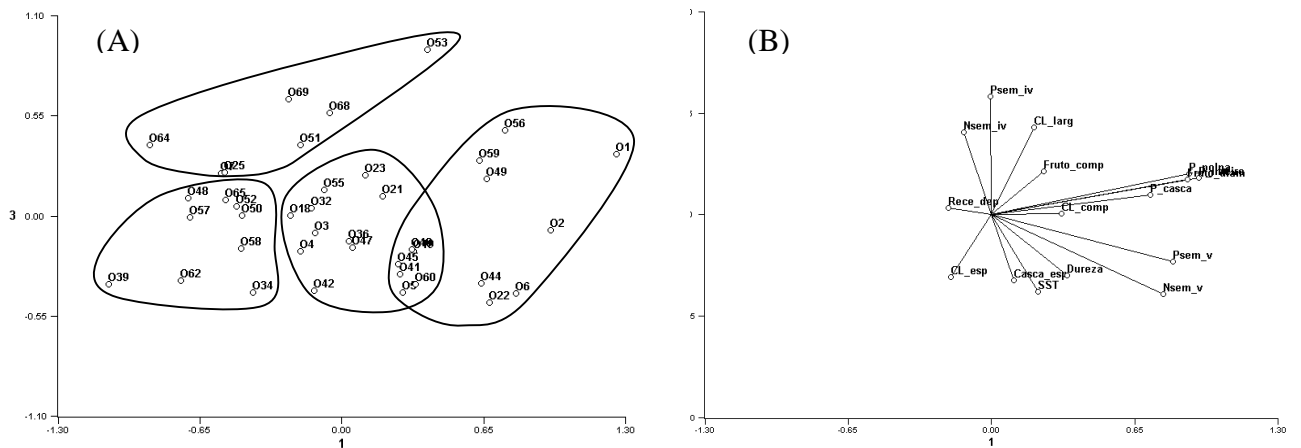


Figura 3 – Projeção dos 40 ecótipos (A) e das 16 características morfológicas (B) no plano definido pelas componentes 1 e 3.

Comportamiento de distintos patrones *Prunus* injertados con la nectarina ‘Big Top’ en condiciones de asfixia de raíces

Carolina Font i Forcada¹, Lucía Mestre², Alex E. Salazar¹, Pierre Mignard¹, Jorge Pinochet³, Gemma Reig¹ & María Ángeles Moreno¹

¹Dpto Pomología, Estación Experimental de Aula Dei-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda Montañana 1005, 50059 Zaragoza, España,

cfont@eead.csic.es, asalazar@eead.csic.es, greig@eead.csic.es, mmoreno@eead.csic.es

²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Departamento de Hortofruticultura. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza, España, lmestre@aragon.es

³Agromillora Iberia S.L., C/El Rebato s/n, 08739 Subirats, Barcelona, España
jpbcabrils@gmail.com

Resumen

En este trabajo se estudió la influencia de quince patrones *Prunus* sobre el comportamiento agronómico y calidad del fruto de la variedad de nectarina ‘Big Top’. Entre los patrones evaluados figuran seis híbridos almendro x melocotonero (Adafuel, Adarcias, Garnem, GF 677, PADAC 9902-01 y Rootpac 70), un híbrido de *P. persica* x *P. davidiana* (Cadaman), cuatro ciruelos hexaploides [*P. insititia*: Adesoto 101, PM 105 AD, PM 150 AD, y *P. domestica*: Penta], tres híbridos de ciruelo x almendro x melocotonero (PADAC 04-01, PADAC 04-03 y PADAC 99-05), y un híbrido de ciruelo x almendro [*P. cerasifera* x *P. amygdalus*: Rootpac R]. Además de los parámetros agronómicos (mortalidad de árboles, vigor, producción y productividad), se determinaron los parámetros básicos de calidad de fruto: firmeza, color, sólidos solubles, acidez valorable e índice de madurez. Al cuarto año de la plantación, se observaron diferencias significativas entre patrones, tanto en los parámetros agronómicos como de calidad del fruto de la variedad injertada.

Palabras clave: calidad de fruto, firmeza, *Prunus persica*, sólidos solubles, vigor

Abstract

The influence of sixteen *Prunus* rootstocks on agronomical and basic fruit quality parameters of the ‘Big Top’ nectarine was tested. Six peach-almond hybrids (Adafuel, Adarcias, Garnem, GF 677, PADAC 9902-01 and Rootpac 70), one *P. persica* x *P. davidiana* hybrid (Cadaman), five hexaploid plums [*P. insititia*: Adesoto 101, PM 44 AD, PM 105 AD, PM 150 AD, and *P. domestica*: Penta], three plum x peach-almond hybrid rootstocks (PADAC 04-01, PADAC 04-03 and PADAC 99-05), and one almond-plum hybrid [*P. cerasifera* x *P. amygdalus*: Rootpac-R] were budded. Agronomical traits (tree mortality, vigor, yield, and yield efficiency) and fruit quality parameters (firmness, color, soluble solids, titratable acidity, and ripening index) were evaluated. At the fourth year after budding, significant differences between rootstocks were found for agronomical and basic fruit quality parameters of the budded cultivar.

Keywords: fruit quality, firmness, *Prunus persica*, soluble solids, vigor

Introducción

El melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batsch] es una de las especies frutales cultivadas más importante en el mundo. España es el primer país exportador a nivel mundial y el primer país productor de la UE seguido de Italia (Iglesias, 2013). En España, el melocotonero aporta la mayor producción entre los frutales de hueso y pepita, y su producción supone el 4,5% del total de los productos hortofrutícolas (MAPAMA, 2017). La mayor región productora se encuentra en el Valle del Ebro, la cual incluye Aragón y Cataluña, suponiendo el 60% de la producción total española.

En la actualidad, ‘Big Top’ es considerada como la nectarina de referencia en Europa para el consumo en fresco, ya que su pulpa es firme y muy apreciada por su coloración, tamaño óptimo del fruto, dulzura, jugosidad y sabor (Reig et al., 2016).

Diferentes estudios con especies *Prunus* han mostrado la influencia que un determinado patrón puede ejercer sobre la variedad injertada, en lo que se refiere al vigor, producción o tamaño del fruto (Moreno et al., 1994; Font i Forcada et al., 2012; Mestre et al., 2015; Ben Yahmed et al., 2016). Además de las características agronómicas y morfológicas de las variedades, la composición química del fruto relacionada con factores organolépticos y nutricionales, cada vez está más valorada por el consumidor. Poco a poco, adquieren más relevancia los trabajos que estudian las características de calidad del fruto y su composición química (Orazem et al., 2011; Font i Forcada et al., 2013; Font i Forcada et al., 2014; Reig et al., 2016). Estos caracteres dependen sobre todo del genotipo de la variedad injertada, pero también pueden verse influidos por el patrón utilizado y por las condiciones climáticas. La elección de un patrón es una de las consideraciones más importantes a tener en cuenta, sobre todo en condiciones limitantes del cultivo (clorosis y asfixia) y en situaciones de replantación (Jiménez et al., 2011; Font i Forcada et al., 2014), que afectan al desarrollo normal del árbol. Para resolver estos problemas, los programas de mejora buscan la selección de nuevos patrones, mejorando la adaptabilidad al suelo (Moreno et al., 1994; Moreno, 2004) y sobre todo la producción y mejora de la calidad de los frutos (Font i Forcada et al., 2014).

En la Estación Experimental de Aula Dei (CSIC) se lleva a cabo un programa de mejora de patrones *Prunus* adaptados a las condiciones de cultivo del área mediterránea (Moreno, 2004) y se dispone de patrones seleccionados por su buen comportamiento y tolerancia frente a factores bióticos y abióticos (Pinochet et al., 2012; Mestre et al., 2015; 2017). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue estudiar el comportamiento agronómico (vigor, producción y eficiencia productiva) y la calidad del fruto de la variedad ‘Big Top’ sobre diferentes patrones, en un suelo calizo y pesado con problemas de asfixia de raíces, típico del área mediterránea.

Material y métodos

En el invierno de 2008-2009 se plantaron los árboles de la variedad de nectarina ‘Big Top’, injertada sobre distintos patrones: seis híbridos almendro x melocotonero (*P. amygdalo-persica*: Adafuel, Adarcias, Garnem, GF 677, PADAC 9902-01 y Rootpac 70), un híbrido de *P. persica* x *P. davidiana*: Cadaman, cuatro ciruelos hexaploides [*P. insititia*: Adesoto 101, PM 105 AD, PM 150 AD, y *P. domestica*: Penta], tres híbridos de ciruelo x almendro x melocotonero (*P. cerasifera* x *P. amygdalo-persica*: PADAC 04-01, PADAC 04-03 y PADAC 99-05), y un híbrido de ciruelo x almendro [*P. cerasifera* x *P. amygdalus*: Rootpac R]. La variedad injertada ‘Big Top’, se utilizó por su gran interés comercial en el Valle del Ebro y por sus buenas características organolépticas. Los patrones ciruelo fueron elegidos por su tolerancia a la asfixia de raíces y a los suelos con problemas de encharcamiento (Bernhard y Grasselly, 1959), así como por inducir una entrada en producción más temprana y una mayor calidad del fruto (Moreno et al., 1995).

Asimismo, los híbridos almendro x melocotonero se seleccionaron porque son más tolerantes a suelos calizos y a problemas de clorosis férrica, y su uso es más recomendable en suelos pobres y en situaciones de replantación de frutales (Moreno et al., 1994). El patrón Cadaman es resistente a los nematodos agalladores, y tiene una buena productividad (Mestre et al., 2015; Reig et al., 2016). El patrón Rootpac R fue elegido por su buena adaptación a los suelos pesados y calizos, su tolerancia a nematodos y a los problemas de replantación (Pinochet, 2010).

El ensayo se estableció con un diseño de bloques al azar con 5 repeticiones por combinación. El marco de plantación fue de 5 x 4 m. La finca en la que se desarrolló el ensayo está situada en la 'Estación Experimental de Aula Dei' (Zaragoza), con un suelo franco-arcilloso y calizo típico del Valle del Ebro.

Entre los parámetros agronómicos, se evaluó el vigor del árbol (mediante el cálculo de la superficie del tronco a partir de la medida del perímetro de la variedad a 20 cm por encima de la zona del injerto), la mortalidad de los árboles, la producción anual y acumulada (kg/árbol), y la productividad (kg/cm² de la sección del tronco). Durante la cosecha, se recolectó una muestra de 20 frutos/árbol para determinar los parámetros básicos de calidad del fruto. Se determinó el peso medio del fruto (g), contenido de sólidos solubles (°Brix) con un refractómetro digital (Atago PR-101), acidez valorable (g ácido málico/100 g de peso fresco), índice de madurez, color (coordenadas CIELAB) mediante el colorímetro Minolta (modelo CR 400), y la firmeza (N) usando un penetrómetro (Modelo FT-327).

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa informático IBM SPSS, versión 23.0 (USA). Se realizó un análisis de varianza de los datos recogidos y la separación de medias mediante el test Duncan a un nivel de significación $p \leq 0,05$.

Resultados y discusión

En los primeros años de la plantación se observó la elevada mortalidad de los árboles injertados sobre los patrones Garnem y Penta (75%), por lo que se eliminaron del estudio. Las condiciones texturales del suelo (franco-arcilloso) explican la falta de adaptación de algunos patrones debido a su gran sensibilidad a los problemas de asfixia de raíces (Mestre et al., 2015).

Al cuarto año de la plantación, los patrones pollizos PM 105 AD y PM 150 AD indujeron el menor vigor a la variedad injertada difiriendo significativamente del resto de los patrones (Tabla 1). El mayor vigor lo indujo el híbrido Adafuel, aunque sin diferir de Cadaman, PADAC 04-01, PADAC 99-05, PADAC 9902-01 y Rootpac 70. Los patrones GF 677 y PADAC 04-03 mostraron un vigor intermedio. La mayor producción fue obtenida sobre los patrones híbridos GF 677 y PADAC 04-01, frente a la menor del ciruelo PM 150 AD, aunque sin diferir significativamente del resto de patrones. Así como la producción anual, la producción acumulada también fue mayor sobre los híbridos GF 677 y PADAC 04-01, aunque sin diferir significativamente de Adafuel, Adesoto 101, Cadaman, PADAC 04-03, PADAC 99-05, PADAC 9902-01, Rootpac 70 y Rootpac R. No obstante, al cuarto año de la plantación, la mayor productividad se observó sobre el ciruelo PM 105 AD, y la menor correspondió al híbrido Adafuel, aunque no difirieron significativamente del resto de patrones. Esta mayor productividad del patrón ciruelo PM 105 AD podría deberse a su menor vigor manteniendo un buen nivel de producción, como se menciona en otros estudios con la variedad 'Catherina' (Font i Forcada et al., 2014; Mestre et al., 2017).

Respecto a los caracteres de calidad del fruto, Cadaman indujo un mayor tamaño del fruto, difiriendo significativamente del resto de los patrones (Tabla 2). También el patrón Cadaman indujo una mayor firmeza del fruto frente a Adafuel, Adarcias, PADAC

04-01 y Rootpac 70, aunque sin diferir significativamente del resto de patrones. El pollizo PM 105 AD indujo un mayor contenido en sólidos solubles, aunque sin diferencias significativas respecto a Adarcias, Adesoto 101, PADAC 04-01, PADAC 99-05 y Rootpac R.

En otros estudios con las variedades de melocotonero ‘Catherina’ (Font i Forcada et al., 2014; Mestre et al., 2017) y ‘Redhaven’ (Orazem et al., 2011), así como con la nectarina ‘Big Top’ (Mestre et al., 2015; Reig et al., 2016), los patrones Adesoto 101 y PM 105 AD, también indujeron un mayor contenido en sólidos solubles del fruto y un menor vigor del árbol, confirmando así que los patrones que inducen un vigor medio también presentan, en general, una mejor calidad del fruto. En otro estudio con la variedad de paraguay ‘Subirana’, se observó también que el patrón PADAC 04-01 mostraba un buen comportamiento agronómico y una elevada calidad del fruto comparado con otros patrones (Ben Yahmed et al., 2016), confirmando así su idoneidad para el área Mediterránea.

Conclusión

Cabe destacar el menor vigor observado sobre los ciruelos pollizos PM 105 AD y PM 150 AD, así como la tendencia del patrón PM 105 AD a inducir una mayor productividad y contenido en azúcares del fruto en la variedad injertada. Los patrones Adesoto 101, PADAC 04-01, PADAC 99-05 y Rootpac R también mostraron un buen comportamiento agronómico y la tendencia a inducir un mayor contenido en sólidos solubles y otras características de calidad del fruto demostrando así su interés comercial.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2008-00283, AGL2011-24576 y AGL2014-52063R, con la cofinanciación FEDER, y el Gobierno de Aragón-A44. Los autores agradecen a M.P. Soteras por su asistencia técnica en el laboratorio. C. Font i Forcada es beneficiaria de un contrato Juan de la Cierva-Incorporación 2017.

Referencias

- Ben Yahmed, J., Ghrab, M., Moreno M.A., Pinochet, J., & Ben Mimoun, M. 2016. Performance of ‘Subirana’ flat peach cultivar budded on different *Prunus* rootstocks in a warm production area in North Africa. *Scientia Horticulturae* 206:24-32.
- Bernhard, R., Grasselly, C. 1959. Les pruniers porte-greffes du pêcher. *J. Fruit Maraich. Avignon*. pp. 75-100.
- FAOSTAT. 2017. <http://faostat.fao.org>
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y., & Moreno, M.A. 2012. Agronomical and fruit quality traits of two peach cultivars on peach–almond hybrid rootstocks growing on Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae* 140:157-163.
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y., & Moreno, M.A. 2013. Fruit sugar profile and antioxidants of peach and nectarine cultivars on almond × peach hybrid rootstocks. *Scientia Horticulturae* 164:563-572.
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y., & Moreno, M.A. 2014. Agronomical parameters, sugar profile and antioxidant compounds of ‘Catherine’ peach cultivar influenced by different plum rootstocks. *International Journal of Molecular Sciences* 15 (2):2237-2254.
- Iglesias, I., 2013. Peach production in Spain: current situation and trends, from production to consumer. In: Milatović, D. (Ed.), *Proceedings of the 4th Conference, Innovations in Fruit Growing*. Belgrad (Serbia), pp. 75-98.

- Jiménez, S., Pinochet, J., Romero, J., Gogorcena, Y., Moreno, M.A., & Espada, J.L. 2011. Performance of peach and plum based rootstocks of different vigour on a late peach cultivar in replant and calcareous conditions. *Scientia Horticulturae* 129:58-63.
- MAPAMA. 2017. www.mapama.gob.es
- Mestre, L., Reig, G., Betrán, J.A., Pinochet, J., & Moreno, M.A. 2015. Influence of peach-almond hybrids and plum-based rootstocks on mineral nutrition and yield characteristics of 'Big Top' nectarine in replant and heavy-calcareous soil conditions. *Scientia Horticulturae* 192:475-481.
- Mestre, L., Reig, G., Betrán, J.A., & Moreno M.A. 2017. Influence of plum rootstocks on agronomic performance, leaf mineral nutrition and fruit quality of 'Catherina' peach cultivar in heavy-calcareous soil conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* 15:11.
- Moreno, M.A. 2004. Breeding and selection of *Prunus* rootstocks at the Aula Dei Experimental Station, Zaragoza, Spain. *Acta Horticulturae* 658:519-528.
- Moreno, M.A., Tabuenca, M.C., & Cambra, R. 1994. Performance of Adafuel and Adarcias as peach rootstocks. *HortScience* 29:1271-1273.
- Moreno, M.A., Tabuenca, M.C., & Cambra, R. 1995. Adesoto 101, a plum rootstock for peaches and other stone fruit. *HortScience* 30(6):1314-1315.
- Orazem, P., Stampar, F., & Hudina, M. 2011. Quality analysis of 'Redhaven' peach fruit grafted on 11 rootstocks of different genetic origin in a replant soil. *Food Chemistry* 124:1691-1698.
- Pinochet, J. 2010. 'Replantpac' (Rootpac[®] R), a plum-almond hybrid rootstock for replant situations. *HortScience* 45:299-301.
- Pinochet, J., Cunill, M., Torrents, J., Eremin, G., Eremin, V., Nicotra, A., Penyalver, R., López, M.M., Jiménez, S., Gogorcena, Y., & Moreno, M.A. 2012. Response of low and medium vigour rootstocks for peach to biotic and abiotic stresses. *Acta Horticulturae* 962:627-632.
- Reig, G., Mestre, L., Betrán, J.A., Pinochet, J., & Moreno, M.A. 2016. Agronomic and physicochemical fruit properties of 'Big Top' nectarine budded on peach and plum based rootstocks in Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae* 210:85-92.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Influencia de los patrones estudiados sobre el vigor, producción anual, producción acumulada y productividad de la variedad de nectarina 'Big Top' al cuarto año de la plantación (2013).

Patrón	Vigor (cm ²)	Producción (kg/árbol)	Producción acumulada (kg/árbol)	Productividad (kg/cm ²)
Adafuel	211,7 d	19,6 ab	28,6 abcd	0,14 a
Adarcias	99,7 bc	13,6 ab	19,9 ab	0,22 ab
Adesoto 101	94,7 bc	13,9 ab	24,1 abcd	0,26 ab
Cadaman	153,6 cd	17,7 ab	32,2 bcd	0,21 ab
GF 677	144,8 c	21,1 b	39,2 d	0,29 ab
PADAC 04-01	157,5 cd	21,3 b	37,0 d	0,26 ab
PADAC 04-03	144,5 c	15,3 ab	24,3 abcd	0,18 ab
PADAC 99-05	156,5 cd	15,2 ab	32,3 bcd	0,21 ab
PADAC 9902-01	153,5 cd	15,2 ab	25,6 abcd	0,17 ab
PM 105 AD	78,1 a	14,1 ab	20,9 abc	0,31 b
PM 150 AD	74,2 a	11,1 a	15,2 a	0,21 ab
Rootpac 70	152,7 cd	14,8 ab	26,2 abcd	0,17 ab
Rootpac R	133,0 bc	14,0 ab	35,4 cd	0,27 ab

La separación de medias se ha realizado mediante el test Duncan ($p \leq 0,05$). Para cada columna, los datos seguidos de las mismas letras no muestran diferencias significativas.

Tabla 2 - Influencia de los patrones estudiados sobre los caracteres de calidad del fruto de la variedad 'Big Top' al cuarto año de la plantación (2013).

Patrón	Peso medio del fruto (g)	Sólidos solubles (°Brix)	Firmeza (N)
Adafuel	157,0 a	13,0 ab	46,6 a
Adarcias	179,1 ab	14,7 bcd	48,5 a
Adesoto 101	173,7 ab	15,4 cd	50,8 ab
Cadaman	204,4 c	13,8 abc	60,6 b
GF 677	175,4 ab	13,0 ab	54,0 ab
PADAC 04-01	169,6 ab	15,0 cd	48,1 a
PADAC 04-03	179,5 ab	13,8 abc	51,7 ab
PADAC 99-05	181,5 b	15,0 cd	53,8 ab
PADAC 9902-01	182,7 b	12,7 a	57,1 ab
PM 105 AD	166,4 ab	15,7 d	50,4 ab
PM 150 AD	164,4 ab	13,7 abc	55,8 ab
Rootpac 70	174,1 ab	12,3 a	49,0 a
Rootpac R	157,0 a	14,7 bcd	55,1 ab

La separación de medias se ha realizado mediante el test Duncan ($p \leq 0,05$). Para cada columna, los datos seguidos de las mismas letras no muestran diferencias significativas.

Aclareo de frutos direccionado según su posición en los árboles de granado (*Punica granatum* L)

Gilberto Hernández-Hernández^{1*}, Domingo M. Salazar¹ & Isabel López-Cortés¹

¹Departamento Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera S/N 46022 Valencia. Spain. *gilherhe@upv.es

Resumen

El hecho de que el consumidor demande cada vez un producto de mayor calidad hace que todas las técnicas que se ejercen sobre un cultivo estén enfocadas a obtener un producto final que garantice no solo el calibre deseado sino también la calidad organoléptica y caracterización sensorial.

Por ello, en este estudio se busca evaluar el efecto que tiene sobre los parámetros de calidad de los frutos de granado su posición en el árbol, distinguiendo entre orientaciones, posición interior o exterior en la copa del árbol y si procede de una flor campanera o lateral del ramo, para de este modo poder determinar donde se encuentran los frutos de mejor calidad y realizar el aclareo de frutos y la poda manteniendo un equilibrio en el árbol pero dejando frutos en la ubicación en la que la calidad es mayor.

Dicha evaluación se realiza midiendo dimensiones y pesos de los frutos, la acidez y el contenido en sólidos solubles del zumo, así como las características colorimétricas de los frutos y la presencia de frutos afectados por las dos principales fisiopatías que sufren los frutos de granada, el albardado y el rajado. La toma de muestras se realiza recolectando toda la producción de árboles de cuatro cultivares implantados en la zona del Levante español, el cultivar Mollar, Sweet, Valencia y Wonderful. Se comprueba que la posición de los frutos tiene un efecto ligeramente diferente en cada uno de los cultivares ensayados, los frutos de mayor calidad en los árboles de un cultivar no siempre se encuentran en la misma ubicación. Existen diferencias según la posición, en los frutos afectados por las fisiopatías estudiadas en los cultivares en estudio.

Con todo ello, se concluye que para cada cultivar los aclareos mayoritarios de los frutos y la poda deben ser diferentes, atendiendo a las distintas posiciones donde se encuentran los frutos de mayor calidad.

Palabras-clave: Granada, Aclareo, Orientación, Calibre, Físico-química.

Abstract

The fact that the consumer demands an ever-higher quality product means that all the techniques that are practiced on a crop are focused on obtaining a final product that guarantees not only the desired size but also the organoleptic quality and sensorial characterization.

Therefore, the objective of this study is to evaluate the effect on the quality parameters of the fruit of pomegranate, its position in the tree, distinguishing between orientations, internal or external position at the treetop and whether it comes from a flower bell or Lateral of the branch, in order to be able to determine where the best quality fruits are and to perform thinning of fruits and pruning while maintaining a balance in the tree but leaving fruit in the location where the quality is greater.

This evaluation is carried out by measuring fruit size, fruit weight, acidity and soluble solids content, as well as the colorimetric characteristics of the fruits and the presence of fruits affected by the two main physiopathies suffered by the fruits of pomegranate. Saddle and brindle.

Sampling is carried out by collecting all tree yields of four cultivars implanted in the Spanish Levante area, the cultivar Mollar, Sweet, Valencia and Wonderful.

It is verified that the position of the fruits has a slightly different effect in each of the cultivars tested, the higher quality fruits in the trees of a cultivar are not always in the same location.

There are differences according to the position, in the fruits affected by the physiopathies studied in the cultivars under study.

With all of this, it is concluded that for each cultivar the majority thinning of the fruits and pruning must be different, taking into account the different positions where the fruits of higher quality are found.

Keywords: Pomegranate, Fruit-thinning, Orientation, Gauge, Physical-chemical.

Introducción

El granado es un cultivo de los denominados emergentes según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), debido principalmente a su adaptación a condiciones ecoclimáticas donde instaurar otros cultivos es muy dificultoso, ya que su tolerancia a la salinidad, suelos con drenaje deficiente y sequía es solo superada por palmeras e higueras entre los frutales (Melgarejo & Salazar, 2003).

Estas características hacen que al tratarse de un cultivo que se puede dar en múltiples zonas, competir desde el punto de vista productivo con zonas donde los costes de producción son muchos más bajos a los que se precisan para cultivar en la Península Ibérica se hace imposible, por ello es necesaria una diferenciación que debería estar marcada por la excelencia en la calidad de los frutos recolectados.

Para obtener dicha calidad se hace necesario maximizar el efecto de todas las técnicas de cultivo que se realizan a lo largo del ciclo del mismo, siendo las más importantes la poda y el aclareo de frutos, que es necesario realizar pese a la caída fisiológica de flores que se produce.

Por todo ello se busca determinar dónde se encuentran los frutos de mayor calidad según su posición y orientación en el árbol para cuatro de los cultivares de mayor relevancia del Levante español.

Material y Métodos

Para llevar a cabo este estudio se ha extraído la producción total de cuatro árboles de cada uno de los cultivares en ensayo, siendo estos el cultivar Mollar, cultivar Sweet, cultivar Valencia y cultivar Wonderful, realizándose la caracterización siguiendo la norma de la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV-CPVO) de la granada, TG 284/1, seleccionando los árboles estudiados al azar de una parcela situada en el Camp de morvedre (Valencia).

Cada fruto recolectado se etiquetó según su orientación, posición en la copa del árbol y posición de la flor de la que procede el fruto.

De este modo, se distinguió entre frutos recolectados de la orientación Norte, Sur, Este y Oeste, por otro lado también se clasificaron los frutos en dos grupos según procedían de la zona interior o de la zona exterior de la copa del árbol, para por último diferenciar entre los que provienen de flor campanera o lateral del ramo.

A cada uno de los frutos recolectados se le realizó las mediciones que determinan la calidad de un fruto de granada, de este modo, se midió peso, diámetro y longitudes de cada uno de los frutos, además debido a la importancia que tiene el color desde el punto de vista del consumidor, que demanda frutos con colores próximos al rojo y con brillo, se

realizó la medición de las coordenadas HunterLab del fondo del fruto y de la denominada “chapa”, para mediante las ecuaciones correspondientes obtener el matiz y la saturación del color de los mismos.

Se realiza un análisis químico del zumo obtenido, midiendo el contenido en sólidos solubles y la acidez del mismo, obteniendo mediante el cociente entre estos dos parámetros el índice de madurez.

Por último, se contabiliza el número de frutos afectados por alguna de las dos principales fisiopatías que afectan al granado, siendo estas el albardado y el rajado de frutos, expresándose los resultados como porcentaje de frutos afectados del total de frutos recolectados de cada uno de los cultivares.

Resultados y Discusión

En cuanto al peso y dimensiones de los frutos se observa que para los cultivares Mollar, Sweet y Wonderful existen diferencias estadísticamente significativas entre las orientaciones, coincidiendo los cultivares Sweet y Wonderful en obtener frutos con mayor valor para estos parámetros en la orientación Este, mientras que en el cultivar Mollar se obtienen los máximos en la orientación Oeste, en el caso del cultivar Valencia no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las orientaciones estudiadas.

Respecto al contenido en sólidos solubles sucede algo similar, y es que para cada cultivar se obtienen valores máximos en una orientación diferente, salvo en el cultivar Valencia, en cuyo caso no se obtienen diferencias estadísticamente significativas en la composición química de sus zumos, en el cultivar Mollar se obtienen los valores más altos para el índice de madurez en los frutos recolectados de la orientación Norte, mientras que los frutos del cultivar Wonderful con mayor índice de madurez son los recolectados de la orientación Este, en el caso de los cultivares Sweet y Valencia no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las orientaciones en el árbol.

Se comprueba que para los cultivares en estudio, la posición de los frutos en la copa del árbol solo tiene incidencia en la acidez de los frutos de los cultivares Sweet y Wonderful, teniendo esto repercusión en el índice de madurez del cultivar Sweet, donde este parámetro es mayor en los frutos recolectados de la parte exterior de la copa del árbol.

En cuanto a la posición de la flor de la que procede el fruto hay que señalar que no se observan diferencias significativas en el comportamiento de los frutos procedentes de flor campanera o del lateral del ramo.

El cultivar que presenta un mayor porcentaje de frutos afectados por el rajado es el cultivar Sweet, con un 47,17% de frutos afectados, lo que según la bibliografía es un valor bastante elevado, ya que Melgarejo & Salazar (2003) describen los peores años en cuanto a la incidencia de esta fisiopatía con valores superiores al 50% de frutos afectados.

Por otro lado, en el estudio de la incidencia de albardado en los frutos se comprueba que no existen grandes diferencias entre los cultivares estudiados, siendo en todo caso inferiores a los valores obtenidos por los autores de la bibliografía que sitúan el porcentaje de frutos afectados por albardado entre el 20% y el 50% de la producción de la campaña (López & Moreno, 2015).

Conclusiones

Se comprueba que tras realizar el estudio de la posible influencia de la orientación en los parámetros físicos y químicos medidos, para los cultivares Mollar, Sweet y Wonderful la orientación influye en dichos parámetros, aunque se obtienen los valores máximos en diferentes orientaciones según el cultivar, mientras que en el cultivar Valencia no se obtienen diferencias entre los frutos recolectados de las diferentes orientaciones.

La posición del fruto en la copa afecta a la acidez del zumo obtenido de los frutos en el caso de los cultivares Sweet y Wonderful, teniendo esto relevancia en el índice de madurez en el caso del cultivar Sweet, observándose diferencias en el color de los frutos en los cultivares Valencia y Wonderful.

Los frutos procedentes de flor campanera presentan en general y para todos los parámetros en estudio características más homogéneas que los obtenidos de flores procedentes del lateral del ramo.

Referencias

- Hernández, F., Legua, P., Martínez, R., Melgarejo, P. & Martínez, J. J. 2014. Fruit quality characterization of seven pomegranate accessions (*Punica granatum* L) grown in Southeast of Spain. *Scientia Horticulturae*, 175: 174-180.
- Hernández-Hernández, G., López-Cortés, I. & Salazar, D. M. 2015. Caracterización y posible destino de cultivares de granado. *Fruticultura*, 43: 22-39.
- López Gálvez, M. Y. & Moreno Vega A. 2015. El granado, variedades, técnicas de cultivo y usos. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 118 pp.
- Martínez, J. J. & Hernández, F. 2009. Material vegetal y técnicas de cultivo en el granado. I Jornadas nacionales sobre el granado: Producción, economía, industrialización, alimentación y salud. 29-41.
- Melgarejo P., Salazar D. M. & Artés F. 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Our Food Res Technology*. 211: 185-190.
- Melgarejo, P. & Salazar, D. M., 2003. Tratado de Fruticultura para zonas áridas y semiáridas, Volumen II. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 421 pp.
- Melgarejo, P. & Valero, D., 2012. II International Symposium on the Pomegranate. Editorial CIEAM. Zaragoza. 337 pp.
- Mena, P.; García-Viguera, C.; Navarro-Rico, J.; Moreno, D. A.; Bartual, J.; Saura, D. & Martí, N. 2011. Phytochemical characterization for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L) cultivars grown in Spain. *J Sci Food Agric*. 91: 1893-1906.
- Olaniyi Amos, F. & Umezuruike Linus, O. 2013. Physicomechanical, phytochemical, volatile compounds and free radical scavenging properties of eight pomegranate cultivars and classification by principal component and cluster analysis. *British Food Journal*. 116: 544-567.

Cuadro y Figuras

Cuadro1 - Orientación donde se dan los valores máximos para cada parámetro medido.

Cultivar	Peso y Diámetro	Sólidos Solubles	Acidez	Índice de Madurez	Sat. Color	Matiz Color
Mollar	Oeste	Norte	ns	Norte	Este y Norte	ns
Sweet	Este	Este	Este	ns	Oeste	ns
Valencia	ns	ns	ns	ns	Este y Oeste	Este y Oeste
Wonderful	Este	Sur	Sur	Este	Este	Norte

Cuadro 2 - Posición en la copa del árbol donde se obtienen los valores máximos para cada parámetro medido.

Cultivar	Peso y Diámetro	Sólidos Solubles	Acidez	Índice de Madurez	Sat. Color	Matiz Color
Mollar	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Sweet	ns	ns	Interior	Exterior	ns	ns
Valencia	ns	ns	ns	ns	Exterior	Interior
Wonderful	ns	ns	Interior	ns	Exterior	Interior

Cultivares x sistemas de condução em figueira (*Ficus carica* L.)

Mariana Regato¹, Idália Costa¹, José Regato¹

¹Instituto Politécnico de Beja - Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares – Campus - 7800-295-Beja, mare@esab.ipbeja.pt

Resumo

O estudo foi realizado no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja, no Alentejo. Os resultados foram obtidos num ensaio de cultivares x sistemas de condução em figueira. As cultivares estudadas foram a 'CN 250' ('Petrelli'), a 'Lampa Preta' e a 'Dauphine', nos sistemas de condução em eixo central revestido e em vaso.

O pomar está instalado no compasso de 5 x 2,5 m, com rega de gota-a-gota.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições de cinco árvores por repetição.

Determinou-se a produção comercializável, a percentagem de sólidos solúveis totais e o peso médio do fruto relativamente aos figos lampos.

Os resultados obtidos (referentes a 5 anos) foram os seguintes: as cultivares (cvs.) diferiram estatisticamente, relativamente à produtividade comercializável, verificando-se que a 'CN 250' foi a mais produtiva (8315 kg ha⁻¹), seguida da 'Lampa Preta' (7656 kg ha⁻¹), apresentando a 'Dauphine', o valor mais baixo (6804 kg ha⁻¹). Manifestaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao teor de sólidos solúveis totais, a 'Dauphine' apresentou o valor de 21,55%, a 'CN 250' 20,99 % e a 'Lampa Preta' 20,11 %. No que respeita ao peso unitário do fruto, não se verificaram diferenças significativas entre as cvs. 'CN 250' (103,6 g) e 'Dauphine' (102,9 g), que diferiram da cv. 'Lampa Preta' (78,05 g).

O sistema de condução em eixo central revestido apresentou uma produtividade comercializável média superior (7894,3 kg ha⁻¹) à do sistema de condução em vaso (7288,9 ha⁻¹).

Palavras-chave: figos lampos, produtividade, sistema de condução em eixo central revestido e em vaso, peso do fruto, sólidos solúveis totais.

Abstract

The study was carried out at the Horticultural Center of the Beja Agrarian Higher School in Alentejo. The results were obtained in a trial of cultivars x fig pruning systems. The cultivars studied were 'CN 250' ('Petrelli'), 'Lampa Preta' and 'Dauphine', in the central axis pruning system and vessel pruning system.

The orchard is installed in the measure of 5 x 2.5 m, with drop-by-drop irrigation. The experimental design was in randomized blocks with three replicates of five trees per replicate.

The marketable production, the percentage of total soluble solids and the average weight of the fruit relative to the figs were determined.

The results obtained (referring to 5 years) were as follows: the cultivars (cvs.) differed statistically from the marketable yield, showing that 'CN 250' was the most productive (8315 kg ha⁻¹), followed by 'Lampa Preta' (7656 kg ha⁻¹). The 'Dauphine' obtained the lowest value (6804 kg ha⁻¹). They showed statistically significant differences regarding the total soluble solids content, the 'Dauphine' presented the value of 21.55%, 'CN 250' 20.99% and 'Lampa Preta' 20.11%. Regarding the unit weight of the fruit, there

were no significant differences between the cvs. 'CN 250' (103.6 g) and 'Dauphine' (102.9 g), which differed from cv. 'Lampa Preta' (78.05 g).

The central axis pruning system presented higher marketable production (7894.3 kg ha⁻¹) than that of the vessel pruning system (7288.9 ha⁻¹).

Keywords: figs, productivity, central axis pruning system and vessel pruning system, fruit weight, total soluble solids.

Introdução

A figueira (*Ficus carica* L.) é uma planta originária da Ásia Ocidental, donde se expandiu, através da Síria, a toda a região mediterrânica (Agustí, 2004), onde durante muito tempo foi cultivada em sequeiro.

Em Portugal conjuntamente, com a alfarrobeira e a amendoeira, constituía a base do pomar tradicional de sequeiro algarvio. No Alentejo, principalmente na região de Moura, encontrava-se em consociação com a oliveira. Em cultura extreme como, por exemplo, na zona de Torres Novas ou Mirandela, ocupava vastas áreas dedicadas à produção de figo para secar e para destilar.

A rusticidade e a fácil propagação que a figueira apresenta permitem uma boa adaptação aos sistemas agrícolas mais extensivos, com pouca intensificação cultural, sendo, desde sempre, considerada uma cultura pouco exigente em cuidados culturais. Quando consideramos a figueira como uma cultura regada, a situação altera-se pois todos os erros que sejam cometidos se traduzem em reduções dos níveis de produtividade.

Considerando as necessidades climáticas da figueira nomeadamente os graus-dia acumulados e as exigências em horas de frio invernal, considera-se que ela tem uma boa adaptabilidade a todo o território do Alentejo.

A cultura da figueira é muito pouco exigente em solos. No entanto, a obtenção de frutos de qualidade é favorecida em solos com boas características, ou seja, profundos, férteis, ricos em cálcio, com textura franca e bem drenados, pois é uma árvore muito sensível à asfixia radicular (Dominguez, 1990).

Material e métodos

O ensaio de cultivares x sistemas de condução em figueira está instalado no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária, do Instituto Politécnico de Beja.

Foi instalado em 2003, num compasso de 5 x 2,5 m, em blocos casualizados com três repetições de 5 árvores, usando-se as cultivares (cvs.) 'CN 250' ('Petrelli'), 'Lampa Preta' e 'Dauphine' conduzidas em dois sistemas de condução, o vaso e o eixo central revestido.

O sistema de rega utilizado foi o de gota-a-gota com 2 gotejadores (8 litros por hora) por árvore. A rega foi realizada consoante as leituras efetuadas nos tensiómetros instalados no pomar.

O controlo de infestantes foi feito com um destroçador na entrelinha e aplicação de um herbicida na linha.

Procedeu-se à fertilização de acordo com as análises de terra e as análises foliares, efetuando-se uma aplicação fracionada dos adubos através da água da rega, desde março a setembro.

A poda de frutificação foi efetuada anualmente durante o repouso vegetativo, no período de outono-inverno. Realizou-se também a poda em verde em finais de maio.

Apresenta-se o estudo relativamente aos figos lampos, referente a cinco anos (2007 a 2011). Determinou-se a produção comercializável, a percentagem de sólidos solúveis totais e o peso médio do fruto.

Resultados e Discussão

A cultivar e ao ano apresentaram diferenças altamente significativas ($p \leq 0,001$) relativamente à produção comercializável, ao grau Brix e ao peso médio do fruto.

O sistema de condução teve um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) sobre a produção comercializável, significativo ($p \leq 0,01$) sobre o grau Brix e não significativo sobre o peso do fruto.

De acordo com o quadro 1, a produção comercializável média foi mais elevada nos anos de 2010 e 2011, quando as plantas tinham 7 e 8 anos de idade, relativamente aos anos anteriores, verificando-se o valor mais baixo no ano de 2008, quando as árvores tinham 5 anos de idade. De acordo com estes resultados, pode-se concluir que a figueira ao 4º e 5º ano após a plantação ainda não atingiu todo o seu potencial produtivo, apresentando produtividades relativamente baixas.

Consultando o quadro 5 da interação ano x cultivar, verifica-se que a tendência crescente da produtividade com o avanço da idade das árvores ocorre para todas as cultivares, com exceção da ‘Dauphine’, que apresenta uma produtividade crescente até 2010, mas sofre uma quebra em 2011.

Também se verificou um aumento do peso médio do fruto com o avanço da idade das árvores, apresentando os valores mais altos aos 7 e 8 anos de idade.

Relativamente ao conteúdo médio de sólidos solúveis totais, não se verificou a mesma tendência, observando-se os valores mais elevados no ano de 2008 e de 2011, o que nos leva a deduzir que este parâmetro não estará relacionado com a idade das árvores.

As cultivares apresentaram diferentes produtividades médias, relativamente aos figos lampos, apresentando a ‘CN 250’ (‘Petrelli’), o valor mais alto (8315 kg ha^{-1}), seguida da ‘Lampa Preta’ (7656 kg ha^{-1}), apresentando a ‘Dauphine’, o valor mais baixo (6804 kg ha^{-1}). No entanto, a ‘Dauphine’ obteve o maior teor de sólidos solúveis totais (21,55 %). Os valores relativos aos sólidos solúveis totais das cvs, ‘Dauphine’ e ‘Lampa Preta’ foram superiores aos observados por Sousa et al. (2002) na zona de Alcobça. Esta situação pode dever-se às condições climáticas do Alentejo, que permitem uma maior capacidade fotossintética e conseqüentemente uma maior acumulação de hidratos de carbono.

Os frutos mais pesados foram os das cvs. ‘Dauphine’ e ‘CN 250’ (‘Petrelli’), que apresentaram diferenças estatisticamente significativas relativamente à cv. ‘Lampa Preta’ (quadro 2). O número de frutos para perfazer um quilograma foi de 9,6 para a cv. ‘CN 250’ (‘Petrelli’), 9,7 para a cv. ‘Dauphine’ e de 12,8 para a cv. ‘Lampa Preta’. Este parâmetro é da máxima importância porque quanto maior for o número de frutos necessário para perfazer um quilograma, maior será o custo da colheita, da embalagem e do transporte (Sousa et al., 2002).

Os valores do peso dos frutos das cvs. ‘Dauphine’ e ‘Lampa Preta’ foram superiores aos verificados por Sousa et al. (2002) na zona de Alcobça. A cv. ‘Dauphine’ apresentou um peso médio do fruto de 102,9 g, o que está de acordo com Vidaud (1997), que refere valores de 100 a 120 g para os figos lampos desta cultivar.

Verificou-se através do quadro 3, que o sistema de condução em eixo permitiu uma produtividade média mais alta relativamente ao sistema de condução em vaso, o que pode dever-se ao fato do compasso de 5 x 2,5 m ser mais adequado para o sistema de condução em eixo, permitindo uma maior entrada de luminosidade no pomar. O sistema de condução em vaso, num compasso mais apertado, pode conduzir a algum ensombramento, em virtude da copa das árvores ocuparem um maior volume.

Considerando a interação cultivar x sistema de condução (quadro 4), verifica-se que a cultivar ‘Lampa Preta’ apresentou uma produtividade mais alta no sistema de

condução em vaso, o que permite concluir que este sistema será mais adequado para a referida cultivar.

A maturação da cv. ‘Lampa Preta’ ocorre na primeira quinzena de junho (Sousa, 2010) e a das cvs. ‘CN 250’ (‘Petrelli’) e ‘Dauphine’ na segunda quinzena de junho (Sousa, 2010).

Conclusões

As conclusões que se podem tirar deste estudo são as seguintes:

Ao 4º e 5º ano após a plantação, a figueira ainda não atingiu todo o seu potencial produtivo, verificando-se que a produtividade aumentou até ao 7º e 8º ano após a plantação.

A cultivar mais produtiva das três estudadas foi a ‘CN 250’ (‘Petrelli’) (8315 kg ha⁻¹), a que apresentou o maior teor de sólidos solúveis totais (21,55 %) foi a ‘Dauphine’ e os frutos mais pesados foram obtidos pelas cvs. ‘CN 250’ (‘Petrelli’) (103,6 g) e ‘Dauphine’ (102,9 g).

Foi com o sistema de condução em eixo que se obteve a produtividade média mais elevada.

Referências

- Agustí, M. 2004. *Fruticultura*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Dominguez, A. F. 1990. *La higuera*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Sousa, R. M.; Rodrigues, A. C.; Dias Pablo, F. 2002. Avaliação de Variedades de Figueira para a Produção de Figos Lampos. *Revista Vida Rural*. Agosto. Lisboa.
- Sousa, R. M. 2010. Cultivares de figo, técnicas de condução e potenciais para o Brasil. 2º *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Figueira. Desenvolvimento Tecnológico e qualidade*. Campinas.
- Vidaud, J. 1997. *Le Figuier*. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (Ctifl). Paris.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Efeito do ano sobre a produção comercializável (kg ha⁻¹), conteúdo de sólidos solúveis totais (%) e peso médio do fruto (g).

Ano	Produção comercializável (kg ha ⁻¹)	Sólidos solúveis totais (%)	Peso médio do fruto (g)
2011	11650 a	22,26 a	114,40 a
2010	11840 a	19,52 c	104,30 b
2009	8306 b	20,77 b	90,68 d
2008	2438 d	22,49 a	67,22 e
2007	3723 c	19,38 c	97,72 c

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 2 - Efeito da cultivar sobre a produção comercializável (kg ha^{-1}), conteúdo de sólidos solúveis totais (%) e peso médio do fruto (g).

Cultivar	Produção comercializável (kg ha^{-1})	Sólidos solúveis totais (%)	Peso médio do fruto (g)
‘CN 250’ (‘Petrelli’)	8315 a	20,99 b	103,60 a
‘Lampa Preta’	7656 b	20,11 c	78,05 b
‘Dauphine’	6804 c	21,55 a	102,90 a

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 3 - Efeito do sistema de condução sobre a produção comercializável (kg ha^{-1}), conteúdo de sólidos solúveis totais (%) e peso médio do fruto (g).

Sistema de condução	Produção comercializável (kg ha^{-1})	Sólidos solúveis totais (%)	Peso médio do fruto (g)
Eixo	7894 a	20,60 b	94,49 a
Vaso	7289 b	21,20 a	95,23a

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 4 - Efeito médio da interação cultivar x sistema de condução sobre a produção comercializável (kg ha^{-1}).

Cultivar	Eixo	Vaso
‘CN 250’(‘Petrelli’)	8800 a	7830 b
‘Dauphine’	7652 bc	5956 d
‘Lampa Preta’	7231 c	8081 b

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 5 - Efeito médio da interação ano x cultivar sobre a produção comercializável (kg ha^{-1}).

Ano	‘CN 250’	‘Dauphine’	‘Lampa Preta’
2007	5485 g	3307 h	2376 i
2008	5683 g	918,9 j	712,5 j
2009	8171 f	9188 e	7557 f
2010	10570 d	12720 b	12230 bc
2011	11670 c	7883 f	15410 a

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Compatibilidad de diferentes patrones *Prunus* injertados con ciruelo japonés y albaricoquero

Alex Salazar, Carolina Font i Forcada, Pierre Mignard, Gemma Reig, Jesús Val & María Ángeles Moreno

Estación Experimental de Aula Dei-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda Montañana 1005, 50059 Zaragoza, España, asalazar@eead.csic.es, cfont@eead.csic.es, jval@eead.csic.es, mmoreno@eead.csic.es

Resumen

En este trabajo se ha evaluado la compatibilidad patrón-variedad de distintos patrones *Prunus* injertados con la variedad de ciruelo japonés ‘Golden Japan’ y de albaricoquero ‘Moniquí’. Algunos de los patrones usados para este estudio provienen del programa de mejora de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC) y presentan buena adaptación a las condiciones de cultivo mediterráneas. Entre los patrones estudiados figuran los híbridos almendro x melocotonero (*P. amygdalo-persica*): ‘Adafuel’ y ‘Adarcias’; algunos ciruelos de crecimiento rápido como los mirobolanes (*P. cerasifera*): ‘Ademir’, ‘Mirobolán B’, ‘Mirobolán 29 C’, ‘Mirobolán 713 AD’, ‘Mirobolán GF 3-1’; y un ciruelo *P. domestica*: ‘Torinel’ e híbridos inter-específicos de ciruelo (‘Ishtara’, ‘Mariana 2624’, ‘Mariana GF 8-1’, ‘Peach-plum 3593 AD’). El trabajo se desarrolla sobre árboles establecidos en un vivero experimental de la EEAD-CSIC. Para determinar el grado de compatibilidad, se examinaron las uniones de árboles de siete años de injerto y se clasificaron de acuerdo al grado de discontinuidad encontrado en corteza y madera. Así, se observaron distintos grados de incompatibilidad del tipo ‘localizada’. En general, los híbridos almendro x melocotonero, ciruelos *P. domestica*, *P. insititia* y algunos *P. cerasifera* mostraron buena compatibilidad con ciruelo. Sin embargo, otros ciruelos de crecimiento rápido (‘Mirobolán B’, ‘Mirobolán 29 C’, ‘Mirobolán 713 AD’) mostraron uniones con discontinuidad en la corteza en la zona de unión patrón-variedad. En el caso de los patrones injertados con ‘Moniquí’ los resultados muestran una mayor incidencia de la incompatibilidad localizada para las distintas combinaciones comparadas con ciruelo japonés. Además de determinar la compatibilidad e incompatibilidad patrón-variedad, se discutirá el efecto del patrón sobre el vigor de la variedad injertada.

Palabras clave: incompatibilidad localizada, *Prunus salicina*, *P. armeniaca*, vigor.

Abstract

This work has been focused on the evaluation of the graft compatibility in different *Prunus* rootstocks budded with the Japanese plum cultivar ‘Golden Japan’ and the apricot cv. ‘Moniquí’. Several of the rootstocks evaluated belongs to the Breeding Program of the Aula Dei Experimental Station (EEAD-CSIC) and have shown good adaptation to the Mediterranean conditions. Among the rootstocks studied, almond x peach hybrids (*P. amygdalo-persica*): ‘Adafuel’ and ‘Adarcias’; some fast-growing plums as the Myrobalans (*P. cerasifera*): ‘Ademir’, ‘Myrobalan B’, ‘Myrobalan 29 C’, ‘Myrobalan 713 AD’, ‘Myrobalan GF 3-1’; a slow-growing plum *P. domestica*: ‘Torinel’ and plum interspecific hybrids (‘Ishtara’, ‘Mariana 2624’, ‘Mariana GF 8-1’, ‘Peach-plum 3593 AD’), have been included. The trial was carried out in an experimental nursery at the EEAD-CSIC. To assess the degree of compatibility, the internal examination of unions was made in seven year old trees after budding and they were classified according to the

degree of discontinuity in cortex and wood. Different degrees of ‘localized’ incompatibility were observed. In general, the almond x peach hybrids, plums *P. domestica*, *P. insititia* and some *P. cerasifera* showed good compatibility with the Japanese plum cultivar. However, several fast growing plums showed discontinuities in the cortex in the union line (‘Myrobalan B’, ‘Myrobalan 29 C’, ‘Myrobalan 713 AD’). In the case of rootstocks budded with ‘Moniquí’ a higher incidence of the graft incompatibility was found. The effect of the rootstock on tree vigor will be discussed.

Keywords: localized incompatibility, *P. salicina*, *P. armeniaca*, vigor.

Introducción

El ciruelo es un frutal de gran importancia económica en España, siendo el tercer productor a nivel europeo por detrás de Francia y por delante de Italia, y el octavo a nivel mundial, llegando a producir más de 193.000 toneladas en 2016 y con una superficie en torno a las 15.000 ha (FAOSTAT, 2017). Asimismo, el cultivo del albaricoquero es de gran importancia en España, ya que es uno de los principales países productores, con un área cultivada en torno a las 17.600 ha y con una producción de 122.400 toneladas (FAOSTAT, 2017). A pesar de la importancia del ciruelo y del albaricoquero en la fruticultura española, es frecuente encontrar casos de incompatibilidad patrón-variedad especialmente cuando se combinan especies diferentes (Zarrouk et al., 2006). Aunque muchos de los patrones desarrollados a nivel mundial proceden del cruzamiento de distintas especies de *Prunus*, pueden resultar incompatibles al ser injertados con una variedad de distinta base genética (Moreno et al., 1995). Por ello, determinar las causas de la incompatibilidad patrón-variedad, sigue siendo un tema prioritario para el sector frutícola. Debido al gran dinamismo en la obtención de nuevos patrones y variedades, se hacen necesarios los estudios que permitan determinar la compatibilidad. Así, este trabajo tiene como objetivo evaluar la compatibilidad patrón-variedad de distintos patrones *Prunus* con distinta base genética de ciruelo, almendro x melocotonero y otros híbridos inter-específicos, injertados con la variedad de ciruelo japonés ‘Golden Japan’ y la de albaricoquero ‘Moniquí’.

Materiales y métodos

Los patrones evaluados (Tabla 1), incluyen los híbridos almendro x melocotonero (*P. amygdalo-persica*): ‘Adafuel’ y ‘Adarcias’; algunos ciruelos de crecimiento rápido como los mirobolanes (*P. cerasifera*): ‘Ademir’, ‘Mirobolán B’, ‘Mirobolán 29 C’, ‘Mirobolán 713 AD’ y ‘Mirobolán GF 3-1’; un ciruelo de crecimiento lento (*P. domestica*): ‘Torinel’ y distintos híbridos interespecíficos de ciruelo (‘Mariana 2624’, ‘Mariana GF 8-1’, ‘Ishtara’, ‘Peach-Plum 3593 AD’).

El trabajo se desarrolló en un vivero experimental de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), en Zaragoza (España). Los árboles estaban libres de virus y fueron injertados con la variedad de ciruelo japonés ‘Golden Japan’ y con la de albaricoquero ‘Moniquí’, en el verano siguiente al de su establecimiento en vivero (invierno 2009-2010).

Para analizar la zona de injerto, los árboles fueron cortados a 10 cm por encima y debajo de la unión. Las uniones fueron examinadas macroscópicamente para observar posibles casos de incompatibilidad localizada. Las uniones examinadas correspondieron a árboles de 7 años de injerto. Se determinó su vigor con un calibre digital y se expresó como Área de la Circunferencia de la sección del tronco ACST (cm²).

El nivel de compatibilidad fue determinado tras el examen de la zona de unión de acuerdo a Mosse y Herrero (1951). Así, las uniones examinadas se clasificaron de la siguiente manera:

A = completamente normales sin síntomas de incompatibilidad.

B = algunas anomalías en la estructura pero buena compatibilidad.

C = discontinuidad y zonas necróticas sólo en corteza.

D = alto grado de discontinuidad y necrosis en madera y corteza.

E = árboles saltados o rotos por la zona de unión en campo.

Resultados y discusión

Ciruelo Japonés:

Los valores correspondientes al vigor de los árboles estudiados se recogen en la Figura 1 y Tabla 2 representando los valores promedio de cada combinación patrón-variedad.

Adafuel' fue mas vigoroso que el resto de patrones y el análisis de sus uniones reflejó buena compatibilidad (Tabla 1), como ya observaron Moreno et al. (1995) con la misma variedad en árboles con menor número de años. Otras combinaciones algo menos vigorosas que 'Adafuel' también mostraron buena compatibilidad, con uniones clasificadas como A. Destacan 'Isthara', 'Miral', 'P 2175' y 'Mirocal'. Dentro de este grupo de combinaciones con buen vigor también se incluyen los patrones 'Mirobolán GF 3-1' y 'Peach-Plum 3593 AD'. Sin embargo, estos últimos mostraron uniones claramente discontinuas tanto en madera como en corteza, por lo que se clasificaron como D.

Otro grupo de patrones con menor vigor ('Mariana GF 8-1', 'Mirobolán 29C') fueron clasificados como incompatibles. 'Mirobolán B' mostró uniones de tipo C (necrosis y discontinuidad en corteza) y algunas incluso con hendidura en la madera en la línea de unión pero sin llegar al interior de la sección. Estos resultados difieren con lo mencionado por Herrero (1962) que lo clasificó en la categoría A. Esto podría ser debido a que el estudio referido evaluó árboles con menor desarrollo (3 años de injerto), frente al presente trabajo (7 años de injerto). Por otro lado, 'Mariana 2624' y 'Adarcias' no mostraron incompatibilidad, aunque en el caso de 'Adarcias' se observaron zonas necróticas en corteza (C) en algunos de sus árboles. Los patrones 'Ademir', 'Bergasa', 'P 2980', 'Mirobolán 713 AD', 'Sapa-plum' y 'Torinel' fueron clasificados como compatibles (A).

Albaricoquero:

En el caso de los patrones injertados con el albaricoquero 'Moniquí', las diferencias de vigor entre las combinaciones estudiadas se muestran en la Figura 2 y Tabla 2. Cabe resaltar que se observó una mayor cantidad de combinaciones incompatibles que las encontradas con ciruelo japonés. Como se pudo observar tras el examen de las uniones de siete años de injerto, los únicos patrones que no mostraron incompatibilidad fueron los patrones ciruelo 'P 2315' y 'Torinel'. El resto de patrones mostraron clara discontinuidad en madera, clasificándose como D. El patrón 'Mariana 2624' ya fue clasificado como incompatible con la variedad Moniquí en un estudio anterior (Pina, 2006).

Estos resultados son de gran importancia debido a que este tipo de incompatibilidad denominada 'localizada' es asintomática, pudiendo aparecer varios años después de que los árboles muestren incluso gran desarrollo (Herrero, 1951), como se ha observado también en el presente trabajo. Por otra parte, no se observó una relación clara entre el vigor del árbol y la expresión de la incompatibilidad.

Conclusiones

La evaluación macroscópica de las uniones examinadas evidencia que la incompatibilidad puede presentarse en combinaciones que no muestren síntomas externos de incompatibilidad. Asimismo, no se observó una relación entre la incompatibilidad localizada y el vigor de los árboles.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por los proyectos CDTI IDEI-20130949, AGL2011-24576 y AGL2014-52063-R, con cofinanciación FEDER, y el Gobierno Regional de Aragón (A44). Alex Salazar es becario de la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) del Gobierno de la República de Ecuador. Los autores agradecen a Pedro Lucía, Natalia Miguel y Gloria Somed, la ayuda en el manejo del material vegetal.

Referencias

- FAOSTAT. 2017. <http://www.faostat.fao.org>.
- Herrero, J. 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. *J. Hort. Sci.* 26: 186-237.
- Herrero, J. 1962. Incompatibilidad entre patrón e injerto. V. Variedades de ciruelo injertadas sobre Mirobolán B. *An. Aula Dei.* 7: 56-63.
- Moreno, M.A., Gella, R., Aparicio, J. & Tabuenca, M.C. 1995. Incompatibilidad entre patrón e injerto. Variedades de ciruelo injertadas sobre híbrido almendro x melocotonero. *An. Aula Dei.* 21 (3): 113-116.
- Mosse, B. & Herrero, J. 1951. Studies on incompatibility between some pear and quince grafts. *J. Hort. Sci.* 26:238–245.
- Pina, A. 2006. Caracterización fisiológica y bioquímica de las respuestas que intervienen en la incompatibilidad de injerto en albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.). Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Zaragoza. España.
- Zarrouk, O., Pinochet, J., Gogorcena, Y. & Moreno, M.A. 2006. Graft compatibility between peach cultivars and *Prunus* rootstocks. *HortScience.* 41:1389–1394.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Patrones utilizados en este estudio.

Patrones	Base genética	Origen
Adafuel	<i>P. dulcis</i> x <i>P. persica</i>	España
Adarcias	<i>P. dulcis</i> x <i>P. persica</i>	España
Ademir	<i>P. cerasifera</i>	España
Bergasa	<i>P. dulcis</i> x <i>P. persica</i>	España
Deep Purple	<i>P. besseyi</i> x <i>P. salicina</i>	USA
Isthara	(<i>P. cerasifera</i> x <i>P. salicina</i>) x (<i>P. cerasifera</i> x <i>P. persica</i>)	Francia
Mariana 2624	<i>P. cerasifera</i> x <i>P. munsoniana</i>	España
Mariana GF 8-1	<i>P. cerasifera</i> x <i>P. munsoniana</i>	Francia
Miral 3278 AD	<i>P. cerasifera</i> x <i>P. amygdalus</i>	España
Mirobolán 713 AD	<i>P. cerasifera</i>	España
Mirobolán B	<i>P. cerasifera</i>	U.K.
Mirobolán 29 C	<i>P. cerasifera</i>	USA
Mirobolán GF 3-1	<i>P. cerasifera</i> x <i>P. salicina</i>	Francia
Mirobolán P 2175	<i>P. cerasifera</i>	Rumania
Mirobolán P 2315	<i>P. cerasifera</i>	Francia
Mirobolán P 2980	<i>P. cerasifera</i>	Francia
Mirocal	<i>P. cerasifera</i>	Francia
Peach-Plum 3593 AD	<i>P. domestica</i> ?	USA
Sapa Plum	<i>P. besseyi</i> x <i>P. salicina</i>	USA
Torinel	<i>P. domestica</i>	Francia
VVA-1	<i>P. tomentosa</i> × <i>P. Cerasifera</i>	Rusia

Tabla 2 - Desarrollo de las uniones de injerto en distintos patrones *Prunus* injertados con las variedades de ciruelo japonés ‘Golden Japan’ y la de albaricoquero Moniquí, a los 7 años del injerto.

	Sección del tronco (cm ²)		
	Variedad	Unión	Patrón
‘Golden Japan’			
Adafuel	5,79 h	8,22 h	4,69 e
Adarcias	1,97 abcd	2,93 abcd	2,41 ab
Ademir	1,80 abcd	3,00 abcd	1,86 a
Bergasa 2860 AD	1,47 ab	3,31 abcd	2,07 ab
Mariana GF 8-1	2,79 cdef	4,64 cdef	3,30 abcd
Isthara	4,16 g	5,51 efg	4,24 d
Mariana 2624	2,88 cdef	3,88 abcde	3,23 abcd
Miral	3,73 efg	5,19 efg	4,31 d
Mirobolán 713 AD	1,75 abcd	2,83 abc	2,23 ab
Mirobolán B	1,40 a	2,32 a	2,11 ab
Mirobolán 29 C	2,46 abcd	4,23 bcdef	3,00 abcd
Mirobolán GF 3-1	3,97 fg	6,54 g	3,89 cd
Mirobolán P 2175	2,98 defg	3,93 abcde	3,28 abcd
Mirobolán P 2980	1,69 abc	2,52 ab	2,27 ab
Mirocal	3,91 fg	5,89 fg	4,08 cd
Peach-Plum	2,70 bcde	4,78 defg	3,44 bcd
Sapa Plum	1,62 abc	2,40 ab	1,93 a
Torinel	2,08 abcd	3,02 abcd	2,67 abc
‘Moniquí’			
Ademir	3,14 cd	6,01 c	3,44 bc
Deep Purple	0,62 a	1,73 a	1,14 a
Mariana 2624	1,22 ab	3,25 abc	2,02 ab
Mirobolán 713 AD	1,36 ab	3,58 abc	2,81 abc
Mirobolán B	1,09 ab	3,45 abc	2,26 ab
Mirobolán 29 C	2,12 abcd	5,70 bc	3,79 bc
Mirobolán GF 3-1	1,53 abc	3,44 abc	2,95 abc
Mirobolán P 2315	2,46 bcd	4,01 abc	3,67 bc
Mirobolán P 2980	1,61 abc	4,14 abc	1,96 ab
Mirocal	6,11 e	14,22 d	6,46 d
Peach Plum 3593 AD	3,38 d	4,68 abc	4,55 cd
Sapa Plum	1,62 abc	4,68 abc	2,23 ab
Torinel	1,63 abc	2,53 ab	2,42 abc
VVA-1	0,48 a	2,01 a	0,82 a

La separación de medias se ha realizado mediante el test de Duncan ($P \leq 0,05$). Para la misma variedad, los datos seguidos de las mismas letras no muestran diferencias significativas.

Tabla 3 - Análisis interno de uniones de injerto en distintos patrones *Prunus* injertados con la variedad de ciruelo japonés ‘Golden Japan’ y con la de albaricoquero ‘Moniquí’.

Patrones	Incompatibilidad localizada				
	A	B	C	D	E
Número de árboles					
‘Golden Japan’					
Adafuel	6	-	-	-	-
Adarcias	-	12	2	-	-
Ademir	9	-	-	-	-
Bergasa 2860 AD	8	-	-	-	-
Isthara	6	-	-	-	-
Mariana 2624	11	-	-	-	-
Mariana GF 8-1	-	-	6	5	-
Miral	6	-	-	-	-
Mirobolán 713 AD	7	-	-	-	-
Mirobolán B	-	-	15	-	-
Mirobolán 29 C	-	-	6	5	-
Mirobolán GF 3-1	-	-	-	4	-
Mirobolán P 2175	8	-	-	-	-
Mirobolán P 2980	13	-	-	-	-
Mirocal	11	-	-	-	-
Peach Plum 3593 AD	-	-	-	11	-
Sapa Plum	6	3	-	-	-
Torinel	10	-	-	-	-
‘Moniquí’					
Ademir	-	-	-	19	1
Deep Purple	-	-	-	10	-
Mariana 2624	-	-	-	13	-
Mirobolán 713 AD	-	-	-	9	-
Mirobolán B	-	-	-	9	-
Mirobolán 29 C	-	-	-	5	-
Mirobolán GF 3-1	-	-	-	10	-
Mirobolán P 2315	10	-	-	-	-
Mirobolán P 2980	-	-	-	9	-
Mirocal	-	-	-	4	2
Peach Plum 3593 AD	-	-	6	-	-
Sapa Plum	-	-	4	5	1
Torinel	8	-	-	-	-
VVA-1	-	-	-	4	-

Categorías A, B, C, D, y E: clasificación del grado de incompatibilidad ‘localizada’, de acuerdo a Mosse y Herrero (1951).

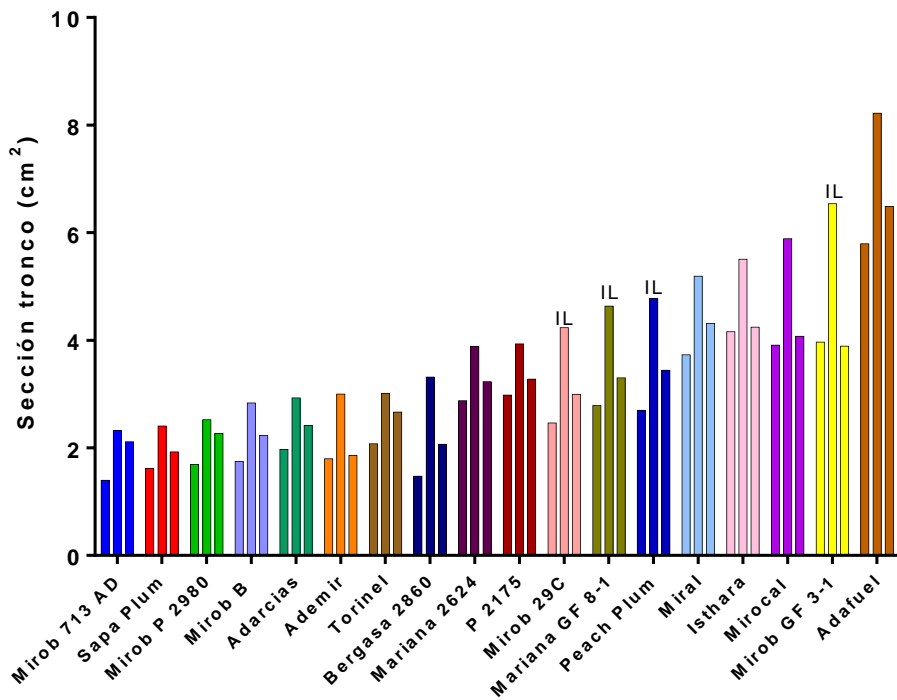


Figura 1. Área de la sección del tronco de diferentes patrones *Prunus* injertados con el ciruelo japonés ‘Golden Japan’. Para cada patrón, la primera barra del histograma corresponde a la variedad injertada, la segunda a la línea de unión y la tercera al patrón. IL: Incompatibilidad localizada.

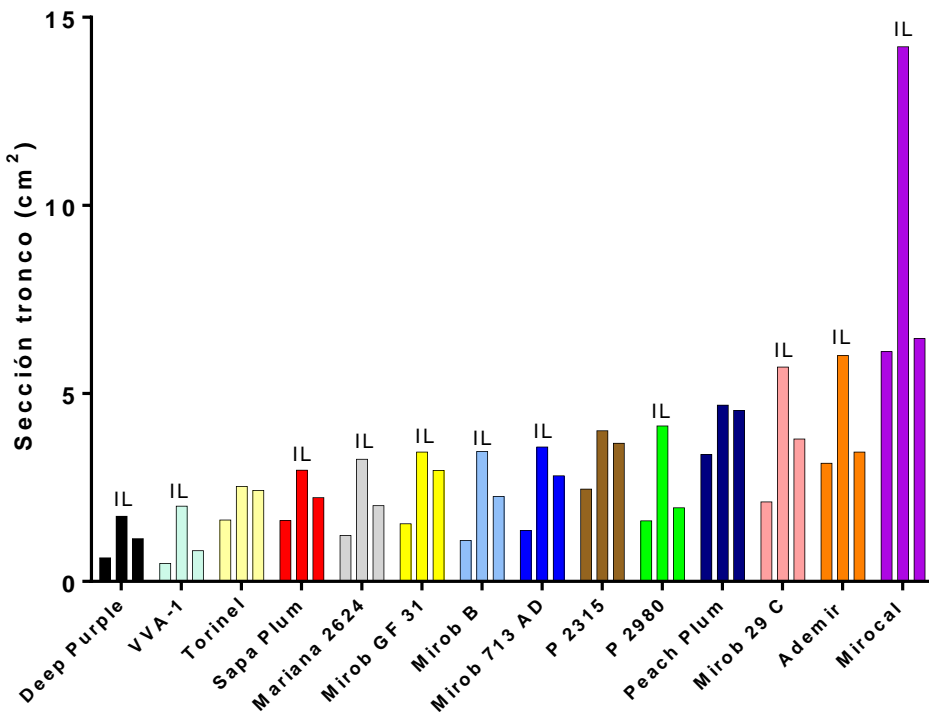


Figura 2. Área de la sección del tronco de diferentes patrones *Prunus* injertados con el albaricoquero ‘Monique’. Para cada patrón, la primera barra del histograma corresponde a la variedad injertada, la segunda a la línea de unión y la tercera al patrón. IL: Incompatibilidad localizada.

Construcción de mapas de ligamiento basados en SNPs obtenidos a través de *Genotyping-by-sequencing* (GBS) para dos patrones *Prunus* de melocotonero

Verónica Guajardo¹, Simón Solís¹, Ksenija Gasic², Carolina Font i Forcada³ & María Ángeles Moreno³

¹Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura (CEAF), Las Parcelas 882, Los Choapinos, Rengo, Región de O'Higgins, Chile, vguajardo@ceaf.cl, ssolis@ceaf.cl

²Clemson University, Department of Plant and Environmental Sciences, 105 Collins St., Clemson, SC 29634, USA, kgasic@clemson.edu

³Estación Experimental de Aula Dei - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda. Montañana 1005, E-50059 Zaragoza, España, cfont@eead.csic.es, mmoreno@eead.csic.es

Resumen

En los estudios genéticos y selección asistida por marcadores de los programas de mejora genética de variedades y patrones, es crucial la construcción de mapas de ligamiento. En el caso de las variedades de frutales de hueso (*Prunus* spp.), se han desarrollado mapas de ligamiento basados en SNPs para variedades de melocotonero, cerezo y almendro. Sin embargo, y pese a su importancia, no se ha realizado este tipo de análisis para patrones *Prunus*. En este estudio, se presentan resultados del uso de *Genotyping-by-sequencing* (GBS) para identificar y genotipar SNPs de manera simultánea a partir de dos patrones *Prunus* de melocotonero ('Adafuel' x 'Flordaguard') y su progenie. El material vegetal fue desarrollado por el programa de mejora genética de patrones *Prunus* de la EEAD-CSIC con el objetivo de establecer una población segregante para un rango de caracteres de importancia en la mejora de patrones (resistencia frente a nematodos, tolerancia a clorosis férrica y asfixia de raíces, vigor, productividad y calidad del fruto de la variedad injertada, entre otros). Se construyeron mapas de ligamiento de alta densidad a partir de una población de 118 individuos. Las secuencias obtenidas a través de GBS fueron alineadas al genoma de referencia de *Prunus* (*Peach* v2.1). Se identificaron 18.861 SNPs de alta calidad (MAF>0,05; *missing data* < 5%), distribuidos a lo largo de los ocho cromosomas de *Prunus*. El número de SNPs identificados varió desde 1.447 para el cromosoma 7 hasta 4.014 para el cromosoma 1. Para 'Adafuel' fue posible construir los ocho grupos de ligamiento esperados, mientras que para 'Flordaguard' sólo fue posible construir cuatro, dada la baja heterocigosidad de este genotipo. Los mapas de ligamiento de alta densidad obtenidos proporcionan información de gran importancia y servirán como base para la identificación de QTLs y genes relevantes para la mejora de patrones *Prunus*.

Palabras clave: marcadores moleculares, mejora genética, frutales de hueso, población segregante, cromosoma.

Abstract

Linkage maps are crucial for genetic studies and marker-assisted selection in cultivars and rootstocks breeding programs. While several SNP-based linkage maps for cultivated *Prunus* species such as peach, cherries and almond are available, there are no SNP-based linkage maps for *Prunus* rootstocks. Here, we report on using Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach to simultaneously discover and genotype SNPs from two *Prunus* rootstocks ('Adafuel' x 'Flordaguard') for peach and their progeny. The plant

material was developed at the EEAD-CSIC *Prunus* rootstocks breeding program with the goal to establish segregating progeny for a range of characters of importance to rootstock breeding (resistance to nematodes, tolerance to iron-chlorosis and root-asphyxia, vigor and other effects on scion such as yield efficiency and fruit quality). High-density parental linkage maps were constructed by genotyping 118 siblings. Sequence reads obtained from GBS were aligned to the *P. persica* reference genome (Peach v2.1). A total of 18,861 high quality SNPs (MAF>0.05; missing data < 5%), evenly distributed over the eight 8 chromosomes, were identified. The number of identified SNPs ranged from 1,447 for the chromosome 7 to 4,014 for the chromosome 1. While eight linkage maps were constructed for ‘Adafuel’, only four were constructed for ‘Flordaguard’, given the low heterozygosity of this genotype. These new high density linkage maps provide valuable information and serve as the basis for identification of QTLs and genes relevant for the *Prunus* rootstocks breeding.

Keywords: molecular markers, breeding, Stone fruits, segregant population, chromosome

Introducción

El género *Prunus* pertenece a la subfamilia *Prunoideae* de la familia *Rosaceae* (Rehder, 1940). Muchas especies de este género, conocidas como frutales de hueso, son económicamente importantes (por ejemplo, melocotoneros, ciruelos, cerezos y almendros). Para la producción de fruta, la mayoría de los árboles frutales son injertados sobre un patrón, lo que significa que el árbol está compuesto de dos individuos genéticamente diferentes. Uno de ellos es el injerto o variedad, que está formado por la mayor parte del tronco, ramas, hojas y frutos. La otra parte, que corresponde al patrón, determina ciertas características del árbol como el tamaño, vigor y tolerancia a estreses bióticos y abióticos relacionados con características del suelo (Cummins y Aldwinckle, 1983; Layne, 1987). Mientras numerosos programas de mejora genética están dirigidos al desarrollo de nuevas variedades de frutales de hueso, sólo unos pocos trabajan en la selección de nuevos patrones *Prunus*.

Durante los últimos años, el uso de marcadores moleculares de tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) ha permitido que los investigadores de programas de mejora genética puedan construir mapas de ligamiento altamente saturados. En *Prunus*, se han utilizado SNPs que son parte de chips de SNPs (Verde et al., 2012; Peace et al., 2012) para construir mapas de ligamiento en melocotonero (Eduardo et al., 2013; Pirona et al., 2013; Yang et al., 2013; Frett et al., 2014; Romeu et al., 2014; da Silva et al., 2015; Núñez-Lillo et al., 2015; Fresnedo et al., 2016) y cerezo (Klagges et al., 2013). Además, se han utilizado SNPs que son identificados a través de *Genotyping-by-sequencing* (GBS; Elshire et al., 2011) en melocotonero (Bielenberg et al., 2015) y cerezo (Guajardo et al., 2015). Esta metodología de secuenciación de última generación proporciona una representación del genoma de los individuos estudiados, tras digestión del ADN con enzimas de restricción y posterior secuenciación para la identificación de un gran número de marcadores de tipo SNP.

El objetivo de este trabajo fue el desarrollo de mapas de ligamiento para una población derivada del cruzamiento de dos patrones de melocotonero (‘Adafuel’ x ‘Flordaguard’, n = 118) utilizando SNPs identificados a través de GBS.

Materiales y métodos

La población de mapeo (n=118) fue desarrollada a partir del cruzamiento de los portainjertos de melocotonero ‘Adafuel’ (*P. dulcis* x *P. persica*; 2n=2x=16; Cambra, 1990) x ‘Flordaguard’ (*P. persica* x *P. davidiana*; 2n=2x=16; Sherman et al., 1991). Esta población se encuentra establecida en un suelo pesado y calizo de la finca experimental de la EEAD-CSIC en Zaragoza, España. ‘Adafuel’ es un patrón tolerante a clorosis férrica y susceptible a la asfixia de raíces (Mestre et al., 2015), mientras que ‘Flordaguard’ es muy sensible a clorosis y más tolerante a la asfixia de raíces que ‘Adafuel’.

Extracción de ADN y cuantificación: El ADN genómico de los individuos de la población y de los parentales fue extraído a partir de hojas jóvenes utilizando el kit de extracción NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se midió la concentración de cada muestra de ADN utilizando espectrofotometría (Tecan Trading AG, Suiza) y se determinó su calidad a través de electroforesis en geles de agarosa al 1%.

Genotyping-by-sequencing (GBS): Se preparó una librería para GBS a través de la digestión del ADN con las enzimas de restricción *PstI* y *MspI*, para cada individuo de la población y ambos parentales. Las librerías fueron secuenciadas utilizando el equipo Illumina HiSeq 2500 en el Laboratorio de Genómica Computacional de la Universidad de Clemson (*Clemson University Genomics Computational Laboratory*, CUGCL) en Carolina del Sur (Estados Unidos) siguiendo el protocolo descrito por Poland et al. (2012). Las secuencias obtenidas fueron alineadas al genoma de referencia de *Prunus* (Peach v2.1; Verde et al., 2017). Los SNPs fueron identificados según el cromosoma al que pertenecen (Chr1 a Chr8), seguidos por la posición física en pares de bases (pb).

Construcción de mapas de ligamiento: Los mapas de ligamiento se construyeron siguiendo el protocolo descrito en Guajardo et al. (2015), con la única diferencia de que se utilizó JoinMap 4 (Kyazma B.V., Holanda) en lugar de JoinMap 4.1.

Resultados y discusión

Los estudios genéticos y la mejora genética requieren herramientas genómicas básicas, como los marcadores moleculares y los mapas de ligamiento. Este trabajo, hasta donde los autores tienen conocimiento, presenta los primeros mapas de ligamiento para patrones *Prunus* obtenidos a través de *Genotyping-by-sequencing* (GBS). Además, se utilizó la nueva versión del genoma de referencia de *Prunus* (Peach v2.1; Verde et al., 2017) para identificar la posición física de cada SNP. La información generada proporciona recursos valiosos en el análisis genético de especies del género *Prunus*.

Se identificó un grupo de 18.861 SNPs de alta calidad (MAF>0,05; *missing data* < 5%), distribuidos a lo largo de los ocho cromosomas. El número de SNPs identificados varió desde 1.447 para el cromosoma 7 hasta 4.014 para el cromosoma 1. Del grupo de 18.861 SNPs, 17.486 (92,7%) presentan segregación de tipo materna <lmxl>, 842 (4,5%) presentan segregación de tipo paterna <nnxnp> y 533 (2,8%) presentan segregación de tipo <hkxhk>, que son heterocigotos en ambos padres y no fueron utilizados en los análisis. El bajo número de SNPs que presentan segregación paterna se explica por el origen de ‘Flordaguard’, un híbrido de dos especies de melocotonero (*P. persica* y *P. davidiana*). Se ha descrito el bajo nivel de variabilidad genética en melocotonero (Byrne, 1990) como una consecuencia de su sistema de autocompatibilidad gametofítica (Miller et al., 1989), a diferencia de lo que sucede con la mayoría de las especies del género *Prunus*, que presentan autoincompatibilidad gametofítica (Scorza et al., 1985).

El mapa de ligamiento obtenido para ‘Adafuel’, un híbrido interespecífico proveniente del cruzamiento entre un almendro (*P. dulcis*) y un melocotonero (*P. persica*), está compuesto por 660 SNPs mapeados en posiciones únicas, divididos en ocho

grupos de ligamiento (Ad-LG desde 1 a 8, Fig.1), con una distancia total de 464 cM (Tabla 1). Como resultado del bajo número de marcadores polimórficos de ‘Flordaguard’, sólo fue posible construir cuatro grupos de ligamiento (Fg-LG3, Fg-LG4, Fg-LG5 y Fg-LG7 en Fig. 1), con 83 SNPs y cubriendo 143,7 cM (Tabla 1). El tamaño obtenido para el mapa de ‘Adafuel’ es similar al obtenido en trabajos previos en melocotonero (Núñez-Lillo et al., 2015; Martínez-García et al., 2013; Yang et al., 2013).

En general, la posición en los grupos de ligamiento coincide con la posición física de los SNPs a lo largo de los cromosomas de la nueva versión del genoma de referencia de *Prunus* (Peach v2.1). Debido a que no se han publicado otros trabajos de construcción de mapas de ligamiento en que se utilice esta nueva versión para dar la posición física a los marcadores, no es posible comparar los resultados obtenidos con otros trabajos. En los análisis que se realizarán próximamente, se identificará la distribución de los SNPs en regiones asociadas a genes e intergénicas, para determinar el número de SNPs que podrían encontrarse en genes candidatos y que podrían tener un uso potencial en selección asistida por marcadores.

Conclusiones

En este trabajo se han construido los primeros mapas de ligamiento para patrones *Prunus* utilizando SNPs identificados a través de *Genotyping-by-sequencing*, a los que se dio su posición física en base al genoma de referencia de *Prunus* v2.1. El grupo de SNPs identificados en este trabajo representa un valioso set de marcadores que podrán ser utilizados como base en la identificación de QTLs y genes relevantes en la mejora genética de patrones *Prunus*.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2011-24576, AGL2014-52063-R e INIA RFP 2015-00019, con la cofinanciación FEDER, y el Gobierno de Aragón-A44. También ha sido financiado por CONICYT-REGIONAL/GORE O’HIGGINS/CEAF/R08I1001 y el proyecto R16F20006 de Chile. Carolina Font i Forcada es beneficiaria de un contrato Juan de la Cierva-Incorporación 2017. Se agradece a la Dra. A.M. Casas y Dra. M.P. Vallés por facilitar los equipos para realizar la extracción de ADN y a P. Mignard y B. Montero por su apoyo en el proceso de extracción de ADN.

Referencias

- Bielenberg, D.G., Rauh, B., Fan, S., Gasic, K., Abbott, A.G., Reighard, G.L., et al. 2015. Genotyping by sequencing for SNP-based linkage map construction and QTL analysis of chilling requirement and bloom date in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. PLoS ONE 10(10):e0139406.
- Byrne, D.H. 1990. Isozyme variability in four diploid stone fruits compared with other woody perennial plants. *Journal of Heredity* 81:68–71.
- Cambra, R. 1990. ‘Adafuel’, an almond×peach hybrid rootstock. *HortScience* 25(5):584-584.
- Cummins, J.N. & Aldwinckle, H.S. 1983. Rootstocks breeding. p. 294-327. In: J.N. Moore and J. Janick (eds.), *Methods in fruit breeding*. Purdue University Press, West Lafayette.
- da Silva, C., Bassi, D., Bianco, L., Pacheco, I., Pirona, R., & Rossini, L. 2015. Genetic dissection of fruit weight and size in an F2 peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) progeny. *Molecular Breeding* 35 (2):71.
- Eduardo, I., Chietera, G., Pirona, R., Pacheco, I., Troggio, M., Banchi, E., et al. 2013. Genetic dissection of aroma volatile compounds from the essential oil of peach

- fruit: QTL analysis and identification of candidate genes using dense SNP maps. *Tree Genetics & Genomes* 9 (1):189-204.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., & Mitchell, S. E. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS ONE* 6(5):e19379.
- Fresnedo-Ramírez, J., Frett, T.J., Sandefur, P.J., Salgado-Rojas, A., Clark, J.R., Gasic, K., et al. 2016. QTL mapping and breeding value estimation through pedigree-based analysis of fruit size and weight in four diverse peach breeding programs. *Tree Genetics & Genomes* 12 (2):1-18.
- Frett, T.J., Reighard, G.L., Okie, W.R., & Gasic, K. 2014. Mapping quantitative trait loci associated with blush in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Tree Genetics & Genomes* 10 (2):367-381.
- Guajardo, V., Solís, S., Sagredo, B., Gainza, F., Muñoz, C., Gasic, K., et al. 2015. Construction of high density sweet cherry (*Prunus avium* L.) linkage maps using microsatellite markers and SNPs detected by genotyping-by-sequencing (GBS). *PLoS ONE* 10(5):e0127750.
- Klagges, C., Campoy, J.A., Quero-García, J., Guzmán, A., Mansur, L., Gratacós, E., et al. 2013. Construction and comparative analyses of highly dense linkage maps of two sweet cherry intra-specific progenies of commercial cultivars. *PLoS ONE* 8(1):e54743.
- Layne, E.E.C. 1987. Peach rootstocks. p. 185-216. In: R.C. Rom, R.F. Carlson (eds.). *Rootstocks for fruit crops*. John Wiley and sons, NY.
- Martínez-García P, Parfitt D, Ogundiwin E, Fass J, Chan H, Ahmad R, et al. 2013. High density SNP mapping and QTL analysis for fruit quality characteristics in peach (*Prunus persica* L.). *Tree Genetics & Genomes* 9:19-36.
- Mestre, L., Reig, G., Betrán, J.A., Pinochet, J., & Moreno, M.A. 2015. Influence of peach-almond hybrids and plum-based rootstocks on mineral nutrition and yield characteristics of 'Big Top' nectarine in replant and heavy-calcareous soil conditions. *Scientia Horticulturae* 192: 475-481.
- Miller, P.J., Parfitt, D.E., & Weinbaum, S.A. 1989. Outcrossing in peach. *HortScience* 24:359-360.
- Núñez-Lillo, G., Cifuentes-Esquivel, A., Troggo, M., Micheletti, D., Infante, R., Campos-Vargas, et al. 2015. Identification of candidate genes associated with mealiness and maturity date in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using QTL analysis and deep sequencing. *Tree Genetics & Genomes* 11(4):86.
- Peace, C., Bassil, N., Main, D., Ficklin, S., Rosyara, U.R., Stegmeir, T., et al. 2012. Development and evaluation of a genome-wide 6K SNP array for diploid sweet cherry and tetraploid sour cherry. *PLoS ONE* 7(12):e48305.
- Pirona, R., Eduardo, I., Pacheco, I., Linge, C.D.S., Miculan, M., Verde, I., et al. 2013. Fine mapping and identification of a candidate gene for a major locus controlling maturity date in peach. *BMC Plant Biology* 13(1):166.
- Poland, J. A., Brown, P. J., Sorrells, M. E., & Jannink, J. L. 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PloS ONE* 7(2):e32253.
- Rehder, A. 1940. *A manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America exclusive of the Subtropical and warmer temperate regions*. p. 162. 2nd ed. MacMillan, New York, USA.
- Romeu, J.F., Monforte, A.J., Sánchez, G., Granell, A., García-Brunton, J., Badenes, et al. 2014. Quantitative trait loci affecting reproductive phenology in peach. *BMC Plant Biology* 14 (1), 52.

- Scorza, R., Mehlenbacher, S.A. & Lightner, G.W. 1985. Inbreeding and coancestry of freestone peach cultivars of the eastern United States and implications for peach germplasm improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110:547-552.
- Sherman, W.B., Lyrene, P.M., & Sharpe, R.H. 1991. Flordaguard peach rootstock. *HortScience* 26 (4):427-428.
- Verde, I., Bassil, N., Scalabrin, S., Gilmore, B., Lawley, C., Gasic, K. et al. 2012. Development and evaluation of a 9K SNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation in breeding germoplasm. *PLoS One* 7(4):e35668.
- Verde, I., Jenkins, J., Dondini, L., Micali, S., Pagliarani, G., Vendramin, E., et al. 2017. The Peach v2. 0 release: high-resolution linkage mapping and deep resequencing improve chromosome-scale assembly and contiguity. *BMC Genomics* 18(1):225.
- Yang, N., Reighard, G., Ritchie, D., Okie, W., & Gasic, K. 2013. Mapping quantitative trait loci associated with resistance to bacterial spot (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) in peach. *Tree Genetics & Genomes* 9 (2):573-586.

Tablas y Figuras

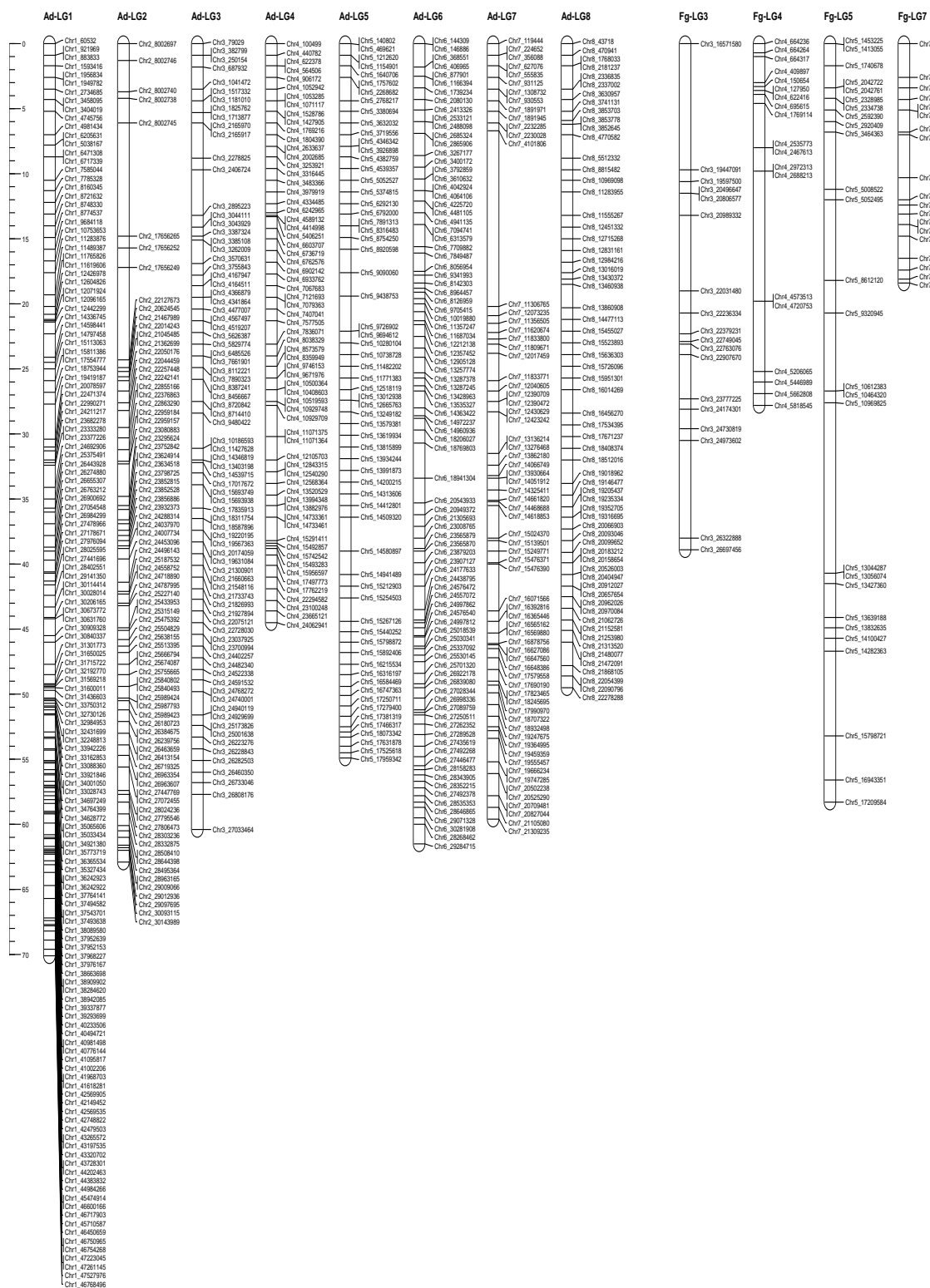


Figura 1 - Mapas de ligamiento obtenidos para ‘Adafuel’ (Ad) y ‘Flordaguard’ (Fg). Los marcadores redundantes han sido eliminados y sólo se presentan SNPs en posiciones únicas. La escala en centiMorgan (cM) se presenta a la izquierda de la figura.

Tabla 1 - Descripción de los mapas de ligamiento obtenidos para ‘Adafuel’ y ‘Flordaguard’.

GL	‘Adafuel’			‘Flordaguard’		
	Nº de SNPs	Largo (cM)	Dist. prom. entre SNPs (cM)	Nº de SNPs	Largo (cM)	Dist. prom. entre SNPs (cM)
1	145	70.1	0.5	nd	-	-
2	81	62.9	0.8	nd	-	-
3	81	60.4	0.7	18	38.9	2.2
4	66	44.5	0.7	19	27.8	1.5
5	64	55.0	0.9	27	58.3	2.2
6	90	61.5	0.7	nd	-	-
7	69	59.6	0.9	19	18.4	1.0
8	64	50.0	0.8	nd	-	-
Total	660	464.0	0.7	83	143.4	1.7

Evaluación de la autoincompatibilidad en nuevas variedades de albaricoquero mediante microscopía de fluorescencia

S. Herrera¹, J. Lora², J.I. Hormaza², M. Herrero³ & J. Rodrigo¹

¹ Unidad de Hortofruticultura, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza, Spain, sherreral@aragon.es, jrodrigo@cita-aragon.es

² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC), 29750 Algarrobo-Costa, Málaga, Spain, jlora@eelm.csic.es, ihormaza@eelm.csic.es

³ Pomology Department, Estación Experimental Aula Dei-CSIC, Av. Montañana, 1005, 50059 Zaragoza, Spain, mherrero@ead.csic.es

Resumen

Tradicionalmente, las necesidades de polinización no se han tenido en consideración en el cultivo del albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.) en Europa, ya que la mayoría de las variedades de origen europeo son autocompatibles y, salvo excepciones, no necesitan variedades polinizadoras. Sin embargo, la utilización como parentales en muchos programas de mejora de variedades autoincompatibles procedentes de Norteamérica y Asia ha provocado la introducción reciente de nuevas variedades cuyas necesidades de polinización son desconocidas. El mecanismo de incompatibilidad gametofítica presente en albaricoquero, al igual que en otras especies de las Rosáceas, determina si una variedad es autoincompatible mediante la inhibición del crecimiento de los tubos polínicos a lo largo del estilo, evitando así la fecundación. En este trabajo se ha evaluado el carácter de autoincompatibilidad en un grupo de nuevas variedades procedentes de distintos programas de mejora de albaricoquero mediante autopolinizaciones controladas en laboratorio y la posterior observación del crecimiento de los tubos polínicos mediante microscopía de fluorescencia. Se consideraron autocompatibles aquellas variedades en las que se observó al menos un tubo polínico en la base del estilo de la mayoría de los pistilos, y variedades autoincompatibles aquellas en las que los tubos polínicos se detuvieron a lo largo del estilo sin alcanzar el ovario. Los resultados se relacionan con los alelos *S* de incompatibilidad para determinar las necesidades de polinización de cada variedad y los alelos relacionados con el carácter de autocompatibilidad.

Palabras-clave: alelos *S* de incompatibilidad, ovario, polinización, *Prunus armeniaca*, tubos polínicos

Abstract

In the last years, an important renewal of plant material is taking place in apricot (*Prunus armeniaca* L.). Most traditional European apricot cultivars has been considered self-compatible, however, the use of American and Asian self-incompatible cultivars as parental in some breeding programs has resulted in the introduction of new cultivars with unknown pollination requirements. In Rosaceae, the self(in)compatibility is determined by a Gametophytic Self-Incompatibility system (GSI) that acts through the inhibition of the pollen tube growth along the style, avoiding the fecundation. In this work, self(in)compatibility has been evaluated in a group of new and traditional cultivars by controlled self-pollinations in laboratory and the observation of pollen tube growth under

a fluorescence microscopy. Cultivars were considered as self-compatible when at least one pollen tube reached the base of the style and self-incompatible when the pollen tubes arrested in the style and did not reach the ovary. Results are related to the incompatibility *S*-alleles to determine the pollination requirements of each cultivar and the alleles related to self-compatibility.

Keywords: Incompatibility *S*-alleles, ovary, pollination, *Prunus armeniaca*, pollen tube

Introducción

El albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.) es un árbol frutal perteneciente a la familia Rosaceae. Se originó en Asia Central y se dispersó mundialmente hasta convertirse, dentro del género *Prunus*, en el tercer cultivo de importancia económica a nivel mundial. La distribución actual de las variedades de albaricoquero se puede clasificar en seis grupos ecogeográficos (Layne et al., 1996). La mayoría de las variedades originarias de los grupos Asia Central e Irano-Caucásico son autoincompatibles, sin embargo, gran parte de las variedades europeas han sido tradicionalmente consideradas como autocompatibles (Hormaza et al., 2007).

En Rosáceas la auto(in)compatibilidad está determinada genéticamente mediante un sistema gametofítico (GSI) que actúa mediante la inhibición del crecimiento del tubo polínico en el estilo. Este mecanismo está controlado por el locus multialélico *S*, que codifica dos genes que determinan el genotipo del pistilo y del polen. En el pistilo se expresa como una ribonucleasa, *S*-RNAsa, que determina la especificidad del estilo (Tao et al., 1997) mientras que el determinante del polen es una proteína con una caja-F, denominada SFB (Ushijima et al., 2003). Cuando el alelo *S* del grano de polen es el mismo que uno de los dos alelos expresados en el pistilo, el crecimiento del tubo polínico se detiene evitando la fecundación del ovulo.

En los últimos años se está produciendo una intensa renovación varietal. La utilización de variedades resistentes autoincompatibles procedentes de América como parentales en los programas de mejora con el objetivo de incorporar una fuente de resistencia al virus de la sharka (Hormaza et al., 2007; Zhebentyayeva et al., 2012) ha provocado la introducción de un gran número de variedades de albaricoquero con necesidades de polinización desconocidas. En este trabajo se ha estudiado la auto(in)compatibilidad de 50 variedades de albaricoquero mediante el análisis al microscopio del comportamiento de los tubos polínicos en pistilos de flores autopolinizadas.

Material y métodos

Se han utilizado flores de 50 variedades de albaricoquero de diferentes colecciones y fincas localizadas en Aragón (España). Se recogieron flores en estado de botón globoso de cada variedad, se emascularon y se colocaron en espuma de florista húmeda a temperatura ambiente (Rodrigo & Herrero, 1996). Entre 25-30 flores por variedad fueron polinizadas manualmente con su propio polen y con polen de una variedad compatible, Katy o Canino, que actuó como control. El polen se obtuvo de yemas en estado de botón globoso, de las que se separaron las anteras sin dehisir de sus filamentos y se extendieron sobre papel a temperatura ambiente durante 24 horas hasta su dehiscencia. El polen se coló usando una malla de 0,26 mm de luz. Setenta y dos horas después de la polinización, entre 25 y 30 pistilos de cada cruce se fijaron en etanol: acético (3:1). Para preparar el material para su observación al microscopio, los pistilos se lavaron tres veces con agua destilada y se dejaron en sulfito sódico al 5% a 4°C durante 24 horas. Posteriormente se autoclavaron durante 10 minutos a 1 kg/cm², y se prepararon mediante

aplastamiento (*squash*) y tinción con azul de anilina 0,1 % (v/v) en fosfato potásico 0,1 N para detectar la callosa (Linskens & Esser, 1957).

Resultados y discusión

Los resultados han permitido establecer la autoincompatibilidad o autocompatibilidad de 50 variedades de albaricoquero mediante la observación de tubos polínicos. Se consideraron autocompatibles 21 variedades (Tabla 1), ya que en la mayoría de los pistilos se observaron tubos creciendo a lo largo del estilo y al menos un tubo polínico alcanzó la base del estilo (Figura 1A y B). Los resultados obtenidos para ‘Canino’, ‘Corbato’, ‘Mirlo blanco’, ‘Mitger’, ‘Palsteyn’, ‘Paviot’, ‘Tadeo’ y ‘Tom Cot’ confirman su autocompatibilidad descrita en trabajos previos (Rodrigo & Herrero, 1996; Burgos et al., 1997; Egea et al., 2010; Muñoz-Sanz et al., 2017) mientras que 13 variedades se describieron como autocompatibles por primera vez en este trabajo. Por otro lado, en las flores de 29 variedades los tubos polínicos se detuvieron a lo largo del estilo sin alcanzar el ovario, por lo que se consideraron autoincompatibles (Tabla 1). Se confirma la autoincompatibilidad de ‘Aurora’, ‘Bergarouge’, ‘Goldrich’, ‘Goldstrike’, ‘Harcot’, ‘Hargrand’, ‘Moniqui’, ‘Orange Red’, ‘Robada’, ‘Stark Early Orange’, ‘Sun Glo’ y ‘Veecot’, descrita en trabajos anteriores (Egea & Burgos, 1996; Rodrigo & Herrero, 1996; Burgos et al., 1997; Milatovic et al., 2013a; Milatovic et al., 2013b), mientras que las otras 17 variedades son descritas por primera vez como autoincompatibles. En las variedades autoincompatibles es característico la formación de un tapón en el extremo terminal del tubo polínico debido a la acumulación de callosa cuando el crecimiento se detiene (Figura 1C). Como se esperaba, todas las flores procedentes de cruzamientos con Katy o Canino presentaron tubos polínicos en la base del estilo.

En 8 de las variedades autocompatibles analizadas en este trabajo se ha identificado el alelo *Sc* en trabajos previos [‘Canino’ (Alburquerque et al., 2002), ‘Mirlo blanco’ (Egea et al., 2010), ‘ASF0404’, ‘Corbato’, ‘Paviot’ y ‘Soledane’ (Lora et al., 2017), ‘Mitger’ y ‘Tadeo’ (Muñoz-Sanz et al., 2017)], que se ha relacionado con el carácter de autocompatibilidad en albaricoquero (Vilanova et al., 2006). Sin embargo, las variedades ‘Early Queen’, ‘Golden Sweet’, ‘Katy’, ‘Lorna’, ‘Palsteyn’ y ‘Westley’ se han comportado como autocompatibles y no presentan el alelo *Sc* (Zuriaga et al., 2013; Lora et al., 2017), por lo que se confirma que existen otros alelos *S* relacionados con el carácter de autocompatibilidad.

Más de la mitad de las variedades analizadas (58%) fueron autoincompatibles, un porcentaje muy alto en comparación con la situación de hace unos años en la que la mayoría de las variedades europeas eran autocompatibles (Mehlenbacher et al., 1991), incluyendo la mayoría de las variedades tradicionales (Burgos et al., 1997). Debido a la introducción de nuevas variedades autoincompatibles de diferentes programas de mejora, es necesario conocer las necesidades de polinización a la hora de diseñar nuevas fincas comerciales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) - Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Unión Europea (AGL2013-43732-R); Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) (RFP2015-00015-00, RTA2014-00085-00); Gobierno de Aragón – Fondo Social Europeo, Unión Europea (Grupo Consolidado A-43) y por Agroseguro S.A. Agradecemos a Reyes López la asistencia técnica.

Referencias

- Albuquerque, N., Egea, J., Pérez-Tornero, O. & Burgos, L. 2002. Genotyping apricot cultivars for self-(in)compatibility by means of RNases associated with *S* alleles. *Plant Breeding* 121(4):343–347. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.725292.x>
- Burgos, L., Egea, J., Guerriero, R., Viti, R., Monteleone, P. & Audergon, J.M. 1997. The self-compatibility trait of the main apricot cultivars and new selections from breeding programmes. *J. Hortic. Sci.* 72:147–154.
- Egea, J. & Burgos, L. 1996. Detecting Cross-incompatibility of Three North American Apricot Cultivars and Establishing the First Incompatibility Group in Apricot. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121(6):1002–1005.
- Egea, J., Rubio, M., Campoy, J.A., Dicenta, F., Ortega, E., Nortes, M.D., Martínez-Gómez, P., Molina, A., Molina Jr., A. & Ruiz, D. 2010. “Mirlo Blanco”, “Mirlo anaranjado” and “Mirlo Rojo”: Three new very early-season apricots for the fresh market. *HortScience* 45(12):1893–1894.
- Hormaza, J., Yamane, H. & Rodrigo, J. 2007. “Apricot”. p. 171–185. In: C. Kole (ed.), *Genome mapping and molecular breeding in plants, Vol. 4, Fruit and nuts*. Springer, New York. Springer, Berlin.
- Layne, R.E.C., Bailey, C. & Hough, L.F. 1996. p.79-111. In J. Janick & J. Moore (eds.), *Fruit Breeding, Vol. 1, Tree and Tropical Fruits*. Wiley, New York..
- Linskens, H. & Esser, K. 1957. Über eine spezifische anfarbung der pollenschlauche im griffel und die zahl der kallosepfropfen nach selbstung und fremdung. *Naturwiss* 44:16.
- Lora, J., Hormaza, J.I., Herrero, M. & Rodrigo, J. 2017. Self-incompatibility and *S*-allele identification in new apricot cultivars. *Acta Hort.* In press.
- Mehlenbacher, S.A., Cociu, V. & Hough, F.L. 1991. Apricots (*Prunus*). *Acta Hort.* 290:65–110. doi:10.17660/ActaHortic.1991.290.3.
- Milatovic, D., Nikolic, D., Fotiric-Aksic, M. & Radovic, A. 2013a. Testing of self-(in)compatibility in apricot cultivars using fluorescence microscopy. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 12(6):103–113.
- Milatović, D., Nikolić, D. & Krška, B. 2013b. Testing of self-(in)compatibility in apricot cultivars from European breeding programmes. *Horticultural Science* 40(2):65–71.
- Muñoz-Sanz, J.V., Zuriaga, E., López, I., Badenes, M.L. & Romero, C. 2017. Self-(in)compatibility in apricot germplasm is controlled by two major loci, *S* and *M*. *BMC Plant Biology* 17(1):82. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1027-1>
- Rodrigo, J. & Herrero, M. 1996. Evaluation of pollination as the cause of erratic fruit set in apricot “Moniqui”. *J. Hortic. Sci.* 71:801–805.
- Tao, R., Yamane, H., Sassa, H., Mori, H., Gradziel, T.M., Dandekar, A.M. & Sugiura, A. 1997. Identification of Stylar RNases Associated with Gametophytic Self-Incompatibility in Almond (*Prunus dulcis*). *Plant Cell Physiol.* 38:304–311. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a029167.
- Ushijima, K., Sassa, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M., Tao, R. & Hirano, H. 2003. Structural and Transcriptional Analysis of the Self-Incompatibility Locus of Almond: Identification of a Pollen-Expressed F-Box Gene with Haplotype-Specific Polymorphism. *THE PLANT CELL ONLINE* 15(3):771–781. doi:10.1105/tpc.009290.
- Vilanova, S., Badenes, M.L., Burgos, L., Martinez-Calvo, J., Llacer, G. & Romero, C. 2006. Self-Compatibility of Two Apricot Selections Is Associated with Two Pollen-Part Mutations of Different Nature. *Plant Physiology* 142(2):629–641. <https://doi.org/10.1104/pp.106.083865>

- Zhebentyayeva, T., Ledbetter, C., Burgos, L. & Llacer, G. 2012. Apricot. p. 415-458. In M. Badenes & D. Byrne (eds.), *Fruit Breeding, handbook of plant breeding* 8. Springer, New York.
- Zuriaga, E., Muñoz-Sanz, J.V., Molina, L., Gisbert, A.D., Badenes, M.L. & Romero, C. 2013. An S-Locus Independent Pollen Factor Confers Self-Compatibility in “Katy” Apricot. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053947>

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Variedades autocompatibles y autoincompatibles de albaricoquero y porcentaje de pistilos con tubos polínicos en la base del estilo.

Variedades autocompatibles	Pistilos (%) ^a	Variedades autoincompatibles	Pistilos (%) ^a
ASF0404	91	ASF0401	0
Bergecot	95	ASF0402	0
Canino	100	Aurora	0
Charisma	100	Bergarouge	0
Corbato	98	CA-26 (Almater)	5
Early Queen	90	Durobar	0
Faralia	100	Flodea	0
Flopria	100	Gold Bar	0
Golden Sweet	95	Goldrich	3
Katy	100	Goldstrike	0
Lorna	100	Harcot	0
Mirlo blanco	100	Hargrand	14
Mitger	100	Henderson	15
Palsteyn	100	JNP	5
Paviot	50	Lilly Cot	2
Pricia	100	Magic Cot	0
Soledane	100	Maya Cot	0
Swired	100	Moniqui	6
Tadeo	97	Muñoz	0
Tom Cot	100	Orangered	0
Westley	89	Pandora	4
		Perle Cot	4
		Pinkcot	9
		Robada	0
		Stark E Orange	33
		Stella	23
		Sun Glo	2
		Veecot	3
		Wonder Cot	0

^a: Porcentaje de pistilos con tubos polínicos en la base del estilo. n=25-30.

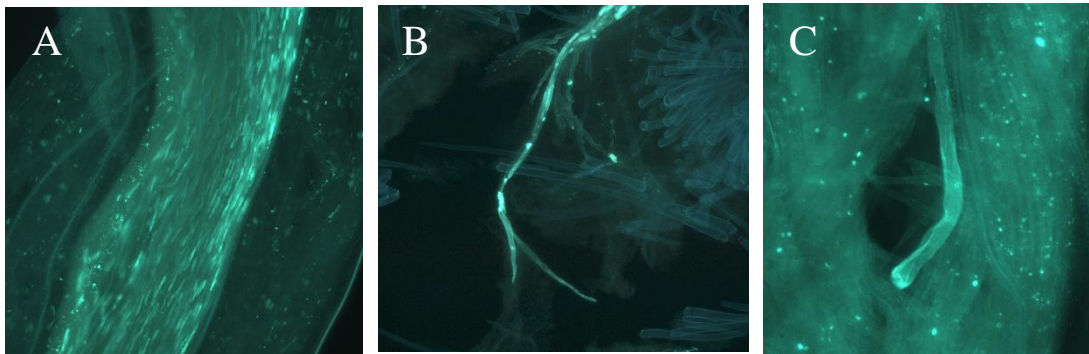


Figura 1 - (A) crecimiento de tubos polínicos en el estilo, (B) llegada de tubos polínicos al ovario, (C) parada de un tubo polínico en el estilo con formación de tapón de callosa.

Respuesta del albaricoquero (*Prunus armeniaca* L) ante el empleo de bionutrientes

M. López-Molina¹ & I. López- Cortés^{1*}

¹Departamento Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera S/N, 46022. Valencia. Spain.*islocor@upv.es

Resumen

Los bionutrientes, se encuentran entre los productos más antiguos empleados en fruticultura, sin embargo, su uso está cobrando cada vez más protagonismo en la agricultura actual ya que tras décadas de prácticas poco respetuosas con el medio ambiente por el uso excesivo de fertilizantes inorgánicos, los agricultores han vuelto a emplear este tipo de productos en base a componentes naturales con el objetivo de satisfacer las necesidades de los cultivos respetando el entorno y atendiendo a la creciente demanda por parte de los consumidores, de productos de calidad. Entendiéndose esta no solo como el aspecto visual, sino que además se encuentre libre de residuos, y por tanto más saludables.

A fin de comprobar el efecto que ejercen los bionutrientes, se han ensayado dos tipos de ellos sobre dos cultivares de albaricoquero, Colorao y Mogador. En principio, el primer producto ensayado (basado en micronutrientes principalmente), actúa como favorecedor del cuajado, mientras que el segundo, (constituido esencialmente por extractos de algas *Ascophyllum nodosum*), es un mejorador del calibre. Para este estudio se ha realizado en primer lugar el seguimiento a la evolución del cuajado, estableciéndose una relación entre el número de flores y el número final de frutos cuajados tras la caída fisiológica. Posteriormente y una vez los frutos han sido recolectados se evalúan los resultados obtenidos como consecuencia de las aplicaciones realizadas en cuanto al calibre y calidad de los frutos, mediante análisis morfométricos y un análisis fisicoquímico básico. Previamente a la evaluación de los resultados obtenidos, ambos cultivares son caracterizados bajo las directrices de la norma UPOV-CPVO específica para albaricoquero TG/70/4.

Ha podido comprobarse el efecto positivo que ha tenido la aplicación de ambos bionutrientes en el cultivar Colorao, ya que con su aplicación no solo se consiguió aumentar el número de frutos finales, sino que además los frutos alcanzaron un calibre mayor y unas buenas características fisicoquímicas. Así mismo se comprueba que producto en base a micronutrientes mejora las características colorimétricas del fruto de Colorado y reduce la acidez de los frutos para el cultivar Mogador.

Palabras clave: Albaricoque, calidad, cuajado, calibre, mejorante.

Abstract

Bionutrients are the oldest products used in fruticulture, however, their use is increasingly taking a leading role in today's agriculture. After decades of environmentally unsound practices due to the excessive use of inorganic fertilizers, Farmers have again used this type of product based on natural components with the aim of meeting the needs of crops respecting the environment and meeting the growing demand from consumers for quality products. Understanding this not only as the visual aspect, but also that it is free of residues, and therefore healthier.

In order to check the effect of bionutrients, two of them have been tested on the cultivars of apricot, Colorao and Mogador. In the beginning, the first, the product tested

(based on micronutrients mainly), acts as favoring the curd, while the second, is a caliber enhancer. For this study, the evolution of the curd was first monitored, a relationship was established between the number of flowers and the final number of the dried fruits after the physiological fall. Subsequently and once the fruits have been collected to obtain the results obtained as a result of the applications made in terms of the caliber and the quality of the fruits, through the morphometric analysis and a basic physicochemical analysis. Prior to the evaluation of the results obtained, both cultivars are characterized under the guidelines of the UPOV-CPVO standard specific for the apricot tree TG/70/4.

It has been verified the positive effect that the use of both bionutrients in the cultivar Colorao has exerted, since with its use it was not only able to increase the number end of the fruits, but also the fruits reached a greater caliber and the good characteristics Physicochemical. Also verify that the product based on micronutrients improves the colorimetric characteristics of the Colorado fruit and reduces the acidity of the fruits for the cultivar Mogador.

Keywords: apricot, quality, curd, caliber, improver.

Introducción

El aumento de la demanda mundial de alimentos lleva a un aumento notable de la producción de los mismos, un ejemplo claro es la producción de frutales de hueso, la cual ha aumentado en los últimos 20 años a casi el doble como se puede observar en gráfico (FAOSTAT, 2014). Este aumento de la producción, ha llevado a crear numerosos programas de mejora genética, con intención de conseguir nuevas variedades con excelentes características no solo agronómicas, sino, también comerciales (Martínez-Calvo et al, 2004).

Este aumento de la demanda hace que se plantee el modo de obtener el máximo rendimiento de los cultivos. Hasta el momento, la agricultura tradicional se ha basado en el uso sin límites de insumos como fertilizantes inorgánicos y fitosanitarios para la obtención de altos rendimientos, ya que, su uso contribuye en gran parte a incrementar el rendimiento de los cultivos. Sin embargo, el afán de producir cantidad, ha desplazado la calidad de los alimentos a un segundo plano, puesto que, un abuso en la utilización de estos productos produce, no solo una pérdida de calidad de los productos agrícolas, sino que también, ocasiona daños al medio ambiente y contribuye a la contaminación de aguas y degradación de los suelos (Tolón y Lastra, 2010). Lo que ha motivado la implantación de Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NIMF) al uso de fertilizantes inorgánicos y fitosanitarios.

Por lo que, para cubrir las necesidades de los cultivos intentando obtener los máximos rendimientos y respetando el entorno, así como las normativas, la agricultura moderna apuesta por el uso de bionutrientes.

Según La Casa (1990), los bionutrientes son sustancias que ejercen funciones biorreguladoras y bioestimuladoras en el desarrollo y crecimiento de las plantas, y contribuyen a mejorar la fertilidad del suelo. Además, su utilización mejora la absorción por parte de la planta de los nutrientes y la eficiencia de estos, obteniendo un beneficio para la planta mejorando su respuesta a los estreses bióticos y abióticos, lo que se traduce según Du Jardin (2015) en una mejora del desarrollo de las plantas, el vigor y el rendimiento de los cultivos.

En el caso de los frutales de hueso, como el albaricoquero, su cultivo presenta elevadas necesidades nutricionales en floración y fructificación, donde, en ocasiones, la fertilización edáfica no cubre las necesidades de estos cultivos (Molina, 2002). Ya que la capacidad de los suelos para aportar nutrientes esenciales y la capacidad de estos para

producir, se ha visto notablemente reducida como consecuencia del abuso de fertilizantes inorgánicos y fitosanitarios (Labrador, 1996). Con la aplicación de estos productos se consigue aumentar el desarrollo de microorganismos del suelo por lo que se mejoran las características de este, la calidad de los frutos se ve favorecida y además se minimizan los residuos en toda la cadena alimentaria (LIDA, 2017).

En base a los antecedentes, el objetivo del presente estudio es evaluar el comportamiento en las etapas de crecimiento y desarrollo de los cultivos, los rendimientos y la calidad de los frutos bajo el efecto de los bionutrientes, donde se han ensayado dos bionutrientes en dos cultivares de albaricoquero, ya que se trata de un cultivo con elevada importancia económica en las últimas décadas. (FAOSTAT, 2014).

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo a lo largo de la duración total del ciclo del albaricoquero en el año 2016, en una finca de Abarán (Murcia), la cual cuenta con dos cultivares de albaricoquero, Colorao y Mogador, sobre los que se ensayó la aplicación de dos productos bionutrientes, cuyo efecto sobre el cultivo es la estimulación del cuajado y aumento de la calidad de los frutos. Estos productos presentan una base de elementos esenciales con ligandos naturales en su formulación y aminoácidos. El bionutriente 1 se trata de una disolución acuosa estable a base de extractos de algas de la especie *Ascophyllum nodosum*, que junto a un contenido equilibrado de nutrientes otorga un efecto vigorizante al cultivo (contenido y riquezas: boro-0.25%, cobalto-0.02%, hierro-0.5%, manganeso-0.7%, molibdeno-0.05% y zinc-0.5%, todos ellos solubles en agua). En cuanto al bionutriente 2, se trata de una disolución acuosa, con presencia de fósforo y potasio, que actúa como favorecedor del cuajado de los frutos (contenidos y riquezas: fósforo-20%, boro-0.02%, hierro-0.10%, manganeso-0.20%, molibdeno-2.5% y zinc-0.2%).

Para la aplicación de los productos la parcela se dividió en tres partes, y cada una de ellas recibió un tratamiento, se llevó a cabo un total de 4 repeticiones de las aplicaciones. Las dosis de aplicación son las recomendadas por el fabricante, 250 mL/hL para el bionutriente 1, 350 mL/hL para el bionutriente 2 y 0 mL/hL para los testigos.

Una vez realizadas las aplicaciones, se procedió a la toma de datos. Inicialmente se realizó un seguimiento a la evolución del cuajado, para ello se seleccionaron al azar 100 ramos mixtos de cada cultivar y tratamiento aplicado. Durante los meses de marzo, febrero y mayo se realizó un seguimiento a estos ramos, donde se contabilizaron el número de flores existentes por ramo y posteriormente el número de frutos cuajados persistentes en el ramo tras la caída fisiológica del fruto.

Posteriormente se procedió a la caracterización de los frutos de cada cultivar bajo las directrices de la norma UPOV-CPVO (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales), en la que se caracterizaron flores, frutos y endocarpios. Según Salazar y Puertas (1995), esta caracterización resulta imprescindible para entender el comportamiento y la aptitud de los cultivares además de para la certificación de materiales vegetales para su libre circulación en la Unión Europea.

Una vez realizada la caracterización se estudia el efecto de la aplicación de los bionutrientes para lo que se realizó un análisis morfométrico al fruto donde se obtuvieron datos de peso, altura, y diámetro tanto de los frutos como de los endocarpios, firmeza y el color del fruto, y un análisis químico básico al zumo de los frutos, donde se valora el contenido en sólidos solubles, la acidez y el índice de madurez, este análisis nos proporcionara información de la calidad organoléptica del fruto, que como manifiestan Valcárcel-Resal et al (1998), se trata de un principio fundamental para la aceptación de esta fruta por el consumidor.

Resultados

En la evaluación del efecto de los bionutrientes sobre el cuajado de los frutos, se comprueba que el bionutriente 2, aumenta significativamente el número final de frutos cuajados para el cultivar Colorado, presentando, además, un mayor número de frutos cuajados en la parte central del ramo, donde según Gil-Albert (2003), la producción es mayor en la especie *Prunus armeniaca* L. A pesar de que el bionutriente 2, es un favorecedor del cuajado, en las condiciones de ensayo no se ha conseguido el mismo efecto en el cultivar Mogador.

Los resultados obtenidos en la caracterización de ambos cultivares se ajusta a los descritos en las fichas varietales consultadas del obtentor de los mismos (PSB Producción Vegetal, 2010).

Como primer resultado, cabe destacar que los frutos del cultivar Mogador, presentan un calibre mayor que los frutos de Colorao para las condiciones de ensayo, estos resultados no son concordantes a los descritos por Melgarejo et al (2013).

En cuanto a la valoración de los efectos de los bionutrientes sobre el calibre de los frutos, bajo la aplicación de los bionutrientes se determina que la aplicación del bionutriente 1 ha resultado positiva en ambos cultivares, ya que, aumenta considerablemente los caracteres altura del fruto, ancho ventral y lateral, y por tanto se obtiene un peso y calibre mayor de los frutos (Cuadro 1), esto se debe a que se trata de un activador de la producción, que además, mejora la calidad de los frutos proporcionándoles un mayor calibre. En cuanto a la firmeza de los frutos, la aplicación del bionutriente 1, presenta un aumento de la firmeza de ambos cultivares, mientras que la aplicación del bionutriente 2, solo consigue aumentar la firmeza de los frutos del cultivar Colorado.

Tras la realización del análisis estadístico de los datos obtenidos de los endocarpios, se comprueba que los resultados son muy similares a los obtenidos en el análisis de los frutos, ya que la aplicación del bionutriente 1, no solo afecta al tamaño de los frutos, sino que ejerce el mismo efecto en los endocarpios.

Independientemente de los tratamientos aplicados, el contenido en sólidos solubles es similar en ambos cultivares. Sin embargo, en el estudio de la acidez se ha podido comprobar como la aplicación del bionutriente 2, aumenta el porcentaje de acidez de los frutos Colorao y lo disminuye en los frutos del cultivar Mogador, para las condiciones de estudio. En cuanto al efecto sobre la maduración del fruto, la aplicación de los bionutrientes sobre el cultivar Colorado, no ha presentado diferencias significativas frente a los frutos que no han sido tratados, pero si se observan diferencias en el cultivar Mogador, donde la aplicación del bionutriente 2, aumenta significativamente el índice de madurez. En el cuadro 2, recoge un resumen de los datos obtenidos en este análisis químico.

En el análisis al color externo del fruto, la aplicación del bionutriente 2 mejora las características colorimétricas de los frutos del cultivar Colorao, mientras que para el cultivar Mogador, ninguna de las aplicaciones supone una mejora de estas características para las condiciones de ensayo.

Conclusiones

Como puede observarse en la figura 1, tras la caracterización del fruto, se construye una PCA, en la que se muestra como el tamaño de los frutos es mayor en el caso del cultivar Mogador, frente al cultivar Colorao. Además, este grafico es muy intuitivo para analizar los efectos de los bionutrientes sobre los frutos.

En el estudio de la evolución del cuajado bajo la aplicación de los tratamientos, se concluye que, el ensayo del bionutriente 1, no ha resultado tener un efecto positivo del

cuajado, puesto que en ambos cultivares se ha visto reducido. No obstante, este producto ha conseguido aumentar el tamaño final de los frutos en el cultivar Colorado

La aplicación del bionutriente 2, solo ha resultado tener un efecto positivo sobre el cultivar Colorao, ya se consigue un aumento del número final de frutos cuajados. Sin embargo, la aplicación de este producto no presenta efecto sobre el calibre de los frutos en los cultivares utilizados, ya que se trata de un estimulador del cuajado.

Referencias

- Du Jardin, P. 2015. Plants biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196: 3-14.
- Food and Agricultural Organization. 2005. www.fao.org
- Food and Agricultural Organization. 2014. www.fao.org
- Gil-Albert, F. 2003. Tratado de arboricultura frutal. Vol. V. Mundi-Prensa. Madrid.
- La Casa, A. 1990. Fertilización de origen biológico. CIDA.
- Labrador, J. 1996. La materia orgánica en los agrosistemas. Mundi Prensa Libros S.A.
- Lida Plant Research. 2017. www.lidaplantresearch.com
- Martínez-Calvo, J.; Badenes, M. L. & Llácer, G. 2004. Estado actual del programa de mejora genética del albaricoquero (*Prunus armeniaca* L) en la Comunidad Valenciana. *Fruticultura Profesional*, 144:11
- Melgarejo, P.; Calín-Sánchez, A.; Carbonell-Barrachina, A.; Martínez-Nicolás, J. J.; Legua, P.; Martínez, R. & Hernández, F. 2013. Antioxidant activity, volatile composition and sensory profile of four new very-early apricots (*Prunus armeniaca* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94: 85-94.
- Molina, E. 2002. Bioestimulantes en fertilización foliar. P 107-124. In: Universidad de Costa Rica (eds.), Fertilización foliar: principios y aplicaciones.
- PSB Producción Vegetal. 2010. www.psbproduccionvegetal.com.
- Salazar, D.M. & Puertas, J. 1995. Caracterización pomológica del albaricoquero (*Prunus armeniaca* L). *Fruticultura Profesional*, 73: 24-31.
- Tolón, A. & Lastra, X. 2010. Agricultura intensiva en el poniente almeriense, diagnóstico e instrumentos de gestión ambiental. *Revista electrónica de medioambiente*. UCM, 8:18-40.
- Valcárcel-Resalt, G.; Ruíz Altisent, M.; Valero, C. & Barreiro, P. 1998. Parámetro de calidad organoléptica en albaricoque. *Fruticultura profesional*, 96: 112-117.

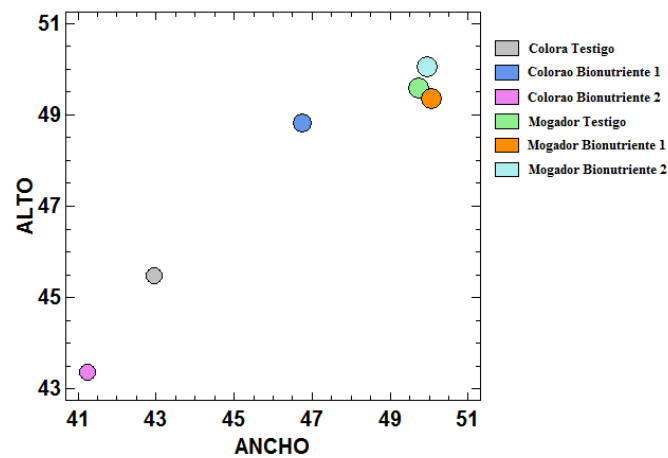
Cuadros y Figuras

Cuadro 1 - Valores medios de las medidas realizadas a los frutos de los cultivares Colorao y Mogador. Donde: Testigo (T), Bionutriente 1 (B1) y Bionutriente 2 (B2).

		Peso (g)	Alto (mm)	Ancho lateral (mm)	Ancho ventral (mm)	Cavidad peduncular (mm)	Dureza pulpa (kg)
Colorao	T	47,80 ± 7,92	45,47 ± 2,81	42,97 ± 2,99	41,31 ± 2,80	7,65 ± 0,68	1,68 ± 0,29
	B1	59,26 ± 8,47	48,83 ± 2,46	46,78 ± 2,52	43,84 ± 2,19	9,36 ± 1,26	2,04 ± 0,78
	B2	42,74 ± 7,78	42,81 ± 4,09	41,26 ± 2,92	38,86 ± 2,71	6,01 ± 1,33	2,56 ± 0,63
Mogador	T	65,87 ± 7,33	49,58 ± 2,33	49,74 ± 1,89	46,43 ± 2,31	9,46 ± 1,13	2,91 ± 0,82
	B1	67,88 ± 12,62	49,36 ± 2,58	50,06 ± 3,01	46,04 ± 2,60	6,93 ± 1,64	3,20 ± 0,80
	B2	66,23 ± 8,49	50,06 ± 2,01	49,95 ± 2,32	46,33 ± 2,32	9,47 ± 1,33	2,39 ± 0,68

Cuadro 2 - Propiedades químicas básicas de los cultivares Colorao y Mogador. Donde: Testigo (T), Bionutriente 1 (B1) y Bionutriente 2 (B2).

		Sólidos solubles (°Brix)	Acidez (%)	Índice de madurez
Colorao	T	11,92 ± 0,19	2,30 ± 0,12	5,19 ± 0,30
	B1	11,7 ± 0,50	2,43 ± 0,16	4,84 ± 0,52
	B2	11,76 ± 0,62	2,68 ± 0,12	4,40 ± 0,38
Mogador	T	11,44 ± 0,44	1,36 ± 0,11	8,45 ± 0,86
	B1	11,66 ± 0,46	1,45 ± 0,06	8,05 ± 0,22
	B2	11,86 ± 0,65	1,22 ± 0,12	9,76 ± 0,69

**Figura 1** - PCA de tratamientos y cultivares de acuerdo a sus dimensiones y peso de los frutos.

Aptitud agronómica y de calidad de la colección de pecanero en las Vegas del Guadiana (Extremadura, España)

G., Domínguez¹; F., Pérez- Gragera¹, F., Balas¹, M.J., Serradilla², M., López- Corrales¹.

¹CICYTEX. Finca 'La Orden'. Departamento de Hortofruticultura. A-V km 374, 06187, Guadajira, Badajoz, España.

²INTAEX- CICYTEX. Área de Vegetales. Avenida Adolfo Suárez s/n - 06007 Badajoz, España.

Resumen

El sector frutícola extremeño es muy dinámico y demanda la búsqueda de nuevas alternativas que permitan diversificar la oferta frutal y mejorar las rentas de los agricultores. Por ello, en el año 2010 se estableció en la Finca 'La Orden' del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, una colección de 19 cultivares de pecanero (*Carya illinoensis* Koch). Esta especie de la familia Juglandaceae, es un árbol de hoja caduca procedente de las zonas templadas de Norteamérica que produce una nuez deliciosa, nutritiva y altamente energética. El objetivo de este trabajo es determinar el comportamiento agronómico y de calidad de estos cultivares en las Vegas del Guadiana (Extremadura, España). Para este estudio se ha realizado la toma de datos de vigor, tipo de porte, densidad de ramificación y el seguimiento de la floración ya que las flores están separadas por sexo en el árbol y su maduración no es coincidente en el tiempo. Una vez en producción, se ha estudiado la fecha de recolección, la producción (kg/árbol) de los frutos húmedos el día de la recolección y la producción (kg/árbol) una vez secados en invernadero durante 5 días, el peso medio de 10 frutos (húmedos y secos), y el peso de los kernels (húmedos y secos), así como su rendimiento (relación entre el kernel y la cáscara de los frutos). Todos los cultivares iniciaron su entrada en producción en el año 2013, si bien 'Osage', 'Wichita', 'Mohawk' y 'Cape Fear' han mostrado una rápida entrada en producción con valores superiores a 4 kg/árbol en 2014. En relación a la fecha de maduración, 'Osage' y 'Pawnee' fueron los más tempranos, recolectándose en la última semana de Octubre, siendo 'Houma' y 'Desirable' los más tardíos, cuyos frutos se recolectaron en la tercera semana de noviembre. Los cultivares de mayores producciones acumuladas para el periodo 2014-2016 fueron 'Osage', 'Mohawk' y 'Cape Fear' con valores de 18.5, 17.6 y 13.7 kg/árbol respectivamente. Por otro lado, 'Mohawk' presentó en la campaña 2016 el mayor peso seco de 10 frutos y kernels (con 88.9g y 47.2g respectivamente) siendo el cultivar 'Queen Elizabeth' el de mayor rendimiento de fruto con un 55.9%. Estos resultados preliminares ponen de manifiesto el interés de determinados cultivares de pecanero para su cultivo en las Vegas del Guadiana.

Palabras- clave: *Carya illinoensis*, producción, fenología, peso, kernel.

Abstract

Fruit sector in Extremadura is dynamic and demands the search of new insights that allows to diversify the offer and to improve producer incomes. Because of this, in 2010, a collection of 19 cultivars of pecan hickory (*Carya illinoensis* Koch) was established in Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura orchards located in Finca 'La Orden'. This tree species belonging to Juglandaceae family is a deciduous tree native to the temperate zones of North America that produces a delicious, nutritious and highly energetic nut. The aim of this work is to assess agronomic behaviour and nut quality of these cultivars in the Guadiana Lowlands (Extremadura,

Spain). Agronomic traits such entry into production, yield, tree vigour, branch density and flowering date (since male and female flowers bloom at different time), were took into account. The quality traits nut size, nut weight (fresh and after 5 days of drying) and kernel/nutshell ratio were also considered. All cultivars entered into production in 2013. Cultivars ‘Osage’, ‘Wichita’, ‘Mohawk’, and ‘Cape Fear’ reached higher values in 2014 providing yields over 4 kg/tree. Concerning production season, ‘Osage’ and ‘Pawnee’ were the earliest, ripening by the last week of October, whereas ‘Houma’ and ‘Desirable’ were the latest, ripening by the third week of November. Cultivars with greater accumulated yield for the period 2014-2016 were ‘Osage’, ‘Mohawk’, and ‘Cape Fear’ with 18.5, 17.6 and 13.7 kg/tree respectively. Besides, ‘Mohawk’ showed higher dried weight in 2016 with 10 nuts and kernels weighting 88.9 47.2 g. ‘Queen Elizabeth’ had better kernel/nut ratio, achieving 55.9% efficiency. These preliminary results evidenced that some pecan cultivars are suitable for commercial planting in Extremadura.

Keywords: *Carya illinoensis*, germplasm, flowering, ripening, yield, kernel weight.

Introducción

En Extremadura el sector frutícola, concentrado en las Vegas del Guadiana, es muy dinámico y demanda el estudio de nuevas alternativas con especies de fácil manejo agronómico y cuyos frutos sean demandados en los mercados internacionales. En este contexto se plantea el estudio del pecanero (*Carya illinoensis* Koch), especie perteneciente a la familia Juglandaceae y nativa del sur de Estados Unidos, extendiéndose por Texas y Norte de México. Se cultiva en zonas de clima templado con veranos calurosos y secos y con otoños no muy lluviosos. Estados Unidos y México concentran el 92% de la producción mundial, cuyas producciones en la campaña 2015/16 superaron las 52 y 40 mil toneladas métricas de kernel respectivamente, seguido de Sudáfrica con 5.380 toneladas y Australia con 1.716 toneladas (Nuts & Dried Fruits Global Statistical Review 2015-16). En la elección de los cultivares de pecanero, además de los aspectos productivos y de calidad, hay tener en cuenta aspectos fenológicos ya que en las flores se encuentran separadas por sexos en el árbol y la liberación del polen y la receptividad del estigma femenino no siempre están sincronizadas. Por todo ello, el objetivo de este trabajo es determinar el comportamiento agronómico y de calidad de la colección de pecanero en las Vegas del Guadiana (Extremadura) para seleccionar los cultivares más productivos, con frutos de buena calidad, resistentes a enfermedades y adaptados a la zona de cultivo.

Material y métodos

En el año 2010 se estableció en la Finca ‘La Orden’ del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), una colección de 19 cultivares de pecanero con plantones de un año de injerto, que fueron cedidas por el IRTA de Mas de Bover (Tabla 2). Esta colección incluye 4 árboles/cultivar a un marco de 8 x 6 m. El sistema de riego fue por goteo con 2 goteros autocompensantes de 4 l/h y árbol durante los 4 primeros años, duplicándose los goteros por árbol hasta la actualidad. El volumen anual de agua aplicado se calcula en unos 2500 m³/ha distribuidos en base a la climatología desde mediados de abril a finales de septiembre.

A cada uno de los cultivares se le realizó el seguimiento de la floración: fecha inicial y final de la dehiscencia de las anteras de las flores masculinas y de la receptividad del estigma de las flores femeninas. Una vez iniciada la maduración de los frutos se han realizado las siguientes determinaciones en cada una de los cultivares: fecha inicio de maduración, producción total (kg), producción por árbol (kg/árbol) el día de la recolección (frutos húmedos) y producción por árbol (kg/árbol) una vez secados en

invernadero durante 5 días (frutos secos). También se ha determinado el peso medio de 10 frutos húmedos y secos, y el peso medio del kernel, así como el rendimiento medio calculado como la relación entre el kernel y la cáscara de los frutos.

Resultados y discusión

La Figura 1 muestra el calendario de la floración de los cultivares de pecanero durante el periodo 2014-2016 que en las Vegas del Guadiana abarca desde el 28 de abril al 24 de mayo. Los cultivares Desirable, Pawnee, Houma, Osage, Cado, Cape Fear y Oconee presentan protandria, es decir, la maduración del polen de las flores masculinas precede a la receptividad del estigma de las flores femeninas. El resto de cultivares estudiados presenta protoginia, es decir, la receptividad del estigma de las flores femeninas es anterior a la maduración del polen del mismo cultivar. También, se observan diferencias en la amplitud del periodo de receptividad y maduración de las flores femeninas y del grano de polen respectivamente, oscilando entre los 12 días en las flores femeninas de 'Pawnee' y los amentos de 'Osage' y Cado' y 4 días en los amentos de 'Oconee'. Por otro lado, se han puesto de manifiesto diferencias entre variedades en relación a esta falta de sincronía entre flores de una misma variedad. Así, en el cultivar Sioux las flores femeninas empiezan a ser receptivas a partir del sexto día, una vez finalizada la maduración del polen de las flores masculinas. En cambio, en los cultivares Pawnee, Osage y Stuart se ha observado una elevada sincronía entre las flores femeninas y masculinas, de forma que sea posible la polinización de estas flores con el polen de su misma variedad. Sin embargo, dada esta falta de sincronía entre la mayoría de las flores de una misma variedad y teniendo en cuenta que la polinización se realiza por el viento (anemófila), es muy importante determinar qué variedades deben plantarse juntas para una adecuada polinización y cuajado de los frutos.

La Tabla 1 muestra los cultivares estudiados ordenados por la fecha media de recolección, así como las producciones anuales y las acumuladas (kg/árbol) de cada uno de ellos durante el periodo 2014-2016. El periodo de recolección abarca desde mediados de septiembre a primeros de noviembre, siendo el cultivar Sioux el más temprano seguido de 'Pawnee' y 'Osage', cuyos frutos son recolectados en la segunda quincena de septiembre. 'Houma' y 'Desirable' son los más tardíos, con recolecciones en la primera semana de noviembre. En relación a la entrada en producción, todos los cultivares iniciaron la producción de frutos en el año 2014, observándose diferencias en cuanto a la rapidez de entrada en producción: 'Osage', 'Wichita', 'Mohawk' y 'Cape Fear' fueron las de mayor rapidez con producciones superiores a 4 kg/árbol. En cambio, 'Desirable', 'Kiowa' y 'Houma' no alcanzaron 1 kg/árbol en el año 2014.

En cuanto a las producciones medias obtenidas en el año 2016 (correspondiente al 6º año de plantación), destaca 'Cape Fear' con 9 kg/árbol, seguida de 'Mohawk' y 'Churriana-2' con 8.5 kg/árbol cada una de ellas. Si bien, en las producciones acumuladas en el periodo de estudio destacan 'Osage', 'Mohawk' y 'Cape Fear' con valores de 18.5, 17.6 y 17.3 respectivamente. En Chile, la producción media de árboles de quince años de plantación puede estimarse entre 20 y 40 kg /árbol según la variedad, dependiendo la producción por hectárea del número de árboles y del manejo de la plantación (Ibacache, AG *et al*, 2001). Estos mismos autores, en el Valle de Choapa (IV Región, Chile), obtuvieron producciones al cuarto año de 600 kg/ha en 'Wichita' a un marco de 9x7 m (Ibacache, AG *et al*, 2001), muy inferiores a las obtenidas en este estudio con producciones al cuarto año de unos 940 kg/ha a un marco de 8x6 m. Por otro lado, en China las plantaciones de 8 años con este marco de plantación, tienen un rendimiento medio de unos 1000 kg/ha, valores superados en este ensayo a los 6 años de cultivo con los cultivares que superan los 5 kg/ha (Zhang *et al.*, 2015).

La Tabla 2 muestra, para el periodo de estudio (2014-2016), el peso medio de 10 frutos secos después de 5 días en invernadero, así como el peso medio de 10 kernels, el rendimiento calculado como la relación entre el kernel y la cáscara de los frutos y el número de pecanas por kilogramos. En cuanto al tamaño de fruto, destacan los cultivares Mohawk, Shosoni y Queen Elizabeth con pesos medios de 10.5, 9.8 y 9.5 g respectivamente. En esta especie, la determinación del tamaño se basa en el número de pecanas por kilogramo, considerándose que los cultivares que requieren más de 173 nueces para alcanzar un kilogramo son inaceptables para la venta en cáscara y deben ser comercializados como nuez partida. En este estudio, todos los cultivares excepto Sioux presentaron valores inferiores a 173 pecanas por kg y, por consiguiente, pueden ser comercializadas en cáscara, destacando la variedad Mohawk con 95 frutos en un kg.

En cuanto al rendimiento del fruto, según la bibliografía los cultivares de pecano comercialmente aceptables son aquellos que tienen frutos con un porcentaje de semilla superior al 55 por ciento. Los cultivares 'Pawnee', 'Sioux', 'Mohawk' y 'Wichita' han mostrado valores medios superiores para el periodo de estudio 2014-2016.

Conclusiones

Los resultados de comportamiento agronómico y de calidad obtenidos en este estudio, han puesto de manifiesto el potencial de determinados cultivares de pecanero como especie frutícola en las Vegas del Guadiana, en suelos relativamente profundos y con buena disponibilidad hídrica, ya que es un árbol de gran desarrollo y con un profundo sistema radicular. Además, para alcanzar producciones comerciales es necesario un adecuado programa de técnicas de cultivo, especialmente en riego y fertilización. En sucesivas campañas se estudiarán además otros atributos de calidad de los frutos descritos en la norma mexicana (NMX-FF-093-SCFI-2011), lo que permitirá seleccionar los cultivares más adecuados para esta zona de cultivo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FRUCITEX y fondos FEDER así como por el Grupo de Investigación AGA001 de la Junta de Extremadura. M. López-Corrales es beneficiaria de un contrato financiado por la Comunidad Autónoma de Extremadura y fondos FEDER (TA13040).

Referencias

- Ibacache, G., Lemus, G., Negrón, C. and Contreras, M. 2001. Pecano. En: Lemus G. (Ed.). Frutales de nuez no tradicionales: macadamia, pistacho, pecano, avellano europeo. Serie Actas N°07. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Nut& Dried Fruits Global Statistical Review 2015-16. <http://www.nutfruit.org/wp-content/uploads/2016/05/Global-Statistical-Review-2015-2016.pdf>
- Zhang, R., Peng, F., Li, Y. 2015. Review: Pecan production in China. *Scientia Horticulturae* 197: 719–727.

Tabla 1 - Fecha media de recolección, producciones anuales (Kg/árbol) y producciones acumuladas de los cultivares estudiados en el periodo 2014-2016.

VARIEDAD	Fecha media maduración (2014-2016)	2014 (Kg/árbol)	2015 (Kg/árbol)	2016 (Kg/árbol)	Producción acumulada (Kg/árbol)
APACHE	23-oct	2,6	4,2	4,2	11,0
BILEM T-4	11-oct	2,1	5,5	6,0	13,5
CADO	09-oct	3,3	5,1	5,6	14,0
CAPE FEAR	21-oct	4,1	4,3	9,0	17,3
CHURRIANA-2	24-oct	2,2	2,6	8,5	13,3
CHURRIANA-5	17-oct	1,1	3,0	6,0	10,1
DESIRABLE	05-nov	0,4	0,7	3,2	4,2
HOUMA	01-nov	0,9	2,3	4,9	8,1
KIOWA	28-oct	0,6	7,2	6,5	14,2
MOHAWK	18-oct	4,2	4,9	8,5	17,6
OCONEE	19-oct	1,3	1,4	3,6	6,3
OSAGE	26-sep	4,6	6,4	7,6	18,5
PAWNEE	25-sep	2,9	4,1	7,0	14,0
QUEEN ELIZABETH	21-oct	2,9	3,4	6,3	12,6
SALOPEK	12-oct	1,7	5,0	4,3	10,9
SHOSHONI	09-oct	3,0	4,3	5,0	12,3
SIOUX	16-sep	1,1	5,8	2,9	9,8
STUART	21-oct	1,4	2,9	3,5	7,8
WICHITA	24-oct	4,5	4,2	6,3	14,9

Tabla 2 - Pesos medios de 10 frutos, Pesos medios de 10 kernels, Rendimiento medio y Número de frutos/kg de los cultivares estudiados en el periodo 2014-2016.

VARIEDAD	Peso seco 10 frutos g	Peso seco 10 kernels g	Rendimiento	Nº frutos/kg
APACHE	77,4	40,4	52	130
BILEM T-4	70,0	33,1	48	143
CADO	59,5	37,7	54	167
CAPE FEAR	84,3	40,9	49	119
CHURRIANA-2	86,2	39,5	46	116
CHURRIANA-5	73,1	37,3	51	137
DESIRABLE	83,9	41,0	49	119
HOUMA	73,2	34,0	46	137
KIOWA	91,7	50,0	54	109
MOHAWK	104,7	58,0	55	95
OCONEE	88,1	46,8	53	114
OSAGE	57,8	29,1	50	172
PAWNEE	82,3	47,9	58	122
QUEEN ELIZABETH	94,8	50,8	54	105
SALOPEK	76,8	41,3	51	130
SHOSHONI	98,0	50,5	52	102
SIOUX	54,9	31,2	57	182
STUART	77,0	35,9	46	130
WICHITA	81,2	44,3	56	123

Predicción del volumen de manzanas de variedad Golden Delicious usando visión artificial y técnicas avanzadas de inteligencia computacional

Sajad Sabzi¹, Yousef Abbaspour-Gilandeh¹, Victor Manuel García-Amicis², Ginés García-Mateos², José Miguel Molina-Martínez³

¹Department of Biosystems Engineering, College of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, sajadsabzi2@gmail.com, abbaspour@uma.ac.ir

²Computer Science and Systems Department, University of Murcia, 30100 Murcia, Spain, victormanuel.garcial@um.es, ginesgm@um.es

³Food Engineering and Agricultural Equipment Department, Technical University of Cartagena, 30203 Cartagena, Spain, josemiguel.molina.martinez@gmail.com

Resumen

Conocer el calibre de las frutas es una necesidad importante en diferentes partes de los procesos de manipulación, transporte y comercialización, con el fin de colocarlas en paquetes adecuados a su tamaño. Existen dos tipos de métodos para clasificar frutas por volumen: los directos y los indirectos. Los primeros realizan una medición directa del volumen, ya sea por medios mecánicos o electrónicos. Por otro lado, los métodos indirectos, analizando de forma adecuada los datos extraídos mediante procesamiento de imágenes de las frutas, pueden llegar a tener la misma o mayor precisión y son mucho menos costosos que los directos. En consecuencia, en este artículo se presenta un método novedoso para la estimación del volumen de manzanas (*Malus domestica* L. var. Golden Delicious), basado en técnicas avanzadas de inteligencia computacional como las redes neuronales artificiales (ANN), los algoritmos genéticos (GA) y el método híbrido de optimización de enjambre de partículas (PSO). En primer lugar, se extraen características de las imágenes, como área, perímetro, excentricidad, canales rojo, verde y azul, rugosidad, contraste, textura, longitud, anchura, y ratios longitud-área, anchura-área y anchura-longitud. Después se aplica análisis de componentes principales (PCA) para reducir mucho el número de dimensiones, evitando que se pierda información significativa. Para ajustar de forma óptima los parámetros de los métodos ANN, GA y PSO, se utilizó el método de *robustificación* de Taguchi. El mejor ajuste de estas técnicas demostró tener un coeficiente de determinación R^2 de 0,997, alcanzando un error medio absoluto de 0,016, para unos datos de volumen normalizados entre +1 y -1. Esto supone, por lo tanto, una excelente precisión, que ayudará a abaratar los costes de procesamiento de las manzanas.

Palabras clave: procesamiento de imágenes; estimación de volumen; redes neuronales; algoritmos genéticos; enjambre de partículas.

Abstract

Knowing the caliber of fruits is an important necessity in different parts of the processes of transport, storage and commercialization, with the aim of grouping those of similar size and packing them properly. In order to classify agricultural products based on their volume, both direct and indirect methods can be used. Methods in the first group perform a direct measure of the objects volume, which can be done by mechanical or electronic means. On the other hand, indirect methods estimate the volume of the products based on non-direct measures, such as using image processing techniques. These methods can be very effective when the extracted data is analyzed with appropriate algorithms,

and they can be significantly faster and less expensive. Consequently, this article presents a novel method for estimating the volume of apples (*Malus domestica* L. var. Golden Delicious), based on advanced computational intelligence techniques such as Artificial Neural Networks (ANN), Genetic Algorithms (GA) and the hybrid Particle Swarm Optimization (PSO) method. Firstly, image characteristics such as area, perimeter, eccentricity, red, green and blue channels, roughness, contrast, texture, length, width and length-area, width-area and width-length ratios are extracted. Then, principal components analysis (PCA) is applied to reduce the number of such dimensions, preventing significant loss of information. The parameters of the ANN, GA and PSO methods were optimally adjusted using Taguchi's *robustification* method. The best fit of these techniques proved to achieve a coefficient of determination R^2 of 0.997, reaching an absolute mean error of 0.016 for normalized volume data between +1 and -1. Therefore, this represents an excellent accuracy, which will help to lower the processing costs of apples.

Keywords: image processing; volume estimation; neural networks; genetic algorithms; particle swarm optimization.

Introducción

Con el fin de evitar daños a las frutas durante los procesos de transporte y comercialización, los productos tienen que ser colocados en paquetes de tamaños adecuados por similitud de calibre. Por ello, la clasificación automática de la fruta por calibre es un problema muy importante y al cual se ha dedicado mucha investigación, con el objetivo de conseguir sistemas precisos, robustos, rápidos y de coste reducido.

Por ejemplo, Kavdir y Guyer (2004) presentaron un sistema para calibrar manzanas usando características texturales. Para ello compararon redes neuronales artificiales (*artificial neural networks*, ANN) con métodos estadísticos, logrando resultados muy precisos. Algunos autores han aplicado imágenes multispectrales para realizar medidas indirectas de productos alimenticios. Por ejemplo, Leiva-Valenzuela et al. (2013) predijeron el contenido de sólidos solubles y la firmeza de los arándanos utilizando un sistema de imágenes de reflectancia hiperespectral. Este sistema se aplicó para obtener imágenes hiperespectrales a partir de un conjunto de 302 arándanos en extremos de tallo y cáliz, en el rango espectral de 500-1000 nm.

La estimación de masa con visión por ordenador también ha sido estudiada por diferentes autores, como Sabzi et al. (2013), que la aplicaron a la predicción de la masa de naranjas de variedad Bam usando inteligencia computacional. Shin et al. (2012) emplearon un algoritmo de marcas de agua (*watershed*) y un modelo de clasificación logística para estimar la masa y el tamaño de los cítricos post-cosecha. Se desarrollaron modelos de regresión logística y algoritmos de clasificación basados en píxeles para detectar frutos en imágenes de cítricos. Además, aplicaron un nuevo método denominado algoritmo de recuperación de áreas altamente saturadas (*highly saturated area recovering algorithm*, HSAR) para evitar errores de clasificación, derivados de áreas con alta saturación en regiones cítricas y no cítricas. Este algoritmo evitó la necesidad de usar operaciones de rellenado de huecos.

Tong et al. (2013) trataron la aplicación de técnicas de visión por computador para evaluar la calidad de las plántulas utilizando su área foliar, que se considera un indicador de calidad fiable. El área foliar se midió en cada imagen utilizando también el algoritmo de marca de agua. La precisión obtenida en la clasificación siempre fue superior al 95%. Finalmente, Marchal et al. (2013) estimaron el nivel de impurezas en diferentes muestras de aceite de oliva. Diseñaron un método de reconocimiento de patrones para determinar la proporción de impurezas en tres conjuntos diferentes de muestras de aceite de oliva,

con el fin de estimar la calidad del proceso de separación utilizado para extraer el aceite. Los histogramas de los canales en los espacios de color HSV, L*a*b* y RGB se utilizaron para extraer características, que se utilizaron como entrada para el clasificador. La mejor tasa obtenida con ANN fue del 82,4%, mientras que el método de *kernel* PCA alcanzó un 87,7% de precisión.

El objetivo de la presente investigación es predecir el volumen de manzanas de la variedad Golden Delicious mediante el uso de procesamiento de imágenes y una combinación híbrida de métodos de inteligencia computacional. La propuesta incluye PCA para la reducción de la dimensionalidad de las características de entrada, ANN para la regresión del volumen de las manzanas, el método de Taguchi para afinar algunos parámetros de la ANN, y el método metaheurístico PSO-GA (*particle swarm optimization-genetic algorithm*) para el entrenamiento de la ANN. El sistema de clasificación propuesto es capaz de obtener una estimación muy precisa del volumen de las manzanas, utilizando solo información visual.

Materiales y métodos

Obtención de muestras

Para llevar a cabo los experimentos descritos en este trabajo, se seleccionaron aleatoriamente un total de 100 manzanas (*Malus domestica* L. var. Golden Delicious) y se transfirieron al Laboratorio de Mecánica del Departamento de Maquinaria Agrícola de la Universidad Razi de Kermanshah, Irán. Las muestras seleccionadas, obtenidas de un huerto en el norte de Irán (longitud 47.03°E; latitud 34.3°N), estaban sanas y libres de cualquier lesión. El volumen se midió utilizando el método de desplazamiento de agua (Aydin y Özcan, 2007). En este procedimiento, cada manzana se sumerge en un volumen conocido de agua, midiendo el volumen de agua desalojada. Este método proporciona valores precisos que se utilizan más tarde como valor base para los experimentos de estimación.

Sistema de captura de imágenes

La captura se realizó con una cámara digital (Bosch, Portugal) con un capturador de imagen (Pinnacle, China) conectado al PC. Este PC tiene instalado Microsoft Excel 2013 y el software MATLAB R2014b. Las imágenes se capturaron con una resolución de 352 × 288 píxeles. Aunque la cámara es capaz de capturar a mayor resolución, este tamaño es suficiente para el tipo de características que se extraerán de las imágenes. La cámara estaba situada en el centro del sistema de adquisición de imágenes, a una distancia de 10 cm de altura de la muestra. Para la adquisición de imágenes se seleccionaron luces blancas (tipo LED) con una intensidad luminosa de 50,33 cd.

Extracción de características con procesamiento de imágenes

Después de capturar las imágenes, se aplicó un algoritmo de procesamiento de imagen eficiente para extraer 14 características de forma y color de cada muestra. El conjunto de características obtenidas para cada objeto segmentado son: perímetro, área, excentricidad, contraste, anchura, longitud, textura, rugosidad, valores medios de color rojo, verde y azul y relaciones longitud-área, anchura-área y anchura-longitud. Todas estas medidas se basan en una segmentación previa manzana/fondo mediante histogramas de color. Utilizando un fondo oscuro, se pudo observar que los píxeles correspondientes a la fruta y al fondo pueden distinguirse claramente por sus valores típicos en los canales RGB, siendo el canal R es el más apropiado para segmentar las manzanas con precisión. Los filtros Laplacianos y el detector de bordes Canny se aplicaron para eliminar píxeles de ruido (Gonzalez et al., 2004).

Métodos estadísticos y computacionales

En el análisis de imágenes y la estimación de la masa de las manzanas se usaron diversas técnicas estadísticas y de inteligencia computacional. Como se explicó anteriormente, las tuplas de entrada que describen cada objeto segmentado tienen 14 parámetros, por lo que resulta adecuado y conveniente realizar una reducción de la dimensionalidad. En este sentido, el análisis de componentes principales (PCA) es una herramienta estadística ampliamente utilizada para este propósito. En concreto, se realizó una reducción mediante PCA de la tupla de 14 valores a 3 dimensiones.

A continuación, se desarrolló el método de regresión sobre estas tuplas para obtener la estimación precisa de la masa de las manzanas. El componente clave de este método es una red neuronal artificial (ANN), que consiste en un conjunto de capas ocultas, 3 entradas y 1 salida continua. Esta es una técnica clásica conocida como perceptrón multicapa (MLP), que es entrenada usando el algoritmo *backpropagation*.

Este tipo de regresores se basan en una serie de parámetros que deben ajustarse convenientemente, como el número de capas ocultas, el número de neuronas por capa, la función de transferencia de la red y la función de retropropagación utilizada en el entrenamiento. Para ello, algunos autores han propuesto utilizar algoritmos metaheurísticos en el entrenamiento de la ANN, de modo que los parámetros de la red también se modifican durante el proceso de entrenamiento. Este es el caso del método recientemente propuesto por Garg (2016), que combina optimización de enjambre de partículas (*particle swarm optimization*, PSO) y algoritmos genéticos (GA). PSO es un algoritmo biológicamente inspirado para encontrar soluciones óptimas a problemas complejos. Cada partícula representa una posible solución al problema, en nuestro caso una combinación de los parámetros de configuración de la ANN. Por otro lado, los GA también están inspirados en procesos biológicos de combinación, mutación y supervivencia. En este caso, cada partícula cambia aleatoriamente en un número predefinido de formas aplicando operadores de combinación y mutación. Después los mejores especímenes sobrevivirán para las iteraciones siguientes.

Adicionalmente se aplica el enfoque propuesto por Taguchi, que resulta de utilidad cuando existe un gran conjunto de variables de decisión que deben ajustarse dentro de un pequeño conjunto de experimentos (Karna y Saha, 2012). El método considera factores controlables e incontrolables (ruido), buscando determinar el valor óptimo de los primeros para reducir la variación producida por los segundos, con el fin de lograr un diseño de parámetros basado en la idea de *robustificación*. Hay dos herramientas principales a utilizar para este método, un array ortogonal (OA) de los parámetros y la relación señal-ruido (SNR) de los mismos.

Resultados y discusión

El rendimiento del método híbrido propuesto basado en PSO-GA-ANN, se estudió a través de una serie de experimentos. Para ello se seleccionaron seis factores y tres niveles para cada uno, como se presenta en la Tabla 1. La correcta selección de estos parámetros tiene una gran influencia en la precisión del método, por lo que la forma en que se comportan los parámetros es un objetivo importante de investigación. Para ello se utilizó el método de Taguchi, como ya se ha descrito. Los experimentos fueron implementados en MATLAB R2014b, ejecutado en un procesador Intel® Core™ i3 2.27 GHz PC con 4GB de RAM. La matriz ortogonal de 6 factores, con 3 niveles por factor, tiene un total de 27 elementos. A modo de ejemplo del experimento, en la Tabla 2 se presentan algunos resultados, es decir, los errores cuadráticos medios (MSE) para cada selección de parámetros. Como resultado final, el número óptimo de neuronas en la

primera capa fue de 7, en la segunda capa 2, número de iteraciones 400, porcentaje de cruce 0,7, porcentaje de mutación 0,1 y tamaño de enjambre 200.

En definitiva, los resultados de predicción de volumen para este ajuste óptimo del método híbrido PSO-GA-ANN se ilustran en la Figura 1. El modelo demuestra una buena capacidad de aprendizaje para el caso de estudio. Además, logró una excelente capacidad de generalización en la predicción del volumen de las manzanas Golden Delicious. Estos resultados representan un coeficiente de determinación R^2 de 0,997, alcanzando un error medio absoluto de 0,016, para unos datos de volumen normalizados entre +1 y -1. El resultado del análisis de regresión se muestra en la Figura 2.

En la Figura 3 se muestra un esquema del sistema de clasificación por calibre. Las manzanas se sitúan en la cinta transportadora, donde la cámara toma fotos conforme van pasando. Las imágenes capturadas se envían para análisis por el algoritmo desarrollado. Una vez realizado el análisis, los frutos son separados en tres líneas diferentes, correspondientes a volumen grande, medio y pequeño.

Conclusiones

En este estudio se ha propuesto un método de regresión basado en un esquema híbrido de optimización estocástica con PSO, GA y ANN, aplicado a la predicción del volumen de manzanas de variedad Golden Delicious. Para lograr una predicción de alta precisión, se han aplicado una serie de técnicas avanzadas. El análisis de componentes principales (PCA) es útil para conseguir reducir el número de dimensiones y evitar una pérdida significativa de información. Este método disminuyó el volumen y aumentó la precisión y la velocidad de cálculo. Por otro lado, el ajuste de los parámetros del regresor híbrido PSO-GA-ANN se realizó utilizando el método de Taguchi, que permite seleccionar la configuración óptima de un elevado número de parámetros mediante un número reducido de experimentos. Finalmente, para la utilización industrial de este sistema deben cuidarse una serie de aspectos relacionados con la captura: utilizar una cámara con una buena óptica y resolución, ajustar el sistema de iluminación para una correcta visualización de las frutas, y utilizar un fondo oscuro para simplificar la segmentación de los objetos de interés.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el MINECO español, así como por fondos FEDER de la comisión europea, bajo el proyecto TIN2015-66972-C5-3-R.

Referencias

- Aydın, C. & Özcan, M. M. 2007. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food Engineering* 79: 453-458.
- Garg, H. 2016. A hybrid PSO-GA algorithm for constrained optimization problems. *Applied Mathematics and Computation*, 274, 292-305.
- Gonzalez, R.C., Woods, R.E. & Eddins, S.L. 2004. *Digital Image Processing Using MATLAB*: Prentice Hall.
- Karna, S. K. & Sahai, R. 2012. An overview on Taguchi method. *International Journal of Engineering and Mathematical Sciences*, 1(1), 1-7.
- Kavdir, I. & Guyer, D.E. 2004. Comparison of artificial neural networks and statistical classifiers in apple sorting using textural features. *Biosystem Engineering* 89 (3) 331–344.

- Leiva-Valenzuela, G.A., Lu, R. & Aguilera, J.M. 2013. Prediction of firmness and soluble solids content of blueberries using hyperspectral reflectance imaging. *Journal of Food Engineering* 115: 91-98.
- Marchal, P.C., Gila, D.M., García, J.G. & Ortega, J.G. 2013. Expert system based on computer vision to estimate the content of impurities in olive oil samples. *Journal of Food Engineering* 119: 220–228.
- Sabzi, S., Javadikia, P., Rabani, H. & Adelkhani, A. 2013. Mass modeling of Bam orange with ANFIS and SPSS methods for using in machine vision. *Measurement* 46: 3333–3341.
- Shin, J.S., Lee, W.S. & Ehsani, R. 2012. Postharvest citrus mass and size estimation using a logistic classification model and a watershed algorithm. *Biosystems Engineering* 113: 42-53.
- Tong, J.H., Li, J.B. & Jiang, H.Y. 2013. Machine vision techniques for the evaluation of seedling quality based on leaf area. *Biosystem Engineering* 115: 369-379.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Parámetros en el ajuste de la ANN y en la aplicación de los algoritmos PSO y GA.

Factor	Descripción	Niveles
A	Número de neuronas en la primera capa	3, 5, 7
B	Número de neuronas en la segunda capa	2, 4, 6
C	Máximo número de iteraciones	200, 400, 600
D	Porcentaje de combinación	0.7, 0.8, 0.9
E	Porcentaje de mutación	0.1, 0.15, 0.2
F	Tamaño (población) del enjambre	50, 100, 200

Tabla 2 - Fragmento del array ortogonal (OA) de parámetros, L_{27} , creado por el método de Taguchi, y el error cuadrático medio (MSE) para cada elección.

# Prueba	Parámetro						MSE
	A	B	C	D	E	F	
1	1	1	1	1	1	1	0.003972
2	2	2	1	1	1	1	0.002243
3	3	3	1	1	1	1	0.002853
4	1	1	2	2	2	1	0.000990
5	2	2	2	2	2	1	0.003418

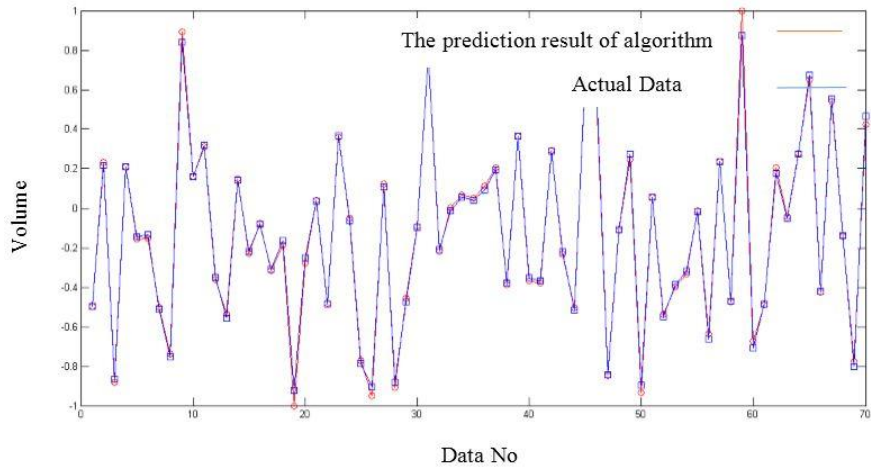


Figura 1 - Resultados experimentales de la predicción del volumen de 70 manzanas.

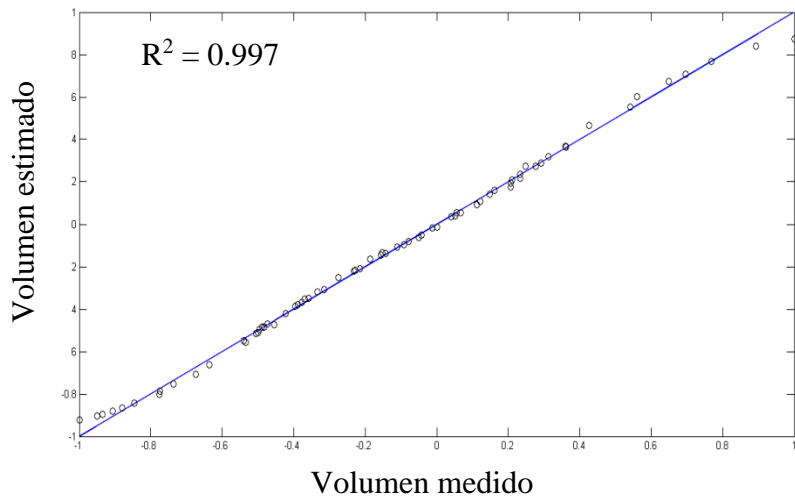


Figura 2 - Resultado del análisis de regresión entre el volumen medido y el estimado.

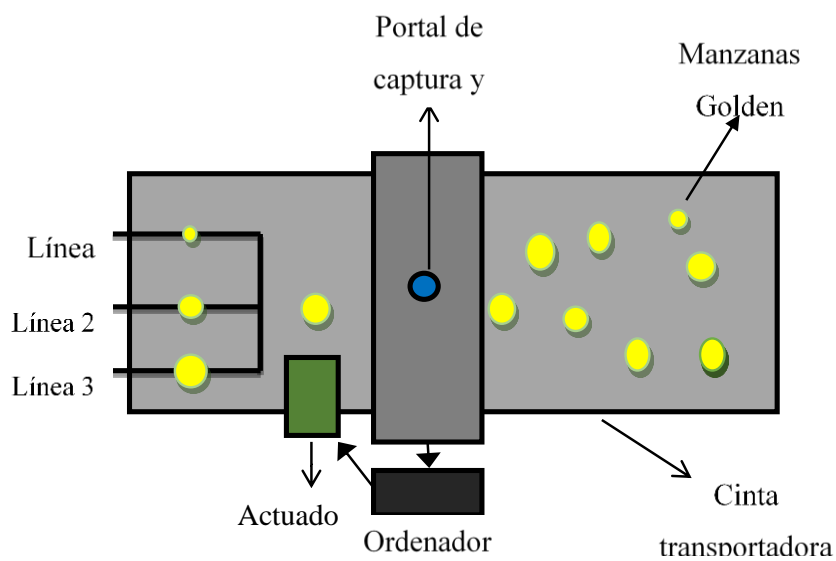


Figura 3 - Esquema gráfico del sistema de clasificación de manzanas por calibrado usando visión artificial.

Regulación de la biosíntesis de antocianinas en *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, cv. sanguinelli

L. Díaz¹, J. Martínez-Nicolás², A. Conesa², I. Porras³, A. Ortuño¹, A. Celdrán¹, J.A. Del Río¹

¹Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. E-30100, Murcia, España.

²Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández. E-03312, Orihuela, Alicante, España. agustin.conesa@goumh.umh.es

³Departamento de Citricultura. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario (IMIDA). La Alberca, Murcia, España.

Resumen

El género *Citrus* se caracteriza por acumular diferentes compuestos fenólicos, especialmente flavonoides y cuyos efectos beneficiosos para la salud humana ha sido ampliamente demostrado. Dentro de las naranjas dulces, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, encontramos unas variedades llamadas naranjas rojas o sanguinas, cuyo nombre es debido a la presencia de unos pigmentos rojizos y solubles en agua, llamados antocianos. Los principales compuestos fenólicos presentes en estas variedades incluyen a flavanonas como hesperedina e isonaringina, flavonas como diosmina, sinensetina, nobiletina y tangeretina, y antocianinas como cianidina 3-glucósido, delfinidina 3-glucósido y peonidina 3-(6"-malonil glucósido). Los antocianos son potentes antioxidantes, por lo que se les atribuye una gran variedad de usos medicinales, debido su poder anticancerígeno, al desempeñar un papel regulador en las rutas de señalización celular en mecanismos apoptóticos, así como de crecimiento y diferenciación celular, además presentan actividad antiinflamatoria y anti-ateroesclerosis.

En la presente comunicación se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la biosíntesis de antocianinas en frutos de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, cv. Sanguinelli durante la fase de maduración de los frutos. Mediante técnicas de análisis de expresión génica (RT-PCR) se han determinado los niveles de transcripción de diversos enzimas implicados en la ruta de biosíntesis de los flavonoides en dichos frutos, como chalcona sintasa, flavonoide-3-hidroxilasa, dihidroflavonol-4-reductasa, antocianidina sintasa y glutatión-S-transferasa. El nivel de expresión de estas actividades enzimáticas se ha correlacionado con los contenidos totales de antocianinas. Los resultados obtenidos revelan que la expresión de estos flavonoides se inicia entre los meses de octubre y noviembre, y que determinados enzimas como antocianidina sintasa, dihidroflavonol-4-reductasa y glutatión-S-transferasa sufren unos mayores incrementos en los niveles de expresión, por lo que podrían estar implicadas en la regulación de la biosíntesis de estos compuestos fenólicos pigmentados en las naranjas sanguinas.

Palabras clave: flavonoides, chalcona sintasa, flavonoide 3-hidroxilasa, antocianina sintasa, maduración.

Abstract

The genus *Citrus* is characterized by accumulation of different phenolic compounds, especially flavonoids and whose beneficial effects to human health has been amply demonstrated. Within the sweet oranges, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, we find some varieties called red or sanguine oranges, their name is due to the presence of reddish and water soluble pigments, called anthocyanins. The major phenolic compounds present in

these varieties include flavanones such as hesperedin and isonaringin, flavones such as diosmin, sinensetin, nobiletin and tangeretin, and anthocyanins such as cyanidin 3-glucoside, delphinidine 3-glucoside and peonidine 3- (6"-malonyl glucoside). Anthocyanins are potent antioxidants, so they are attributed a wide variety of medicinal uses, due to their anticancer power, by playing a regulatory role in cellular signaling pathways in apoptotic mechanisms, as well as cell growth and differentiation, in addition to anti-inflammatory and anti-atherosclerosis activities have been demonstrated.

In this paper the results obtained in the study of the biosynthesis of anthocyanins in fruits of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, cv. Sanguinelli during the ripening phase of the fruits. The transcriptional levels of various enzymes involved in the biosynthesis pathway of flavonoids in these fruits, such as chalcone synthase, flavonoid-3-hydroxylase, dihydroflavonol-4- reductase, anthocyanidin synthase and glutathione-S-transferase. The level of expression of these enzymatic activities has been correlated with the anthocyanins total contents. The results obtained reveal that the expression of these flavonoids starts between october and november, and that certain enzymes such as anthocyanidin synthase, dihydroflavonol-4-reductase and glutathione-S-transferases undergo greater increases in expression levels, which could be involved in the regulation of the biosynthesis of these pigmented phenolic compounds in the sanguine oranges.

Key words: flavonoids, chalcone synthase, flavonoid 3-hydroxylase, anthocyanin synthase, ripening.

Introducción

El género *Citrus* es uno de los cultivos más relevantes a nivel mundial, cuya producción es superior a los 100 millones de toneladas por año. Este hecho se debe, en parte, a la gran cantidad de compuestos bioactivos beneficiosos para la salud humana (Bernardi et al., 2010) que presentan los frutos de esta planta. Dentro del género *Citrus*, cabe destacar la naranja sanguina, cuyos frutos son muy ricos en metabolitos secundarios, entre los que cabe destacar los carotenoides, vitamina C o flavonoides del tipo de las flavanonas, flavonas y antocianinas. Las principales flavanonas presentes en estos cítricos son hesperidina, naringina, entre otros. En relación a las flavonas presentes, éstas se pueden encontrar como formas glicosiladas y como aglicones, presentando estas últimas una gran variedad de compuestos con su estructura frecuentemente multisustituida por grupos hidroxilo y/o metoxilos, destacando escutelareina, sinensetina, tangeretina, nobiletina y heptametoxiflavona (Del Río et al., 2004; Nogata et al., 2006). Las antocianinas son una clase de flavonoides, solubles en agua y con una pigmentación rojiza, y en estos frutos las principales antocianinas detectadas incluyen a cianidina y sus derivados, peonidina, delphinidina y petunidina. Cabe destacar su enorme actividad como antioxidantes, reconocida en innumerables estudios, además de actuar como captadores de radicales libres, presentan actividad antilipoperoxidantes. Pueden actuar como sustancias moduladoras del proceso de carcinogénesis, así como antiinflamatorios y antiaterogénicos (Nogata et al., 2006; Barreca et al., 2011; Chaudhary et al., 2012; Barreca et al., 2013; Di Donna et al., 2013; Del Rio et al., 2014).

La ruta biosintética de las antocianinas es una rama importante de la ruta general de biosíntesis de los fenilpropano (Figura 1). En general, desde la fenilalanina hasta las antocianinas, la vía biosintética puede dividirse en tres fases: etapas iniciales de la ruta de los fenilpropano, etapas tempranas de la ruta de los flavonoides y etapas tardías de la ruta de las antocianinas específicas. Los pasos iniciales de la vía fenilpropanoide incluyen tres etapas consecutivas de fenilalanina a través de ácido cinámico y ácido p-cumárico a 4-cumaroil CoA, que son catalizadas por fenilalanina amonioliasa (PAL), cinamato-4-hidroxilasa (C4H) y 4-cumaroil CoA: Ligasa (4CL), respectivamente. Los primeros pasos

de la ruta de los flavonoides están catalizadas por chalcona sintasa (CHS), flavanona 3-hidroxilasa (F3H), respectivamente, y como resultado, se produce dihidroflavonol, caracterizado por un grupo hidroxilo en C3 del anillo C. Los últimos pasos de la ruta de las antocianinas incluyen las conversiones de los dihidroflavonoles a través de leucoantocianidinas hasta antocianidinas así como las modificaciones adicionales de antocianidinas, glicosilaciones y acilaciones. Los pasos de dihidroflavonoles a antocianidinas se catalizan consecutivamente por dihidroflavonol reductasa (DFR) y antocianidina sintasa (ACS, también llamada leucoantocianidina dioxigenasa, LDOX) (Shi y Xie, 2014). Los glucósidos de flavonoides, incluyendo las antocianinas, son generalmente transportados dentro de la vacuola. El mecanismo de transporte es menos conocido que el de ruta biosintética, pero el más establecido implica el transporte de antocianinas a través de una proteína similar a la glutatión S-transferasa (GST).

La ruta de biosíntesis de las antocianinas ha sido ampliamente estudiada en diferentes materiales vegetales, sin embargo existe poca información sobre la características y control de los enzimas claves de esta ruta de biosíntesis en naranjas sanguinas. En la presente comunicación se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la biosíntesis de antocianinas en frutos de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, cv. Sanguinelli durante la fase de maduración de los frutos. Mediante técnicas de análisis de expresión génica (RT-PCR) se han determinado los niveles de transcripción de diversos enzimas implicados en la ruta de biosíntesis de los flavonoides en estos frutos, como chalcona sintasa, flavonoide-3-hidroxilasa, dihidroflavonol-4-reductasa, antocianidina sintasa, UDP-glucosa flavonoide glucosiltransferasa y glutatión-S-transferasa.

Material y métodos

Material Vegetal

El material vegetal empleado en este estudio ha consistido en naranjas del grupo de las sanguinas, concretamente naranja Sanguinelli (*C.sinensis* (L) Osbeck, cv “Sanguinelli”). El cultivar “Sanguinelli”, es la variedad de naranja sanguina más cultivada actualmente, originada en España por mutación espontánea de naranja Doble Fina (Soler, 1999). Para la realización del presente ensayo se emplearon 5 árboles adultos de unos 20 años de edad. Todos ellos están injertados sobre mandarina Cleopatra (*C. reshni* Hort. Ex Tanaka), a un marco de plantación de 5 x 4 metros. Todos los árboles del ensayo se encuentran localizados en la finca experimental del Instituto de Investigación Agrario y Alimentario (IMIDA), en La Alberca (Murcia). Se tomaron muestras mensuales de los 5 árboles, considerando cada árbol como unidad de muestreo, desde finales de junio (frutos inmaduros) hasta finales de marzo (plena madurez), para determinar los cambios en los contenidos en antocianinas durante el desarrollo y maduración del fruto. De cada árbol o unidad de muestro se cogieron al azar 8 frutos, 2 por cada una de las orientaciones del árbol, recogidos en todas las alturas del árbol en una vuelta completa, en el exterior e interior del mismo, para unificar las zonas más soleadas y las menos.

Extracción cuantificación de antocianos totales

Para la extracción de antocianos se exprimieron 8 frutos y se homogeneizó el zumo. Seguidamente se centrifugó durante 30 minutos a 1500 rpm y se filtró a través de lana de vidrio. Una vez centrifugado y filtrado el zumo, se toma una alícuota de 500 µl de zumo y se mezcló con 9.5 ml de metanol con HCl (1% v/v). Para la cuantificación de las antocininas totales se determinó la absorbancia a 530 nm con un espectrofotómetro UNICAM UV500 (Rapisarda et al., 2000). Para cuantificar la cantidad de antocianinas presente en la muestra, se realizó una recta patrón con diferentes concentraciones de

cianidina 3-glucósido. De esta manera se obtuvo el correspondiente coeficiente de conversión para determinar la cantidad de antocianos presentes en cada muestra.

Extracción de RNA total y síntesis de cDNA

Para el aislamiento de RNA total, el material vegetal (inflorescencia, fruto inmaduro o pulpa de fruto maduro), fue congelado en nitrógeno líquido y luego triturado mecánicamente. Para la extracción de RNA total se utilizó el kit RNeasyPlant Mini Kit (Qiagen, Países Bajos) y se trató posteriormente con DNasa (Recombinat DNase I, Takara, Japón) para eliminar cualquier contaminación con ADN genómico, y posteriormente se verificó que la calidad del RNA fuera óptima ($Abs_{260} / 280 \geq 1,9$ y $Abs_{260} / 230 \geq 1,9$).

Análisis de la expresión por RT-PCR.

El cDNA fue sintetizado utilizando el kit High Capacity RNA to cDNA (Applied Biosystems, California, USA). Las secuencias de los primers utilizados para el análisis de los niveles de transcripción de los diferentes enzimas estudiados fueron los descritos por Bernardi et al., 2010, para chalcona sintasa (CHS), flavanona 3-hidroxilasa (F3H), glutatión-S-transferasa (GST) y el factor de elongación 1α , mientras que para dihidroflavonol 4-reductasa (DFR) y UDP-glucosa flavonoide glucosiltransferasa (UFGT) se utilizaron los descritos por Lo Piero et al., 2006. Los análisis de PCR cuantitativa se realizaron por triplicado sobre placas de 96 pocillos usando 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, California, USA). Cada reacción, con un volumen total de 20 μ l, contenía 10 μ l de SYBR Green 2x (Takara), 100 ng de cDNA y cada primer a una concentración de 0.4 μ M. El programa para la reacción fue el siguiente: estado inicial de activación a 95 ° C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos de tres fases (95 ° C durante 5 segundos, 60 ° C durante 30 segundos y 72 ° C durante 30 segundos) y una fase final de elongación de 2 minutos a 72 ° C. La expresión relativa de cada gen se determinó con el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak y Schmittgen, 2001), usando el factor de elongación 1α como gen de referencia endógeno.

Resultados y discusión

Evolución en el contenido de antocianinas durante el desarrollo y maduración de frutos de Sanguinelli.

La Figura 2 muestra la evolución en el contenido de antocianinas en Sanguinelli durante un ciclo completo de desarrollo y maduración de los frutos. En ella se puede observar que la acumulación de antocianinas comienza cuando el fruto ha alcanzado su máximo tamaño y las temperaturas ambientales comienzan a bajar. Se ha descrito que bajas temperaturas inducen la biosíntesis y acumulación de antocianinas (Lo Piero et al., 2005). Los máximos niveles se alcanzan en el mes de febrero, produciéndose posteriormente un descenso de los contenidos en antocianos, posiblemente asociado a un proceso degradativo.

Análisis de expresión de genes implicados en la ruta de biosíntesis de antocianinas en frutos durante el desarrollo y maduración de los frutos.

Con vistas a profundizar en el conocimiento sobre la regulación de la biosíntesis de antocianinas en frutos de Sanguinelli se determinó como variaba el nivel de expresión de los enzimas implicados en esta ruta biosintética, procediéndose a establecer la correlación con el contenido total de antocianos durante el desarrollo y maduración de los frutos. Para ello se seleccionaron los siguientes enzimas: chalcona sintasa (CHS), implicada en la síntesis de la primera estructura flavonoide; flavonoide-3-hidroxilasa (F3H) implicada en la hidroxilación en la posición 3 para sintetizar los flavonoles; dihidroflavonol-4-reductasa (DFR), implicada en la síntesis de las leucoantocianinas; antocianidina sintasa (ACS) que genera la primera antocianidina; UDP-glucosa

flavonoide glucosiltransferasa (UFGT) implicada en la glicosilación de las antocianidinas para formar las antocianinas; y glutatión-S-transferasa (GST) implicada en el transporte a través de membranas para su acumulación en la vacuola. En la Figura 2 (A-F), se muestran los aumentos en los niveles de transcripción para los diferentes genes durante parte del desarrollo (julio a noviembre) y maduración. En ella puede observarse cómo la activación de estos genes coinciden con el inicio de la biosíntesis de antocianos.

En cuanto a los aumentos en los niveles de transcripción de los diferentes genes, todos muestran un aumento en los niveles de transcripción, destacando los responsables de las actividades ACS, DFR y GST, que sufren aumentos por encima de 1200, 1700 y 10000 veces respecto a los niveles basales observados. De estos resultados podemos concluir que los enzimas ACS, DFR y GST son clave en la regulación de la biosíntesis de antocianinas en el fruto en Sanguinelli.

Referencias

- Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U. & Gattuso, G. 2011. Flavonoid profile and radical-scavenging activity of Mediterranean sweet lemon (*Citrus limetta* Risso) juice. *Food Chemistry* 129: 417-422.
- Barreca, D., Bisignano, C., Ginestra, G., Bisignano, G., Bellocco, E., Leuzzi, U. & Gattuso, G. 2013. Polymethoxylated, C- and O-glycosyl flavonoids in tangelo (*Citrus reticulata* × *Citrus paradisi*) juice and their influence on antioxidant properties. *Food Chemistry* 141: 1481-1488.
- Bernardi, J., Licciardello, C., Russo, M.P., Chiusano, M.L., Carletti, G., Recupero, G.R. & Marocco, A. 2010. Use of a custom array to study differentially expressed genes during blood orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) ripening. *Journal of Plant Physiology* 167:301-310.
- Chaudhary, P., Jayaprakasha, G.K., Porat, R. & Patil, B.S. 2012. Degreening and postharvest storage influences 'Star Ruby' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) bioactive compounds. *Food Chemistry* 135: 1667-1675.
- Del Río, J.A., Fuster, M.D., Gómez, P., Porrás, I., García-Lidón, A. & Ortuño, A. 2004. *Citrus limon*: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry* 84: 457-461.
- Di Donna, L., Taverna, D., Mazzotti, F., Benabdelkamel, H., Attya, M., Napoli, A. & Sindona, G. 2013. Comprehensive assay of flavanones in citrus juices and beverages by UHPLC-ESI-MS/MS and derivatization chemistry. *Food Chemistry* 141: 2328-2333.
- Livak, K.J & Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. *Methods* 25:402-408.
- Lo Piero, A.R., Puglisi, I. & Petrone, G. 2006. Gene characterization, analysis of expression and in vitro synthesis of dihydroflavonol 4-reductase from *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Phytochemistry* 67: 684-695.
- Lo Piero, A.R., Puglisi, I., Rapisarda, P. & Petrone, G. 2005. Anthocyanins accumulation and related gene expression in red orange fruit induced by low temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9083-9088.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M. & Ohta, H. 2006. Flavonoid Composition of Fruit Tissues of *Citrus* Species. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 70: 178-192.
- Rapisarda, P., Fanella, F. & Maccarone, E. 2000. Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanins in Blood Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2249-2252.

- Shi, M.Z. & Xie, D.Y. 2014. Biosynthesis and metabolic engineering of anthocyanins in *Arabidopsis Thaliana*. *Recent Patents on Biotechnology* 8:47-60.
- Soler, J. 1999. Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. Valencia: Generalitat Valenciana, Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Tablas y Figuras

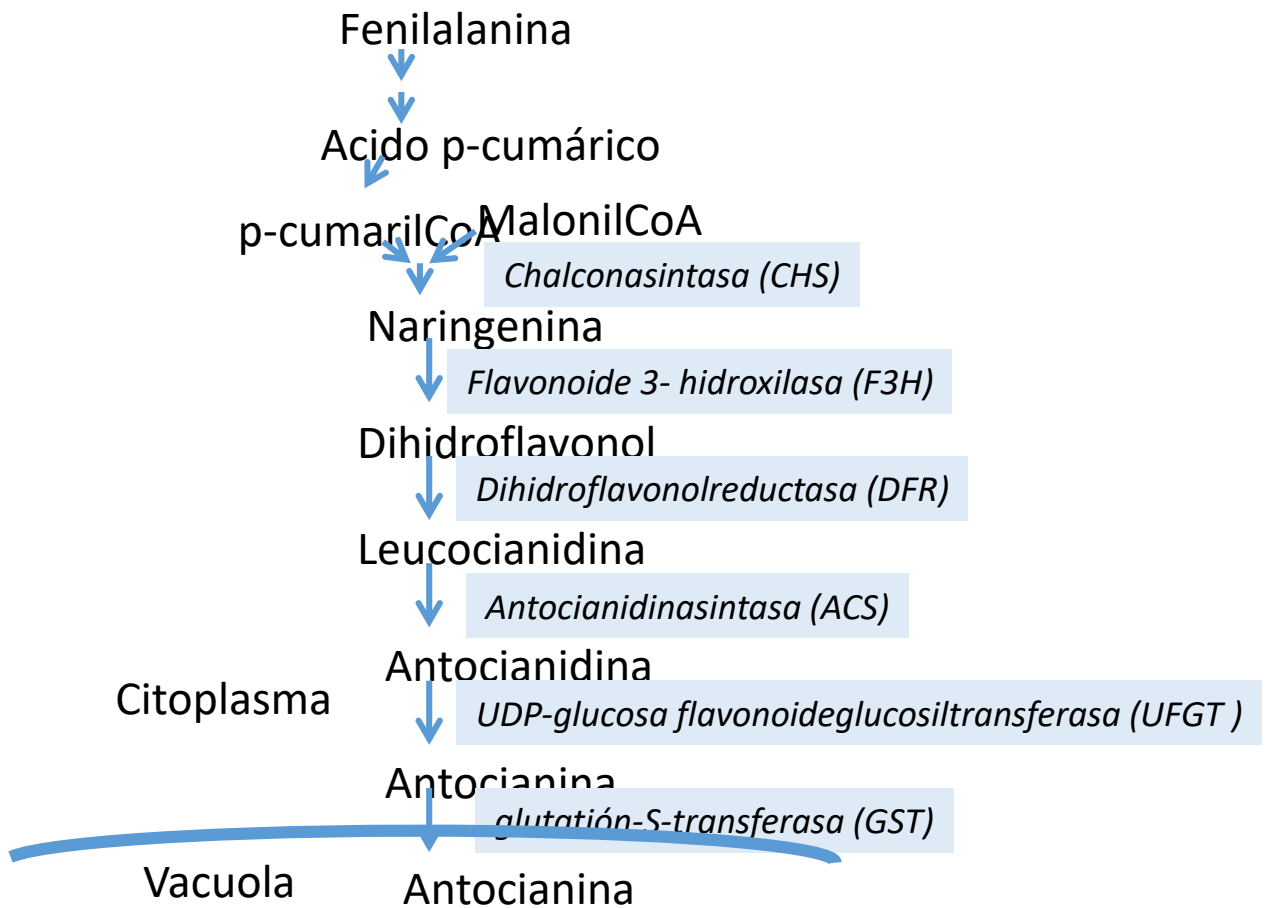
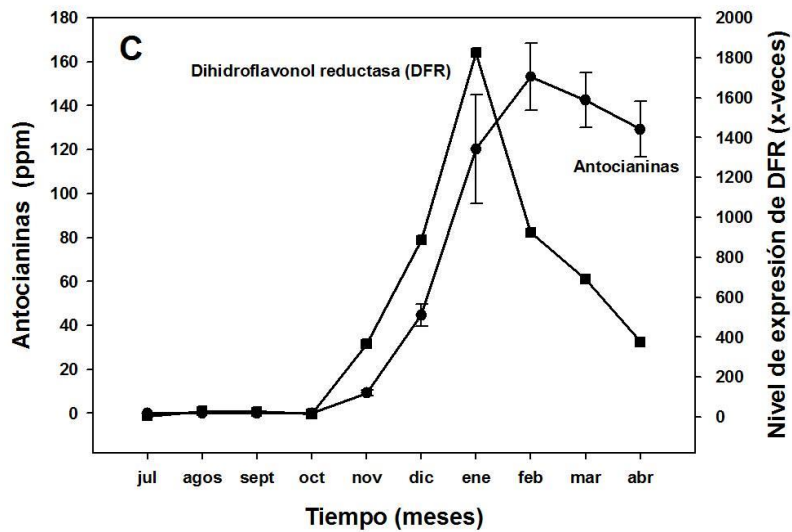
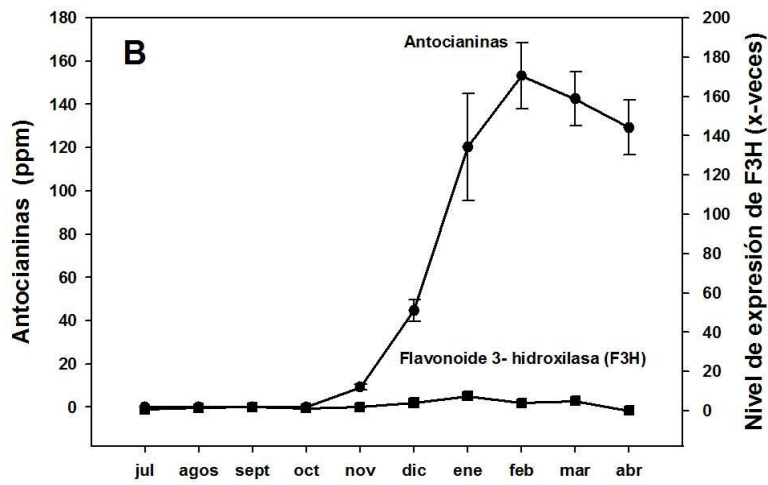
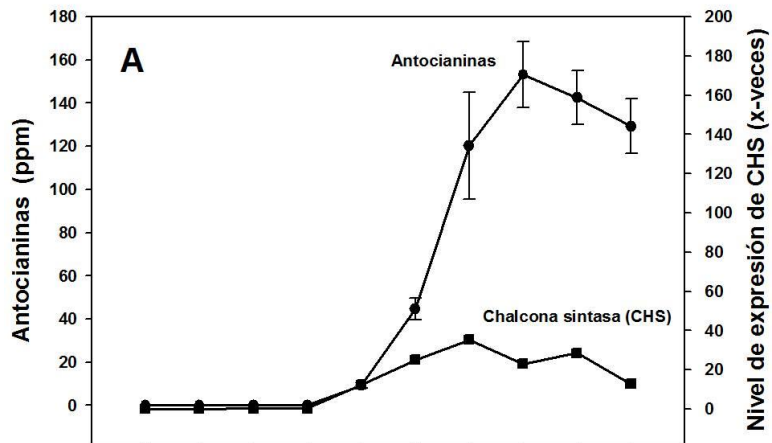


Figura 1 - Ruta general de biosíntesis de antocianinas. Se incluyen los principales enzimas implicados a partir de *p*-cumarilCoA.



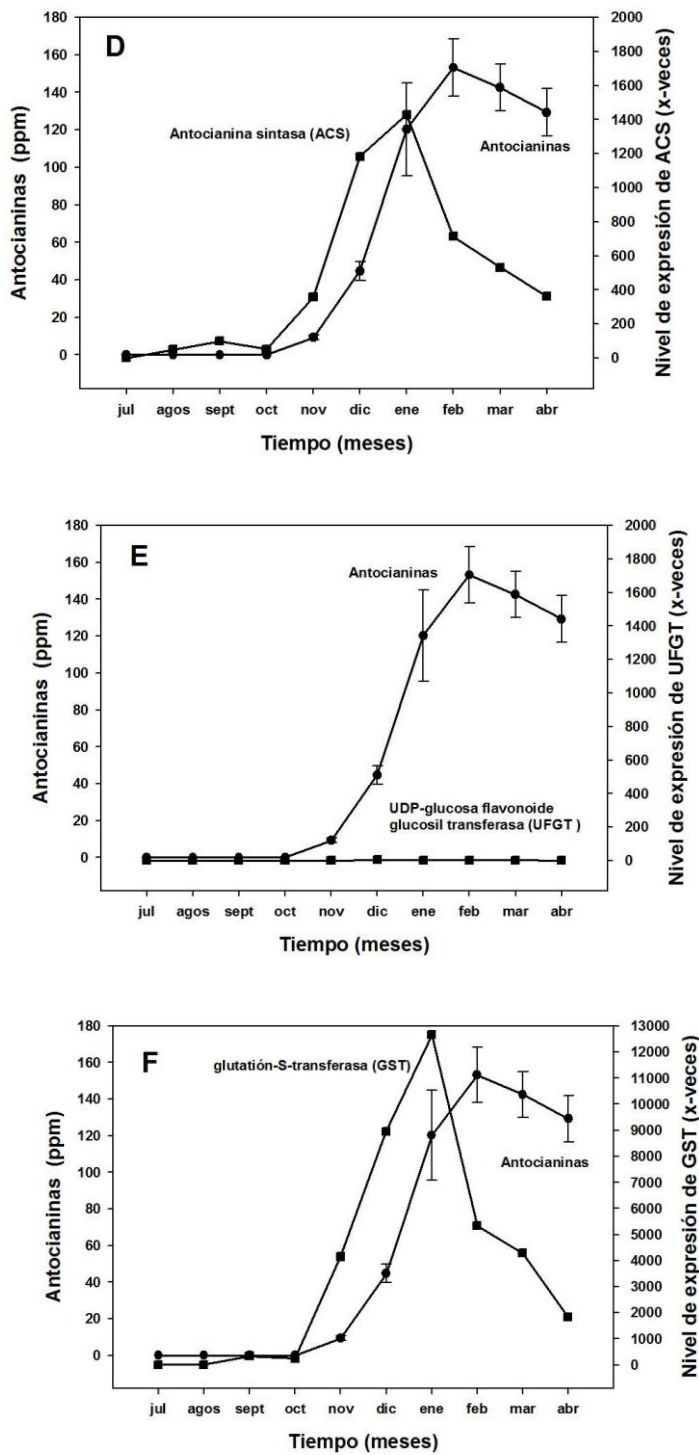


Figura 2 - Cambios en los contenidos en antocianinas y nivel de expresión del enzima CHS (A), F3H (B), DFR (C), ACS (D), UFGT (E) y GST (F) durante el desarrollo y maduración de frutos de Sanguinelli.

Resultados preliminares del desarrollo vegetativo de una replantación ecológica de `Clementina de Nules` sobre diferentes patrones de cítricos en el Valle del Guadalquivir

A. Hervalejo¹, A.B. González-Chimeno¹, E. Romero¹, y F.J. Arenas-Arenas^{1*}

¹IFAPA. Centro Las Torres-Tomejil. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Ctra. Sevilla-Cazalla Km. 12,2. 41200 – Alcalá del Río. Sevilla. España. *E-mail: fjose.arenas@juntadeandalucia.es (F.J. Arenas-Arenas)

Resumen

En este trabajo se estudió de forma preliminar el desarrollo vegetativo de `Clementina de Nules` (*Citrus reticulata*) injertada sobre 4 patrones, *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) y citrange C35 (C35), establecida en mayo del 2016 mediante replantación de una parcela ecológica con pH muy básico (pH=8,8) y ligera presencia de nematodos, en el Valle del Guadalquivir (Sevilla). Los resultados obtenidos mostraron un efecto del patrón sobre el tamaño y el estado nutricional del árbol (índice de clorofilas; Unidades SPAD). `Clementina de Nules` sobre VK presentó el mejor comportamiento, registrando el mayor tamaño del árbol e índice de clorofila foliar. Por el contrario, `Clementina de Nules` sobre CA mostró el peor desarrollo, registrando los valores más bajos de SPAD (similar a MP) y el menor tamaño de árbol junto con C35. MP y C35 mostraron un comportamiento intermedio donde los menores valores de SPAD en MP pudieron estar asociados a las intensas precipitaciones de marzo (patrón sensible a la asfixia radical), mientras que el menor tamaño de C35 podría corresponderse con las características propias del patrón (induce menor tamaño sobre la variedad).

Palabras clave: *Citrus*, tamaño del árbol, índice de clorofilas, factores bióticos y abióticos.

Abstract

In this preliminary work was studied the vegetative development in `Clementine of Nules` (*Citrus reticulata*) grafted on 4 rootstocks: *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) and citrange C35 (C35). A replanted plot with a high base pH (pH=8,8) and slight presence of nematodes was established in May 2016 under organic production system located in the Valley of the Guadalquivir (Seville). Results showed an effect of the rootstock on the size and on the nutritional status of the tree (chlorophyll rate, SPAD units). On the contrary, `Clementine of Nules` grafted on CA showed the worst development, recording the lowest values of SPAD (similar to MP) and the lowest size together C35. MP and C35 showed an intermediate behaviour, so the lower values of SPAD obtained by MP could be associated with intense rainfall from March (sensitive rootstock to root asphyxiation), while the smaller size of C35 could correspond to own characteristics of the rootstock (induces small size on the cultivar).

Keywords: *Citrus*, tree size, chlorophyll rate, biotic and abiotic factors.

Introducción

En la actualidad España figura como el sexto país productor de cítricos (297.535 ha), con algo más de 6,5 millones de toneladas (5% producción mundial) y primer exportador a nivel mundial de cítricos en fresco, llegando a exportar casi 4 millones de toneladas (MAPAMA, 2017a; MAPAMA, 2017b).

En los últimos años el consumidor de fruta fresca ha experimentado una mayor preocupación tanto por la preservación del medio ambiente como la salud, incrementándose la demanda de productos que, proviniendo de sistemas de producción sostenibles y respetuosos con el medio ambiente, no repercutan negativamente a su salud (González-Chimeno, 2016).

En el contexto mundial, el sector de la producción de cítricos ecológicos de España mantiene un importante posicionamiento como productor, ocupando el quinto lugar a nivel mundial y segundo de la UE, con más del 9% de la superficie mundial (7.020 ha) y con una producción estimada de 139.448 toneladas (IFOAM-FIBL, 2014.)

Andalucía es la primera productora de cítricos ecológicos de España, con cerca de 5.000 hectáreas inscritas en organismos de certificación ecológica (71 % de la superficie nacional de cítricos ecológicos) (MAPAMA, 2017c), la cual ha mantenido un crecimiento continuado en los últimos años.

A pesar de la importancia del sector de cítricos ecológicos andaluz, aspectos tales como el bajo precio de los cítricos en origen y la mayor complejidad y/o coste de algunas técnicas de cultivo (control de adventicias, fertilización del suelo...) pueden comprometer la rentabilidad de las plantaciones.

Una alternativa interesante, efectiva y económica frente a determinadas técnicas de control de carencias nutritivas y/o enfermedades del cultivo, incompatibles con el sistema de producción ecológica, puede ser el uso de patrones tolerantes a factores adversos del suelo, tanto bióticos (*Phytophthora* spp., nematodos...) como abióticos (caliza activa, salinidad, asfixia radicular). Diversos estudios han demostrado la importancia del patrón en la respuesta de la plantación a ambos factores (Verdejo-Lucas *et al.*, 2000; Forner *et al.*, 2001; Forner-Giner, 2002). Por lo tanto, el éxito en la reconversión de plantaciones de cítricos reside en gran parte en la adecuada elección del patrón en base a las condiciones edafo-climáticas locales, de manera que mejor adaptados a éstas permitan un buen desarrollo del cultivo con una adecuada productividad y calidad de fruta.

El objetivo de este ensayo fue la evaluación preliminar del desarrollo vegetativo de árboles jóvenes de 'Clementina de Nules' (*Citrus reticulata*) injertada sobre 4 patrones convencionales, *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) y citrange C35 (C35) tras replantación en sistema de producción ecológica.

Materiales y métodos

Este estudio se realizó en la campaña 2016/2017 en una parcela experimental ubicada en el Valle del Guadalquivir (Sevilla, Andalucía, España) con clima tipo Mediterráneo, precipitación media anual de 663,2 mm y evapotranspiración de referencia (ET₀) de 1118.85 mm (RIA, Junta de Andalucía). El suelo de textura franca presenta pH muy alcalino (pH=8,8) con contenido normal en materia orgánica (1,7%) y ligera presencia de nematodos.

La parcela experimental fue replantada en mayo del 2016 con 'Clementina de Nules' injertada sobre 4 patrones convencionales, *Citrus macrophylla* Wester, *Citrus volkameriana*, citrange Carrizo y citrange C35, en un marco de plantación de 6 x 4 m.

Citrus macrophylla Wester (MP): patrón tolerante a psoriasis, woody gall y exocortis, muy resistente a *Phytophthora* spp. y resistente a la caliza y a la salinidad

(Castle, 1987). Patrón sensible a tristeza, a xyloporosis y a los nematodos de los cítricos. Sensible a la asfixia radical y muy sensible al frío. Induce sobre la variedad injertada una pronta entrada en producción, un adelanto en la maduración de la fruta, una buena productividad y, aunque confiere un mayor calibre de fruta, se caracteriza por reducir la calidad interna de la misma (Arenas-Arenas *et al.*, 2011).

Citrus volkameriana (VK): patrón tolerante a tristeza, psoriasis, exocortis y xyloporosis, con buena tolerancia a la caliza y a la asfixia radical, así como una resistencia a la salinidad algo mayor que la de citrange Carrizo. Patrón sensible a *Phytophthora* spp., a woody gall y al frío. Induce sobre la variedad injertada una pronta entrada en producción con buena productividad en los primeros años y, aunque confiere un mayor calibre de fruta, se caracteriza por reducir la calidad interna de la fruta (Castle, 1993).

Citrango Carrizo [*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (CA): patrón tolerante a tristeza, psoriasis, woody gall y xyloporosis, resistente a *Phytophthora* spp., a asfixia radical y al frío, que además induce sobre la variedad injertada una excelente productividad y calidad de fruta. Patrón sensible a la caliza, a la salinidad, a exocortis, a los nematodos de los cítricos y a la sequía (Newcomb, 1978; Forner *et al.*, 1982).

Citrango C35 [*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (C35): patrón tolerante a tristeza, resistente a *Phytophthora* spp., a los nematodos de los cítricos, al frío y a la sequía. Induce sobre la variedad injertada un menor tamaño de árbol y una excelente productividad y calidad de fruta. Patrón sensible a la caliza, a la salinidad y a exocortis (Cameron & Soost, 1986).

El manejo del cultivo se realizó conforme a las normas de producción ecológica (Reglamento (CE) 834/2007; Reglamento (CE) 889/2008). La plantación contó con el acolchado de la línea de plantación con malla negra (Arenas-Arenas *et al.*, 2013) y un sistema de riego por goteo bajo la malla con una línea portagoteros por línea de plantación y goteros de 1,6 l/hora distanciados 75 cm.

Se estableció un diseño experimental de 4 bloques al azar y una unidad elemental de dos árboles por patrón (N=8).

Toma de datos

El 21 de marzo de 2017 se tomaron datos de la biometría del árbol y del índice de clorofilas foliar (medida indirecta del estado nutritivo del árbol) con objeto de evaluar el desarrollo de la variedad 'Clementina de Nules' sobre los diferentes patrones de cítricos del ensayo. En la misma fecha, se tomaron muestras de suelo para la realización de los análisis físico-químicos y nematológicos.

Para la biometría del árbol se midió la altura total y altura de la falda del árbol (H y HF; cm), el diámetro longitudinal y transversal de la copa (DL y DT; cm), así como el diámetro del tronco de la variedad y del patrón (Dv y Dp; mm). La afinidad entre patrón y variedad fue determinada por el ratio Dp/Dv, siendo más afín cuanto más próximo es a 1. El volumen de copa (Vc; m³) se calculó según Turrell (1946).

En la medición del índice de clorofila foliar (unidades SPAD), parámetro que determina la cantidad relativa de clorofila presente en las hojas (medida indirecta del estado nutritivo del árbol), se empleó un medidor SPAD-502 Plus. Esta medida se realizó sobre 8 hojas de cada árbol, repartidas entre las cuatro orientaciones de la copa, contándose con un total de 64 hojas para cada patrón (N=64).

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos al análisis de la varianza (ANOVA) seguido del test de comparación de medias Tukey, mediante el empleo del programa STATISTICA 6.0 (Statsoft Inc., U.S.A.).

Resultados y discusión

Caracterización del suelo de la parcela

La parcela experimental mostró un pH muy básico (pH = 8,8) con un nivel de caliza activa algo superior al 5% (5,3%) y ligera presencia de nematodos. Bajo estas condiciones de suelo el cultivo de los cítricos pueden presentar dificultades en cuanto a su desarrollo, más aún bajo un sistema de producción ecológica donde las principales técnicas de corrección de las características del suelo no están contempladas en el marco de la normativa (Reglamento (CE) 834/2007; Reglamento (CE) 889/2008), siendo en general las técnicas alternativas más complejas y/o de mayor coste.

En este tipo de suelo, suelos muy alcalinos (pH>8) que suelen presentar dificultades nutritivas por la baja disponibilidad para el cultivo de muchos elementos nutritivos (Agustí, 2003), niveles de caliza activa (5,3%) y nematodos, en principio no limitantes para el cultivo, pueden agravar la situación en plantaciones de cítricos sobre patrones sensibles a la caliza y/o nematodos. Así, la caliza activa puede interceptar la absorción de hierro por las raíces de las plantas (clorosis férrica), efecto que puede ser incrementado por la presencia de nematodos (Garrido, 1994). En este sentido, *Tylenchulus semipenetrans* inducen sobre el cultivo una reducción general del vigor y crecimiento del árbol (Pastor *et al.*, 2005), siendo la fase juvenil del cultivo el estadio más susceptible a éste.

Biometría

No se obtuvieron diferencias significativas entre patrones en lo referente a la altura inducida sobre la variedad (Cuadro 1), pero sí en el resto de los parámetros medidos.

El patrón *Citrus volkameriana* (VK) registró el mayor tamaño del árbol, tanto en altura (92,33 cm) como en volumen de copa (0,14 m³), así como los mayores diámetros de tronco de patrón y variedad (20,11 mm y 16,16 mm, respectivamente). Un comportamiento similar de VK frente a otros patrones ha sido observado en diferentes trabajos (Forner-Giner *et al.*, 2010; Hervalejo *et al.*, 2015). Del mismo modo, VK ya fue descrito como patrón muy vigoroso, incluso en plantaciones jóvenes como la del ensayo llevado a cabo por Castle *et al.* (1993).

Por el contrario, citrange Carrizo (CA) fue el patrón que indujo el menor tamaño de árbol: altura (82,75 cm) y diámetros de tronco de patrón y variedad (14,54 y 11,44 mm, respectivamente), significativamente inferior a VK. Este comportamiento de CA no se corresponde con las características descritas por Castle *et al.* (1993) en la que se describe como patrón vigoroso que induce un excelente desarrollo en árboles jóvenes.

Citrage C35 (C35) se mostró similar a CA, excepto en el diámetro de patrón (15,75 mm) en el que no se diferenció significativamente del registrado por VK. No obstante, a diferencia del resto de patrones, C35 ha sido descrito por inducir sobre la variedad injertada un menor tamaño del árbol (Cameron & Soost, 1986).

Aunque *Citrus macrophylla* (MP) indujo un tamaño inferior al de VK, sólo se diferenció significativamente de éste en lo referente al diámetro del tronco del patrón (15,21 mm).

Con respecto a la afinidad entre la variedad y los patrones ensayados no se obtuvieron diferencias significativas en ninguno de los casos, obteniéndose una buena afinidad de 'Clementina de Nules' sobre los diferentes patrones (Cuadro 2).

Contenido de clorofila en hoja (SPAD)

Se obtuvieron diferencias significativas entre patrones (Cuadro 3), siendo VK el patrón sobre el que 'Clementina de Nules' registró el mayor índice de clorofila foliar (57,14 unidades SPAD), con valores similares a los valores de referencia registrados en 'Clementina de Nules' por Goñi y Otero (2013).

En vista a los resultados obtenidos en tamaño y SPAD, se presenta VK como el patrón más interesante, probablemente derivado de su mejor adaptación a las condiciones locales de la parcela: único patrón del ensayo tolerante tanto a la caliza activa como a la asfixia radical y nematodos de los cítricos.

Por el contrario, `Clementina de Nules´ sobre CA y MP registró los valores más bajos (50,50 y 50,86 unidades SPAD, respectivamente) denotando un estado nutricional más desfavorable. Así CA es identificado como el patrón sobre el que `Clementina de Nules´ presenta mayor dificultad para su desarrollo (menor tamaño de árbol y SPAD), probablemente como consecuencia de su sensibilidad a los nematodos y a la caliza activa. En el caso de MP, patrón sensible a la asfixia radicular, los valores registrados de SPAD pudieron deberse a los encharcamientos ocasionados por las intensas lluvias de principios y finales de marzo.

C35 registró un comportamiento intermedio, mostrando `Clementina de Nules´ un valor de SPAD (52,97) que no se diferenció significativamente del registrado sobre VK. Este comportamiento intermedio podría justificarse por la mayor sensibilidad a la caliza activa frente a VK y su mejor comportamiento frente a CA y MP en cuanto a nematodos y asfixia radical (Castle *et al.*, 1993).

Conclusiones

Según los resultados obtenidos, el patrón tuvo un efecto sobre el desarrollo de los árboles de `Clementina de Nules´, tras su replantación en una parcela ecológica con suelo muy básico y ligera presencia de nematodos.

Así *Citrus volkameriana* se presentó como el patrón más interesante al inducir sobre `Clementina de Nules´ un buen desarrollo del cultivo: tamaño de árbol e índice foliar de clorofilas (unidades SPAD).

`Clementina de Nules´ sobre Citrange Carrizo registró el peor comportamiento, induciendo un menor tamaño de árbol (similar al de Citrange C35) y, junto a *Citrus macrophylla*, el estado nutricional más desfavorable (unidades SPAD).

Por último, `Clementina de Nules´ sobre *Citrus macrophylla* y Citrange C35 mostró un desarrollo intermedio donde los menores valores de SPAD en MP pudieron estar asociados a las intensas precipitaciones de marzo (patrón sensible a la asfixia radical), mientras que el menor tamaño de C35 podría corresponderse con las características propias del patrón (induce menor tamaño sobre la variedad).

Referencias

- Agustí, M. 2003. Citricultura. 2ª Ed. Mundi Prensa. Madrid
- Arenas-Arenas, F.J., Hervalejo, A., García-Moreno, J., Salguero, A., Prats, T., Forner-Giner, M.A. 2011. Resultados preliminares del comportamiento agronómico de la variedad `Lane Late´ sobre diferentes patrones. Levante Agrícola, 404: 27-31.
- Arenas-Arenas, F.J., Hervalejo-García, A., Romero-Rodríguez, E. 2013. Guía de acolchado con malla en cítricos. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Junta de Andalucía.
- Cameron, J. W. & Soost R. K. 1986. C35 and C32: Citrange rootstocks for citrus. HortScience 21 (1): 157-158
- Castle, W.S. (1987). Citrus rootstocks. In: Rootstocks for fruits crops (Rom, R.C., Carlson, R.F., eds.). John Wiley and Sons, NY, USA, 361-369.
- Castle, W.S., Tucker, D.P.H., Krezdorn, A.H., Youtsey, C.O. 1993. Rootstocks for Florida Citrus. Rootstock selection: The first step to success. Second Edition.
- Forner, J.B., Aparicio, M., Alcaide, A., Giner, J., Pina, J.A. & Sala, J. (1982). Present status of citrus rootstocks in Spain. In: Matsumoto, K. (Ed.), 1996. Proceedings of

- International Society Citriculture, vol. 1, November 9-12, 1981, Tokyo, Japan, pp. 106-109.
- Fornier, M.A., Legua, P., Alcaide, A., Fornier, J.B. 2001. Comportamiento de patrones de cítricos a la asfixia radical. VII Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. Badajoz.
- Fornier-Giner, M.A. 2002. Comportamiento de nuevos patrones híbridos de cítricos frente a la salinidad y el estrés hídrico. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Fornier-Giner, M.A., Hueso, J.J., Agüera, J.M. and Fornier, J.B. 2010. Performance of 'Clausellina' mandarin on four rootstocks. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.8 (3 & 4): 328-331.
- Garrido Valero, S. 1994. Interpretación de análisis de suelo. Secretaria General de Estructuras Agrarias. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hoja Divulgadora, nº 5/93HD.
- González-Chimeno, A.B. 2016. Manual Práctico de Citricultura Ecológica. Máster de Agricultura, Ganadería y Silvicultura Ecológicas. Universidad Internacional de Andalucía (UNIA).
- Goñi, C. & Otero, A. 2013. Resultados de Avances de Investigación en Ecofisiología y Nutrición de Cítricos. INIA Serie Actividades de Difusión; 708.
- Hervalejo, A., Romero-Rodríguez, E., Arenas-Arenas, F.J. 2015. Evaluación de distintos patrones de cítricos en condiciones de marismas del bajo Guadalquivir. *Vida Rural*, 396: 48-52.
- IFOAM-FIBL. 2014. Estudio sobre agricultura ecológica mundial.
- MAPAMA. (2017a). Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. ESYRCE 2016. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. España. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/>
- MAPAMA. (2017b). Anuario de estadísticas. Avance 2015. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. España. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/>
- MAPAMA (2017c). Agricultura Ecológica. Estadísticas 2015. <http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/la-agricultura-ecologica/documentos-de-interes/default.aspx>
- Newcomb, B.A. (1978). Selection of rootstocks for salinity and disease resistance. *Proceedings International Society of Citriculture*, vol.II. May 1-8, 1977 (Grierson N., ed). Orlando, FL, USA. pp. 117-120.
- Pastor, J., Verdejo, S., Sorribas, F.J. y De Scals, D. 2005. Nematodos fitoparásitos en cítricos. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 172: 73-79.
- Reglamento (CE) Nº 834/2007 DEL CONSEJO, de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) nº 2092/91. (Diario Oficial de la Unión Europea nº L 189 de 20/07/2007, p. 1-23).
- Reglamento (CE) Nº 889/2008 DE LA COMISIÓN, de 5 de septiembre de 2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control. (Diario Oficial de la Unión Europea nº L 250 de 18/09/2008, p. 1-84).

Turrell, F.M. 1946. Tables of surfaces and volumes of spheres and of prolate and oblate spheroids, and spheroidal coefficients. Berkeley and Los Angeles: Univ. of Calif. Press, 153 pp.

Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., Forner, J.B., Alcaide, A. 2000. Resistance of hybrid citrus rootstocks to a Mediterranean biotype of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. Hortscience 35: 269-273.

Cuadros y figuras

Cuadros 1 - Altura y volumen de copa inducido sobre la variedad 'Clementina de Nules' injertada sobre *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) y citrange C35 (C35).

Patrón	H				Vc			
	(cm)				(m ³)			
MP	80,86	±	5,55	ns	0,10	±	0,03	ab
VK	92,33	±	7,71	ns	0,14	±	0,03	b
CA	82,75	±	3,58	ns	0,03	±	0,01	a
C35	87,25	±	3,32	ns	0,03	±	0,00	a

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre patrones. ns: diferencias no significativas.

Cuadros 2 - Afinidad entre la variedad 'Clementina de Nules' y los cuatro patrones de cítricos ensayados: *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) y citrange C35 (C35).

Patrón	Dp				Dv				Dp/Dv			
	(mm)											
MP	15,21	±	1,53	a	12,64	±	1,32	ab	1,21	±	0,04	ns
VK	20,11	±	0,97	b	16,16	±	0,79	b	1,25	±	0,07	ns
CA	14,54	±	0,66	a	11,44	±	0,60	a	1,28	±	0,03	ns
C35	15,75	±	1,29	ab	12,17	±	0,65	a	1,29	±	0,08	ns

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre patrones. ns: diferencias no significativas.

Cuadros 3 - Unidades de SPAD en 'Clementina de Nules' sobre *Citrus macrophylla* (MP), *Citrus volkameriana* (VK), citrange Carrizo (CA) y citrange C35 (C35).

Patrón	SPAD			
MP	50,86	±	1,81	a
VK	57,14	±	1,16	b
CA	50,50	±	1,59	a
C35	52,97	±	1,31	ab

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre patrones. ns: diferencias no significativas.

Un sistema adaptativo de inferencia difusa basado en redes (ANFIS) para estimar la masa de naranjas (*Citrus sinensis* L. var. Thompson)

Sajad Sabzi¹, Yousef Abbaspour-Gilandeh¹, Daniel Marín-Sánchez², Ginés García-Mateos², José Miguel Molina-Martínez³

¹Department of Biosystems Engineering, College of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, sajadsabzi2@gmail.com, abbaspour@uma.ac.ir

²Computer Science and Systems Department, University of Murcia, 30100 Murcia, Spain, danielms@um.es, ginesgm@um.es

³Food Engineering and Agricultural Equipment Department, Technical University of Cartagena, 30203 Cartagena, Spain, josemiguel.molina.martinez@gmail.com

Resumen

Este artículo describe un novedoso sistema adaptativo de inferencia difusa basado en redes (ANFIS) para la estimación de la masa de naranjas (*Citrus sinensis* L. var. Thompson). En esta investigación se utilizaron varias propiedades físicas como entrada para los estimadores, incluyendo la longitud, anchura, grosor, área proyectada, esfericidad, área elíptica y diámetro medio geométrico de cada naranja, obtenidas con procesamiento de imágenes. Para la estimación se utilizaron dos técnicas diferentes, ANFIS y métodos de regresión lineal. Los experimentos demostraron que el primer método es significativamente mejor que la regresión lineal. El mejor modelo para ANFIS alcanzó un R^2 de 0,99 y error cuadrático medio (MSE) de 8,59, mientras que el estimador de regresión lineal proporcionó un R^2 de 0,99 y MSE 58,15. Los modelos óptimos encontrados incluyen solo tres parámetros de entrada (diámetro medio, esfericidad y área proyectada). Para el desarrollo de los modelos ANFIS, se utilizó el 70% de los datos experimentales (seleccionados al azar) para entrenamiento y 30% (los datos restantes) para probar los modelos. En conclusión, la metodología propuesta permite una estimación rápida, precisa y de bajo coste para conocer de la masa de naranjas utilizando únicamente información visual, con un error medio inferior al 5% del peso real de las naranjas.

Palabras clave: visión por computador; estimación de masa; redes neuronales difusas; procesamiento de imágenes; propiedades físicas.

Abstract

This paper presents a novel approach based on the technique of adaptive neuro-fuzzy inference systems (ANFIS) to estimate the mass of orange fruits (*Citrus sinensis* L. var. Thompson). In this research, several physical properties were used as input to the estimators, including the length, width, thickness, projected area, sphericity, elliptic area, and geometric mean diameter of each orange obtained with image processing. Two different techniques were used and compared for this purpose, ANFIS and linear regression methods. The experiments revealed that ANFIS method was significantly better than linear regression. The best model for ANFIS achieved an R^2 of 0.99 and mean squared error (MSE) 8.59, while the linear regression estimator provided an R^2 of 0.99 and MSE 58.15. The optimal models found included only three inputs parameters (mean diameter, sphericity and projected area). For developing ANFIS models, 70% of the experimental data (randomly selected) were used for training, and 30% (the remaining data) were used for testing the models. In conclusion, the proposed methodology allows a fast, inexpensive and accurate estimation of the mass of oranges using only visual data, producing an average error below 5% of the actual weight.

Keywords: computer vision; mass estimation; fuzzy neural networks; physical properties; image processing.

Introduction

Fruit classification by size is an essential task for management and market distribution processes. If fruits with different sizes and qualities were mixed together, consumer perception could be negatively affected, thus causing losses to the producers. Therefore, a sorting method with high precision and efficiency is required to implement an adequate packaging system. For this purpose, direct measures of the size of each fruit could be taken. However, image processing and artificial intelligence offer alternative techniques for mass and volume estimation of fruits using only visual information, providing the basis for sorting systems with high performance and low cost.

Oranges occupy a very prominent position in the fruit production of Spain and many other countries in Europe, Asia and America. For example, in Iran the cultivation of oranges (*Citrus sinensis* L.) was introduced around 600 years ago. It was first grown in the southern coast, and later transferred to other parts of the country (Sharifi et al., 2007). Currently, it has a relevant position in the agricultural sector of Iran, being the 8th world producer of oranges behind Spain (data of 2010). In particular, this paper focusses in the Thompson variety. In order to develop a sorting system based on mass estimation, several physical properties were measured for each fruit: length, width, thickness, projected area, sphericity and geometric mean diameter, obtained with image processing. These properties have been previously proposed and studied by several researchers to deal with different agricultural products.

Valero and Ruiz-Altisent (2000) argued that classifying fruits with uniform mass and shape is required to ease transportation and handling. For example, Soltani et al. (2011) conducted a study on Cavendish variety of banana fruit (*Musa paradisiaca* L.), and investigated some physical properties including external and internal length, geometric mean diameter, weight of pulp and peel, equivalent ellipsoid surface, sphericity, projected area, diameters and actual surface. Khojastehnazhand et al. (2009) investigated volume and surface area estimation of orange fruits using two cameras and image processing techniques. Jahromi et al. (2007) designed and developed a mass grading system based on physical attributes of fruits. Razavi and Parvar (2007) found a relationship between physical and geometric properties of kiwifruit and their mass, for different fruit species. Topuz et al. (2005) reported several properties of four orange varieties including linear dimensions, length, mass, sphericity, surface area, volume, projected area, geometric mean diameter, static coefficient of friction, fruit density and bulk density, porosity, diameter, packing coefficient, and apparent color of orange varieties. Some other similar systems have been proposed to estimate the mass of fruits such as pomegranate (Khoshnam et al., 2007), potato (Marvin et al., 1987), apricots (Naderi-Boldaji et al., 2008) and apples (Tabatabaefar & Rajabipour, 2005), among others.

Materials and methods

For this study, one of the most widespread and commercialized varieties of oranges was considered, the Thompson variety. One hundred of sample oranges with different sizes were randomly selected, from a crop situated in Kermanshah, Iran (longitude 47.03°E; latitude 34.3°N). Analyses were carried out at a room temperature of 24°C. All tests were done at the Physical Laboratory of the Faculty of Agriculture Engineering from University of Razi in Kermanshah. The physical properties of all oranges were determined by the following methods:

- Linear dimensions of the fruits, i.e. length (L), width (W) and thickness (T), were measured by using a digital gauge with a resolution of 0.01 mm.
- The image acquisition system shown in Figure 1 was used for obtaining the projected area perpendicular to length (P_L), projected area perpendicular to width (P_W) and projected area perpendicular to thickness (P_T).
- Four additional parameters were computed from the previous ones: geometric mean diameter (Dg), sphericity (S), elliptical area (A) and average projected area (P). They were calculated by using the following equations (Mohsenin, 1986; Ozturk et al., 2009):

$$Dg = \sqrt[3]{LWT} \quad ; \quad S = \frac{\sqrt[3]{LWT}}{L} \quad ; \quad A = \pi LW \quad ; \quad P = \frac{P_L + P_W + P_T}{3} \quad (1)$$

- Fruit mass (M) was measured by using a digital balance with a sensitivity of 0.01 g. Fruit volume (V) was determined using the water displacement method. That is, the volume of each fruit was calculated by following equation (Mohsenin, 1986):

$$V = \frac{W}{\rho} \quad (2)$$

where V is the volume (in cm^3), W is mass of displaced water (Kg) and ρ is water density (kg cm^{-3}).

In order to estimate M using the other parameters, adaptive network-based fuzzy inference system (ANFIS) was used as a regression technique. ANFIS is a recently developed approach which integrates artificial neural networks (ANN) and fuzzy logic (FL). It has the potential benefits of both methods in one framework. A known problem of FL systems is to define the membership functions and the fuzzy if-then rules. ANFIS solves these problems by using the learning capabilities of ANNs. This way, fuzzy rules are automatically created and parameters are optimized during the training process (Nayak et al., 2004; Yurdusev & Firat, 2009).

In particular, in this research the structure of the proposed ANFIS network consists of some inputs variables, which are transformed into fuzzy variables using membership functions (MF). The value for the output layer is the mass of the oranges (M), which also requires an output MF. The ANFIS models were trained using 70 samples and tested with the remaining 30, randomly selected. Moreover, a total of 120 epochs were specified for the training process to ensure a minimum error.

Results and discussion

A summary of ANFIS and linear regression models for Thompson orange fruits are shown in Tables 1 and 2. In both cases, the output is the estimated mass. These results show that model 1 of ANFIS, with three inputs (Dg , S , P), has the minimum error and the highest R^2 value. Comparing the two values, R^2 and MSE, it can be clearly seen that ANFIS method is superior to linear regression statistical methods. It is interesting to observe that the best linear regression model also uses the same three parameters (Dg , S , P), although it produces an error 7 times higher.

Figure 2 shows inputs, output and the type of fuzzy inference system (FIS) applied. In particular, Sugeno-type fuzzy inference systems were used (Cao & Frank, 2001). The structure of the optimal network found among the seven models for ANFIS is depicted in Figure 3, where the number of rules and fuzzy clusters of each input and their relationships are indicated (Naderloo et al., 2012). Three Gaussian membership functions were applied for each input, some of them are displayed in Figure 4.

Finally, Figure 5 presents an example of application of the obtained Takagi–Sugeno (TS) model, constructed by grid partition method. As shown, by passing a sample

tuple of $Dg=4680$, $S=1.03$ and $P=67.6$ to the Takagi–Sugeno inference system, the membership functions of each cluster affect specific rules. The computation of the output variable for orange mass estimation is done by using 27 fuzzy if-then rules generated in the grid partition.

Conclusions

In this paper, some geometrical attributes of oranges such as length (L), width (W), thickness (T), geometrical mean diameter (Dg), sphericity (S), elliptical area (A) and projected areas (P) are used for predicting mass of Thompson variety oranges, intended for a sorting system with low error percentage. Hybrid neuro-fuzzy systems and linear regression are applied and compared in the mass prediction. The experimental results prove that ANFIS is significantly better than linear regression. They also show that in both cases the optimal models use the same three inputs (Dg , S , P). The most accurate model for ANFIS achieves an R^2 of 0.99, and MSE of 8.589, which is approximately an average 5% error with respect to the orange mass. Therefore, the proposed system can be effectively used for an accurate estimation of mass based on visual information obtained with image processing.

Acknowledgments

This work was partly supported by the Spanish MINECO, as well as European Commission FEDER funds, under grant TIN2015-66972-C5-3-R.

References

- Cao, Y.Y. & Frank, P.M. 2001. Stability analysis and synthesis of nonlinear time-delay systems via linear Takagi–Sugeno fuzzy models. *Fuzzy sets and systems*, 124(2), 213-229.
- Jahromi, M.K., Jafari, A., Rafiee, S., Keyhani, A.R., Mirasheh, R. & Mohtasebi, S.S. 2007. Some Physical properties of Date Fruit (cv. Lasht). *Agricultural Engineering International: the CIGREjournal* Vol. IX. August.
- Khojastehnazhand, M., Omid, M. & Tabatabaefar, A. 2009. Determination of orange volume and surface area using image processing technique. *Int. Agrophysics* 23: 237-224.
- Khoshtam, F., Tabatabaefar, A., Varnamkhasti, M.G. & Borghei, A. 2007. Mass modeling of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit with some physical characteristics. *Scientia Horticulturae* 114: 21-26.
- Marvin, J.P., Hyde, G.M. & Cavalieri, R.P. 1987. Modeling potato tuber mass with tuber dimensions. *Transactions of the ASAE* 30: 1154-1159.
- Mohsenin, N.N. 1986. *Physical properties of Plant & Animal Materials*. Gordon & Breach Sci. publ, New York.
- Naderi-Boldaji, M., Fattahi, R., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Tabatabaefar, A. & Jannatizadeh, A. 2008. Models for predicting the mass of apricot fruits by geometrical attributes (cv. Shams, Nakhjavan, and Jahangiri). *Scientia Horticulturae* 118: 293-298.
- Naderloo, L., Alimardani, R., Omid, M., Sarmadian, F., Javadikia, P., Torabi, M.Y. & Alimardani, F. 2012. Application of ANFIS to predict crop yield based on different energy inputs. *Measurement* 45: 1406-1413.
- Nayak, P.C., Sudheer, K.P., Rangan, D.M. & Ramasastri, K.S. 2004. A neuro-fuzzy computing technique for modeling hydrological time series. *Journal of Hydrology* 291: 52-66.

- Ozturk, I., Ercisli, S., Kalkan, F. & Demir, B. 2009. Some chemical and physico-mechanical properties of pear cultivars. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (4): pp. 687-693, 618.
- Razavi, S.M.A. & Parvar, M.B. 2007. Some physical & mechanical properties of kiwifruit. *Int. J. Food Eng.* 3: 1–14.
- Sharifi, M., Rafiee, S., Keyhani, A., Jafari, A., Mobli, H., Rajabipour, A. & Akram, A. 2007. Some physical properties of orange (var. Tompson). *Int. Agrophysics* 21: 391-397.
- Soltani, M., Alimardani, R. & Omid, M. 2011. Some Physical Properties of Full-Ripe Banana Fruit (Cavendish variety). 1(1): 1-5.
- Tabatabaeefar, A. & Rajabipour, A. 2005. Modeling the mass of apples by geometrical attributes. *Sci. Hortic* 105: 373–382.
- Topuz, A., Topakci, M., Canakci, M., Akinci, I. & Ozdemir, F. 2005. Physical and nutritional properties of four orange varieties. *Journal of Food Engineering* 66: 519-523.
- Valero, C. & Ruiz-Altisent, M. 2000. Design Guidelines for a Quality Assessment System of Fresh Fruits in Fruit Centers and Hypermarkets. *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development* Vol. II.
- Yurdusev, M.A. & Firat, M. 2009. Adaptive neuro fuzzy inference system approach for municipal water consumption modeling: An application to Izmir, Turkey. *Journal of Hydrology* 365: 225-234.

Tables and Figures

Table 1 - Parameters of some models for Thompson orange mass estimation based on ANFIS with different inputs and network configurations. IMF: input MF (Gauss: Gaussian; Gauss2: two Gaussians; Trian: triangular; Trap: trapezoidal; Dsigm: two sigmoids). NMF: number of MFs for each input. OMF: output MF (C: constant; L: linear). Input: parameters used in the estimation. R^2 : obtained coefficient of determination. MSE: obtained mean squared error.

#	IMF	NMF	OMF	Input				R^2	MSE
				1	2	3	4		
1	Gauss	3,3,3	C	<i>Dg</i>	<i>S</i>	<i>P</i>	-	0.99	8.59
2	Trian	2,2	C	<i>A</i>	<i>P_w</i>	-	-	0.94	52.4
3	Trap	2,2,2	L	<i>L</i>	<i>W</i>	<i>T</i>	-	0.92	87.8
4	Dsigm	5,5,5,5	C	<i>L</i>	<i>W</i>	<i>T</i>	<i>P_L</i>	0.30	4186.1
5	Trian	2,2,2,2	C	<i>S</i>	<i>Dg</i>	<i>P</i>	<i>L</i>	0.23	1009.5
6	Gauss2	2,2,2,2	L	<i>W</i>	<i>T</i>	<i>Dg</i>	<i>S</i>	0.21	1.35e+9
7	Dsigm	2,2	C	<i>A</i>	<i>P_L</i>	-	-	0.11	2.49e+6

Table 2 - Parameters of some models for Thompson orange mass estimation based on linear regression models with different inputs.

#	Input				Regression equation	R ²	MSE
	1	2	3	4			
1	<i>Dg</i>	<i>S</i>	<i>P</i>	-	$M=0.51 Dg + 49.62 S + 0.257 P - 126.63$	0.932	58.154
2	<i>A</i>	<i>P_w</i>	-	-	$M=0.078 A - 0.027 P_w + 241.459$	0.037	9068.9
3	<i>L</i>	<i>W</i>	<i>T</i>	-	$M=2.769L + 3.251W + 1.19T - 325.407$	0.925	66.50
4	<i>L</i>	<i>W</i>	<i>T</i>	<i>P_L</i>	$M=0.027L+2.794W+1.188T-0.632P_L+185$	0.877	115.60
5	<i>S</i>	<i>Dg</i>	<i>P</i>	<i>L</i>	$M=-2.77S+0.057Dg+168.08P-2.46L+101$	0.879	116.51
6	<i>W</i>	<i>T</i>	<i>Dg</i>	<i>S</i>	$M=-520W+11.6T+9.14Dg+9.32S+202.3$	0.928	64.98
7	<i>A</i>	<i>P_L</i>	-	-	$M=0.068A - 0.023P_L + 232.468$	0.023	9203.4



Figure 1 - Experimental setup of the mass estimation software.

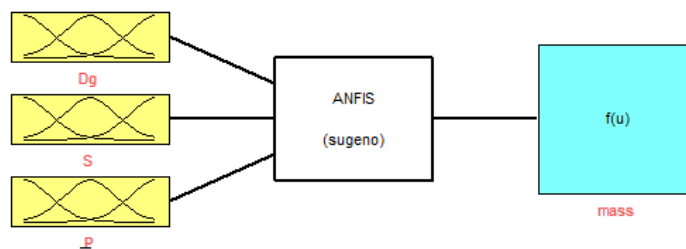


Figure 2 - Structure of the fuzzy inference system (FIS).

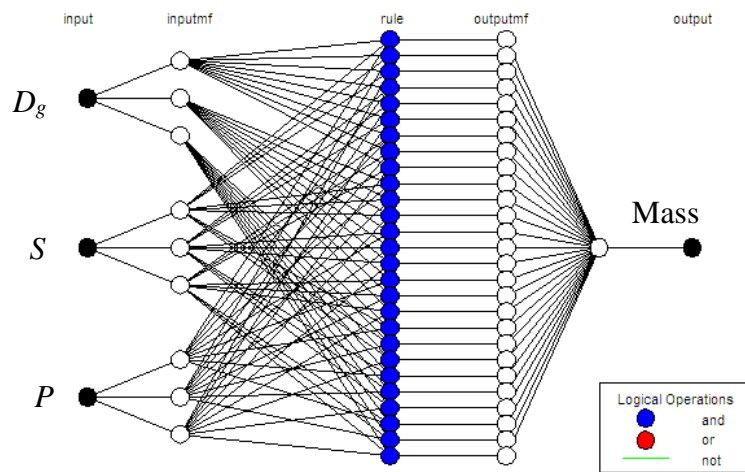


Figure 3 - Structure of the optimal ANFIS network.

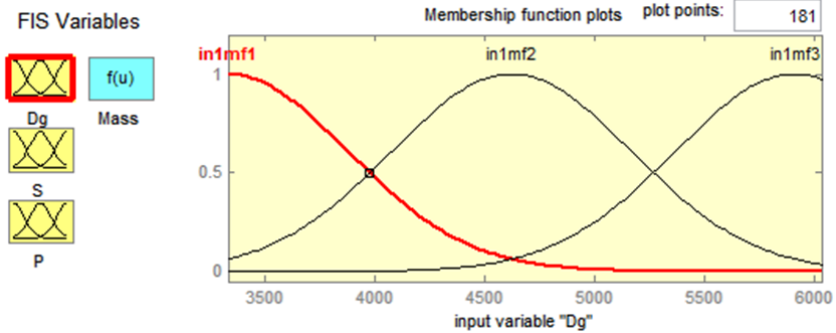


Figure 4 - Membership functions of the optimal ANFIS model for the input D_g .

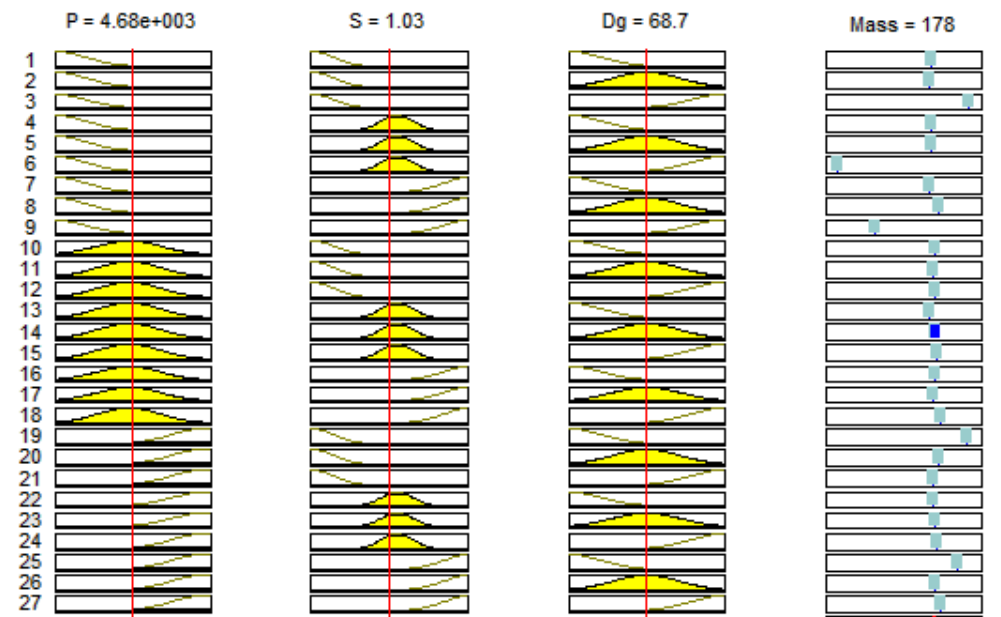


Figure 5 - A graphical Takagi-Sugeno (TS) representation of the optimal ANFIS model.

Estimación de los daños por heladas en los cítricos de la Región de Murcia

I. Porras², O. Pérez-Tornero², J.M. Brotons³, A. Conesa⁴, J. Manera⁴, R. Castañer⁴, F.J. Ortiz¹, D. Correal¹, M. Erena¹

¹Equipo de SIGyT, IMIDA. La Alberca, Murcia, España. ¹IMIDA, C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca. Murcia. España. manuel.arena@carm.es

²Equipo de Citricultura, Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario (IMIDA). La Alberca, Murcia, España. ¹IMIDA, C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca. Murcia. España.

³Departamento de Estudios Económicos y Financieros, Universidad Miguel Hernández (UMH), Elche, Alicante.

⁴Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández (UMH), Orihuela, Alicante, España.

⁵Departamento de Física y A.C. Universidad Miguel Hernández (UMH), Elche, Alicante, España.

Resumen:

Las heladas en la Región de Murcia es un fenómeno meteorológico que se da casi todos los años de forma ligera aunque cada 15-20 años suele afectar de manera significativa a una parte importante de la superficie citrícola. En este trabajo se pretende estimar el riesgo de heladas en la superficie de cultivo de los cítricos en la Región de Murcia, basado en el registro histórico que mantiene la red de estaciones agroclimáticas del Servicio de Información Agraria de Murcia-SIAM. Para la evaluación de los daños se han integrado los datos en un Sistema de Información Geográfica y se han comparado con los siniestros registrados por las compañías de seguros agrarios durante los últimos años. Se ha caracterizado el riesgo de heladas calculando las probabilidades de un evento con temperaturas de -3°C que son las temperaturas en las que hay daños significativos en los frutos y árboles especialmente en lima y limonero. También se ha estudiado la evolución de los precios en limón en los años afectados por las heladas.

Palabras-clave: Precio, limón, riesgos climáticos, seguros agrarios.

Abstract

Frosts is a meteorological phenomenon which happens hardly every year in a very slight way in the Región de Murcia. It affects the citrus plantation in a very significant way each 15-20 years. With this work we try to estimate the frost risk of the citrus plantation in the Region de Murcia, based on the historical data hosted by the network of the SIAM's stations. For damages valuation, data from geographic information system has been used and has been compared with the loss recorded by the insurance companies during the last years. Frost risk has been characterized calculating the probability of an event with temperatures of -3 ° C which are the temperatures that start to damage fruits and trees, specially lime and lemon. Changes in lemon prices have also been analyzed during the years in which an event of frost occurs.

Keywords. Prices, lemon, climatic risk, agricultural insurance.

Introducción

El cultivo de los cítricos en España, se realiza principalmente en las zonas costeras del Este y del Sur de la península y se localiza sobre todo en lugares próximos al litoral y en los valles de los ríos del sur y levante. Fuera de estas zonas, el cultivo está limitado por el riesgo de heladas ya que este género es bastante sensible a los daños por frío y no puede desarrollarse en zonas frías ya que temperaturas por debajo de -2.2°C ya producen daños importantes.

Las consecuencias de las heladas varían según el estado de vegetativo de la planta, de las temperaturas alcanzadas y del número de horas con temperaturas por debajo de 0°C . El daño que ocasionan las heladas a los tejidos vegetales, suele ser como consecuencia de la formación de cristales de hielo, aunque el verdadero daño proviene del deshielo. (Ferrerías, 2003).

Tomando como referencia los últimos 20 años, se han dado varios eventos de “ola de frío” que han producido heladas que afectaron a los cítricos de la Región de Murcia. Las heladas más importantes, se produjeron en los inviernos de 1995-96, 1998-99, 2000-01, 2004-05, 2010-11, 2011-2012 y 2014-15. En estos eventos, las temperaturas en las zonas cítricas bajaron de los -3°C y causaron grandes pérdidas sobre todo en los limoneros, que es de la especie de cítrico más sensible. Durante la campaña cítrica 2010-11, hubo cinco heladas, con temperaturas por debajo de -2°C .

Durante la temporada 2011-12, las heladas se registraron durante los días 8 y 9 de febrero de 2012, llegando a -4°C el día 8 en algunas zonas cítricas y causando graves daños a los árboles y en la fruta, sobre todo en los limoneros jóvenes; las mínimas absolutas llegaron a -6°C el día 9, y en algunas zonas las temperaturas permanecieron más de 10 horas por debajo de 0°C . En la campaña 2014-15, se registró una helada durante los días 29 de diciembre al 1 de enero, bajando las mínimas entre -2°C y -5°C en las zonas cítricas murcianas.

Material y métodos

1.-Diseño de la base de datos para el inventario cítrico

Para la gestión de la gran cantidad de información necesaria para desarrollar un geoportal con información cítrica, es conveniente crear una infraestructura de datos espaciales, de carácter temática, con el objetivo de integrar los datos, metadatos, servicios e información de tipo geográfico sobre el sector cítrico que se producen en el ámbito Regional, facilitando a todos los usuarios la localización, identificación, selección y acceso a tales recursos, a través de un geoportal (<http://www.idearm.es>), que además, integra los recursos interoperables de otros productores de información geográfica nacional como el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente-MAPAMA.

2.-Integración de los datos básicos para un mapa cítrico

La fase de recopilación y producción de la cartografía básica necesaria para implementar la geodatabase de los cultivos cítricos se ha basado en los trabajos previos del IMIDA para la elaboración de la cartografía 1:5000 del proyecto SIGEAM (Erena, 2007), los trabajos de integración realizados a escala 1:25.000 para la cartografía del sistema de información de Ocupación del Suelo-SIOSE (2005, 2009, 2011 y 2014) en la Región de Murcia, así como los datos de catastro, las parcelas cítricas aseguradas por AGROSEGURO y las parcelas que reciben ayudas de la Política Agraria Comunitaria-SIGPAC. Para la estimación del riesgo se han utilizado las estaciones de la red del IMIDA denominada Servicio de Información Agraria de Murcia-SIAM, que dispone de un total 49 estaciones repartidas por las principales zonas cítricas de la Región de Murcia. Las estaciones se componen de los siguientes sensores: temperatura, humedad relativa,

viento, precipitación, radiación y evaporación de cubeta clase A. En la Figura 1 se muestra la ubicación de las estaciones y distribución de los cítricos en la Región de Murcia

3.- Análisis del riesgo de heladas

Siguiendo la metodología de la FAO (Synder, 2010), se pueden determinar las probabilidades de que un cultivo pueda ser dañado por la helada en un determinado evento. En los cítricos, las temperaturas críticas de daño varían con el estado de desarrollo del cultivo, y estas fechas varían de un año a otro, en consecuencia determinar la probabilidad y el riesgo para plantaciones frutales es más complicado que para cultivos anuales. Por ejemplo, una temperatura crítica de daño (T_c) puede ser -2.8 °C antes del inicio de la floración pero puede subir hasta -0.8 °C, durante el estado de fruto recién cuajado con diámetro inferior a 13 mm (Pamela, 2015).

El análisis de riesgo se utiliza para estimar las probabilidades de que un evento de daño ocurra o no a largo plazo. Por ejemplo, un agricultor quiere saber el riesgo de que un cultivo en particular se pierda por helada durante la vida esperada de la plantación. En dicha publicación, el riesgo se determina con el método de probabilístico (Haan, 1979), que utiliza una distribución binomial para dicha estimación, en una distribución binomial, el riesgo (R) de tener una o más ocurrencias de temperatura por debajo de la temperatura mínima seleccionada en un período de n años se puede calcular con la ecuación (1).

$$R=1-(1-p)^n \quad (1)$$

Generalmente, la sensibilidad de los cultivos a la congelación aumenta desde la floración hasta el estadio de fruto pequeño, que es cuando el cultivo es más sensible, dicha sensibilidad se incrementa cuando hay una exposición previa a temperaturas cálidas. Se sabe que las plantas resisten a la congelación cuando se han expuesto a temperaturas frías durante largos periodos y este endurecimiento es menor si la exposición es a temperaturas cálidas. La publicación de la FAO proporciona temperaturas críticas de daños en diferentes estadios fenológicos para una gran variedad cultivos. En general los cítricos tienen temperaturas críticas de 0.5 °C para los frutos recién cuajados y -3.9 °C para las hojas.

4. Impacto de las heladas en los precios del limón.

Para este trabajo, se han analizado los precios semanales del limón para el periodo 2004-2016 a partir de la información facilitada en la página web del ministerio de agricultura (Magrama, 2016). Para los años en los que se ha producido un episodio de heladas, se ha tomado la última semana de heladas y se ha observado el precio hasta final de campaña. Habida cuenta de que los precios no son constantes a lo largo de la campaña, se ha comparado esta evolución con la de la mediana de acuerdo con la siguiente expresión:

$$d_w^y = p_w^y - p_0^y - (\bar{p}_w^y - \bar{p}_0^y) \quad (2)$$

Donde p_w^y son los precios del año y ($y = 2004, K, 2016$) correspondientes a la semana w ($w = 1, K, 52$) y p_0^y los precios del año y correspondientes a la semana 0, en que se produce la última helada de dicho año. De igual forma, los precios denotados por \bar{p}_w^y y \bar{p}_0^y hacen referencia a la mediana semanal de los precios de los años considerado.

Resultados y discusión

1.- Análisis de los eventos de heladas en el periodo 1996-2015

Para el análisis de los eventos de heladas se ha creado una tabla con los datos diarios de los últimos 19 años de todas las estaciones del IMIDA (<http://siam.imida.es>) con las siguientes variables climáticas horarias: T^a , HR, velocidad y dirección del viento,

precipitación, radiación, horas de sol y horas frío, a partir de la cual mediante un geoproceto se pueden generar mapas de temperaturas mínimas y parcelas afectadas para cualquier episodio a estudiar.

2. - Caracterización regional del riesgo de heladas

Con los SIG (Sistemas de Información Geográfica) se pueden estimar las probabilidades de ocurrencia de distintos tipos de eventos como las heladas y la superficie de cada tipo de cítrico potencialmente afectada, por ejemplo, en la Figura 3 se puede observar la probabilidad de un evento (T_c de -3°C) en el periodo 1996-2015, es decir, se puede ver la distribución de probabilidades de que se dé una temperatura crítica de -3°C entre noviembre y marzo de cualquier año. La probabilidad media de que se produzca este evento, en la mayor parte de las zonas de distribución de los cítricos, es de 20 % como máximo, aunque lo más frecuente es del 10 %. Los resultados del análisis del riesgo de heladas se resumen en la figura 3 para la temperatura crítica de -3°C .

3.- Estudio de daños en las parcelas aseguradas.

Durante el periodo 1996-2015 se produjeron varios siniestros de heladas que afectaron a una superficie importante de los cítricos, siendo el episodio de mayor superficie afectada el del año 2014. La distribución de parcelas dañadas se puede ver en la (Figura 2). Como puede verse en la Tabla 3 los mayores daños en calidad corresponden al limonero, mandarino y naranjo coincidiendo con los estudios de la Universidad de California (Pamela, 2015).

En la Figura 4 se muestra el impacto de las heladas en la evolución de los precios semanales del limón. Como puede observarse, las heladas de 2004 no tuvieron incidencia en la evolución de los precios, pero para el resto de años, se produjeron incrementos considerables de los mismos, destacando la del 2014, que salvo para los precios del verano, tuvo una gran incidencia en los precios del resto del año. En la semana 20 (mediados de mayo), desde que se produjo la helada, los precios subieron 0,20 €/kg más que el promedio de los 12 años estudiados. Este incremento es similar para el año 2011 aunque más mantenido en el tiempo, ya que el incremento de 0,20 €/kg se mantuvo casi todo el año. Por su parte, el incremento de los precios del año 2010 con respecto a los medios no superó los 0,10 €/kg y en el año 2004 se produjeron disminuciones.

Conclusiones

En este trabajo se han evaluado diversas herramientas que han sido de gran utilidad para mantener un inventario actualizado de las zonas citrícolas, así como para la estimación de daños por heladas en dichas zonas. La probabilidad media de que se produzca este tipo de eventos, en la mayor parte de las zonas citrícolas de Murcia es de un 20 % anual como máximo, aunque lo más frecuente es del 10 %. En los años donde se dan eventos significativos como los del 2014, los precios de los cítricos y en especial del limón subieron 0,20 €/kg más que el promedio que en los 12 años estudiados, sobre todo por las pérdidas de calidad, que pueden llegar al 28 % de la producción segura en el caso del limonero, mandarino y naranjo que son las especie más sensible al frío.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FEDER 14-20-15 (Diseño y puesta en marcha de una infraestructura de datos espaciales sobre agricultura y agua en la Región de Murcia-IDEaRM), cofinanciado al 80% con fondos FEDER. A la empresa AGROSEGURO por la aportación del daño por helada en la zona objeto de estudio para el periodo 1996-2015.

Referencias

- Erena M., Porras I., García P., Atenza J. F., Ochoa J. , Jover A. J. 2007: Primeros resultados del SIG cítrico de Murcia: Proyecto SIGEAM. XI Congreso de la SECH, Albacete.
- Ferreras C., García Lidón A., Porras I. 2003. Las heladas en la zona cítrica de la Huerta Murciana. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Serie Técnica Nº 26. Murcia. 11-39, 50.
- Haan C.T. 1979. Risk análisis in enviromental modifications. pp. 30-51, in: B.J. Barfield & J.F. Gerber (eds.) Modification of the Aerial Environment of Crops. American Society of Agricultural Engineering (ASSAE), Monograph Nº.2. St Joseph, Michigan: ASAE.
- MAGRAMA (2016). Observatorio de precios de los alimentos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y medioambiente. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasalimentacion/observatorio-precios/>. Fecha de acceso, 22 de diciembre de 2016
- Pamela M., Carolyn L., 2015. Frost Protection for Citrus and Other Subtropicals. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. <http://anrcatalog.ucdavis.edu/>.
- Synder R.L., Melo-Abreu J.P., Matulich S. 2010. Frost protection: fundamentals, practice, and economics. Enviromental and natural resources series, Number 10, 2 vols. FAO. Rome

Tablas y Figuras**Tabla 1-** Evolución de la superficie cítrica en la Región de Murcia (Magrama,2016)

Cultivo	1996	2005	2010	2015
Limonero (LI)	21.553	24.886	22.764	21.662
Mandarino (MD)	1.635	4.259	5.294	6.542
Naranja (NA)	9.502	10.589	10.464	9.248
Pomelo (PM)	415	416	641	748
Limero (L)	10	-	65	45
Total (ha)	33.115	40.150	39.228	38.245

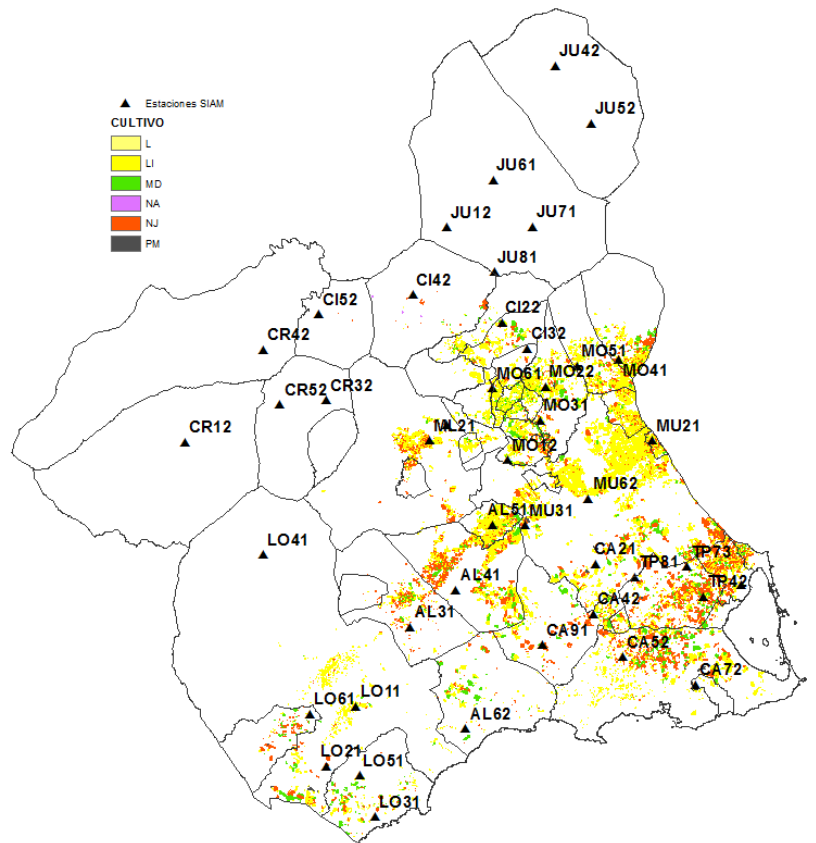


Figura 1- Ubicación de las estaciones y distribución de los cítricos en la Región de Murcia en el año 2015.

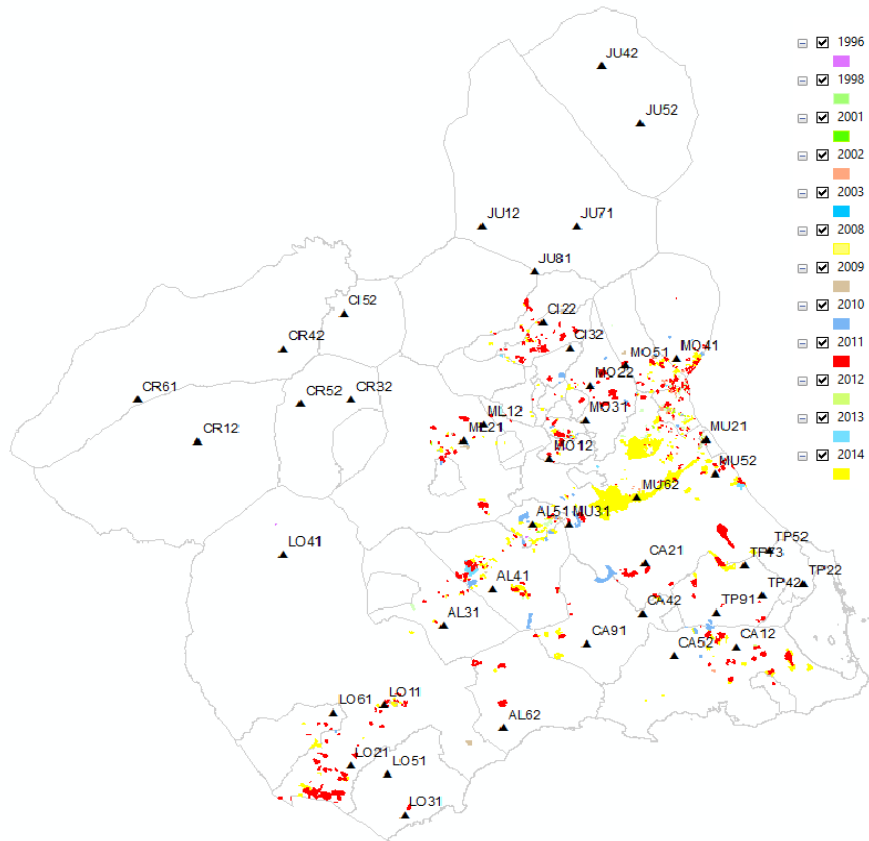


Figura 2- Parcelas de cítricos aseguradas con daños por heladas: 1996-2015.

Tabla 2- Resumen de daños en calidad y producción (% sobre producción asegurada) de las parcelas cítricas aseguradas de la Región de Murcia 1996-2015

Cultivo	ha	nº parcelas	% calidad	% producción.
Limonero	3.916	2.483	28,22	1,85
Mandarino	1.130	501	25,18	2,15
Naranja	2.690	1.090	22,87	1,51
Pomelo	71	41	7,00	0,71
Total	7.807	4.115		

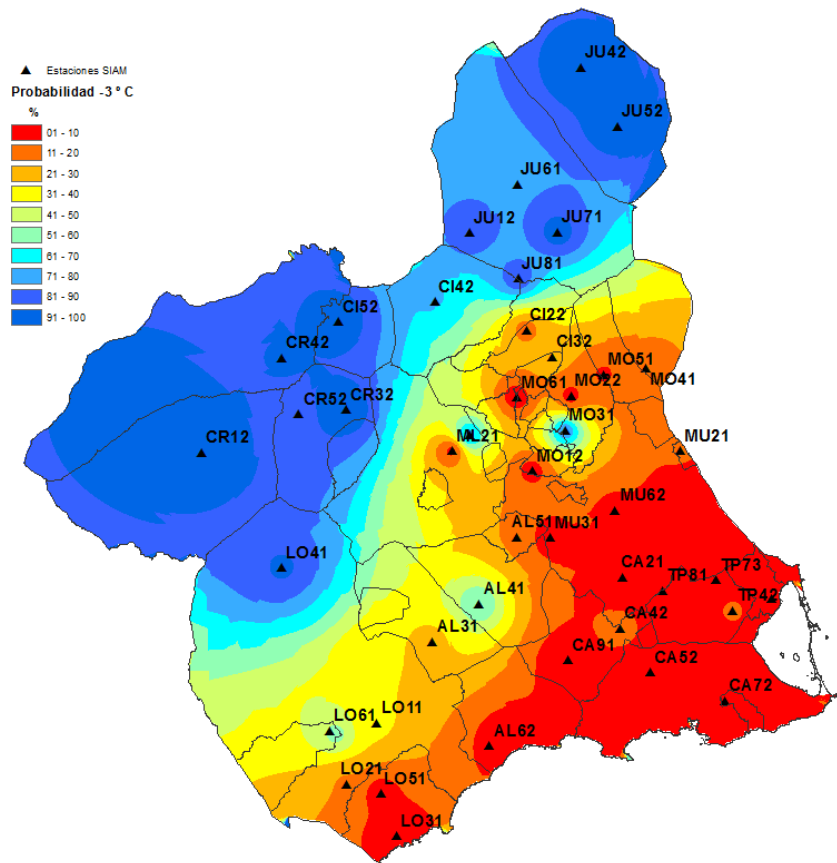


Figura 3- Probabilidad de un evento (Tc de -3°C) en el periodo 1996-2015

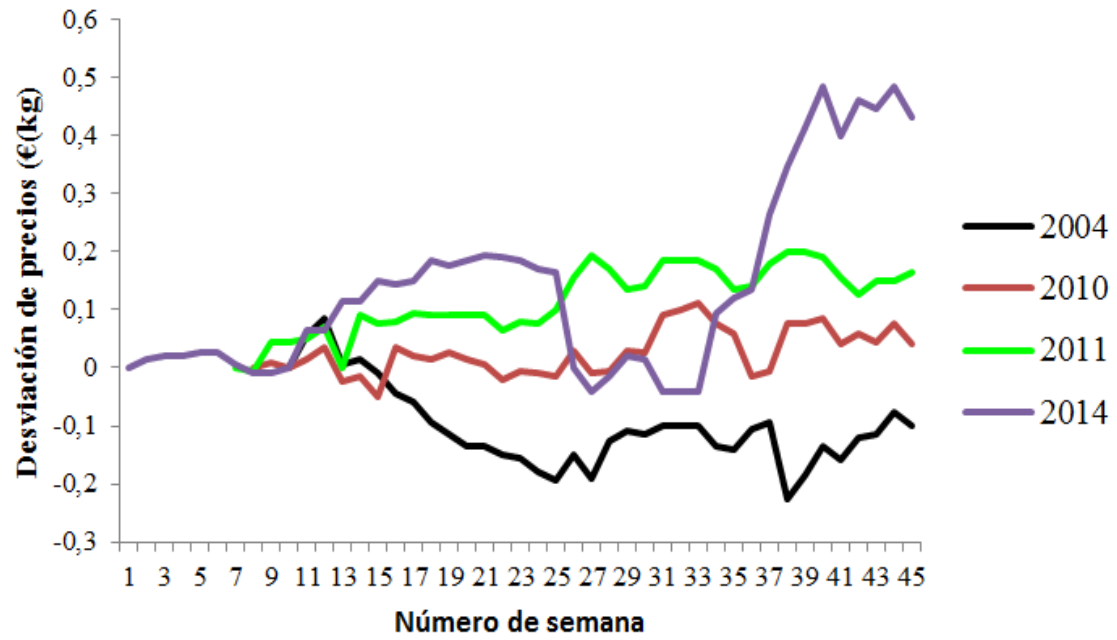


Figura 4- Evolución de los precios del limón durante las campañas que se indican en €/kg (MAGRAMA, 2016).

Mapa de desverdizado natural de los frutos de limonero de la Región de Murcia

I. Porras¹, J. M. Brotons², A. Conesa³, J. Manera⁴, R. Castañer⁴, O. Pérez-Tornero¹, M.Erena⁵

¹Equipo de Citricultura. IMIDA, C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca. Murcia. España. ignacio.porras@carm.es

²Departamento de Estudios Económicos y Financieros, Universidad Miguel Hernández (UMH), Elche, Alicante.

³Departamento de Producción Vegetal, Universidad Miguel Hernández (UMH), Orihuela, Alicante.

⁴Departamento de Física y A.C. Universidad Miguel Hernández (UMH), Elche, Alicante.

⁵Equipo de SIGyT. IMIDA, C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca. Murcia. España.

Resumen:

La recolección de frutos de limonero comienza cuando los frutos alcanzan los 58 mm de diámetro, independientemente si tienen el color amarillo o no. Si los limones se recolectan en verde, se someten a desverdizado en cámara hasta que alcanzan el color amarillo apto para su comercialización. En trabajos previos se ha observado que en las condiciones naturales de la Región de Murcia, el inicio de la desverdización natural de los frutos del limonero se inicia cuando las temperaturas medias bajan de los 15 °C y el color verde desaparece de los frutos cuando la temperatura alcanza los 6 °C. También se ha concluido que el proceso de desverdizado comienza cuando dos días, que necesariamente no tienen que ser consecutivos, tienen temperaturas por debajo de 10,5 °C o cuando las medias de las temperaturas mínimas de los 7, 14 y 21 días anteriores a la medición están por debajo de 12, 14 y 13,64 °C respectivamente. La desverdización de los frutos en el árbol, no se produce de una manera brusca, sino que lo hace gradualmente como consecuencia de la degradación paulatina de las clorofilas y de la gradual síntesis de carotenoides. El objetivo de este trabajo es la ejecución de un mapa de desverdizado de la Región de Murcia, es decir desarrollar un modelo que se pueda extender a un área geográfica extensa como es a toda la zona limonera de la Región de Murcia.

Palabras-clave: temperaturas, clorofilas, color, Cielab, isolíneas.

Abstract.

The harvesting of the lemon fruits starts when fruits reach a diameter of 58 mm, whether they have the yellow colour or not. If lemons are harvested in green, they are placed in a degreening chamber until they reach a yellow colour suitable for its commercialization. In previous works we have observed that in the natural conditions of the Murcia Region, the colour of the peel begins to change from green to yellow when the minimum temperature falls below 15 °C and the green colour disappears from the fruits when the temperature reaches 6°C. We have also have concluded that the degreening process starts when two days, not necessary consecutives, present lower temperatures below 10,5°C or when the average of the daily minimum temperatures previous 7 and 21 days falls below 12,14 and 13,64 °C respectively. The degreening of the fruits in the tree is a gradually process produced as a consequence of the continuing degradation of the chlorophylls and the gradually synthesis of the carotenes. The main objective of the present paper is to make a degreening map of the Región de Murcia, that

is, to develop a model that can be extended to a greater geographical area as the lemon area of the Región de Murcia

Keywords: Temperatures, chlorophylls, colour, Cielab, isolines

Introducción

España es la principal zona de producción de la CEE y el principal exportador de limón fresco del mundo. Para que sea comercialmente aceptable para la exportación, los frutos deben de tener más de 58 mm y ser de color amarillo (García Lidón et al., 2003).

Los días suaves, las temperaturas frías del aire nocturno y las temperaturas frescas del suelo son la combinación de temperatura más favorable para la degradación de la clorofila y la biosíntesis de carotenoides conduce a una corteza naranja brillante, en los cítricos. Por otro lado, Manera et al. (2012) encontraron que el valor para determinar la relación entre la temperatura y el desverdizado fue el promedio de la temperatura mínima diario de los 7 o 21 días anteriores al día de la medición.

Las medidas de color en limón no solo están influenciadas por la temperatura del día de la medición sino por la temperatura de los 21 días anteriores. Se ha comprobado que hay una mejor correlación de las coordenadas de color con las temperaturas mínimas que con la temperatura media Manera et al. (2012).

El cambio de color de los limones en árbol se inicia cuando las temperaturas medias baja de los 15° C y el color verde desaparece de los frutos cuando la temperatura alcanza los 6° C. La desverdización de los frutos no se produce de una manera brusca, sino que lo hace gradualmente como consecuencia de la degradación paulatina de las clorofilas y de la gradual síntesis de carotenoides.

En las áreas cítricas cuyas temperaturas medias las temperaturas no bajen de los 15°C tendrán problemas de desverdización en el árbol y tendrán que recurrir a la desverdización artificial de los frutos en cámaras con atmósfera de etileno

También se ha concluido que el proceso de desverdizado comienza cuando dos días que necesariamente no tienen que ser consecutivos tienen temperaturas por debajo de 10,5 °C. También se ha estudiado que el proceso comienza cuando las medias de las temperaturas mínimas de los 7 y 21 días anteriores a la medición están por debajo de 12,14 y 13,64°C respectivamente.

El objetivo de este trabajo es la ejecución de un mapa de desverdizado de la Región de Murcia,

Material y métodos

Toma de datos en fincas

Se han tomado semanalmente datos en siete fincas de la región de Murcia, en diferentes zonas climáticas.

Material vegetal

Árboles de limón, cultivar Fino 49, injertado en el portainjerto de *Citrus macrophylla*, Wester. Es la principal variedad de cosecha otoño-invierno. Fino 49 es el cultivar más cultivado en España (García Lidón et al., 2003) y muestra buenos resultados en Arizona (Wright y Peña, 2006).

Descripción del sitio y condiciones experimentales

Los árboles objeto de las mediciones están situados en fincas experimentales (La Alberca, Fortuna y Purias) y en fincas comerciales. Todos los árboles utilizados en el estudio estaban sanos y en plena producción.

Medidas de color

El color externo de la fruta se midió en el espacio de color CIELAB* de coordenadas colorimétricas L^* , a^* y b^* que miden el color de la corteza de la fruta de limón, usando un espectrofotómetro Minolta CM-700d compatible con el software SpectraMagic NX para almacenar mediciones y brindar un análisis de color más comprehensivo. En cada medición se midieron las coordenadas colorimétricas L^* , a^* y b^* en el espacio de color CIELAB* utilizando el iluminante D como representante de la luz del día. Cualquier disminución en el contenido de clorofila del fruto se asocia con la coordenada a^* .

Diseño experimental y estadística

Se seleccionaron aleatoriamente diez frutos en cada uno de los cuatro árboles de cada parcela de toma de datos, en la campaña 2013-2014 que van de septiembre a febrero del año siguiente. Las mediciones se realizaron aproximadamente cada diez días. En la Región de Murcia existe una red de 45 estaciones agrometeorológicas en las zonas más importantes de cultivo. Las temperaturas utilizadas en el estudio se refieren a las tomadas por una estación meteorológica muy próximas a cada parcela experimental (www.IMIDA.es).

Análisis estadístico

Se ha realizado un análisis estadístico descriptivo mediante gráficos, así como regresiones polinómicas de segundo grado entre las coordenadas colorimétricas y la concentración de pigmentos analizados

Resultados y discusión

Evolución en la coordenada colorimétrica a^*

En primer lugar se describe la evolución de las temperaturas y la coordenada a^* en La Alberca durante el proceso de desverdización en la temporada 2013/14. Como puede observarse, en la Figura 1, la coordenada a^* comienza a aumentar de valor, una vez que la temperatura mínima promedio de 14 días cae por debajo de los 12 °C.

En la Figura 2, se muestra la evolución de dicha coordenada en todas las fincas objeto de estudio. Como puede comprobarse, el arranque de la coordenada a^* se produce en un rango de fechas bastante amplio, en particular el arranque se produce entre las mediciones del 12 y el 19 de octubre. La zona de La Alberca es la que más tarda en iniciar el desverdizado.

En Figura 3 se muestra la relación entre la coordenada a^* y las temperaturas mínimas promedio de 14 días. Como puede comprobarse, una vez que las mismas descienden por debajo de los 12 °C cuando se produce el arranque de la coordenada a^* . La Figura 3 muestra dicha relación para las siete zonas objeto de estudio.

Anteriores estudios (Manera et al. 2008) se llevaron a cabo para una área determinada. Nuestro objetivo es comprobar si dicha relación se cumple para toda la región de Murcia.

Para ello, se creó la variable denominada "número de días con temperaturas mínimas de Z °C", donde Z es una temperatura dada, mediante la cual se estima el número de días hasta una fecha dada en la que la temperatura es Z °C.

La figura 4 muestra la relación entre la coordenada colorimétrica a^* y el número de días con temperaturas, T , <5, 10,5 y 15 °C. El tercer gráfico, muestra la relación entre la coordenada colorimétrica a^* y el número de días con $T < 15$ °C, que parece variar entre 2 y 15 días para el inicio del desverdizado. Luego la temperatura crítica para el inicio del desverdizado debe ser un valor inferior a 15 °C. La segunda gráfica de la figura 4 muestra el mayor grado de correlación de la coordenada colorimétrica a^* obtenida con el número de días con $T < 5$ °C. Por ejemplo, con 0 y 1 días de $T < 5$ °C, el desverdizado ya ha comenzado. En consecuencia, la temperatura mínima diaria de 5 °C no puede ser el desencadenante del desverdizado, ya que cuando el mínimo diario cae por debajo de 5 °C, los valores de la coordenada a^* son altos y el proceso ya ha comenzado. Por tanto, la

temperatura de inicio debe estar entre 5 y 15 °C. Pero lo que estamos tratando de encontrar en este rango de $Z = 5\text{ °C}$ a $Z = 15\text{ °C}$ es el valor más alto de Z en el que se observa el primer incremento en la coordenada colorimétrica a^* en un corto período de tiempo en todas las estaciones (Figura 4). Tomando $Z = 10,5\text{ °C}$, se observa que el número de días en que la temperatura es inferior a este valor es prácticamente despreciable (uno o dos días), de modo que se deduce que el inicio del desverdizado coincide con la aparición de una temperatura de $10,5\text{ °C}$ o menos para una o dos días, conclusión similar a la obtenida por Manera et al. (2012 a, b).

La cuarta gráfica de la figura 4 representa la regresión entre la coordenada colorimétrica a (y) y el número acumulado de días con temperaturas por debajo de 5, 10,5 y 13 °C (x). La regresión cuadrada fue para $T < 5$, $y = -0,0172x^2 + 1,1456x - 7,8971$, $R^2 = 0,8301$; Para $T < 10,5$, $y = -0,0034x^2 + 0,5078x - 8,7754$, $R^2 = 0,9185$ y para $T < 15\text{ °C}$, $y = -0,0007x^2 + 0,2923x - 9,8177$, $R^2 = 0,896$.

Elaboración mapa de inicio del desverdizado

Se han considerado las estaciones del SIAM. Se han contado los días que han transcurrido desde el 1 de septiembre de 2013 hasta que se han alcanzado los $10,5\text{ °C}$. Se han trazado isolíneas y se ha superpuesto la zona citrícola de la región de Murcia.

Se observa que el desverdizado en la zona citrícola apenas hay diferencias, ya que el proceso se inicia entre los 60 y 77 días, lo que equivale aproximadamente a la primera quincena de noviembre en todos los casos.

Conclusiones

El mapa del desverdizado muestra que el inicio del desverdizado en la zona citrícola de Murcia apenas hay diferencias.

El desverdizado se inicia a lo largo del mes de octubre en todas las estaciones excepto la Alberca que se inicia en la segunda quincena de noviembre.

Referencias

- García Lidón, A.; Del Río, J.A.; Porrás, I; Fuster, M.D.; Ortuño, A. 2003. El limón y sus componentes bioactivos. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Serie Técnica Nº 25. 127 pp.
- González-Sicilia, E., 1960. El cultivo de los agrios. INIA, Madrid.
- Davies, F.S., Albrigo, L.G., 1994. Citrus. Cab International, Wallingford.
- Wright, G.C. and M.A. Peña. 2006. Lemon rootstock trials in Arizona – 2005-06. 2005 Citrus Research Report. University of Arizona College of Agriculture, Tucson, AZ. <http://cals.arizona.edu/pubs/crops/az1428/az1428-01a.pdf>
- Manera, J.; Ruiz, G.; Fernández, J.C.; Conesa, A.; Robles, J.M.; Porrás, I. 2008. Influencia de la temperatura sobre las coordenadas colorimétricas L, a y b en la evolución del color externo en los frutos de limón. *Levante Agrícola*, 47(1): 65-70.
- Manera, J.; Brotons, J.M.; Conesa, A.; Porrás, I. 2012. Relationship between air temperature and degreening of lemon (*Citrus lemon* L. Burm. f.) peel color during maturation. *Australian Journal of Crop Science*, 6(6): 1051-1058.
- Spiegel-Roy, P., Goldschmidt, E.E., 1996. *Biology of Citrus*. Cambridge University Press.

Tablas y Figuras

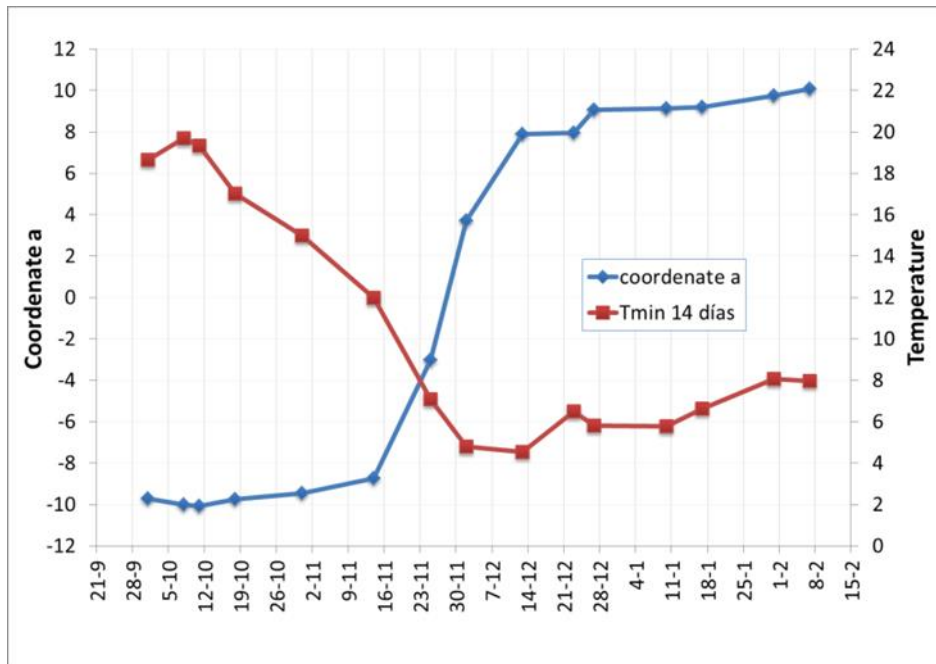


Figura 1- Evolución de las temperaturas mínimas (promedio de 14 días) y coordenada a en la Alberca.

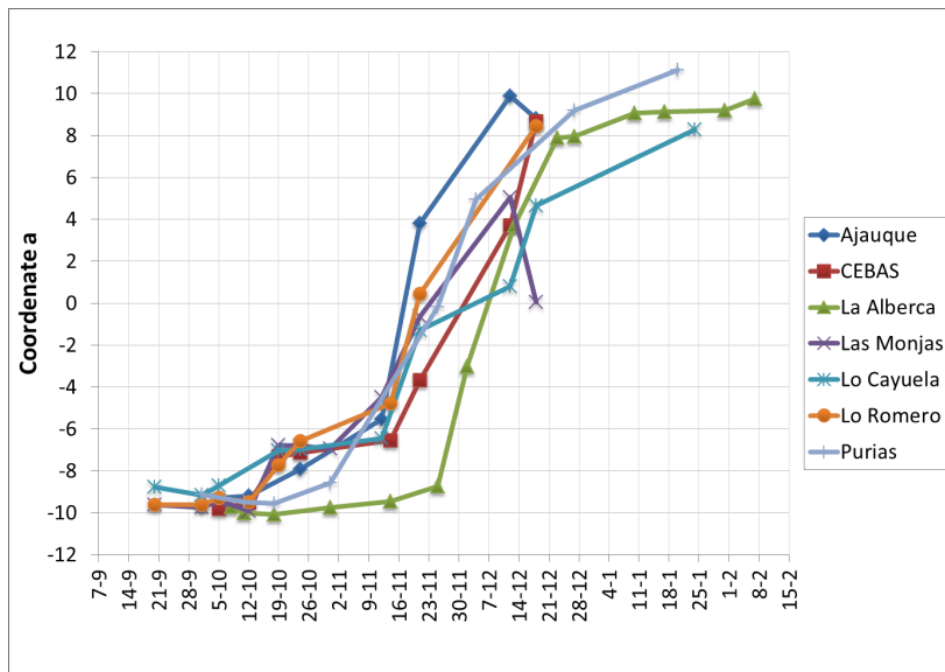


Figura 2- Evolución de la coordenada a en las diferentes regiones estudiadas de la Región de Murcia.

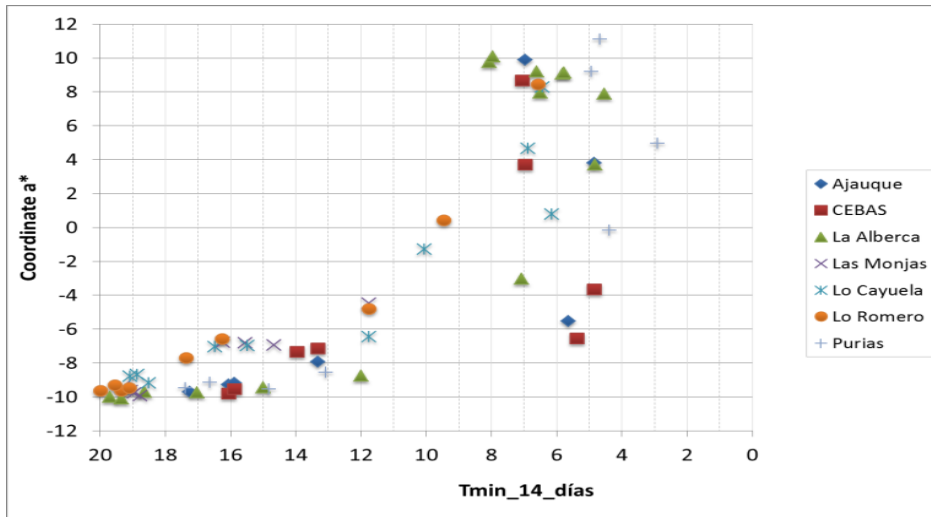


Figura 3- Relación entre Coordenada a* y Temperaturas mínimas de 14 días.

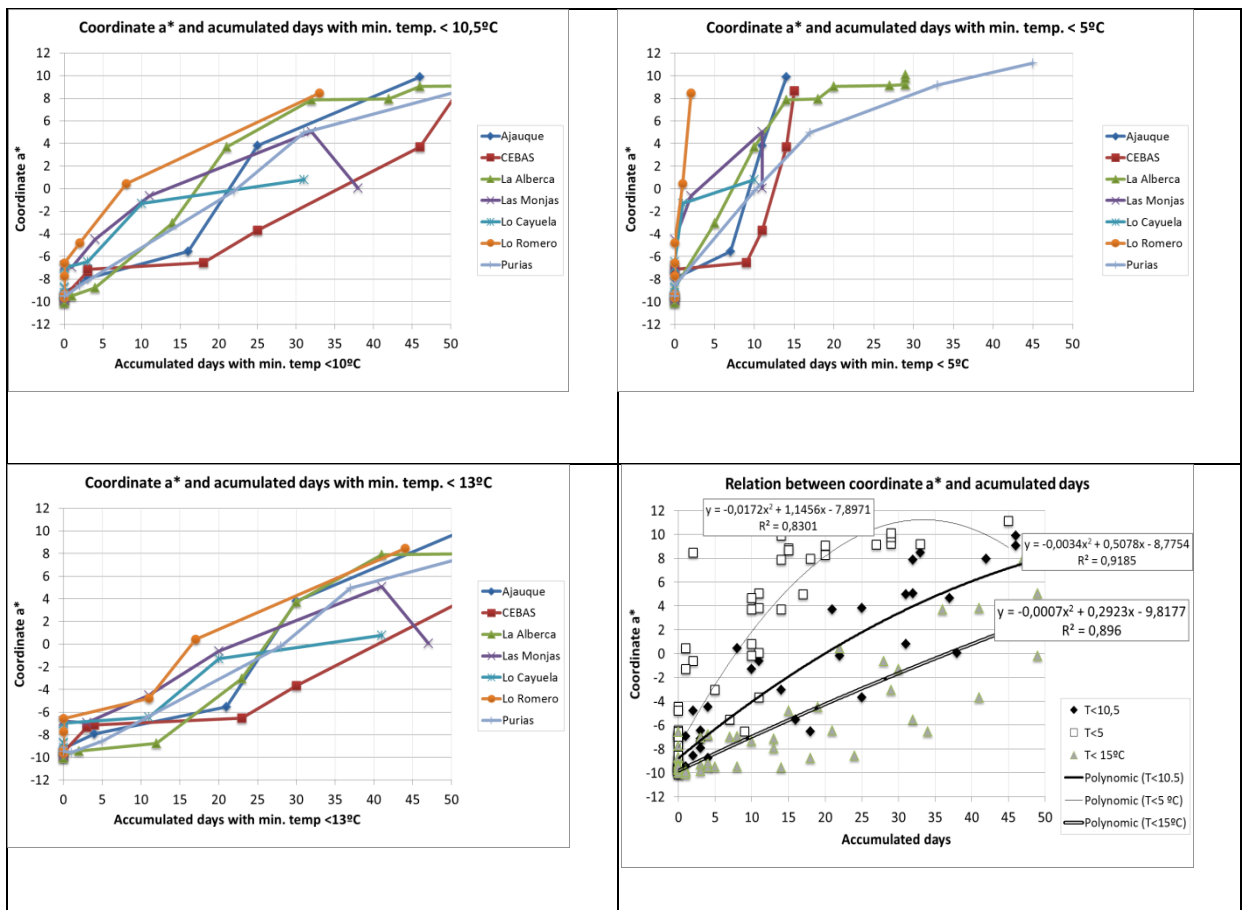


Figura 4- Relación entre el número acumulado de días con temperaturas mínimas inferiores a 10,5°C, 5°C y 13°C y la variable colorimétrica a*, y la regresión entre la variable colorimétrica a* y el número acumulado de días con temperaturas mínimas inferiores a 10,5, 5 y 13 °C.

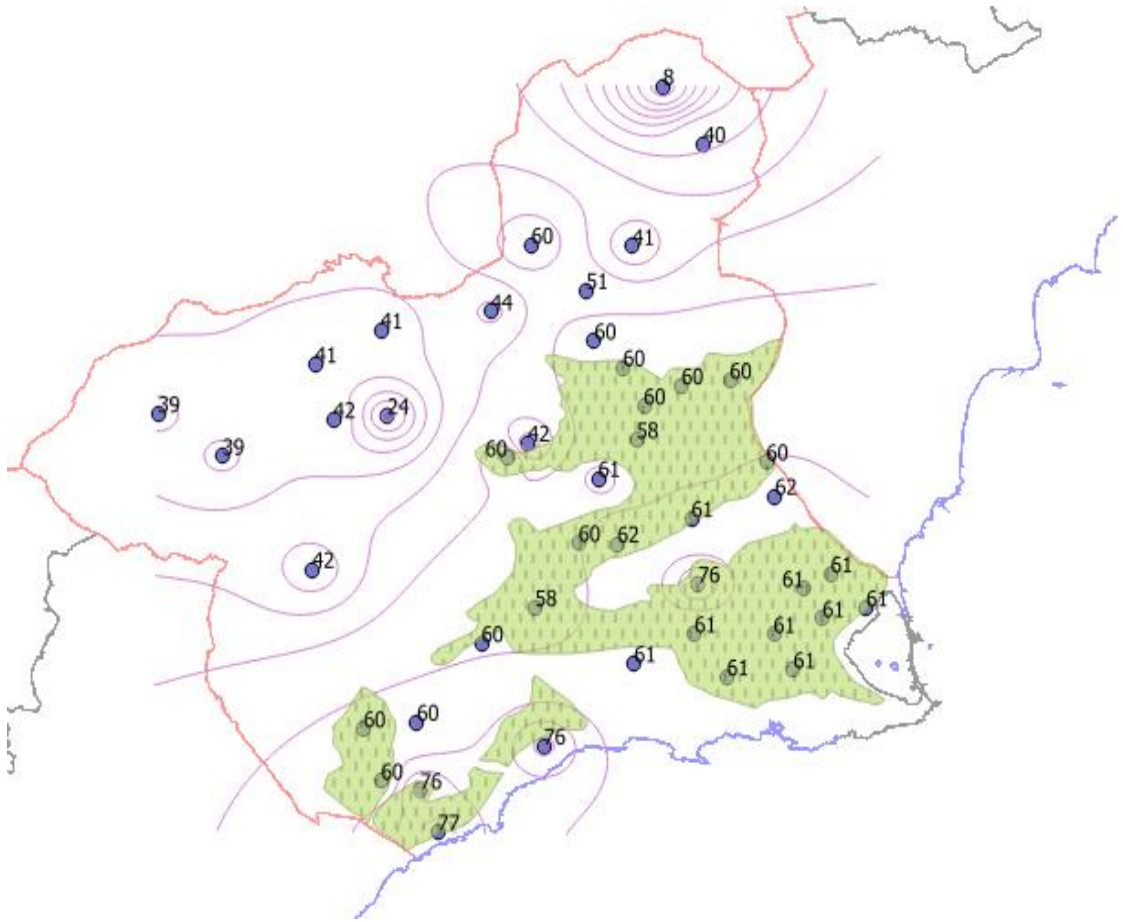


Figura 5- Mapa del desverdizado. Representación del número de días, a partir de 1 de septiembre, para inicio del desverdizado natural del limón Fino 49, en la zona citrícola de la Región Murcia.

A cultura da Figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) no Alentejo, estudo de dois compassos de plantação

Francisco Fole², Idália Costa¹, José Regato¹ & Mariana Regato¹

¹Instituto Politécnico de Beja - Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares – Campus - 7800-295-Beja, mare@esab.ipbeja.pt

²Gabinete de Planeamento e Gestão Ambiental – Câmara Municipal de Estremoz - francisco.j.fole@cm-estremoz.pt

Resumo

O presente trabalho teve como principais objetivos, fazer a caracterização das novas explorações com a cultura da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill no Alentejo e estudar o comportamento da cultura em duas modalidades de compasso 4 x 3 m e 4 x 1,5 m, através da instalação de um ensaio no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja.

Dos resultados obtidos, tiramos as seguintes conclusões: i. as explorações com a cultura da figueira-da-índia no Alentejo são relativamente recentes, com três a quatro anos de existência; ii. o método de plantação da cultura (manual, enterrando parte do cladódio), foi idêntico para a maioria dos produtores; iii. O compasso foi de 5 m na entrelinha para a maioria dos pomares e variou entre 0,5 m e 4,5 m na linha, consoante o tipo de produção adotado (fruto ou forragem); iv. o principal objetivo dos agricultores é a produção do fruto; v. o principal sistema de produção escolhido foi o modo de produção biológico.

No ensaio de compassos, apenas o espaçamento 4 x 3 m, teve um efeito significativo no comprimento longitudinal do fruto, que foi maior nesta modalidade; a dureza do fruto foi de 2,5 kg/0,5 cm² e o seu teor em sólidos solúveis totais (SST) foi de 14,5 %, valores que estão de acordo com a bibliografia consultada.

A região de Beja e o Alentejo em geral apresentam boas condições para a produção de frutos de boa qualidade, em face de alguns resultados obtidos.

Palavras-chave: novas explorações no Alentejo; sistema de produção; qualidade do fruto.

Abstract

This work had as main objectives, to characterize the new farms with the culture of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill in Alentejo, and to study the behavior of the crop in two modalities of 4 x 3 m and 4 x 1,5 m compass, through the installation of an essay at the Center Hortofrutícola of the Escola Superior Agrária de Beja.

From the results obtained, we have the following conclusions: i. the farms with the *Opuntia ficus-indica* crop in the Alentejo are relatively recent, with three to four years of existence; ii. the method of planting the crop (manual, burying part of the cladodium), was identical for most producers; iii. the measure was of 5 m in the line for most of the orchards and varied between 0.5 m and 4.5 m in the line, depending on the type of production adopted (fruit or fodder); iv. the main objective of the farmers is the production of the fruit; v. The main production system chosen was the organic production method.

In the compass test, only the 4 x 3 m spacing had a significant effect on the longitudinal length of the fruit, which was higher in this modality; the hardness of the

fruit was 2.5 kg/0.5 cm² and its total soluble solids content (SST) was 14.5%, values that are in agreement with the consulted bibliography.

The region of Beja and Alentejo in general presents good conditions for the production of good quality fruits, in the face of some results obtained.

Keywords: new explorations in Alentejo; production system; fruit quality.

Introdução

A *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, conhecida por figueira-da-índia foi considerada durante muito tempo, em Portugal, como uma planta marginal, ocupando os solos mais pobres, formando sebes para divisão das propriedades rurais (Fole, 2014).

Atualmente começa a integrar a fileira económica da fruticultura no nosso país e já surge como uma planta cultivada (Fole, 2014).

A cultura da figueira-da-índia pode vir a ter grande importância na revitalização de áreas rurais que tem sido sujeitas, nos últimos anos à desertificação (Garcia, 2014).

Nestas zonas rurais de baixa densidade e sujeitas à desertificação, há uma necessidade de criar estratégias que assegurem a fixação da população, criando postos de trabalho e riqueza, mas assegurando a sustentabilidade dos recursos existentes. Culturas, como a figueira-da-índia, desde que bem conduzidas através de tecnologias adequadas, que permitam altos níveis de produtividade e qualidade dos produtos, poderão ser uma alternativa para estas regiões (Garcia, 2014).

A primeira plantação de figueira-da-índia foi instalada em 2009, e a partir de então, tem havido um aumento progressivo, existindo em 2016, aproximadamente 200 hectares plantados. Muitas destas explorações situam-se no Alentejo, onde tem havido algum dinamismo por parte dos agricultores, nomeadamente na parte comercial, com a procura de novos mercados e novas possibilidades de escoamento do produto, que ainda são muito insipientes, causando um forte estrangulamento ao desenvolvimento futuro da cultura.

Considera-se que quando houver um maior volume de produção, que permita uma comercialização mais efetiva, toda a situação melhorará, podendo mesmo conquistar-se, alguns mercados estrangeiros, conduzindo à exportação dos frutos, com grandes vantagens económicas.

Material e métodos

O presente trabalho teve dois objetivos principais, um deles foi fazer o levantamento e descrição de algumas das novas explorações com a cultura da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill no Alentejo e o outro foi estudar o efeito de dois compassos no comportamento da cultura.

No que diz respeito ao primeiro objetivo, realizaram-se visitas às explorações em estudo e efetuou-se um pequeno inquérito aos agricultores.

Relativamente ao segundo, instalou-se no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja (ESAB), um ensaio de figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.), utilizando dois compassos 4 x 3 m (830 plantas ha⁻¹) e 4 x 1,5 m (1660 plantas ha⁻¹), numa área de 540 m², com objetivo de verificar a influência do compasso no desenvolvimento da cultura, produtividade e qualidade dos frutos.

O delineamento experimental foi realizado em blocos causalizados com três repetições, com três plantas por repetição.

Utilizaram-se cladódios provenientes de plantas espontâneas, situadas em Estremoz, que foram colocados, um mês antes da plantação em boas condições de arejamento e temperatura, de modo a perderem alguma humidade (turgescência), para

evitar o aparecimento de doenças criptogâmicas, depois de plantados e também para enraizarem com maior facilidade.

A cultura foi instalada em janeiro de 2013, embora se considere que a melhor época de plantação é na primavera.

Na plantação, utilizou-se apenas um cladódio, colocado na vertical, enterrado cerca de 1/2 e com a parte plana virada para a entrelinha. As linhas foram instaladas com a orientação N-S.

Efetou-se apenas uma rega manual a seguir à plantação, para permitir uma maior aderência do cladódio ao solo, permanecendo a cultura em sequeiro.

Em maio e junho procedeu-se ao controlo de infestantes, utilizando roçador na linha e destróador na entrelinha.

Foram registadas as datas de ocorrência das diferentes fases de desenvolvimento da cultura, desde a taxa de pegamento dos cladódios, aparecimento das aréolas, floração, vingamento dos frutos, queda dos frutos, maturação e colheita.

Determinou-se o número de cladódios e o seu comprimento longitudinal e transversal.

Analisaram-se os frutos relativamente aos seguintes parâmetros: cor da epiderme e da polpa, comprimento longitudinal e transversal, peso, presença de sementes, sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix) e dureza.

Resultados e Discussão

A cultura da figueira-da-índia começa a ter interesse no Alentejo, havendo já algumas explorações instaladas.

Fez-se o acompanhamento e caracterização de cinco destas novas explorações, quatro no Alto Alentejo e uma no Baixo Alentejo. Foram instaladas em 2012, 2013 e 2014, nos meses de março a julho. As áreas são as seguintes: duas explorações com 5 hectares, duas explorações com 1 hectare e uma exploração com 3 hectares.

Encontram-se instaladas em solos franco-arenosos bem drenados e em solos argilosos.

Quatro das explorações estão conduzidas em modo de produção biológico e uma em modo de produção integrada.

O procedimento para a instalação da cultura foi diferente para cada uma das explorações, consistindo: 1. na abertura de um rego com cerca de 30 cm de profundidade, sem qualquer mobilização de solo; 2. na colocação direta dos cladódios no terreno, manualmente, com apenas recurso a uma enxada, sem que houvesse qualquer tipo de mobilização; 3. na abertura de uma cova através de uma broca com cerca de 25 cm de diâmetro, diretamente no solo, sem que houvesse qualquer tipo de mobilização do mesmo; 4. numa mobilização do solo através de uma gradagem e na realização de um camalhão, no qual foram abertas as covas para a plantação com a ajuda de um sacho, tendo sido colocado no fundo da cova, cerca de 200 g de matéria orgânica como fertilização de fundo; 5. na mobilização do solo, apenas na linha, onde foram plantados os cladódios.

Apenas numa das explorações, os cladódios foram pulverizados com uma calda à base de cobre antes da plantação.

Os cladódios utilizados na plantação foram obtidos em taludes e sebes da região em 4 das explorações e uma delas adquiri-os na Empresa Cactácea de Sesimbra.

O sistema de plantação utilizado foi o seguinte: colocação de um cladódio por cova em três das explorações, dois cladódios por cova, numa exploração e quatro cladódios por cova numa outra exploração.

Duas explorações utilizaram cladódios para a produção de frutos de polpa vermelha ou púrpura, uma para a produção de frutos de polpa verde e laranja, uma outra para a produção de frutos de polpa púrpura e laranja e uma última para a produção de massa verde para forragem.

Os compassos adotados também foram muito variados, destacando-se os seguintes para a produção de fruto: 5 x 2 m; 4 x 3 m; 5 x 3 m e 6 x 4,5 m e os de 5 x 1 m e 5 x 0,5 m para a produção de massa verde.

O controlo de infestantes é realizado através de roçador ou sacha manual na linha e destroçador na entrelinha.

Utilizaram rega manual no início da plantação e nalguns casos rega manual mensal. Em duas explorações pretendem colocar um sistema de rega gota-a-gota.

Em relação a pragas e doenças, apenas foram mencionados danos causados por coelhos e javalis em duas explorações.

O destino da produção é o seguinte: 1. produção de fruto para o aproveitamento da polpa e óleo das sementes numa exploração; 2. obtenção de fruto, uma parte para ser processado e outra para comercialização em fresco em três explorações; 3. produção de cladódios para utilizar misturados com palha, num sistema “unifeed”, que se destinava, a complementar, a alimentação de bovinos para carne numa outra exploração.

Relativamente ao acompanhamento do ensaio instalado no Centro Hortofrutícola da ESAB, em abril determinou-se a taxa de enraizamento dos cladódios, que foi de apenas de 63,8 %, pelo que foi necessário proceder à retanchar de algumas plantas. A baixa taxa de enraizamento deveu-se ao fato de ter ocorrido encharcamento devido à precipitação (180 mm) que ocorreu no mês de março.

No mês de maio, deu-se um grande desenvolvimento das aréolas, observou-se a diferenciação floral, sendo visíveis os gomos que iria dar origem ao fruto e os que evoluiriam para formar cladódios. Foi também nesta altura que se iniciou a floração, que ocorreu de forma muito escalonada, sendo possível observar no mesmo cladódio, gomos fechados, flores abertas, e queda das pétalas, ou seja pré-floração, floração e pós-floração. Em seguida ocorreu o vingamento dos frutos.

No mês de junho alguns cladódios apresentavam sinais de desidratação, apresentando-se pouco túrgidos e dobrados.

Em julho notou-se um grande desenvolvimento dos cladódios novos e dos frutos.

Os frutos apresentavam epiderme e polpa verde e continham poucas sementes.

Em agosto começou a notar-se a queda dos frutos, a qual que se acentuou em setembro. Surgiram ainda alguns frutos mais serôdios, que chegaram até à fase de maturação, os quais foram colhidos tardiamente e analisados.

Relativamente aos cladódios, de acordo com a análise de variância o compasso teve um efeito estaticamente não significativo ($p > 0,05$), sobre o número, comprimento transversal e comprimento longitudinal dos cladódios (quadro 1)

No que respeita aos frutos, o compasso teve um efeito estatisticamente não significativo relativamente ao número de frutos por planta e comprimento transversal do fruto. Apenas se verificou um efeito estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$), do compasso no comprimento longitudinal médio do fruto (quadro 1)

De acordo com a figura 1 obtiveram-se frutos com o comprimento longitudinal médio superior no compasso de 4 x 3 m, com um valor de 57 mm comparativamente aos do compasso de 4 x 1,5 m, cujo comprimento longitudinal foi de 49 mm.

Apresenta-se no quadro 2, os resultados obtidos referentes aos parâmetros de qualidade analisados nos frutos obtido no ensaio no 1º ano. O teor de sólidos solúveis totais (SST) de 14,5 % obtido nos frutos colhidos tardiamente no ensaio, situa-se entre os valores referidos por Inglese (2014) para este parâmetro que foram: 14,9 % em plantas

até 1 m; 15,0 % para plantas até 2 m; e valores de 15,7 %, para plantas entre 2 e 3 m de altura

Em relação à dureza do fruto (resistência do fruto ao transporte), o valor apresentado foi de 2,5 kg/0,5 cm², superior ao referido por Alves (2011), que obteve cujo valor máximo de 2,20 kg/0,5 cm², no estudo comparativo de vários frutos

Como se obtiveram poucos frutos do ensaio, analisaram-se também alguns frutos colhidos das plantas mãe (quadro 3). Verificaram-se algumas diferenças, relativamente aos parâmetros estudados, entre os frutos do ensaio e os das plantas mãe, nomeadamente na dureza, no comprimento longitudinal e transversal e peso do fruto, que foram superiores nestes últimos, observando-se, no entanto, um valor mais baixo para os SST nos frutos provenientes das plantas mãe, o que se pode dever ao facto destes terem sido produzidos em condições edafo-climáticas diferentes (Estremoz).

Normalmente as plantas começam a produzir a partir do terceiro ano, portanto estes frutos não podem ser considerados representativos desta cultura.

Em 2015, também se procedeu à análise dos frutos obtidos no ensaio, sendo os resultados, os que constam no quadro 4 e verificou-se que o peso (92,5 g) e o calibre (51,2 mm) são superiores e o teor de sólidos solúveis totais é ligeiramente superior (14,9 %). Estes frutos continuaram a apresentar peso e calibre baixos, no entanto relativamente ao peso, já se pode considerar que está dentro dos limites considerados normais, para esta espécie, de acordo com Oliveira et al. (2016), que referem que o peso do fruto varia entre 80 e 200 g.

Comparando estes valores com os de um outro ensaio de regadio, também realizado no Alentejo (quadro 5) com frutos de polpa e epiderme verde, obtidos ao fim de dois anos após a plantação, observou-se que estes apresentaram um peso superior (123,8 g) e um teor de sólidos solúveis totais mais baixo (13,9 %). Relativamente a estes frutos também se determinou a acidez (expressa em % de ácido cítrico) e obteve-se o valor de 0,11 %, que está dentro dos valores citados em Alves et al. (2008).

Conclusões

Relativamente à caracterização das novas explorações de figueira-da-índia no Alentejo, que foram objeto de estudo, podemos concluir o seguinte: as explorações com a cultura da figueira-da-índia são relativamente recentes, com três a quatro anos de existência; apenas numa exploração se realizou a mobilização do solo; o método de plantação da cultura (manual, enterrando parte do cladódio), foi idêntico para a maioria dos produtores, embora tivesse havido diferenças em relação ao número de cladódios colocados por cova (1, 2, 3 ou 4); o compasso foi de 5 m na entrelinha para a maioria dos pomares e variou entre 0,5 m e 4,5 m na linha, consoante o tipo de produção adotado (forragem ou fruto); o principal objetivo dos agricultores é a produção do fruto e o principal sistema de produção escolhido foi o modo de produção biológico.

No que se refere ao ensaio de compassos conduzido em sequeiro, concluiu-se que a época de plantação em janeiro não foi a ideal e que a planta é sensível ao encharcamento do solo, obtendo-se apenas 63,8 %, de enraizamento, o que implicou que se realizasse uma retancho no mês de abril.

A planta produziu frutos no primeiro ano, que iniciaram o seu desenvolvimento a partir de julho, observando-se uma queda muito acentuada em agosto e setembro.

Apenas foi possível colher alguns frutos mais serôdios, que apresentaram pesos e calibres abaixo dos considerados normais para esta espécie. Analisando os frutos produzidos no ensaio em 2015 (2 anos após a plantação), verificou-se que o peso e o calibre foram superiores, embora ainda considerados baixos, quando comparados com os de outros frutos produzidos na região e com a mesma idade, mas provenientes de uma

exploração de regadio. Conclui-se que a rega pode ter influência no peso e calibre dos frutos.

O teor de sólidos solúveis totais, obtido nos dois anos de ensaio é considerado normal e está dentro dos valores referidos na bibliografia.

Os frutos obtidos no compasso de 4 x 3 m apresentaram maior comprimento longitudinal médio, relativamente ao dos frutos do compasso de 4 x 1,5 m.

Será necessário continuar com este estudo, para se chegar a resultados mais conclusivos e retirar conclusões mais precisas.

Referências

- Alves, M.; Souza, A.; Gamarra-Rojas, G.; Guerra, N. 2008. Fruto de palma [*Opuntia ficus-indica* (L) Miller, *Cactaceae*]: morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. **9** (1): 16-25.
- Alves, J.C.R. 2011. *Perspectivas de utilização da figueira-da-índia no Alentejo: Caracterização de *Opuntia* sp. no litoral Alentejano e na Tapada da Ajuda e estudo da instalação de um pomar*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Fole, F. J. A. 2014. *A Cultura da Figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) no Alentejo. Estudo de dois compassos de plantação*. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Escola Superior Agrária. Instituto Politécnico de Beja.
- Garcia, A. 2014. Pragas e Doenças de *Opuntia ficus-indica* - Risco de invasões biológicas. *Actas do 1º Encontro Nacional do Figo da Índia*. Évora Hotel. Évora.
- Inglese, P. 2014. Post harvest fruit management. *Actas do 1º Encontro Nacional do Figo-da-índia*. Évora Hotel. Évora.
- Oliveira, M.; Passarinho, J.; Candeias, D. 2016. *A espécie (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) in A cultura da figueira-da-índia e a valorização agroindustrial do fruto*. INIAV, IP. Lisboa.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Análise de variância do Compasso (valor de P).

Número de cladódios	Comprimento transversal dos cladódios	Comprimento longitudinal dos cladódios	Número de frutos por planta	Comprimento longitudinal do fruto	Comprimento transversal do fruto
Valor P	Valor P	Valor P	Valor P	Valor P	Valor P
0,294 ns	0,400 ns	0,805 ns	0,189 ns	0,040*	0,334 ns

Valores de F-ns, *, **, *** a P>0,05, P≤0,05, P≤0,01, P≤0,001, respetivamente.

Quadro 2 – características dos frutos do ensaio (1º ano).

Tipo de fruto	Peso (g)	∅ transversal (mm)	∅ longitudinal (mm)	Sólidos Solúveis totais (%)	Dureza (kg/0,5 cm ²)
Polpa verde	29,5	30,6	45,9	14,5	2,5

Quadro 3 – características dos frutos das plantas mãe.

Tipo de fruto	Peso (g)	∅ transversal (mm)	∅ longitudinal (mm)	Sólidos Solúveis totais (%)	Dureza (kg/0,5 cm ²)
Polpa verde	33,0	32,6	60,7	13,3	3,7

Quadro 4 – características dos frutos do ensaio (2º ano).

Tipo de fruto	Peso (g)	∅ transversal (mm)	∅ longitudinal (mm)	Sólidos Solúveis totais (%)	Dureza (kg/0,5 cm ²)
Polpa verde	92,5	51,2	78,5	14,9	4,5

Quadro 5 – características dos frutos de outro ensaio no Alentejo 2º ano

Tipo de fruto	Peso (g)	∅ transversal (mm)	∅ longitudinal (mm)	Sólidos Solúveis totais (%)	Acidez (%)
Polpa verde	123,8	53,2	87,1	13,9	0,11

**Figura 1** – Efeito do compasso no diâmetro longitudinal do fruto.

Melhoramento Genético da camarinha; Seleção e Avaliação de plantas

Pedro B. Oliveira¹, Teresa Valdivieso¹ e Francisco Rosado-da-Luz¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS-SAFSV, Av. da República Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras

Resumo

A camarinha (*Corema album* (L.) D. Don) é uma planta endémica das dunas da costa atlântica da Península Ibérica. Os frutos, além da distinta cor branca e sabor doce, apresentam um valor nutritivo elevado e características importantes quanto à sua composição em antioxidantes. Após o sucesso dos primeiros estudos de multiplicação vegetativa e seminal torna-se necessário estabelecer critérios sólidos para a recolha e seleção dos melhores genótipos no seu habitat natural, tendo em vista o melhoramento da espécie. Em 2015 iniciou-se a seleção de plantas de *C. album* na duna da Aldeia do Meco. Foram estabelecidos oito critérios empíricos de seleção das plantas; produção (número de frutos por planta), calibre dos frutos (dimensão), forma dos frutos, facilidade de colheita, homogeneidade de maturação dos frutos, cor (intensidade da cor branca), sabor (apreciação gustativa no local) e vigor geral da planta. Os lotes de frutos recolhidos foram posteriormente analisados em laboratório, para aferir e complementar os critérios de campo. Foram efetuadas as seguintes medições; peso fresco de 100 frutos e peso fresco de sementes de 100 frutos, peso fresco e seco de 40 frutos, forma do fruto (comprimento dos eixos transversal e longitudinal) valor médio de °Brix de 10 amostras de 10 frutos, número de frutos translúcidos ao fim de 12 e 69 dias em câmara frigorífica. Com base nos critérios de campo, selecionaram-se genótipos cujos frutos apresentaram bom sabor (11), elevado calibre dos frutos (9), elevada produção (cinco), facilidade de colheita (cinco) e forma trilobada dos frutos (dois). As análises laboratoriais confirmaram algumas das características selecionadas no campo. No final foram selecionados quatro genótipos com boas perspectivas de vir a integrar um programa de melhoramento genético, com o objetivo da obtenção de um novo produto com características comerciais únicas de valor acrescentado.

Palavras-chave: *Corema album*, prospeção, seleção, melhoramento genético.

Abstract

‘Camarinhas’ or the ‘white crowberry’ (*Corema album* (L.) D. Don) is an endemic shrub of the Iberian Peninsula Atlantic coast dunes. Fruits, besides its distinct white color and sweetness, present high nutritional value and important characteristics in its antioxidant composition. After the success of the first vegetative and seminal multiplication studies that establish the first tools to initiate a breeding program, it was established solid criteria for selection of the best genotypes in their natural habitat. In 2015 *C. album* plant selection in Aldeia do Meco’s dunes began. Eight criteria were established for plant selection; fruit production (number of fruits per plant), fruit size, fruit shape, easy fruit harvest, fruit ripening homogeneity, color (white color intensity), taste (*in loco* evaluation) and plant vigor. The fruit lots collected were later analyzed in the laboratory, in order to ascertain field criteria. The following measurements were performed; fresh weight of 100 fruits, fresh weight of seeds from 100 fruits, fresh and dry weight of 40 fruits, fruit shape (length of transversal and longitudinal axes), average °Brix of 10 samples of 10 fruits, number of translucent fruits after 12 and 69 days stored in a cold room. Based on field criteria, genotypes were selected due to; fruit flavor (11), fruit

size (9), high yield (5), ease of harvest (5) and trilobate fruit shape (2). Laboratory analyzes confirmed some of the characteristics selected in the field. At the end of these evaluations, four genotypes were selected for establishment in culture with promising prospects to integrating a breeding program aiming to obtain a new product with unique added value commercial characteristics.

Keywords: *Corema album*, selection, breeding.

Introdução

A camarinha é uma planta endémica das dunas da costa atlântica da Península Ibérica. É uma espécie dioica pertencente ao género *Corema*, inserido na família Ericaceae. Os frutos, além da sua cor distinta branca e de sabor doce, apresentam um valor nutritivo elevado e características importantes quanto à sua composição em antioxidantes (Pimpão et al., 2013). O INIAV, I.P. em colaboração com diferentes Institutos e Universidades iniciou o estudo desta planta em diferentes vertentes cujo objetivo final será a introdução dos seus frutos no mercado europeu dos pequenos frutos (Oliveira e Dale, 2012). Para alcançar este objetivo é necessário identificar, recolher e estudar os clones com melhores características das diversas regiões do país e mantê-los em coleção para posterior multiplicação (Oliveira et al., 2016). Após o sucesso dos primeiros estudos de multiplicação vegetativa (Magalhães, 2015) e seminal (Santos et al., 2014), que garantem que o melhor clone pode ser multiplicado ou que sementes obtidas de cruzamentos controlados terão sucesso na germinação, urge estabelecer critérios sólidos para a recolha dos melhores genótipos no seu habitat natural. O presente artigo descreve os diferentes passos que estão a ser tomados no sentido de estabelecer um protocolo para a seleção e recolha de plantas ao longo da costa portuguesa. Estas plantas devem reunir as melhores características agronómicas, com o intuito de serem utilizados no melhoramento genético da camarinha, visando a obtenção de um novo produto com características comerciais únicas de valor acrescentado.

Material e Métodos

Em Agosto de 2015 efetuou-se uma saída de campo à duna da Aldeia do Meco, região localizada entre a praia do Penedo e a Lagoa de Albufeira (faixa de aproximadamente 5km), para seleção de plantas de *Corema album*. Uma equipa de cinco pessoas treinadas nos diferentes critérios de seleção percorreram a duna de forma dispersa tendo como objetivo observar o maior número de indivíduos possível. Foram estabelecidos oito critérios empíricos de seleção das plantas; produção (número de frutos por planta), calibre dos frutos (dimensão), forma dos frutos, facilidade de colheita, homogeneidade de maturação dos frutos, cor (intensidade da cor branca), sabor (apreciação gustativa no local) e vigor geral da planta. Foram selecionadas vinte plantas que foram consideradas as melhores em pelo menos uma das características pré-definidas das quais se recolheu cerca de 1 kg de frutos. As plantas foram georreferenciadas e etiquetadas para posterior recolha de estacas durante o período de inverno. Os lotes de frutos recolhidos durante a missão de campo foram posteriormente analisados no laboratório de biometria vegetal. Foram efetuadas as seguintes medições; peso fresco de 100 frutos, peso fresco de sementes de 100 frutos, peso fresco e seco de 40 frutos (frutos secos a 60 °C até peso constante), forma do fruto (comprimento do eixo vertical e do eixo longitudinal) valor médio de Brix (10 amostras de 10 frutos medidos com um refratómetro digital), número de frutos translúcidos ao fim de 12 e 69 dias em câmara frigorífica.

Resultados e Discussão

Através dos critérios empíricos de seleção no campo, foram selecionadas plantas cujos frutos apresentaram bom sabor (11), elevado calibre dos frutos (9), elevada produção (5), elevada facilidade de colheita (5) e forma trilobada dos frutos (2) (Quadro 1). Alguns genótipos apresentam uma classificação heterogénea nos diversos critérios de campo (Quadro 1). Um dos genótipos (AM3) revelou uma elevada produção mas reduzido calibre dos frutos, um genótipo (AM9) obteve uma boa produção mas apresentou um baixo vigor da planta, um genótipo (AM15) apresentou frutos de bom calibre e excelente cor, no entanto apresentava baixo vigor e maturação dos frutos heterogénea e o AM19 embora com frutos de bom calibre e excelente sabor apresentou uma produção baixa.

Após a análise dos frutos em laboratório foi possível confirmar algumas das características selecionadas no campo. Os valores médios do eixo transversal foram sempre superiores aos do eixo longitudinal à exceção de AM6 e AM15, característica que lhes confere uma maior esfericidade (Quadro 2). Através do cálculo do índice de rotundidade, podemos aferir que todos os frutos apresentem uma forma esférica, no entanto os valores mais próximos da unidade (0,97-1,03) podem ser considerados esféricos, enquanto os índices com valores superiores a 1,3 correspondem a frutos com uma forma mais achatada que nesta amostra revelou ser a mais comum (17 genótipos num total de 19). Os genótipos com frutos trilobados, AM7 e AM20, mantiveram a proporção geral entre eixos.

Apenas quatro genótipos apresentaram peso fresco médio de 100 frutos superior a 40 gramas (AM1, 10, 11 e 20), no entanto é de salientar que o elevado desvio padrão em alguns genótipos é resultado de uma heterogeneidade no que diz respeito ao peso dos frutos (AM15). Cinco genótipos apresentaram uma percentagem de matéria seca superior a 30% (AM3, 15, 17, 18 e 19) (Quadro3), sendo a matéria seca responsável, em média, por cerca um quarto do peso do fruto, que no contexto dos pequenos frutos é um valor elevado. O genótipo AM6, que em campo foi considerado dos genótipos com o melhor sabor, foi o que apresentou o valor mais elevado de °Brix (13,8). No entanto, o genótipo AM19, distinguido em campo pelo seu excelente sabor, apresentou um teor de açúcares abaixo da média desta amostragem, sugerindo que existem outras variáveis que explicam o bom sabor para além do teor em açúcares. Três genótipos apresentaram mais de dois frutos translúcidos após 12 dias de conservação (AM2, 10 e 20) (Quadro 3).

O número de sementes por fruto (3) é uma característica genética muito estável sendo semelhante para todos os genótipos. No entanto, o peso fresco da semente varia consideravelmente com o genótipo com AM 6 a apresentar o valor mais baixo (2,62 g) e AM15 o valor mais elevado (7,55 g). Comercialmente será essencial obter frutos com um peso e calibre elevados em que as sementes sejam pequenas. O genótipo que apresentou o menor valor da relação peso da semente/peso do fruto foi o AM9 com o AM15 a apresentar o maior valor (Fig. 1).

Conclusões

Aplicando conjuntamente os critérios de seleção de campo e laboratório aos 19 genótipos recolhidos ao longo da faixa da Aldeia do Meco, destacaram-se sete genótipos (Quadros 4 e 5). De entre os sete genótipos elegeram-se quatro para serem estabelecidos em cultura, particularmente pelas seguintes características:

AM7 – Bom calibre, forma diferente (trilobada), frutos fáceis de colher, reduzido peso seco dos frutos que não ficam translúcidos ao fim de 12 dias.

AM9 – Genótipo muito produtivo, com a melhor relação peso fresco da semente/peso fresco do fruto, embora apresente plantas de fraco vigor.

AM11 – Genótipo com boa produção, frutos de grande calibre, fáceis de colher e com sabor de destaque. Destaca-se como o genótipo de maior calibre e peso do fruto apresentando o menor número de frutos translúcidos após 69 dias em câmara frigorífica. AM12 – Escolhido no campo pelo branco intenso dos seus frutos, revelou em laboratório uma reduzida relação peso fresco da semente/peso fresco do fruto e um elevado grau Brix.

Os restantes três genótipos, AM8, AM16 e AM17, também apresentaram resultados satisfatórios. No entanto, alguns parâmetros condicionam a sua seleção, nomeadamente a percentagem de frutos translúcidos ao fim de 69 dias (AM8, AM16 e AM17), o peso de 100 frutos abaixo da média (AM16 e AM17), °Brix abaixo da média (AM8 e AM16), a percentagem de matéria seca superior à média (AM8 e AM17) e a relação semente/fruto elevada (AM17). Nestes genótipos observaram-se ainda características em campo que não foram reproduzidas da forma esperada nos resultados laboratoriais, nomeadamente, o AM8 e o AM16 que no campo foram bem classificadas pelo sabor mas em laboratório os valores de °Brix foram baixos comparando com as restantes, o AM16 que se revelou uma planta produtiva em campo apresentou peso dos 100 frutos abaixo da média e o AM17 que se destacou pela excelente intensidade da cor branca apresentou uma percentagem elevada (> 25%) de frutos translúcidos ao fim de 69 dias.

Dado o elevado número de indivíduos que compõem as diferentes comunidades de camarinha no litoral português, os resultados obtidos neste primeiro ensaio mostraram que os critérios utilizados são de grande utilidade para uma recolha expedita de exemplares em natureza. Estas plantas constituirão um primeiro grupo de seleção que, num segundo ano, deverá ser alvo de análises complementares com a introdução de um maior número de parâmetros. Sendo esta uma cultura que apresenta potencial comercial com características únicas de valor acrescentado que merecem ser investigadas, este trabalho serviu como primeiro passo na avaliação de indivíduos *in situ* e no estabelecimento de critérios de seleção dos genótipos mais promissores com perspetivas de vir a integrar num programa de melhoramento genético.

Referências

- Magalhães, T. T. A. (2015). Propagação e fenologia da *Corema album* (L.) D. Don: Ensaio de propagação vegetativa por estaca; Caracterização fenológica e proposta de escala BBCH. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica. 80p.
- Oliveira, P.B. & Dale, A. (2012). *Corema album* (L.) D. Don, the white crowberry - a new crop. *Journal of Berry Research*. 2: 123-133.
- Oliveira, P.B., Valdivieso, T., Trindade, C.S., Evaristo, I., Nóbrega, F., Lima, M.A.A., Silva, A.R., Santos, M., Magalhães, T., Lisboa, A., & Oliveira, C.M., (2016). Os primeiros passos na investigação em *Corema album* (camarinha). *Vida Rural* 1821: 29-31.
- Pimpão, R.C., Dew, T., Oliveira, P.B., Williamson, G., Ferreira, R.B. & Santos, C.N. (2013). Analysis of phenolic compounds in Portuguese wild and commercial berries after multienzyme hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* 61: 4053-4062.
- Santos, M., Oliveira, C., Valdivieso, T. & Oliveira, P.B. (2014). Effects of pretreatments on *Corema album* (L.) D. Don (subsp. *album*) seeds germination. *Journal of Berry Research* 4: 183-192.

Quadros e Figuras

Quadro 1- Características pelas quais foram selecionados no campo os diferentes genótipos; calibre (CAL), produção (PROD), forma (FORM), facilidade de colheita (FCOLH), vigor (VIG), homogeneidade de maturação (MAT), intensidade da cor branca (COR) e sabor (SAB).

Genótipo	CAL	PROD	FORM	FCOLH	VIG	MAT	COR	SAB
AM1	++							
AM2								++
AM3	-	++++						
AM4								++
AM5	++							++
AM6								++++
AM7	++		Trilob	++				
AM8	++			++				++
AM9		++			-			
AM10								++
AM11	++	++		++				++
AM12				++			++++	
AM13		++						++
AM15	++			++	-	-	++++	
AM16		++						++
AM17	++						++++	++
AM18	++							
AM19	++	-		-				++++
AM20			Trilob					

(++++) Excelente, (++) Bom e (-) fraco no critério. Nos restantes casos os genótipos foram considerados normais (sem marcação).

Quadro 2- Forma do fruto dos diferentes genótipos. Valores médios, máximos e mínimos absolutos dos comprimentos do eixo transversal (Eixo trans) e do eixo longitudinal (Eixo long) em milímetros (mm) e relação entre os eixos (Índice de rotundidade).

Gent	Eixo trans (mm)			Eixo long (mm)			Índice de rotundidade (trans/long)
	Média	Máx	Min	Média	Máx	Min	
AM1	9,8	10,9	8,5	8,8	9,8	7,0	1,11
AM2	9,4	10,2	8,6	8,1	9,2	7,2	1,16
AM3	8,2	9,6	7,4	7,8	8,7	7,0	1,05
AM4	9,1	10,6	7,9	8,4	9,7	7,1	1,08
AM5	9,5	10,5	8,5	8,6	9,6	7,5	1,10
AM6	7,3	8,4	6,4	7,4	8,1	6,4	0,99
AM7	10,1	11,0	8,9	8,3	9,5	7,3	1,22
AM8	9,9	10,5	9,0	9,0	9,8	8,1	1,10
AM9	9,7	11,6	8,6	9,0	9,9	8,0	1,08
AM10	9,8	10,7	8,8	8,7	9,7	7,6	1,13
AM11	10,5	12,0	9,2	9,3	10,5	8,3	1,13
AM12	9,4	10,3	8,5	9,1	10,6	7,6	1,03
AM13	8,9	9,5	8,3	7,9	8,6	7,1	1,13
AM15	9,3	10,2	8,7	9,6	11,2	8,6	0,97
AM16	9,4	10,3	8,3	8,8	10,2	7,6	1,07
AM17	10,1	11,9	9,1	8,4	9,5	7,0	1,20
AM18	9,5	10,7	7,7	8,8	9,8	7,8	1,08
AM19	9,7	10,8	8,7	8,9	9,8	7,7	1,09
AM20	10,1	11,1	9,2	8,4	9,7	7,5	1,20

Valores médios de 50 frutos

Quadro 3- Caracterização dos diferentes genótipos em relação ao peso fresco de 100 frutos (PF100), peso seco (PS) e % matéria seca (%MS) de 40 frutos (Peso 40), grau Brix de 10 frutos e percentagem de frutos translúcidos (Transl) 12 e 69 dias após colheita.

G	PF 100		Peso 40		°Brix	Transl	
	(g)		(g)			(12 d)	(69 d)
	Média	Dv	PS	%MS	(n=10)	(%)	
AM1	40,6	3,9	2,6	23,8	10,1	0	26
AM2	32,8	6,2	1,5	29,1	11,5	2	43
AM3	18,1	4,3	1,3	32,0	12,7	1	18
AM4	27,6	4,4	2,5	28,8	11,5	0	34
AM5	37,0	3,8	2,7	25,1	11,4	0	34
AM6	19,0	2,0	1,4	22,0	13,8	1	25
AM7	36,8	6,6	1,5	29,2	9,5	0	21
AM8	37,2	6,8	1,7	27,1	7,9	0	28
AM9	38,2	5,5	2,1	20,5	8,4	1	25
AM10	40,1	4,4	2,3	21,8	11,1	2	30
AM11	41,9	7,3	2,3	25,4	10,8	0	16
AM12	33,5	3,4	2,4	22,5	12,6	0	24
AM13	32,1	2,8	2,2	21,7	11,5	0	28
AM15	36,6	9,7	2,2	34,6	11,1	0	34
AM16	33,4	4,9	2,0	21,5	10,7	0	27
AM17	32,4	6,6	1,8	31,3	11,9	0	26
AM18	29,4	9,4	1,6	34,3	11,7	0	24
AM19	33,4	8,6	2,2	36,6	10,5	0	28
AM20	41,4	7,6	2,0	28,2	9,2	10	66

Quadro 4- Seriação dos genótipos em função dos critérios de campo tendo em conta o carácter inclusivo (excelente – esquerda da linha descontínua, bom – direita da linha descontínua) ou exclusivo (fraco) da sua classificação. Produção (PROD), intensidade da cor branca (COR), sabor (SAB), facilidade de colheita (FCOLH), forma (FORM), vigor (VIG), homogeneidade de maturação (MAT) e calibre (CAL).

Critérios de campo		Genótipos											
Inclusivo	PROD	AM3	AM9	AM11	AM13	AM16							
	COR	AM12	AM15	AM17									
	SAB	AM6	AM19	AM2	AM4	AM5	AM8	AM10	AM11	AM13	AM16	AM17	
	FCOLH	AM7	AM8	AM11	AM12	AM15							
	FORM	AM7	AM20										
Exclusivo	VIG	AM9	AM15										
	MAT	AM15											
	CAL	AM3											
	PROD	AM19											
	FCOLH	AM19											

Quadro 5- Seriação (descendente) dos genótipos em função dos critérios avaliados em laboratório (da esquerda para a direita). Peso fresco de 100 frutos (PF100), grau Brix de 10 frutos, relação peso fresco das sementes/peso fresco dos frutos (Sem/frt), diâmetro do eixo transversal (\emptyset Trans), percentagem de frutos translúcidos 69 dias após colheita (Transl 69 d) e percentagem de matéria seca (%MS).

Critérios de laboratório	Genótipos				
PF 100 (g)	AM11	AM1	AM20	AM10	AM9
°Brix	AM6	AM3	AM12	AM17	AM18
Sem/frt (%)	AM9	AM12	AM8	AM11	AM16
\emptyset Trans (mm)	AM11	AM7	AM17	AM20	AM8
Transl 69 d (%)	AM11	AM3	AM7	AM12	AM18
%MS	AM9	AM16	AM13	AM10	AM6

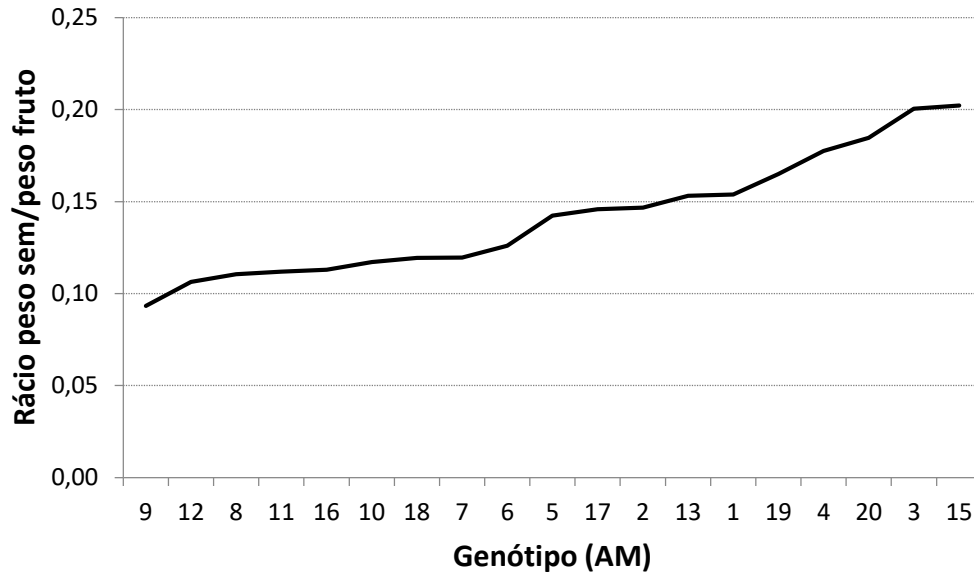


Figura 1 – Relação entre o peso fresco de sementes/peso fresco de frutos, para todos os genótipos selecionados, numa amostra de 100 frutos.

Propagação vegetativa e seminal em *Corema album* (L.) D. Don

Pedro B. Oliveira¹, Francisco Rosado-da-Luz¹, Tomás Magalhães², Ana Lisboa², Cristina M. Oliveira², Teresa Valdiviesso¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS-SAFSV, Av. da República Nova Oeiras, 2784-505 Oeiras, Portugal

²Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

Resumo

Corema album, é uma espécie dioica, endémica da costa atlântica da Península Ibérica, com potencial para vir a integrar o mercado dos pequenos frutos. Nesta perspetiva, pretendeu-se avaliar a capacidade de propagação desta espécie, por via vegetativa (estacaria) e seminal, dado o interesse do seu estabelecimento em cultura. Para a propagação vegetativa, avaliou-se a influência da proveniência dos génotipos (9 origens), do substrato (2 substratos) e das características do material vegetal a propagar na sobrevivência e capacidade de enraizamento das estacas. O local de origem influenciou significativamente o enraizamento tendo Lagoa de Sto. André apresentado a maior percentagem total de enraizamento (54,2 %) e Vila Real de Santo António obtido os melhores resultados relativamente à abundância de sistema radicular formado. Os resultados de enraizamento no substrato Siro foram significativamente superiores (57,8%) que no Fataca (20,3 %). Raminhos com pontas em pleno desenvolvimento e em que a estaca destacada não se encontra muita lenhificada registaram os melhores resultados. Quanto à propagação seminal, foi testado o efeito de diferentes ciclos de estratificação em 4 génotipos do mesmo local, Aldeia do Meco. As sementes foram sujeitas a diferentes repetições do seguinte ciclo: 40 °C (sementes secas), 4 °C (sementes hidratadas) e 15/25 °C (sementes hidratadas) em câmara de crescimento (fotoperíodo 16 horas de luz) com a duração de 4 semanas por fase. As maiores taxas de germinação no conjunto dos génotipos (49,0 %) foram obtidas com dois ciclos de alta/baixa temperatura. A taxa de germinação foi estatisticamente diferente entre os génotipos. Os resultados demonstraram que o sucesso obtido em ambas as formas de propagação é promissor no que diz respeito à multiplicação da espécie, permitindo assim o estabelecimento de um clone eleito como produtor de fruto e ferramentas para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: camarinha, multiplicação vegetativa, germinação de sementes, pequenos frutos

Abstract

Corema album, is a dioecious specie endemic to the Atlantic coast of the Iberian Peninsula, with potential to be part of the small fruit market. In this perspective, it was intended to evaluate the propagation capacity of this species, vegetative (cuttings) and seminal, given the interest of its establishment in culture. For the vegetative propagation, the influence of the origin of the genotypes (9 origins), the substrate (2 substrates) and the characteristics of the plant material to propagate in the survival and rooting capacity of the cuttings were evaluated. The place of origin had a significant influence on rooting with Lagoa de Sto. André presented the highest total rooting percentage (54.2%) and Vila Real de Santo António obtained the best results regarding the abundance of root system formed. The rooting results on the Siro substrate were significantly better (57.8%) than in the Fataca (20.3%). Stem tips actively growing (green – not lignified) had the best

results. Regarding seminal propagation, the effect of different stratification cycles on 4 genotypes from the same site, Aldeia do Meco, was tested. The seeds were subjected to different repetitions of the following cycle: 40 °C (dried seeds), 4 °C (hydrated seeds) and 15/25 °C (hydrated seeds) in a growth chamber (photoperiod 16 hours light). Each cycle had the duration of 4 weeks per phase. The highest germination rates in all genotypes (49%) were obtained with two high/low temperature cycles. The germination rate was statistically different between the genotypes. The results demonstrated that the success obtained in both forms of propagation is promising with respect to the multiplication of the species, thus allowing the establishment of a clone elected as a producer of fruit and tools for the development of a breeding program.

Introdução

A camarinha (*Corema album* (L.) D. Don 1830) é um arbusto dioico endêmico de sistemas dunares da costa atlântica da Península Ibérica, pertencente à família das Ericaceae que produz uma baga branca de sabor único com elevado potencial para introdução no mercado dos pequenos frutos (Oliveira e Dale, 2012). A espécie *C. album* já foi alvo de diversos ensaios de propagação por via vegetativa e seminal não existindo no entanto um protocolo consensual para a sua multiplicação. Não têm sido realizados muitos trabalhos em propagação vegetativa nas Ericaceae, contudo Thetford *et al.* (2001) obtiveram um elevado sucesso no enraizamento de estacas de *Ceratiola ericoides* Michx. Para a propagação vegetativa de *C. album*, Álvarez-Cansino *et al.* (2017) testaram a capacidade de enraizamento em material colhido de plantas adultas no Parque Natural de Doñana durante o mês de Janeiro, utilizando tratamentos com reguladores de crescimento e dois tipos de substrato, perlite/vermiculite (1:1) e areia/turfa (1:1). Estes autores obtiveram os melhores resultados na sobrevivência e enraizamento das estacas através da aplicação de AIB em estacas colocadas no substrato perlite/vermiculite, com taxas de sucesso perto de 60%.

A propagação seminal tem sido muito mais estudada com a utilização de material vegetal de várias origens dos quais se destacam; sementes extraídas de excrementos de aves ou mamíferos (Clavijo *et al.* 2003; Calviño-Cancela, 2004; Costa, 2011; Lopes, 2015; Álvarez-Cansino, 2016), bancos de sementes em condições naturais (Lopes, 2015) e sementes extraídas dos frutos frescos ou conservados (Clavijo *et al.*, 2003; Costa, 2011; Santos *et al.*, 2014; Lopes, 2015; Álvarez-Cansino *et al.*, 2017). No caso destas últimas foram geralmente utilizados tratamentos que pretendiam simular as condições naturais de germinação, como a escarificação química e/ou mecânica (Clavijo *et al.*, 2003; Costa, 2011; Santos *et al.*, 2014; Lopes, 2015; Álvarez-Cansino *et al.*, 2017) para simular a passagem das sementes pelo trato digestivo dos animais uma vez que a espécie tem sido considerada obrigatoriamente endozoocórica; a estratificação com frio (Clavijo *et al.*, 2003; Álvarez-Cansino *et al.*, 2017) e tratamento com fumo (Álvares-Cansino *et al.*, 2017) para simular as condições ambientais climáticas e de fogos. Os reguladores de crescimento têm também sido utilizados com o objetivo de quebrar a dormência das sementes (Santos *et al.*, 2014; Álvarez-Cansino *et al.*, 2017). O sucesso da germinação tem sido variável, com as piores percentagens de germinação obtidas por Lopes (2015) através da escarificação química, de sementes extraídas de frutos frescos, com ácido sulfúrico durante 30 min (2,4 %) e sementes provenientes de bancos de sementes no solo (2,4 %) e as melhores percentagens obtidas por Álvares-Cansino *et al.* (2017) com a utilização de reguladores de crescimento (GA₃ a 200 ppm) obtendo uma percentagem de germinação próxima de 40 %. A germinação variou também quanto à duração, sendo a mais longa de 10 meses (Costa, 2011) e a mais curta de 2 meses (Álvares-Cansino *et al.*, 2017). Para além das variações documentadas relativamente à origem das sementes e dos

tratamentos, documentaram-se ainda variações entre genótipos (Santos et al., 2014), locais (Costa, 2011 e Santos et al., 2014) e épocas de produção de frutos (Calviño-Cancela, 2004; Lopes, 2015).

Encontrando-se em curso a seleção de genótipos ao longo da distribuição natural da espécie em Portugal é fundamental multiplicar vegetativamente as plantas selecionadas. Assim, foram delineados ensaios que permitiram avaliar as diferenças na capacidade de enraizamento das estacas proveniente de diferentes origens e genótipos assim como o tipo de material vegetal a utilizar. Relativamente à propagação seminal, verificou-se em estudo anterior que existe uma variação na percentagem germinativa de sementes associada ao genótipo (Santos et al., 2014), facto que obriga a estabelecer um protocolo de germinação que estabilize estas variações para que possa constituir uma ferramenta útil num programa de melhoramento genético.

Material e Métodos

Propagação vegetativa

O material vegetal foi colhido entre Novembro e Dezembro de 2014 de 10 proveniências ao longo da costa Portuguesa (Moledo, Mira, Quiaios, Cabo Carvoeiro, Aldeia do Meco, Comporta, Pego, Lagoa de Santo André, Cabo Sardão, Vila Real de Santo António) representantes das diferentes do país (Quadro 1).

Em cada local foram colhidos, de 10 plantas adultas femininas, crescimentos terminais em número suficiente para a obtenção de 40 a 50 estacas por indivíduo (com exceção do local Cabo Carvoeiro que apenas se consegui recolher o número pretendido de estacas em 4 genótipos, não sendo considerado no tratamento estatístico). As estacas foram plantadas 1 a 9 dias após a colheita do material vegetal. Do material colhido prepararam-se estacas herbáceas com 15 cm sendo retiradas as folhas em 6 cm da zona basal que foi introduzida no substrato. Deste modo foram plantadas 4300 estacas no conjunto de todas as localidades.

O ensaio decorreu numa estufa de vidro nas instalações do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.). As temperaturas e humidades relativas no interior da estufa durante o período do ensaio variaram entre 14,6 °C e 25,8 °C e 59,1 % e 77,2 %, respetivamente. Foram utilizadas bancadas equipadas com um sistema de rega por nebulização em simultâneo com gotejadores que funcionou todos os dias das 8h00 às 20h00 com uma duração de 1 min, de 30 em 30 min, para prevenir a desidratação das estacas. Para o enraizamento foram utilizadas caixas de hidroponia com 89 x 20 x 22 cm e o fundo preenchido com argila expandida Leca®10/20 (para drenagem). As bancadas estavam equipadas com um cabo elétrico de aquecimento dentro das caixas, colocado acima da Leca® e de 2 cm de substrato, ficando a cerca de 10 cm de profundidade, estando programado para ligar aos 22 °C e desligar aos 24 °C.

Os substratos utilizados foram o Siro®Estaca (Siro®Agro 1 (Humus), Turfas de alta qualidade selecionadas e Siro®Perlite), doravante considerado Siro, e o substrato composto por fibra de coco, casca de pinheiro e perlite (3:2:1), doravante considerado Fataca. As estacas de cada genótipo foram divididas em dois lotes para plantação nos 2 substratos. O ensaio durou até junho de 2015 tendo sido sucessivamente retiradas as estacas mortas aos 75, 105, 135 e 165 dias após plantação, avaliando-se assim a evolução da sobrevivência ao longo do ensaio. Aos 165 dias procedeu-se ao levantamento das estacas sendo avaliado o enraizamento, mediante o estabelecimento de 6 classes: 0 - sem raízes, 1 - enraizamento baixo, 2 - enraizamento médio baixo, 3 - enraizamento médio, 4 - enraizamento médio alto, 5 - enraizamento alto (Fig. 1).

Propagação seminal

Para a propagação seminal foram selecionados e colhidos frutos maduros de 4 génotipos (AM8, AM11, AM17, AM19) da zona dunar da Aldeia do Meço a 14 de agosto de 2015. Os frutos foram acondicionados e mantidos à temperatura de 4°C durante quatro meses. No final deste período extraíram-se manualmente as sementes dos frutos e secaram-se à temperatura ambiente. Desinfetaram-se as sementes com álcool etílico a 70% (v/v) durante de cinco minutos seguindo-se desinfeção com lixívia comercial durante 13 minutos sendo depois lavadas em água corrente durante uma hora. Distribuíram-se uniformemente 25 sementes por placa de Petri (\varnothing 90 mm), com papel de filtro esterilizado, humedecido com água esterilizada, no fundo. As sementes foram colocadas todas na mesma posição, com a cicatriz micropilar em contacto com a superfície do papel de filtro humedecido.

Foram estabelecidas quatro tratamentos (T0, T1, T2 e T3) de estratificação de quente/frio, com 3 repetições cada (75 sementes/tratamento). O ensaio foi iniciado a 11 de dezembro 2015 e terminou a 22 de outubro 2016. Na Fase 1 as sementes foram mantidas secas numa estufa a 40 °C no escuro. Durante as Fase 2 as sementes foram mantidas em meio húmido em câmara de germinação com 16 horas de luz a 25 °C e 8 horas de escuro a 15 °C. Na fase 3 as sementes foram mantidas em meio húmido numa câmara frigorífica a 4/5 °C no escuro. Todas as fases tiveram uma duração de 4 semanas (Quadro 2).

As sementes foram consideradas germinadas quando a radícula tinha comprimento superior a 1 mm. Durante os meses em que decorreu o ensaio, de 15 em 15 dias contabilizou-se, em cada placa, o número de sementes germinadas. Para cada modalidade foi determinada a percentagem de germinação.

Análise estatística

No ensaio de propagação vegetativa, para a percentagem de enraizamento, transformou-se a variável de valor decimal através da transformação $\arcseno(\sqrt{x})$ e realizaram-se testes de Qui quadrado com $\alpha = 0,05$ e p-value de 0,0001 para avaliar o efeito da proveniência, do substrato no enraizamento e nas classes de enraizamento.

Quanto ao ensaio das sementes, seguiu-se um delineamento experimental a dois fatores: génotipo e tratamento, com três repetições por modalidade. Para as percentagem de sementes germinadas realizou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk e nos casos em que os pressupostos de distribuição normal não se verificaram, os dados foram transformados através do $\arcseno\left(\sqrt{\frac{x}{100}}\right)$, onde x é a percentagem de sementes germinadas (radícula > 1 mm). Efetuou-se uma análise de variâncias (ANOVA) e comparação múltipla das médias pelo teste de Tuckey, com $\alpha < 0,05$. O software utilizado nestas análises foi Statistix 9 (Analytical Software, Tallahassee, Florida).

Resultados e Discussão

Propagação vegetativa

Verificou-se uma influência significativa da proveniência ($p < 0,01$) na sobrevivência das estacas ao longo do tempo. O substrato influenciou a sobrevivência das estacas a partir do dia 105 após plantação ($p < 0,05$). Observou-se interação entre proveniência e substrato aos 165 dias após plantação na sobrevivência das estacas. Após a avaliação da sobrevivência ao longo do tempo (75, 105, 135, 165 dias após plantação) observou-se que as estacas sobreviventes foram as que tinham sido colhidas num estado de desenvolvimento fisiológico idêntico, podendo este ter influenciado a sua sobrevivência, inferindo-se que o estado fisiológico, ramos com dimensões suficientes

mas não lenhificados, deve ser considerado um fator relevante na seleção do material utilizado na propagação vegetativa por estaca em *C. album*.

A proveniência com a melhor taxa de enraizamento total (nos dois substratos) foi Lagoa de Santo André com 54,2 % de estacas enraizadas seguida de Vila Real de Santo António com 51,4 %, enquanto a localidade com pior taxa de enraizamento total foi Moledo com 5,4 % de estacas enraizadas, seguida de Pego com 28,8 % (Quadro 3). Contudo, com base nas classes de enraizamento, a proveniência que apresentou as melhores percentagens nas classes mais altas de enraizamento (3, 4 e 5) foi Vila Real de Santo António com 70,6 % sobre o total das estacas enraizadas sendo a pior proveniência Aldeia do Meco com 37,7 % de enraizamento no conjunto das mesmas classes. Segundo a análise estatística, rejeitou-se a hipótese de independência, sendo a classe de enraizamento dependente da proveniência (Quadro 4).

Observaram-se diferenças significativas quanto aos dois substratos utilizados tanto no número de estacas enraizadas como nas classes de enraizamento. O substrato Siro revelou melhores resultados com 57,8 % de enraizamento, enquanto no substrato Fataca apenas enraizaram 20,3 % das estacas plantadas. Relativamente à abundância de sistema radicular formado, observou-se que o substrato Siro concentrou os resultados (57,3 %) nas classes mais altas de enraizamento (3, 4 e 5) enquanto o substrato Fataca concentrou os resultados (69 %) nas classes mais baixas de enraizamento (1 e 2).

Considerando apenas o substrato com os melhores resultados (Siro) observou-se que, relativamente à proveniência, há diferenças quanto à melhor taxa de enraizamento quando comparada com o total dos dois substratos. No substrato Siro, Quiaios apresentou a melhor taxa de enraizamento (77,9 %) com mais de metade das estacas enraizadas nas melhores classes de enraizamento (53,0 %). Álvarez-Cansino et al. (2017) para uma localidade no Sudoeste de Espanha conseguiram obter perto de 60% de enraizamento em *C. album* através da combinação do substrato perlite:vermiculite (1:1) com a aplicação de 200 ppm de AIB que consideraram essencial. Comparando com os nossos resultados, apenas instalando as estacas num substrato comercial de enraizamento, só duas proveniências (Moledo e Pego) ficaram aquém dos valores obtidos por Álvarez-Cansino et al. (2017) embora tivessem levantado as estacas 90 dias após plantação e no presente ensaio o levantamento foi efetuado aos 165 dias.

Das 4108 estacas plantadas, das várias proveniências, 3096 sobreviveram e destas apenas 1626 enraizaram, distribuídas pelos dois substratos. Como se pode observar na figura 2, a sobrevivência está mais dependente da proveniência enquanto o enraizamento está mais associado ao tipo de substrato utilizado. Está assim evidente a resiliência das estacas de *C. album* pois das cerca de 75 % de estacas sobreviventes cerca de 53 % destas enraizaram ao final dos 165 dias após plantação.

Os substratos escolhidos tinham como objetivo comparar o sucesso no enraizamento de estacas num substrato comercializado especificamente para o efeito, Siro, e num substrato que misturámos com o propósito de mimetizar as condições naturais do habitat da camarinha, “Fataca” (perlite para simular a areia em termos de drenagem da água e fornecimento de ar às raízes, casca de pinheiro como componente característico do habitat da camarinha e fibra de coco, que apresenta alguma salinidade simulando as zonas costeiras). O substrato que melhor simula as condições do habitat natural revelou ser o menos favorável ao enraizamento de estacas de camarinha. Álvarez-Cansino et al. (2017) descreveram uma reação semelhante ao comparar um substrato de perlite:vermiculite (1:1) com um substrato de areia:turfa (1:1) em *C. album* tendo o primeiro obtido os melhores resultados.

Propagação seminal

No ensaio de propagação seminal de camarinha, verificou-se que as percentagens médias de sementes germinadas (Quadro 5) diferiram significativamente entre genótipos e entre tratamentos ($p < 0,001$). Quanto aos genótipos, podemos agrupá-los em dois grupos tendo em conta a significância dos valores médios de germinação de sementes, os genótipos AM8 e AM11 que apresentaram as percentagens mais altas (46,0 % e 55,0 %, respetivamente), e os genótipos AM17 e AM19, que apresentaram as percentagens mais baixas (29,7 % e 20,7 %, respetivamente) e significativamente inferiores (Quadro 5). Relativamente aos tratamentos não se verificaram diferenças significativas entre as três primeiras modalidades (T0, T1 e T2), tendo a modalidade T1 obtido a maior percentagem de germinação (49 %).

A alta percentagem de germinação verificada na modalidade T0 (46,0 %), apenas com uma fase de quente e uma fase de frio, pode querer indicar que as sementes de *C. album* apenas germinam na primavera a seguir ao verão em que o fruto foi produzido. Por outro lado, os resultados pouco satisfatórios da modalidade T3 (8,3 %) indicam que três ciclos de temperaturas elevadas poderão conduzir à perda de viabilidade das sementes.

Não se verificou interação entre genótipos e tratamentos, sendo estas variáveis independentes uma da outra. Uma vez que os tratamentos são independentes do genótipo e, como visto anteriormente, o genótipo influencia a germinação, será importante recorrer-se a tratamentos como os aqui apresentados, para que a influência do genótipo na capacidade de germinação das sementes seja mitigada ou mesmo anulada. Em trabalhos anteriores (Lisboa, 2017) em que se estudou a influência da estratificação com frio (4/5 °C) seguida de escarificação química (ácido sulfúrico concentrado) e/ou tratamentos com reguladores de crescimento (GA3) observou-se interações entre os tratamentos utilizados e os genótipos.

Neste trabalho, assim como em trabalhos anteriores (Santos, 2013 e Lisboa, 2017), obtiveram-se germinações cerca de 4 a 5 meses após o início dos ensaios enquanto Álvarez-Cansino et al. (2017) conseguiram obter plântulas num período consideravelmente mais curto (2 meses). Estes últimos associaram o sucesso da germinação ao uso de reguladores de crescimento (GA3) em meio de agar.

À luz dos resultados obtidos por Baskin et al. (2002) que apenas recorreu à estratificação para quebrar a dormência e germinar sementes de *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), este ensaio pretendeu avaliar a capacidade germinativa de *C. album*, uma espécie considerada de dispersão obrigatoriamente endozoocórica (Calviño-Cancela, 2002; Clavijo et al., 2002), através de ciclos de estratificação de quente e frio. Os resultados obtidos permitem demonstrar que apenas recorrendo à estratificação com temperaturas quentes (40 °C) seguidas de temperaturas frias (4/5 °C) é possível quebrar a dormência e germinar sementes de frutos frescos de *C. album*. Ciclos de estratificação com temperaturas quentes e frias parecem ser fundamentais para quebrar a dormência uma vez que Álvarez-Cansino et al. (2017) tentando germinar sementes de *C. album* apenas fizeram uma fase de frio (1 mês a 4°C), não obtendo quaisquer resultados.

Conclusões

Este trabalho é mais um contributo para o conhecimento da multiplicação vegetativa de *C. album* (Magalhães, 2015 e Álvarez-Cansino et al., 2017) sendo que o sucesso da multiplicação vegetativa por estaca está muito dependente do substrato utilizado e que substratos que simulem as condições naturais revelam-se menos favoráveis ao enraizamento, o que parece ser um padrão das empetráceas, uma vez que resultados semelhantes foram relatados por outros autores (Thetford et al., 2001). Também é de notar que a aplicação de reguladores de crescimento pode revelar-se

benéfica (Álvarez-Cansino *et al.*, 2017) o que poderá levar a taxas mais altas de enraizamento das que as conseguidas neste trabalho. Quanto aos locais de proveniência, este trabalho revelou diferenças significativas entre as 9 proveniências, ao longo do gradiente de distribuição português da espécie, o que deverá ser também um fator a considerar em futuros trabalhos em propagação por estacaria.

A espécie foi considerada obrigatoriamente endozoocoria, no entanto este trabalho demonstra que a germinação das sementes é possível apenas recorrendo à estratificação com ciclos de altas e baixas temperaturas, método que demonstrou ser independente do genótipo pelo que é de utilização universal em sementes de *C. album*.

Referencias

- Álvarez-Cansino, L., Zunzunegui, M., & Diaz Barradas, M. C. 2017. Germination and clonal propagation of the endemic shrub *Corema album*, a vulnerable species with conservation needs and commercial interest. *Natural Product Communications*, 12(2): 267-272.
- Baskin, C.C., Zackrisson, O. & Baskin, J.M. 2002. Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. *American Journal of Botany* 89(3): 486-493.
- Calviño-Cancela, M. 2002. Spatial patterns of seed dispersal and seedling recruitment in *Corema album* (Empetraceae): the importance of unspecialized dispersers for regeneration. *Journal of Ecology*. 90 (5): 775-784
- Calviño-Cancela, M. 2004. Ingestion and dispersal: direct and indirect effects of frugivores on seed viability and germination of *Corema album* (Empetraceae). *Acta Oecologica*. 26 (1): 55-64
- Clavijo, A., Barradas, D., Ain-Lhout, F., Zunzunegui, M. & Correia, O., 2002. A fragmentação como causa principal da redução do habitat de *Corema album* na sua área de distribuição. *Revista Biol.* 20: 109-120.
- Clavijo, A., Díaz Barradas, M.C., Zunzunegui, M., Ain-Lhout, F., Alvarez Cansino, L., Correia, O. & García Novo, F. 2003. Conservação de *Corema album* no litoral atlântico da Península Ibérica; a influência de dispersores animais na regeneração natural. *Revista de Biología*, 21: 43-56.
- Costa, C.A. 2011. Fatores que condicionam a dispersão e o recrutamento da camarinha em sistemas dunares. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 42p.
- Lisboa, A.C.O. 2017. Germinação de sementes e desenvolvimento embrionário de *Corema album*. Efeito dos tratamentos físicos e químicos. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 61p.
- Lopes, M.R.M., 2015. O coelho bravo como facilitador da invasão do chorão nos sistemas dunares: implicações para a conservação de uma espécie endémica (*Corema album*). Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 51p.
- Magalhães, T.T.A.D., 2015. Propagação e fenologia da *Corema album* (L.) D. Don. Ensaio de propagação vegetativa por estaca. Caracterização fenológica e proposta de escala BBCH. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 80p.
- Oliveira, P.B. & Dale, A. 2012. *Corema album* (L.) D. Don, the white crowberry – a new crop. *Journal of Berry Research*, 2(3):123-133.
- Santos, M.S.S. 2013. Efeito de pré-tratamentos na germinação de sementes da espécie *Corema album* L. (subsp. *album*). Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, 89p.

Santos, M., Oliveira, C., Valdivieso, T. & Oliveira, P.B. 2014. Effects of pretreatments on *Corema album* (L.) D. Don (subsp. *album*) seeds germination. *Journal of Berry Research* 4: 183-192

Thetford M., Millar D. & Penniman P. 2001 Vegetative propagation and production of *Ceratiola ericoides* Michx. for use in restoration. *Native Plants, Journal*, 2, 116-12.

Quadros e Figuras



Figura 1- Classes de enraizamento de estacas; 0 - sem raízes, 1 - baixo, 2 - médio baixo, 3 - médio, 4 - médio alto, 5 – alto.

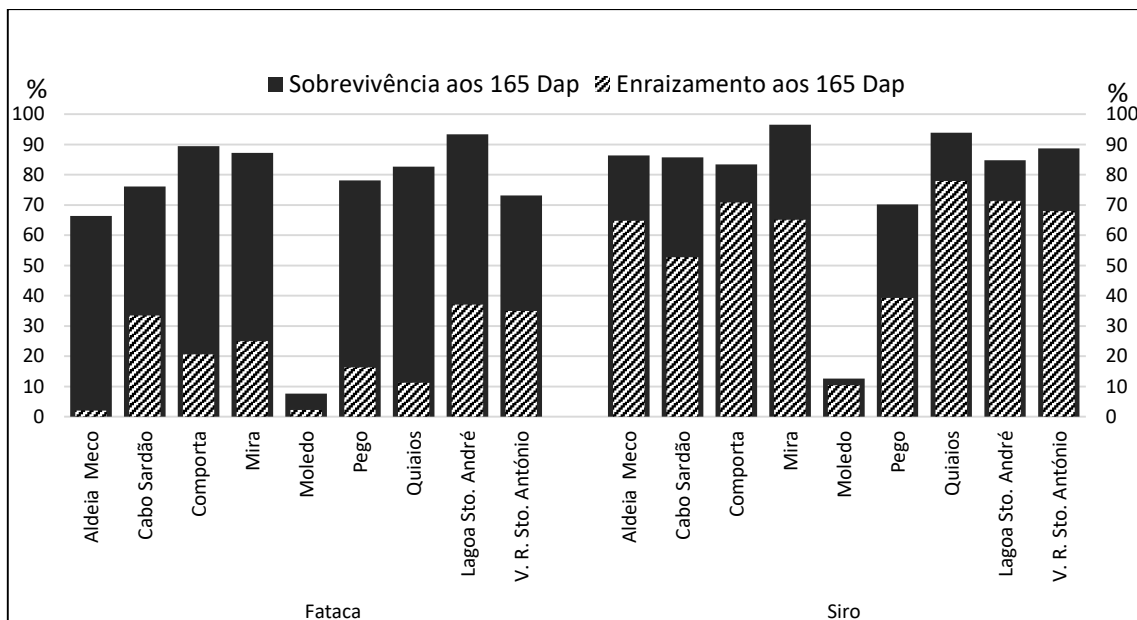


Figura 2- Percentagem de sobrevivência e enraizamento de estacas por proveniência e substrato 165 dias após plantação (Dap).

Quadro 1- Coordenadas geográficas dos locais de colheita de material vegetal (estacas).

Localidade	Latitude/ Longitude
Moledo	41° 51' 04'' N; 08° 51' 56'' O
Dunas do Mira	40° 25' 00'' N; 08° 47' 07'' O
Quiaios	40° 13' 17'' N; 08° 52' 22'' O
Cabo Carvoeiro	39° 21' 40'' N; 09° 24' 17'' O
Aldeia do Meco	38° 28' 07'' N; 09° 11' 09'' O
Comporta	38° 18' 04'' N; 08° 46' 40'' O
Pego	38° 17' 31'' N; 08° 46' 38'' O
Lagoa S. André	38° 07' 11'' N; 08° 47' 40'' O
Cabo Sardão	37° 35' 52'' N; 08° 49' 07'' O
Vila Real S. António	37° 11' 07'' N; 07° 24' 00'' O

Quadro 2- Tratamento de sementes e respetivos períodos de duração. Neste ensaio utilizaram-se 4 genótipos (AM8, AM11, AM17 e AM19) e as sementes não foram submetidas a tratamentos de escarificação química. (4 sem = quatro semanas).

Modalidades	Tempo							
T0	4 sem	4 sem						
T1	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem				
T2	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem		
T3	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem	4 sem

Fase 1	sementes secas	-Estufa a 40 °C, no escuro
Fase 2	sementes hidratadas	- Câmara de germinação a 15/25 °C, 8 h escuro/16h luz
Fase 3	sementes hidratadas	- Câmara frigorífica a 4/5 °C, no escuro

Quadro 5- Percentagem de germinação média em cada genótipo e nos diferentes tratamentos de altas/baixas temperaturas.

Genótipo	Germinação (%)	Tratamento	Germinação (%)
AM8	46,0 A	T0	46,0 A
AM11	55,0 A	T1	49,0 A
AM17	29,7 B	T2	48,0 A
AM19	20,7 B	T3	8,3 B
Prob(F)			
Genótipo	<0,001	Tratamento	<0,001

Interação Genótipo x Tratamento não significativa. Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha \leq 0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; N = 25 sementes por tratamento.

Quadro 3- Número de estacas plantadas e enraizadas por substratos e taxas totais de enraizamento por localidade.

Localidade	Substratos						Taxa de enraizamento total
	Fataca			Siro			
	Nº estacas plantadas	Nº estacas enraizadas	Taxa de enraizamento	Nº estacas plantadas	Nº estacas enraizadas	Taxa de enraizamento	
Ald. Meco	250	5	2,0	250	162	64,8	33,4
Cabo Sardão	218	73	33,5	218	115	52,8	43,1
Comporta	228	47	20,6	230	163	70,9	45,9
Mira	228	61	26,8	229	149	65,1	46,0
Moledo	222	1	0,5	222	23	10,4	5,4
Pego	220	36	16,4	262	103	39,3	28,8
Quiaios	231	26	11,3	231	180	77,9	44,6
Lag. S. André	243	90	37,0	244	174	71,3	54,2
V R S António	212	74	34,9	212	144	67,9	51,4
Total	2052	413		2098	1213		
Média			20,3			57,8	39,2

Quadro 4- Número de estacas plantadas e sobreviventes. Distribuição por classes de enraizamento, por substratos e taxas totais de enraizamento por localidade.

Localidade	N.º de estacas plantadas	N.º de estacas sobreviventes	Classe de enraizamento							N.º de estacas enraizadas	Substratos		Classe/ Substrato
			0	1	2	3	4	5	Fataca		Siro		
			Ald. Meco	500	382	215	62	42	41		18	4	
Cabo Sardão	436	353	165	62	41	37	31	17	188	73	115	p=0,000 ^Z	
Comporta	458	394	184	59	39	52	36	24	210	47	163	p=0,000 ^Z	
Mira	457	420	210	72	53	48	25	12	210	61	149	p=0,000 ^Z	
Moledo	444	45	21	5	5	3	7	4	24	1	23	p=0,000 ^Z	
Pego	440	317	178	49	21	20	30	19	139	36	103	p=0,000 ^Z	
Quiaios	462	408	202	50	36	42	45	33	206	26	180	p=0,000 ^Z	
Lag. S. André	487	434	170	83	60	70	39	12	264	90	174	p=0,000 ^Z	
V R S António	424	343	125	39	25	52	66	36	218	74	144	p=0,000 ^Z	
Total	4108	3096	1470	481	322	365	297	161	1626	p=0,000 ^Y	p=0,000 ^Y		

^ZProbabilidade nível de enraizamento/localidade e ^YProbabilidade nível de enraizamento/substrato de acordo com Teste de Qui quadrado.

Sessão Temática: Olivicultura

Influencia de la variedad y la densidad de plantación en la longevidad y productividad del olivar en seto

Diego Cabello¹, Juan Moral^{1, 2}, Pablo Morello¹, Diego Barranco¹, Luis Rallo¹, Concepción M. Díez¹.

¹Departamento de Agronomía. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Montes Universidad de Córdoba. Edificio C-4, Planta baja. Campus Universitario de Rabanales. 14071-Córdoba. cabello@uco.es

²Department of Plant Pathology, Kearney Agricultural Research and Extension Center, University of California, Davis, Davis, CA, USA.

Resumen

El olivar en seto de alta densidad (>1500 olivos ha⁻¹) es un sistema de producción elevada y precoz; de reciente implantación por lo que se desconocen aspectos clave para el futuro de este sistema, como las variedades más idóneas o si a una determinada edad y densidad la competencia entre árboles podría comprometer el manejo y producción de la plantación. Durante 14 años y 12 cosechas se ha evaluado la adaptación de los principales cultivares usados hasta la fecha en este sistema, ‘Arbequina’, Arbequina IRTA i-18, ‘Arbosana’, ‘Fs-17’ y ‘Koroneiki’, y el efecto de nueve densidades (780-2250 olivos ha⁻¹) en la productividad de la variedad ‘Arbequina’. La producción de aceituna y aceite aumentó linealmente a lo largo del tiempo para las cinco variedades evaluadas, con una producción media de aceite de 2.3 t ha⁻¹ al año, exceptuando ‘Fs-17’ cuya producción fue casi la mitad (1.2 t ha⁻¹). En el ensayo de densidades, la producción acumulada de aceituna y aceite de la variedad ‘Arbequina’ aumentó linealmente con el tiempo y con el incremento de densidad de plantación. Así, la producción acumulada de aceite osciló entre 16.1 t ha⁻¹ para la densidad menor (780 olivos ha⁻¹), y 29.9 t ha⁻¹ para la más alta (2250 olivos ha⁻¹) en 12 cosechas evaluadas. También se observó que la producción acumulada por unidad de superficie mostró una mejor correlación con la longitud del seto que con la densidad de plantación, por lo que este parámetro debe ser tenido en cuenta en el diseño de nuevas plantaciones. Aunque en los últimos años se ha observado una concentración mayor de flores y frutos en la parte alta del seto, podemos decir que tras 14 años la productividad de los setos no ha decaído. Estos resultados contradicen experiencias anteriores donde tras 7-8 años, la plantación era inmanejable por exceso de vigor y sombreado del seto.

Palabras clave: *Olea europea* L., diseño de plantación, aceite de oliva, ciclo bienal, olivar superintensivo.

Abstract

Super high-density (SHD) olive orchards (>1500 trees ha⁻¹) are rapidly expanding since the first plantation was set up in Spain in the 1990s. Because there are no long-term studies characterizing these systems, it is unknown if densities above a certain threshold could trigger competition among fully-grown trees, compromising their development. Over 14 years we have evaluated the performance of the major olive cultivars currently planted in SHD systems (‘Arbequina’, Arbequina IRTA-i-18, ‘Arbosana’, ‘Fs-17’, and ‘Koroneiki’) and nine SHD designs ranging from 780 to 2254 trees ha⁻¹ for the cultivar ‘Arbequina’. Remarkably, the accumulated fruit and oil production of the five cultivars increased linearly over time. Our data indicated the favorable long-term performance of the evaluated cultivars with an average annual oil production of 2.3 t ha⁻¹. In contrast ‘Fs-

17' did not perform well to the SHD system in our conditions. It yielded about half (1.2 t ha^{-1}) of the other cultivars. Fruit and oil accumulated production increased over time as a function of tree density in the density trial with 'Arbequina'. The accumulated oil yield ranged from 16.1 t ha^{-1} for the lowest density ($780 \text{ trees ha}^{-1}$) to 29.9 t ha^{-1} for the highest ($2254 \text{ trees ha}^{-1}$). In addition, we note that the accumulated production per surface unit showed a better correlation with the hedgerow length than with tree density. Thus, the current planting designs of SHD olive orchards can be further improved taking this parameter into account. Despite observations that some irregular patterns of crop distribution have arisen, our olive hedgerows are still fully productive 14 years after planting. This result contradicts previous experiences that showed declines in production 7 - 8 years after planting due to high vigor, shading, and limited ventilation. Management of the plantation for maintain full interception of solar radiation into the whole canopy appears as a determinant factor

Keywords: *Olea europaea* L., orchard design, oil yield, biennial bearing, super-high density.

Introducción

El olivo se ha plantado tradicionalmente en la cuenca mediterránea con unas densidades entre las 70-80 olivos ha^{-1} . Sin embargo las plantaciones de olivar en seto o superintensivo ($>1500 \text{ olivos ha}^{-1}$) se están expandiendo rápidamente en todo el mundo, especialmente en países donde el cultivo es de nueva implantación como Argentina, Australia y Estados Unidos (Connor et al., 2014; Rallo et al., 2013), hasta llegar a más de 100.000 ha en todo el mundo. Las primeras plantaciones se establecieron en España durante la década de los 90, impulsadas por la empresa privada (Rius and Lacarte, 2015). Las principales ventajas del olivar en seto son la recolección y poda mecanizadas, elevadas producciones, rápida entrada en producción y bajo coste de recolección. Sus inconvenientes incluyen una mayor inversión inicial, pocos cultivares disponibles, necesidad de mayor conocimiento técnico e incertidumbre sobre la vida útil y rentabilidad de la plantación (Connor et al., 2014; Freixa et al., 2011; Rallo et al., 2013).

Hasta la fecha, y en ausencia de patrones enanizantes y cultivares de programas de mejora se usan unos pocos cultivares tradicionales que se han adaptado razonablemente bien. 'Arbequina' es el más utilizado, aunque en los últimos tiempos 'Arbosana' está incrementando su plantación en menor medida 'Koroneiki' (Barranco, 2017; Barranco et al., 2000; Rius and Lacarte, 2015). Según Rosati et al., (2013) 'Arbequina' y 'Arbosana' tienen un vigor, ramificación y productividad que las hace idóneas para el sistema en seto, frente a otros cultivares italianos evaluados. 'Koroneiki' es un cultivar muy productivo y de precoz de entrada en producción, pero muestra mayor vigor que 'Arbequina' y 'Arbosana' (Barranco et al., 2000).

La densidad de plantación es un factor determinante que viene definido por la distancia entre árboles y entre filas, y que se ve afectado principalmente por la disponibilidad de agua y por la orientación de las filas (Pastor et al., 2007; Rallo et al., 2013; Rosecrance et al., 2015; Trentacoste et al., 2015a, 2015b). Durante los primeros años de plantación la producción crece linealmente con la densidad de plantación (Farinelli and Tombesi, 2015; Larbi et al., 2012; León et al., 2007). Sin embargo, un diseño adecuado de la plantación debería ser el que maximiza la producción sin poner en riesgo el manejo y vida útil de la misma. Actualmente existe gran diversidad de distancias en las plantaciones comerciales y escasos datos experimentales, en particular sobre la vida útil de las plantaciones. (Rallo et al., 2013).

En este trabajo se presentan los resultados de 14 años de un ensayo de adaptación de cinco cultivares y del efecto de 9 densidades en olivar en seto. Se trata, hasta la fecha, del ensayo sobre plantaciones intensivas de mayor duración.

Materiales y Métodos

Campo experimental

Los ensayos se establecieron en la primavera del año 2000, en Pedro Abad (Córdoba), en el sur de España (37° 57' 32" N, 4° 27' 44" W) y 162 m de altitud. El clima es Mediterráneo, marcado por un verano seco, donde la precipitación es <30 mm entre junio-septiembre y con una media anual para el periodo 2001-2013 de 531 mm (Red de Alerta e Información Fitosanitaria RAIF, Junta de Andalucía, 2014). En la plantación se aplica un riego deficitario de aproximadamente 200 mm anuales, y de manera general una poda anual que limita la altura y la anchura del seto.

Ensayo de cultivares

Se evaluó la adaptación de cinco cultivares 'Arbequina', Arbequina IRTA^R i-18, 'Arbosana', 'Koroneiki' y 'Fs-17' al sistema de cultivo en seto, con un marco de plantación de 3.75m x 1.35 m (1975 olivos ha⁻¹). 'Arbequina' y 'Arbosana' son dos cultivares tradicionales de la zona de Cataluña, 'Koroneiki' es uno de los principales cultivares de Grecia, Arbequina IRTA^R i-18 es un clon de 'Arbequina' seleccionado en Cataluña (Tous et al., 1998) y 'Fs-17' proviene de un cruzamiento de 'Frantoio' en polinización libre (Fontanazza et al., 1998). Los cinco cultivares se dispusieron en un diseño de cuatro bloques al azar con unos 40 olivos por parcela elemental.

Ensayo de densidades

En este ensayo se evaluó el efecto de la densidad de plantación sobre el cv. Arbequina. Se usaron 9 densidades de plantación (780, 909, 952, 1143, 1203, 1481, 1569, 2000, y 2254 olivos ha⁻¹), variando la distancia entre calles y entre olivos (5.70 × 2.25, 5.50 × 2.00, 5.25 × 2.00, 5.00 × 1.75, 4.75 × 1.75, 4.50 × 1.50, 4.25 × 1.50, 4.00 × 1.25, y 3.55 × 1.25 m) dentro de la fila. Los cuatro bloques se dispusieron en orden creciente y decreciente de densidad dentro de cada bloque, la longitud de la unidad experimental era de unos 40 metros de seto con un número de olivos por fila que varió de 18 a 32.

Medidas: Producción, vecería, vigor e intensidad de floración

La producción de aceituna, rendimiento graso y producción de aceite se evaluó durante 12 campañas, del 3^{er} al 14^o año de plantación (2002-2013). Se calculó la producción acumulada de aceituna y aceite. Las aceitunas se cosecharon mediante cosechadora, cada fila (bloque) se recogió y pesó por separado. El rendimiento de aceite se analizó en laboratorio mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN). La vecería se calculó mediante los índices de Bienalidad (B), Intensidad de vecería (I), y Porcentaje relativo de vecería (P) (Pearce and Doberšek-Urbanc, 1967), también del 3^{er} al 14^o año de plantación. El vigor de los setos se midió en los inviernos de 2010 y 2011, considerando el seto como un paralelepípedo (Connor et al., 2014). Los restos de poda también se pesaron durante dos años, 2011 y 2012. La intensidad de floración se evaluó en los setos con una escala de 0-3 de superficie del seto ocupada (donde 0= sin flor, 1= ≤ 33%, 2= 33-66% y 3= ≥ 66%).

Resultados y Discusión

Desde su implantación el olivar en seto o superintensivo ha sido objeto de controversia respecto a su manejo, productividad, vida útil y rentabilidad. Estos atributos han sido objeto de análisis en estudios durante los últimos 15 años (Camposeo and Godini, 2010; Connor et al., 2012; Farinelli and Tombesi, 2015; Hermoso et al., 2004; Larbi et al., 2011; Pastor et al., 2007; Trentacoste et al., 2015a). Sin embargo estos ensayos son los primeros que presentan datos de plantaciones adultas de 14 años de edad y 12 campañas de producción

Ensayo de cultivares

La producción media anual de aceituna y de aceite para las 12 campañas estuvo entre 12.2-14.2 t ha⁻¹ y 2.2-2.5 t ha⁻¹ respectivamente para los cultivares ‘Arbequina’, Arbequina IRTA^R i-18, ‘Arbosana’ y ‘Koroneiki’, y aproximadamente la mitad para ‘Fs-17’ (6.2 y 1.2 t ha⁻¹) (Tablas 1 y 2, Figuras 1 A y C), estas altas producciones ya fueron observadas en este ensayo por De la Rosa et al., en 2007. Con la excepción de ‘Fs-17’ no hubo diferencias significativas entre la producción media de aceituna y de aceite para el resto de cultivares. En la producción acumulada de aceituna, ‘Arbosana’ fue la más productiva, seguida de ‘Arbequina’, Arbequina IRTA^R i-18 (sin diferencias entre ellas), después ‘Koroneiki’ y por último ‘Fs-17’. La producción acumulada de aceite el resultado ha sido análogo, aunque ‘Koroneiki’ se situó entre ‘Arbosana’ y el grupo ‘Arbequina’, Arbequina IRTA^R i-18. El cv. Fs-17 tuvo una producción muy inferior al resto (Tablas 1 y 2). ‘Fs-17’ y ‘Koroneiki’ mostraron los valores más altos de rendimiento graso en peso fresco (Tabla 3). Durante todos los años, la producción acumulada de aceituna y aceite fue aumentando en los cinco cultivares (Figuras 1 B y D), siguiendo el comportamiento descrito con anterioridad por De la Rosa et al., (2007). El cv. Fs-17 fue el más vecero, y ‘Arbequina’, Arbequina IRTA^R i-18 los que tuvieron la producción más estable, seguidos de ‘Arbosana’ y ‘Koroneiki’ sin diferencias entre si (Tabla 2). Después de estos años la distribución de flor en el seto se acumuló mayoritariamente en la parte alta de los setos (Kruskal Wallis; P < 0.05). ‘Koroneiki’ fue el cultivar de más precoz entrada en producción, dando su primera cosecha al segundo año de plantación. Este resultado contrasta con estudios previos en Tarragona donde los cvs. Arbequina IRTA^R i-18 y Arbosana fueron más precoces que ‘Koroneiki’ (Tous et al., 2008). ‘Arbosana’ fue el cultivar menos vigoroso (Tabla 3).

Tras 14 años de la plantación, todos los cultivares salvo ‘Fs-17’, han presentado producciones medias anuales superiores a 2000 kg de aceite ha⁻¹. No se ha observado además descenso en sus producciones, siendo ‘Arbosana’ el cultivar más productivo y de manejo más sencillo por su reducido vigor. En contraposición, ‘Arbosana’ tiene una maduración de fruto mucho más tardía que ‘Arbequina’ (Barranco, 2017; Barranco et al., 2000), cuestión que debe ser tenida cuenta en zonas frías ya que el fruto es más sensible al frío en estado de maduración verde-amarillo (Barranco, 2017), o donde para evitar heladas adelantan la recolección teniendo que ejercer más fuerza la cosechadora debido a una fuerza más alta de retención del fruto y sus consiguientes daños a la planta.

Ensayo de densidades

La producción media anual de aceituna y aceite aumentó con la densidad 7.1-12.9 y 1.3-2.5 t ha⁻¹ respectivamente (Figuras 2 A y C). Evidentemente, la producción acumulada de aceituna y aceite también aumentó con la densidad de una manera lineal. La producción acumulada de aceituna y aceite ha aumentado gradual y constantemente durante los años de estudio para todas las densidades (Figuras 2 B y D). En contraste la producción por árbol ha disminuido con la densidad de plantación (Figuras 3 A y C), una

pauta ya observada en este ensayo con anterioridad (León et al., 2007), y también en otras plantaciones jóvenes (Larbi et al., 2012; Trentacoste et al., 2015a). La densidad no tuvo efecto en las características del fruto (LSD, $P > 0.05$) (Tabla 4). En las densidades menores la distribución de flor fue uniforme en todo el seto, pero en el resto, la flor se acumuló mayoritariamente en la parte alta del seto (Kruskal Wallis; $P < 0.05$). La densidad de plantación no tuvo efectos significativos en la vecería del cv. Arbequina. El volumen y superficie externa por árbol disminuyó con la densidad de plantación, pero aumentó por hectárea y metro lineal de seto (Tabla 4, Figuras 3 B y D). No se observó relación entre la densidad y la vecería (Tabla 4). Finalmente se ha observado una relación lineal positiva con la unidad de superficie, pero se encontró una mejor correlación ($R^2=0.99$) entre la producción de aceituna y de aceite con los metros lineales de seto, indicando que es una unidad precisa que en plantaciones adultas puede sustituir a los árboles ha^{-1} (Figuras 4 A y B).

En resumen, tras 14 años de plantación no se ha observado un efecto negativo de la densidad en la producción, pudiéndose manejar densidades ≥ 1500 olivos ha^{-1} con producciones medias anuales ≥ 2000 kg de aceite ha^{-1} , usando riego deficitario y poda anual. A destacar, por tanto, que no se ha observado descenso de producción después de este tiempo.

Agradecimientos

A la empresa TODOLIVO S.L. que gestiona y es propietaria de las parcelas de estudio.

Referencias

- Barranco, D., 2017. El cultivo del olivo (Olive growing), in: Barranco, D., Fernandez-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.), *El Cultivo Del Olivo (Olive Growing)*. Junta de Andalucía-Mundi Prensa, Madrid, pp. 65–95.
- Barranco, D., Cimato, A., Fiorino, P., Touzani, A., Castañeda, C., Serfini, F., Trujillo, I., 2000. *World Olive Catalogue of Olive Varieties*. OCI, Madrid.
- Camposeo, S., Godini, A., 2010. Preliminary observations about the performance of 13 varieties according to the super high density oliveculture training system in Apulia (southern Italy). *Adv. Hortic. Sci.* 24, 16–20.
- Connor, D.J., Gómez-del-Campo, M., Comas, J., 2012. Yield characteristics of N–S oriented olive hedgerow orchards, cv. Arbequina. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 133, 31–36. doi:10.1016/j.scienta.2011.10.008
- Connor, D.J., Gómez-del-Campo, M., Rousseaux, M.C., Searles, P.S., 2014. Structure, management and productivity of hedgerow olive orchards: A review. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 169, 71–93. doi:10.1016/j.scienta.2014.02.010
- De la Rosa, R., León, L., Guerrero, N., 2007. Preliminary results of an olive cultivar trial at high density. *Aust. J. Agric. Res.* 58, 392–395. doi: 10.1071/AR06265
- Farinelli, D., Tombesi, S., 2015. Performance and oil quality of “Arbequina” and four Italian olive cultivars under super high density hedgerow planting system cultivated in central Italy. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 192, 97–107. doi:10.1016/j.scienta.2015.04.035
- Fontanazza, G., Bartolozzi, F., Vergati, G., 1998. Fs-17. *Riv. di Fruttic. e di Ortofloric.* 5, 61.
- Freixa, E., Gil, J.M., Tous, J., Hermoso, J.F., 2011. Comparative Study of the Economic Viability of High- and Super-High- Density Olive Orchards in Spain. *Acta Hortic.* 924, 247–254. doi:10.17660/ActaHortic.2011.924.31
- Hermoso, J., Plana, J., Romero, A., Tous, J., 2004. Performance of Six Olive Oil Cultivars

- in the South of Catalonia (Spain). *Acta Hort.* 791:333-33.
- Larbi, A., Ayadi, M., Dhiab, A., 2012. Planting density affects vigour and production of “Arbequina”olive. *Spanish J. Agric. Res.* 9, 1279. doi: 10.5424/sjar/20110904-062-11
- Larbi, A., Ayadi, M., Dhiab, A., 2011. Olive cultivars suitability for high-density orchards. *Spanish J. ...* 9, 1279–1286.
- León, L., Rosa, R.D. la, Rallo, L., 2007. Influence of spacing on the initial production of hedgerow “Arbequina”olive orchards. *Spanish J. ...* 5, 554–558.
- Pastor, M., García-Vila, M., Soriano, M.A., Vega, V., Fereres, E., 2007. Productivity of olive orchards in response to tree density. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 555–562.
- Pearce, S.C., Doberšek-Urbanc, S., 1967. The Measurement of Irregularity in Growth and Cropping. *J. Hortic. Sci.* 42, 295–305.
- Rallo, L., Barranco, D., Castro-García, S., Connor, D.J., Gómez del Campo, M., Rallo, P., 2013. High-Density Olive Plantations, in: *Horticultural Reviews*. pp. 303–384. doi:10.1002/9781118707418.ch07
- Rius, X., Lacarte, J.M., 2015. *La revolución del olivar. El cultivo en seto.*, 2nd ed. Agromillora, Barcelona.
- Rosati, A., Paoletti, A., Caporali, S., Perri, E., 2013. The role of tree architecture in super high density olive orchards. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 161, 24–29. doi:10.1016/j.scienta.2013.06.044
- Rosecrance, R.C., Krueger, W.H., Milliron, L., Bloese, J., Garcia, C., Mori, B., 2015. Moderate regulated deficit irrigation can increase olive oil yields and decrease tree growth in super high density “Arbequina” olive orchards. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 190, 75–82. doi:10.1016/j.scienta.2015.03.045
- Tous, J., Romero, A., Plana, J., 1998. IRTA-18 clon de la variedad de olivo “Arbequina.” *Agricultura* 788, 224–225.
- Tous, J., Romero, A., Plana, J., Hermoso, J.F., 2008. Olive oil cultivars suitable for very-high density planting conditions, in: *Acta Horticulturae*. pp. 403–408. doi:10.17660/ActaHortic.2008.791.59
- Trentacoste, E.R., Connor, D.J., Gómez-del-Campo, M., 2015a. Effect of row spacing on vegetative structure, fruit characteristics and oil productivity of N–S and E–W oriented olive hedgerows. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 193, 240–248. doi:10.1016/j.scienta.2015.07.013
- Trentacoste, E.R., Puertas, C.M., Sadras, V.O., 2015b. Effect of irrigation and tree density on vegetative growth, oil yield and water use efficiency in young olive orchard under arid conditions in Mendoza, Argentina. *Irrig. Sci.* doi:10.1007/s00271-015-0479-z

Tablas y Figuras

Tabla 1. Producción anual (t ha⁻¹), media (t año⁻¹ ha⁻¹) y acumulada (t ha⁻¹) de aceituna para los cinco cultivares estudiados

Año de plantación / campaña														Media ^c (t ha ⁻¹ año ⁻¹)	Acumulada ^d (t ha ⁻¹)
Cultivar	3 2002/03	4 03/04	5 04/05	6 ^a 05/06	7 06/07	8 07/08	9 08/09	10 09/10	11 10/11	12 11/12	13 ^b 12/13	14 13/14			
'Arbosana'	17.2	9.0	19.4	7.4	17.4	9.0	15.3	10.8	20.4	15.0	10.6	18.7	14.2 a	170.1 a	
'Arbequina'	16.6	17.2	21.6	6.3	8.0	9.9	10.5	10.9	15.3	13.3	8.9	19.4	13.1 a	157.8 ab	
'Arbequina i-18'	14.8	14.0	20.1	6.2	8.5	13.2	9.6	10.3	16.0	15.1	7.2	22.8	13.2 a	157.9 ab	
'Koroneiki'	20.7	6.1	12.5	4.5	14.8	10.1	13.6	8.6	20.1	9.9	9.1	16.5	12.2 a	146.6 b	
'Fs-17'	4.4	2.8	8.8	0.7	10.9	4.6	7.8	4.0	14.4	5.1	7.2	3.8	6.2 b	74.4 c	
Average^c	14.7ab	9.8bc	16.5ab	5.0c	11.9abc	9.3abc	11.4abc	8.9abc	17.2a	11.7abc	8.6bc	16.2ab			

^aFuertes heladas invernales que afectaron al crecimiento de los olivos^bAltas temperaturas (> 30C) en floración que afectaron al cuajado del fruto^cMedias con la misma letra sin diferencias significativas según Friedman test seguido de Dunn's comparison adjusted by Bonferroni at P = 0.05^dMedias con la misma letra sin diferencias significativas ANOVA seguido de Tukey test at P = 0.05**Tabla 2.** Producción anual (t ha⁻¹), media (t año⁻¹ ha⁻¹) y acumulada (t ha⁻¹) de aceite para los cinco cultivares estudiados

Año de plantación / campaña														Media ^c (t ha ⁻¹ year ⁻¹)	Acumulada ^d (t ha ⁻¹)
Cultivar	3 2002/03	4 03/04	5 04/05	6 ^a 05/06	7 06/07	8 07/08	9 08/09	10 09/10	11 10/11	12 11/12	13 ^b 12/13	14 13/14			
'Arbosana'	2.8	1.7	4.3	1.4	3.4	1.9	2.6	2.1	3.2	2.3	1.5	2.8	2.5 a	29.9 a	
'Arbequina'	2.5	2.5	3.0	1.3	1.7	2.2	2.2	2.1	2.5	2.3	1.4	2.9	2.2 a	26.3 b	
'Arbequina i-18'	2.6	2.0	2.9	1.3	1.9	2.8	1.9	2.0	2.5	2.7	1.1	3.3	2.2 a	26.8 b	
'Koroneiki'	3.8	1.1	2.6	0.9	3.1	2.2	2.8	1.7	3.3	1.9	1.5	2.6	2.3 a	27.3 ab	
'Fs-17'	0.7	0.4	1.3	0.2	2.3	1.1	1.9	0.9	2.4	1.0	1.2	0.6	1.2 b	13.9 c	
Average^c	2.4abc	1.5bcd	2.8a	1.0d	2.4abc	2.0abcd	2.3abcd	1.8abcd	2.8ab	2.0abcd	1.3cd	2.4abc			

^aFuertes heladas invernales que afectaron al crecimiento de los olivos^bAltas temperaturas (> 30C) en floración que afectaron al cuajado del fruto^cMedias con la misma letra sin diferencias significativas según Friedman test seguido de Dunn's comparison adjusted by Bonferroni at P = 0.05^dMedias con la misma letra sin diferencias significativas ANOVA seguido de Tukey test at P = 0.05**Tabla 3.** Características de fruto, índices de vecería y de vigor para los cinco cvs. estudiados en superintensivo en condiciones del sur de España durante 14 años

Cultivar	'Arbosana'	'Arbequina'	'Arbequina i-18'	'Koroneiki'	'Fs-17'
Peso de fruto (g)	1.7 b	1.8 b	1.8 b	1.1 c	2.8 a
Humedad de fruto (%)	58.0 b	57.9 b	58.4 ab	55.0 c	59.9 a
Contenido en aceite* (%)	17.8 b	17.3 b	17.6 b	18.8 a	18.8 a
ABI^a	0.30 b	0.20 c	0.23 c	0.33 b	0.47 a
B^b	0.90 ab	0.58 d	0.67 cd	0.85 bc	0.95 a
Altura árbol (m)	3.89	4.19	4.26	4.06	3.87
Anchura árbol (m)	1.7	1.85	1.82	1.82	1.98
Volumen copa (m³ha⁻¹) x 10³	14.10 c	16.76 a	16.84 a	15.86 b	16.30 ab
Superficie ext. (m²ha⁻¹) x 10³	21.02 c	23.03 a	23.39 a	22.23 b	21.68 bc
Madera poda (t ha⁻¹)	10.5 b	17.6 a	15.5 a	14.2 a	17.4 a
Copa / anchura calle libre (D/A)	1.75	2.05	2.05	1.95	2.02

^aÍndice de vecería (ABI) del 3^{er} al 14^o año tras la plantación, calculado según Pearce and Dobersek-Urbanc (1967)^bÍndice de bienalidad (B) del 3^{er} al 14^o año tras la plantación, calculado según Monselise and Goldschmidt, (1982)^cDentro de cada fila, medias con igual letra, sin diferencias significativas según Friedman test seguido de Dunn's comparison adjusted by Bonferroni at P = 0.05; or according to one-way repeated measures followed by Tukey's test at P = 0.05. No se añaden letras cuando no hay significación

Tabla 4. Características de fruto, índices de vecería y de vigor para ‘Arbequina’ en nueve densidades en sistema superintensivo en el sur de España durante 14 años

Densidad (olivos ha ⁻¹)	780	909	952	1143	1203	1481	1569	2000	2254
Peso de fruto (g)	1.94	2.06	1.96	1.9	1.92	1.92	1.94	2.16	2
Humedad de fruto (%)	57.4	56.6	57.1	57	57.5	57.1	57.1	57.2	56.9
Contenido de aceite (%)	18.8	19.1	19.3	19.3	19.1	19.1	19.1	19.2	19.1
ABI^a	0.20 ab	0.20 ab	0.18 bc	0.18 bc	0.20 ab	0.23 a	0.19 ab	0.17 bc	0.14 c
B^b	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.67	0.72	0.72
Altura árbol (m)	3.85	3.86	3.97	4.03	3.87	4.01	4.08	4.15	4.17
Anchura árbol (m)	1.9	1.94	1.98	1.89	1.88	1.85	1.83	1.81	1.87
Volumen árbol (m³ tree⁻¹)	13.1 a	11.9 b	12.6 ab	10.7 c	10.1 c	8.9 d	9.0 d	7.6 e	7.9 e
Volumen seto (m³ ha⁻¹) x 10³	10.2 f	10.8 f	12.0 e	12.2 e	12.1 e	13.2 d	14.2 c	15.2 b	17.8 a
Superficie externa de seto (m² ha⁻¹) x 10³	14.1 g	14.7 g	15.9 f	16.7 e	16.9 e	18.4 d	19.8 c	21.3 b	24.3 a
Madera de poda (t ha⁻¹)	10.5	11.9	12	13.2	13.7	16.3	14.8	15.4	14.8
Distancia entre filas (m)	5.7	5.5	5.25	5	4.75	4.5	4.25	4	3.55
Copa / ancho de calle libre (D/A)	0.93	1.00	1.12	1.20	1.24	1.40	1.56	1.76	2.30

^aÍndice de vecería(ABI) del 3^{er} al 14^o año tras la plantación, calculado según Pearce and Dobersek-Urbanc (1967)

^bÍndice de bienalidad(B) del 3^{er} al 14^o año tras la plantación, calculado según Monselise and Goldschmidt, (1982)

^cDentro de cada fila, medias con igual letra, sin diferencias significativas según Friedman test seguido de Dunn's comparison adjusted by Bonferroni at $P = 0.05$; or according to one-way repeated measures followed by Tukey's test at $P = 0.05$. No se añaden letras cuando no hay significación

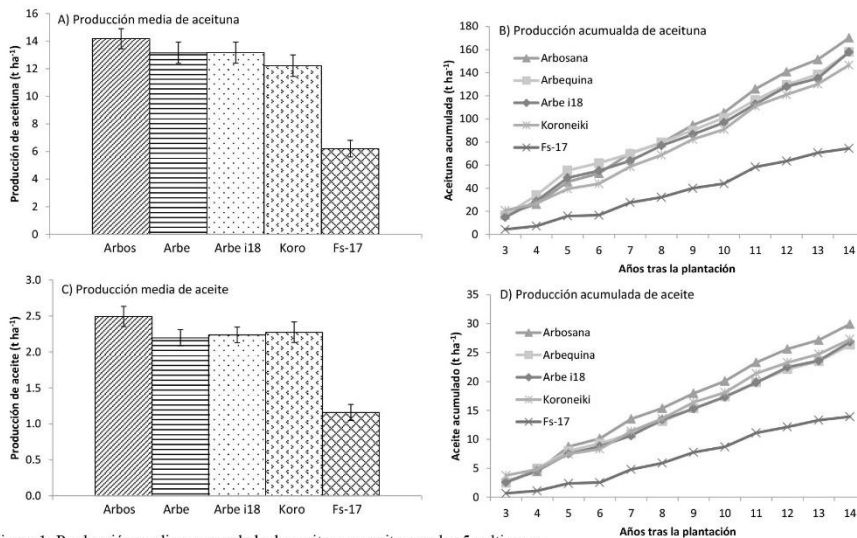


Figura 1: Producción media y acumulada de aceituna y aceite para los 5 cultivares.

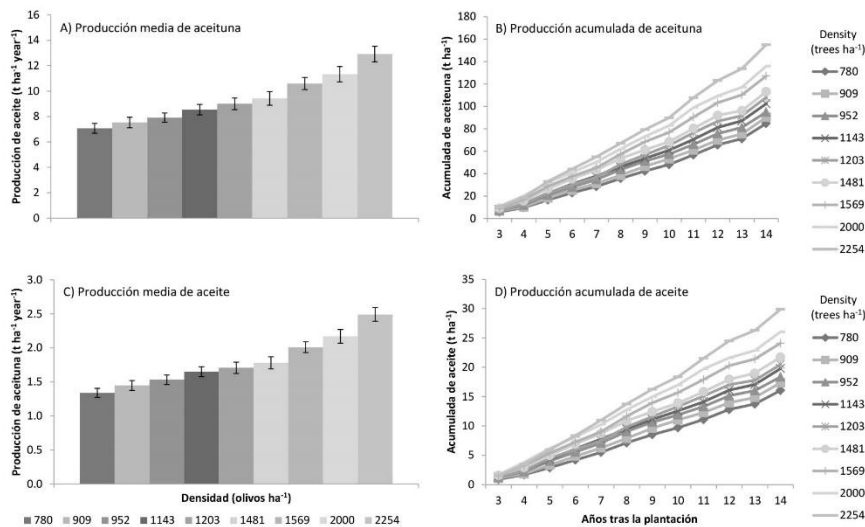


Figura 2: Producción media y acumulada de aceituna y aceite para las 9 densidades.

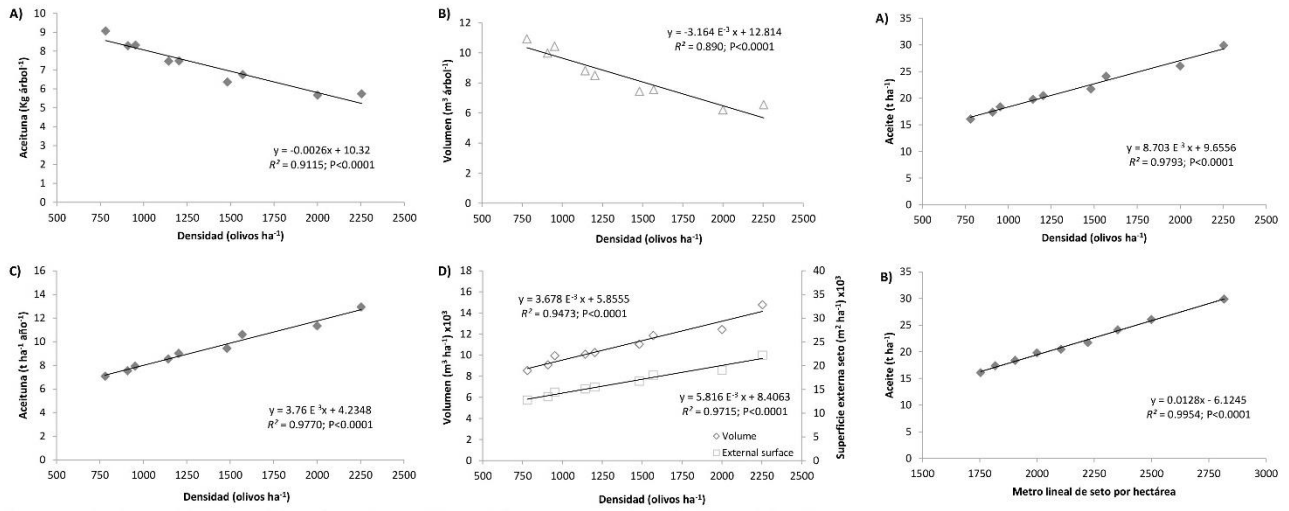


Figura 3: Producción anual de aceituna (A) y volumen de copa (B) por árbol se comparan con la producción anual de aceituna (C) y superficie externa de seto y volumen por ha (D), todas en función de la densidad de olivos del cultivar Arbequina.

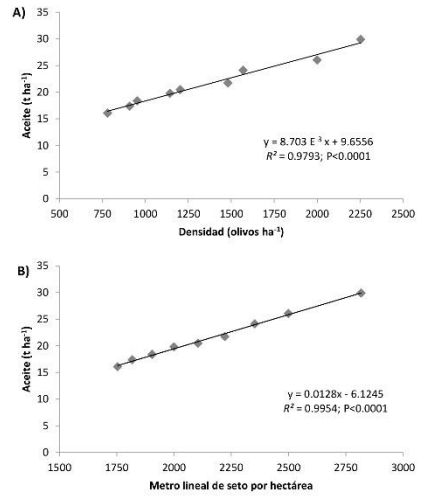


Figura 4: Regresión lineal de la producción acumulada de aceite con respecto a la densidad (A) y para los metros lineales de seto (B) en 14 años del cv. Arbequina.

Enraizamento ex-vitro de plantas micropropagadas de oliveira “*Olea europaea* L.”

Augusto Ribeiro¹, Rita Pires¹, Hugo Ribeiro¹, Virgínia Sobral¹ & Augusto Peixe^{2,*}

¹Universidade de Évora-Departamento de Fitotecnia, Ap94, 7006-554 Évora

²Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas / Instituto de Investigação e Formação Avançada – ICAAM/IIFA, Universidade de Évora, 7006-554 Évora, Portugal, apeixe@uevora.pt

*Autor para correspondência

Resumo

A oliveira cv. ‘Galega vulgar’ é uma de muitas que apresentam difícil enraizamento por estacaria semilenhosa. De modo a contornar essa limitação a micropropagação *in vitro* tem sido testada como alternativa, mas o custo final de produção por este processo ainda é elevado. Pretendeu-se com este trabalho testar a viabilidade do enraizamento *ex vitro*, na ausência de condições de assepsia, procurando assim uma redução de custos associados a esta fase de produção. Este método poderá permitir uma significativa redução da mão-de-obra, ao mesmo tempo que facilitará a aclimatização das plantas e a obtenção de um sistema radicular de melhor qualidade. Foram utilizados explantes provenientes de dois clones da cv. ‘Galega Vulgar’, (cl. 1441 e cl. 2022) cultivados e mantidos *in vitro* há vários anos no Laboratório de Melhoramento e Biotecnologia da Universidade de Évora. Para além do clone foi avaliada a influência do tipo de estaca (basal e apical), da hormona de enraizamento (AIB e ANA), da sua concentração (540 e 3000 ppm) e ainda de dois substratos (Preformas Jiffy® e pastilhas de fibra coco). Os melhores resultados foram obtidos com o clone 1441 em pastilhas de fibra de coco prensada, com o uso de estacas basais. Quanto à auxina, não se observaram diferenças significativas entre a utilização de ANA na concentração de 540ppm e AIB na concentração de 3000 ppm. A aclimatização das plantas foi conseguida com taxas elevadas de sucesso, independentemente do tratamento utilizado. Conclui-se que a aplicação do método de enraizamento *ex vitro* simplifica procedimentos e mantém taxas de enraizamento elevadas, conduzindo assim a uma efetiva redução de tempo e custos associados.

Palavras-chave: Aclimatização, AIB, ANA, Auxinas, Estacaria.

Abstract

The olive cultivar ‘Galega vulgar’ is, among others, difficult to propagate by semi-hardwood cuttings. To overcome this problem, its propagation has been attempted by *in vitro* culture, but, the final production fees associated to this process are still high. Aiming on reduce the final plant price, this work tested the feasibility of the *ex vitro* rooting in the absence of aseptic conditions. This may allow a significant reduction of the manpower involved and an easier plant acclimatization due to its transplant with a balled-root system. Explants from two clones of the cv. ‘Galega Vulgar’(cl. 1441 and cl. 2022), grown and maintained *in vitro* for several years in the Laboratory of Biotechnology and Plant Breeding of the University of Évora, were used in the trials. In addition to the clone, the effect of the cutting type (basal and apical), the rooting hormone (AIB and ANA), their concentration (540 and 3000 ppm) and two substrates (Preformas Jiffy ® and pressed coco fiber pellets), were also evaluated. The best results were obtained with the clone 1441, when rooted in pressed coco fiber pellets, using basal cuttings. Under this

conditions no significant differences were observed between the use of ANA at 540 ppm or AIB in the 3000 ppm. Acclimatization of plants was achieved with high rates of success, regardless of the treatment used. It can be concluded that the application of the *ex vitro* rooting method allows to maintain high rooting rates, contributing for an effective reduction of time and fees of the rooting process.

Keywords: Acclimatization, Auxins, Cuttings, IBA, NAA.

Introdução

A oliveira é uma das culturas mais antigas na região mediterrânea e tem sido, ao longo da sua existência, multiplicada vegetativamente através de métodos convencionais, como a estacaria lenhosa e semilenhosa e a enxertia. Estes métodos têm apresentado alguns problemas, uns, por serem demasiado lentos e outros pouco eficientes para algumas variedades. Por exemplo, para a cv. ‘Galega vulgar’, abordada no presente trabalho, a sua propagação pelo método de estacaria semilenhosa sob nebulização apresenta baixas percentagens de enraizamento, o que inviabiliza a utilização do processo a nível comercial. De modo a contornar estas limitações e com vista a um aumento do número de plantas de alta qualidade produzidas com genótipos valiosos, a propagação *in vitro* tem sido usada como alternativa.

A capacidade de propagação *in vitro* da oliveira depende de muitos fatores internos e externos. A genética do material vegetal utilizado, aspetos fisiológicos relacionados com a idade e fase de desenvolvimento da planta mãe, fatores ambientais, como a luz e temperatura e ainda a composição nutritiva do meio de cultura (Mencuccini, 2002), são apenas alguns.

De um modo geral, nos trabalhos de propagação *in vitro* da oliveira realizados até ao momento, o enraizamento carece de ambiente estéril e morosos cuidados de assepsia, de modo a evitar contaminações do meio e dos explantes por fungos e bactérias. Para além disso, quando não se recorre à técnica de indução do enraizamento por imersão do explante numa solução concentrada de reguladores de crescimento (de agora em diante designada por ‘*pulse*’), o processo exige a manipulação em dois meios de cultura, um para indução, e outro para o enraizamento efetivo, aumentando significativamente os custos de produção.

Quando a técnica de ‘*pulse*’ é utilizada para indução do enraizamento, tem-se verificado que, mesmo cumpridos todos os cuidados de assepsia, as taxas de contaminação ultrapassam facilmente os 50%, e, apesar de a percentagem de enraizamento de explantes não contaminados poder ultrapassar os 85% (Peixe *et al.*, 2007), as plantas obtidas quando o enraizamento ocorre *in vitro*, podem apresentar maior dificuldade na aclimatização, visto serem transplantadas de raiz nua e sujeitas a grandes diferenças entre o meio de enraizamento *in vitro* (gelificado e estéril) e o substrato de aclimatização (orgânico ou inorgânico e não esterilizado).

Tanto quanto nos foi possível saber, até agora, o único protocolo para o enraizamento *ex vitro* de explantes de oliveira produzidos *in vitro*, foi proposto por Leva (2011). Utilizaram-se nesse trabalho explantes das variedades ‘Maurino’, ‘Coratina’, ‘Correggiolo’, ‘Frantoio’, ‘Maremmano’, ‘Picholine’ e ‘S. Francesco’, com diferentes tempos de multiplicação *in vitro*, (225, 267 e 309 dias), correspondendo a 5, 6 e 7 subculturas. Os explantes foram mantidos em luz contínua ou sob 16h de fotoperíodo, com uma intensidade luminosa próxima dos 40 $\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo a indução do enraizamento obtida por ‘*pulse*’ numa solução de ANA a 500ppm. Todas as variedades analisadas formaram raízes adventícias, sendo o sucesso dependente desta (‘S.Francesco’

: 76%, ‘Correggiolo’: 28%, ‘Frantoio’ : 40% e as restantes entre 62 e 72%) e do maior ou menor número de subculturas.

Tendo por base o protocolo desenvolvido por Peixe *et al.* (2007) para a multiplicação *in vitro* da variedade de oliveira ‘Galega Vulgar’, o trabalho que agora se apresenta pretende testar a viabilidade da técnica proposta por Leva (2011), para o enraizamento *ex vitro* da espécie, procurando ainda complementar a informação aí apresentada. Utilizado a técnica de ‘pulse’ para indução do enraizamento em explantes cultivados *in vitro*, avaliou-se a influência do clone, do tipo de estaca, da concentração e tipo de auxina utilizada e ainda do substrato de enraizamento, nas taxas de enraizamento e na aclimatização de plantas da variedade ‘Galega vulgar’.

Material e Métodos

Material Vegetal

Para se conseguir o material vegetal a usar nos ensaios de enraizamento, foi necessário reativar a multiplicação em condições de assepsia, de explantes da variedade ‘Galega vulgar’, cl.2022 e cl.1441, há vários anos mantidos em cultura *in vitro* no Laboratório de Melhoramento e Biotecnologia da Universidade de Évora.

A primeira fase deste processo consistiu em segmentar os explantes existentes, em fragmentos uninodais, com cerca de 1 cm, desprovidos de folhas e proceder à sua colocação em meio de cultura (Figura 1-A), composto pela formulação nutritiva e vitamínica de base OM (Rugini, 1984), sendo a mesma adicionada de Zeatina (1mg L⁻¹), BAP (2mg L⁻¹). O meio foi gelificado pela adição de 0,7% de agar-agar, sendo o pH corrigido a 5,8 antes da autoclavagem.

Após aproximadamente 30 dias, os *calli* formados na base dos explantes, assim como as folhas da base, foram removidas, e os explantes foram repicados para novo meio de cultura com a mesma formulação (Figura 1-B). Trinta dias depois os explantes apresentavam 8-10 entrenós e cerca de 10-12 cm estando em condições de ser utilizados nos ensaios de enraizamento (Fig. 1-C).

Foram então preparados os dois tipos de estacas, apicais e basais. As estacas apicais foram preparadas mantendo o gomo terminal e cortando a estaca ao 4º nó abaixo deste. Para preparação das estacas basais, a base da estaca, onde se desenvolveu tecido caloso durante a fase de alongamento foi eliminada e as estacas foram preparadas cortando ao 4º nó visível contado a partir da extremidade basal. Tanto nas estacas basais como nas apicais mantiveram-se as 4 folhas da extremidade sendo eliminadas todas as outras.

Indução e expressão do enraizamento

A indução radical foi tentada pela técnica de ‘pulse’, pela imersão da base das estacas em soluções concentradas de reguladores de crescimento (ver delineamento experimental e análise de dados). Após o ‘pulse’ e para possibilitar absorção das hormonas, os explantes estiveram 1 minuto em repouso antes de serem colocados nos seguintes substratos de enraizamento:

- Preformas® Jiffy; trata-se de cubos humedecidos contendo uma mistura de 70% fibra de coco e 30% turfa com pH entre 4,7 e 5,3.

- Pastilhas de fibra de coco prensada; trata-se de pastilhas compostas 100% por fibra de coco prensada e desidratada, com elevada capacidade de expansão após hidratação e com pH de 5,5.

Aclimatização das plantas enraizadas

Todos os explantes onde o enraizamento foi conseguido, foram transferidos para tableiros alveolados de polipropileno, com formato retangular com 28 alvéolos e volume

aproximado de 200 ml por alvéolo, onde se colocou o substrato de aclimatização composto por areia, perlite e turfa, na proporção 1:1:3 (V/V).

Condições Gerais de Cultura

Durante as fases em que os explantes se mantiveram em cultura asséptica (multiplicação e alongamento *in vitro*), a sala de cultura foi programada para um fotoperíodo de 16 horas, uma intensidade luminosa de 44 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}-1$ conseguida pela utilização de lâmpadas fluorescentes Osram L 18W/840, e uma temperatura dia/noite de 24°C / 22°C. Na fase de expressão radicular, as estacas, após colocação nos tabuleiros com os substratos de enraizamento, mantiveram-se em caixas de cultura semelhantes às utilizadas durante a cultura asséptica e passaram para uma câmara de cultura, com condições idênticas às descritas para a fase de cultura *in vitro*, mas com uma intensidade luminosa de 81 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}-1$.

Para a fase de aclimatização, os tabuleiros, com as plantas enraizadas, foram colocados numa câmara de aclimatização, com uma humidade relativa de 85%, temperatura dia/noite de 24/22°C, fotoperíodo de 16 horas e uma intensidade luminosa de 238 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}-1$, conseguida com a utilização de lâmpadas Osram L 36W/840. As plantas mantiveram-se nesta câmara durante 4 semanas, período em que a humidade foi sendo gradualmente reduzida até aos 60%. No final da 4ª semana as plantas foram transferidas para uma estufa com cobertura de polietileno, aberturas laterais e superiores para ajudar o controlo da temperatura e com rega por aspersão.

Durante toda a fase de aclimatização foi realizada semanalmente na água de rega uma fertilização com NPK e micronutrientes, utilizando para o efeito a formulação comercial, Campo®, na concentração de 5 ml L⁻¹ de água.

Delineamento experimental e análise de dados

O ensaio seguiu um delineamento em fatorial completo com 2 clones (1441 e 2022) * 2 substratos (Pastilhas de fibra de coco prensada e Preformas® Jiffy) * 2 Tipos de Estaca (apical e basal) * 2 auxinas (AIB e ANA) * 2 concentrações (540 ppm e 3000 ppm). Para as concentrações de 3000 ppm o tempo de contacto da base dos explantes com a solução de auxina foi de 10 segundos, sendo de 5 minutos para as concentrações de 540 ppm. Para cada tratamento foram feitas 3 repetições sendo cada uma delas composta por 8 explantes, perfazendo assim um valor total de 768 explantes para a totalidade do ensaio.

Foi avaliada a percentagem de enraizamento e os dados obtidos foram submetidos a análise de variância. Quando registadas diferenças significativas os dados foram submetidos a uma análise de comparação de médias utilizando o teste de Fisher (LSD), considerando-se um nível de significância para $p \leq 0.05$. A análise de dados foi efetuada recorrendo ao *software* STATISTICA 8.0™.

Resultados

Pode ver-se pela tabela 1, onde se apresentam os resultados da análise de variância, que se observam diferenças significativas para 3 das 5 variáveis principais em estudo, a saber: o clone, o tipo de estaca e o substrato. Verifica-se também que foram registadas diferenças significativas ao nível das interações entre as variáveis analisadas. Por exemplo, o comportamento dos clones foi fortemente dependente do substrato e da concentração de auxina utilizada. O tipo de estaca apresentou comportamento diferenciado em função do substrato de enraizamento, e, tanto a auxina utilizada, como a sua concentração, interagiram com o substrato e com o clone, dando origem a respostas diferenciadas.

Na figura 2, apresentam-se os intervalos de confiança a 95% relativos à percentagem de enraizamento, para das variáveis principais onde se observaram diferenças significativas. É possível observar que o clone 1441 atingindo valores médios

de enraizamento de 63% para o conjunto de todos os tratamentos, teve um comportamento significativamente melhor que o clone 2022, onde o enraizamento médio não ultrapassou os 40% (Fig.2-A). Já em relação ao tipo de estaca (Fig.2-B), verifica-se que os melhores resultados são obtidos quando se utilizam estacas basais, com valor médio de enraizamento superior a 70%, contra os 30% obtidos com as estacas apicais. Em relação aos substratos de enraizamento, observa-se que nas pastilhas de fibra de coco prensada a percentagem média de enraizamento foi de 61%, valor significativamente superior ao conseguido com as Preformas ® Jiffy, onde não foi além de 43% (Fig.2-C).

Pela representação gráfica da interação tripla para as 3 variáveis em análise (Fig. 3), é possível confirmar o melhor comportamento das estacas basais em relação às apicais e ver que a melhor performance do clone 1441 em relação ao clone 2022 fica a dever-se principalmente ao comportamento das estacas apicais do primeiro no substrato pastilhas de fibra de coco prensada, onde o enraizamento foi significativamente superior a qualquer outro tratamento onde este tipo de estacas foi utilizado. A essa mesma razão se devem as diferenças anteriormente observadas entre os substratos. Realmente, só neste caso, o enraizamento observado no substrato pastilhas de fibra de coco prensada, foi significativamente superior ao observado no substrato Preformas ® Jiffy.

Para compreender as diferenças registadas para os dois clones em função da auxina utilizada e da sua concentração, apresenta-se na figura 4 a representação gráfica da interação tripla Clone/Auxina/Concentração de auxina. Como pode ver-se, os melhores resultados obtidos para o clone 1441, resultam principalmente do seu comportamento quando a indução é feita com ANA na concentração de 540ppm.

Nesse caso, os valores obtidos são significativamente superiores aos conseguidos para as mesmas condições, com o clone 2002. Em todos os restantes tratamentos não se registam diferenças significativas no comportamento dos dois clones. Também não se registam diferenças significativas quando os resultados obtidos para o clone 1441 com indução em ANA a 540 ppm são comparados com a utilização de AIB a 3000 ppm, aspeto que tem alguma relevância já que este último tratamento está hoje mais ou menos generalizado para a indução do enraizamento em estacas semilenhosas de oliveira.

Por último, em relação à aclimatização (Fig.5), obtiveram-se taxas de sobrevivência superiores a 85% para todos os tratamentos usados no enraizamento.

Discussão

De acordo com o que nos foi possível avaliar, Leva (2011), realizou até à data o único ensaio onde se tentou enraizamento *ex vitro* de explantes de oliveira multiplicados *in vitro*, sendo a indução do enraizamento efetuada através da imersão da base dos explantes em ANA numa concentração de 500 ppm. Foram então testadas 7 variedades de oliveira, 3 tempos de permanência dos explantes em cultura *in vitro* (5, 6 e 7 subculturas) antes do ensaio de enraizamento, e fotoperíodos de 24 e 16 horas. Os resultados, variando entre 28 e 76% de enraizamento, foram condicionados tanto pela variedade como pelo fotoperíodo e pelo tempo de permanência dos explantes em cultura *in vitro* antes do enraizamento. Os autores referem que, independentemente da variedade, os melhores resultados se obtiveram com luz contínua e com explantes com maior número de subculturas *in vitro* antes do enraizamento.

No caso do ensaio que agora se apresenta, pelo facto de os explantes estarem em cultura *in vitro* há muito tempo (cerca de 10 anos), o número de subculturas não foi considerado como variável. Tal como aconteceu no trabalho de Leva (2011), onde se observaram diferenças entre as variedades, também no nosso caso os clones apresentaram comportamento diferenciado, confirmando a influência do genótipo no processo de formação de raízes adventícias. Estas diferenças observadas entre os clones estão também

de acordo com os inúmeros trabalhos que apontam para esse facto. De entre estes, salientamos dois dos mais recentes, Mencuccini (2002) e Leva (2011). Ambos os autores referem que a capacidade de propagação *in vitro* da oliveira (*Olea europaea* L.), depende entre outros fatores internos e externos, da genética do material vegetal utilizado.

Ismaili & Lani (2013), trabalhando com estacaria semilenhosa sob nebulização, avaliaram entre outros fatores a posição da estaca no ramo (apical, média e basal), concluindo que os melhores resultados se obtêm com a utilização de estacas apicais. Estes resultados não estão de acordo com os obtidos no presente ensaio, onde as estacas basais apresentam uma melhor performance, mas, tratando-se da aplicação de metodologias distintas, os resultados obtidos não são comparáveis. De qualquer modo, a existência de comportamento diferenciado, tanto em estacaria semilenhosa como em explantes provenientes de cultura *in vitro*, confirma que o tipo de material vegetal utilizado pode efetivamente condicionar o enraizamento das variedades ou dos clones.

Relativamente aos reguladores de crescimento, eles são talvez a variável mais estudada em ensaios de enraizamento de oliveira. Desses estudos são exemplo os trabalhos de Rama e Pontikis (1990), Chaari-Rkhis et al. (2002), Zuccherelli e Zuccherelli (2002), Brahadda et al. (2003), Preece (2003), Peixe et al. (2003) ou Rademacher (2015). De um modo geral os trabalhos atrás enumerados comprovam que a oliveira responde positivamente à aplicação externa de auxinas. Neste ensaio em que foram testadas duas auxinas (AIB e ANA), observámos que as maiores concentrações de AIB (3000 ppm) e as menores concentrações de ANA (540 ppm) conduziram aos melhores resultados. Pode assim inferir-se que, no caso do AIB, a concentração de 540 ppm pode não ser suficiente para uma eficiente estimulação do enraizamento, enquanto a concentração de 3000 ppm, no caso do ANA, pode já provocar um efeito de toxicidade, levando ambas as concentrações a percentagens de enraizamento mais baixas. Os dados indicam no entanto que, trabalhar com uma única auxina numa única concentração não permitirá em muitos casos potenciar os resultados. Os nossos resultados, assim como os obtidos por Leva (2011), revelam boas taxas de enraizamento com a utilização de ANA, no entanto, sempre que estes não apresentem diferenças significativas quando comparados com a utilização de AIB, como no nosso caso, sugere-se a utilização desta última auxina. Quando comparado com o ANA, o AIB é mais estável e entre o eficiente e o tóxico tem um intervalo de segurança ao nível da concentração aplicada muito superior ao ANA. Para além disso, desde há muito que o AIB é utilizado na promoção do enraizamento em estacaria de oliveira, havendo por isso muita informação sobre a mesma.

O parâmetro duração do fotoperíodo, que condicionou o enraizamento nos ensaios de Leva (2011) não foi por nós testado, mas, tendo em conta as elevadas taxas de enraizamento que conseguimos com um fotoperíodo de 16 horas, será difícil prever melhores resultados pela aplicação de luz contínua, ainda que a avaliação deste parâmetro deva ser considerada em trabalhos futuros.

Conclusões

Pela simplificação de procedimentos, pela inerente redução da mão-de-obra e pela melhor qualidade do sistema radical obtido, que facilita a aclimatização das plantas produzidas, o enraizamento *ex-vitro* após indução rápida em solução concentrada de reguladores de crescimento (“pulse”), começa a ser cada vez mais utilizado na propagação comercial de plantas multiplicadas *in vitro*.

No caso da oliveira, as taxas de enraizamento superiores a 80%, aqui registadas em alguns dos tratamentos, associadas aos resultados anteriormente apresentados por Leva (2011), permitem afirmar que a técnica apresenta forte possibilidade de aplicação a nível comercial. Na verdade, estas taxas de enraizamento situam-se ao mesmo nível das

apresentadas para o enraizamento *in vitro* (ex: Peixe *et al.*, 2007), sendo notória a simplificação dos procedimentos, as melhores percentagens de aclimatização, e, inerentemente, a redução dos custos de produção das plantas.

Também de acordo com o que nos foi possível observar, a generalização de procedimentos não é possível, tornando-se necessária uma otimização das condições de cultura para cada variedade e eventualmente para cada clone, sendo que, para além do genótipo, os fatores mais importantes a ter em conta parecem relacionar-se com o tipo de estaca, a auxina utilizada e a sua concentração.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo FEDER e por Fundos Nacionais, através do Programa Operacional Regional ALENTEJO 2020, Operação ALT20-03-0145-FEDER-000014 – “Valorização das Variedades de Oliveira Portuguesas (Oleavalor)”

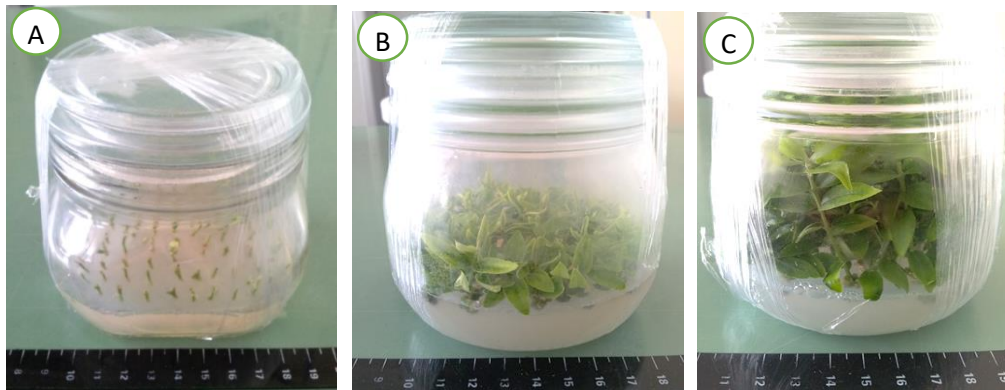
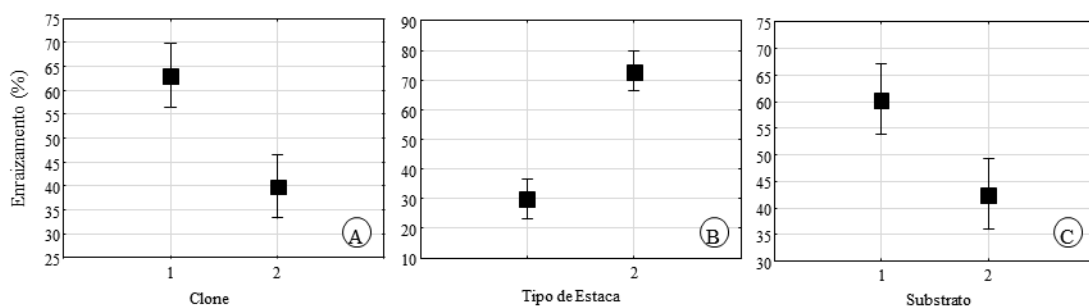
Referências

- Brahadda, N., Abousalim, A. & Walali Loudiyi, D.E. (2003). Eff et du milieu de culture sur le microbouturage de l'olivier (*Olea europaea* L.) cv. Picholine Marocaine. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 7, 177-182.
- Ismaili, H. & Lani, V. (2013). The study of rhizogenesis in the vegetative sprig of the olive (*Olea europaea* L.) through the method of mist propagation. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*. Albanian j. agric. sci., 12 (2), 283 -287.
- Leva, A. (2011). Innovative protocol for “ex vitro rooting” on olive micropropagation. *Central European Journal of Biology*, 6 (3), 352-358.
- Peixe, A., Calado, M., & Porfírio, S. (2003). Propagação da oliveira – Metodologias e sua evolução. In J. Böhm (Eds.), *O Grande Livro da Oliveira e Do Azeite – Portugal Oleícola*, (101 – 119). DinaLivro editora, Lisboa.
- Peixe, A., Raposo, A., Lourenço, R., Cardoso, H. & Macedo, E. (2007). Coconut water and BAP successfully replaced zeatin in olive (*Olea europaea* L.) micropropagation. *Scientia Horticulturæ*, 113 (1), 1 – 7.
- Preece, J.E. (2003). A century of progress with vegetative plant propagation. *HortScience*, 38 (5), 1015 – 1025.
- Rama, P. & Pontikis, C.A. (1990). In vitro propagation of olive (*Olea europaea* L.) “Kalamon”. *Journal of Horticulture Science*, 65, 347-353.
- Rademacher, W. (2015). Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34, 845 – 872.
- Rugini, E., 1984. In vitro propagation of some olive (*Olea europaea sativa* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. *Sci. Hort.*, 24: 123-134.
- Zuccherelli, G. & Zuccherelli, S. (2002). In vitro propagation of fifty olive cultivars. *Acta Horticultæ*, 586, 931-934.

Tabelas e Figuras

Tabela 1 - Valores da análise de variância apresentando os casos em que se observaram diferenças significativas para $p \leq 0,05$.

Variável	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Clone	12909,9	1	12909,9	24,2942	0,000006
Estaca	44564,9	1	44564,9	83,8631	0,000001
Substrato	7668,2	1	7668,2	14,4301	0,000326
Clone*Estaca*Substrato	4573,8	1	4573,8	8,6071	0,004643
Clone*Auxina* [] Auxina	4644,9	1	4644,9	8,7408	0,004353

**Figura 1** - Aspectos da evolução dos explantes até atingirem o desenvolvimento necessário para se iniciar a fase de enraizamento: (A) Estabelecimento da cultura por segmentos uninodais; (B) Desenvolvimento após 30 dias; (C) Desenvolvimento após 60 dias.

Legenda:

Clone 1 – 1441 ; Clone 2 – 2022; Tipo de estaca 1 – apical; Tipo de estaca 2 – basal; Substrato 1 – pastilhas de fibra de coco prensada; Substrato 1 - Preformas Jiffy ®

Figura 2 - Variação do enraizamento em função do clone (A), do tipo de estaca (B) e do substrato (C) (LSD 95%).

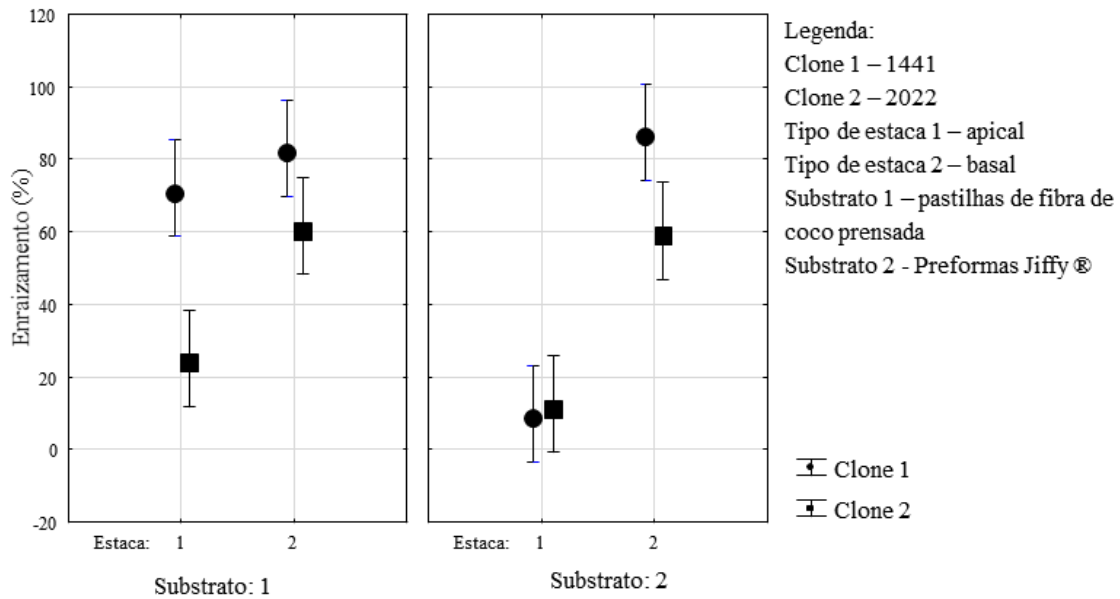


Figura 3 - Taxas de enraizamento observadas em função da interação tripla entre as variáveis, clone*tipo de estaca*substrato (LSD 95%).

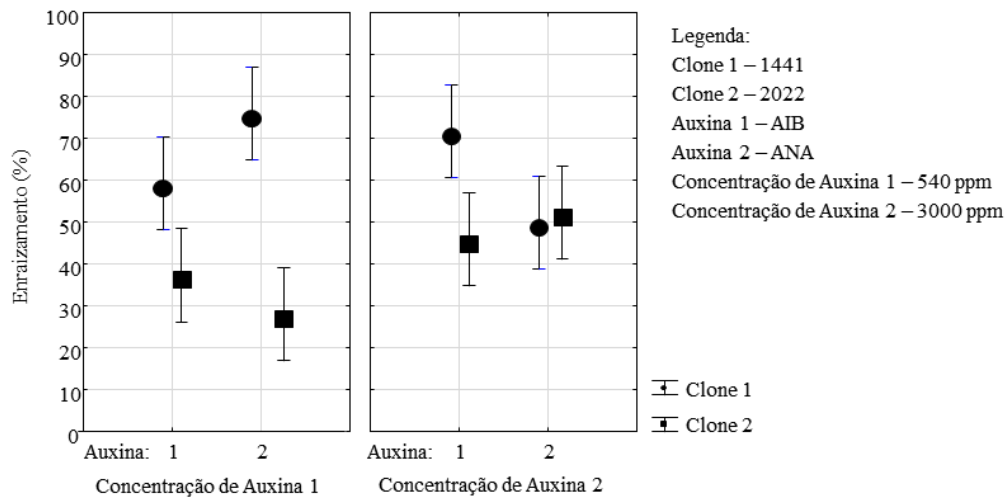


Figura 4 - Variação do enraizamento para a interação tripla substrato*auxina*concentração de auxina. (LSD 95%).

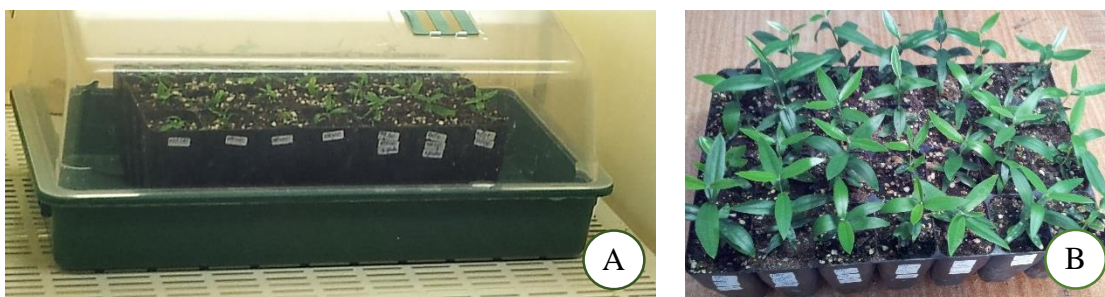


Figura 5 - Aspeto das plantas em aclimatização. (A) Início da aclimatização, plantas em estufim. (B) Plantas 20 dias após o início do processo de aclimatização, já sem estufim e prontas para passar para a estufa.

Avances en el programa de mejora de olivo para resistencia a la Verticilosis

Alicia Serrano¹, Rocío Arias-Calderón^{1,3}, Dolores Rodríguez-Jurado¹, José Bejarano-Alcázar¹, Angelina Belaj¹, Belén Román¹, Juan Cano², Raúl De la Rosa¹ & Lorenzo León¹

¹ IFAPA Centro “Alameda del Obispo”, Avda Menéndez Pidal s/n, Córdoba

² IFAPA Centro “Venta del Llano”, Ctra. Bailén-Motril, Km. 18,5, Mengíbar, Jaén

³ Dirección actual: INIAV, Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, Elvas, Portugal

Resumen

La Verticilosis del olivo (*Olea europaea* L.), causada por el hongo de suelo *Verticillium dahliae* Kleb., representa un grave problema fitosanitario extendido en muchas zonas de cultivo de olivar. Para el control de la enfermedad se recomienda un manejo integral incluyendo diferentes medidas antes y después de la plantación. Entre ellas, la más recomendada es el uso de variedades resistentes a la enfermedad. Sin embargo, hasta la fecha sólo un número muy reducido de variedades han exhibido un significativo nivel de resistencia a la enfermedad. El programa de mejora de olivo del Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) desarrolla una línea de trabajo con el objetivo de obtener nuevas variedades que combinen buenas características agronómicas y altos niveles de resistencia al desarrollo de síntomas de la enfermedad. Se han evaluado materiales de distinta procedencia (cruzamientos, polinización libre, material silvestre) que han sido sometidos a distintas etapas de selección en el programa de mejora. En conjunto, aproximadamente el 20 % de los genotipos evaluados han mostrado un nivel de resistencia similar a ‘Frantoio’, variedad utilizada como control resistente en los experimentos de inoculación en condiciones controladas. Los genotipos seleccionados se están evaluando en la actualidad en condiciones de infestación natural en campo y en microparcelas experimentales infestadas artificialmente. El objetivo es seleccionar definitivamente los genotipos más interesantes, así como comparar diferentes esquemas de selección. Asimismo, se dispone en la actualidad de cruzamientos de segunda generación que incluyen como genitores algunos de estos genotipos de interés. También se están estudiando diferentes genes potencialmente implicados en la respuesta de resistencia a la enfermedad con el objetivo de desarrollar posibles herramientas de selección precoz. En este trabajo se resumen los principales logros y expectativas del programa de mejora.

Palabras clave: cruzamientos, ensayos comparativos, material silvestre, *Olea europaea*, *Verticillium dahliae*

Abstract

Verticillium wilt of olive (*Olea europaea* L.), a vascular disease caused by the soilborne fungus *Verticillium dahliae* Kleb., is currently considered the major cultivation constraint in many olive growing areas. To control Verticillium wilt of olive, an integrated management strategy is recommended that combines the use of several pre-planting and post-planting control measures. Among them, the use of resistant varieties is the most recommended one. However, up to date, only a limited number of varieties have exhibited a significant level of disease resistance. The Andalusian Institute of Agricultural and Fisheries Research and Training (IFAPA)

develops a research line in the olive breeding program whose objective is to obtain new varieties that combine good agronomic characteristics with high levels of resistance to the development of the disease. Plant materials from different sources (crossbreeding, free pollination, wild material) were evaluated and have undergone various selection stages in the breeding program. Overall, in inoculation experiments under controlled conditions, about 20 % of the evaluated genotypes have shown a similar resistance level to the resistant control 'Frantoio'. The selected genotypes are currently under evaluation in naturally infested fields and in artificially infested experimental microplots, to definitively select the most interesting ones. At the same time, second generation progenies, that include some of these interesting genotypes as parents, has been generated. Several resistance candidate genes are also being studied with the aim of developing tools for early selection. This paper summarizes the main achievements and prospects of the olive breeding program for *Verticillium* wilt resistance.

Keywords: comparative field trials, crosses, *Olea europaea*, open pollination, *Verticillium dahliae*

Introducción

La Verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo de suelo (*Verticillium dahliae* Kleb), representa en la actualidad el mayor problema fitopatológico en muchas áreas de olivar, incluyendo importantes zonas productoras en Andalucía.

Para el control de la enfermedad se recomienda un manejo integral incluyendo la aplicación de diferentes medidas antes y después de la plantación, siendo la resistencia varietal una de las medidas de control más recomendable. No obstante, hasta la fecha sólo un número muy reducido de variedades han mostrado altos niveles de resistencia a la VO, presentando algunas de ellas características agronómicas negativas para su cultivo (López-Escudero et al., 2004; Martos-Moreno et al., 2006). Por ello, en el programa de mejora de olivo del centro IFAPA "Alameda del Obispo" de Córdoba se incorporó una nueva línea de trabajo con el objetivo de obtener nuevas variedades que combinen buenas características agronómicas y altos niveles de resistencia al desarrollo de síntomas de la VO.

El objetivo general de este programa de mejora es la obtención de nuevas variedades para producción de aceite de oliva, productivas, con alto rendimiento graso, adecuada calidad del aceite y adaptadas a diferentes sistemas de cultivo (León et al., 2015). En esta línea además se ha añadido la búsqueda de resistencia a la VO, evaluando para ello materiales de distinta procedencia (cruzamientos dirigidos, polinización libre y material silvestre) que han sido sometidos a sucesivas etapas de selección en el programa de mejora. Los genotipos seleccionados en condiciones controladas como resistentes a la Verticilosis se están evaluando también en diferentes condiciones experimentales. Por otro lado, y con el objetivo de desarrollar procedimientos que permitan simplificar los procesos de selección, se está estudiando la diversidad alélica de genes potencialmente implicados en la respuesta de resistencia a la VO.

Materiales y métodos

El programa de mejora consta de diferentes etapas desde la selección de parentales y realización de los cruzamientos dirigidos hasta la selección final de nuevos genotipos. En este trabajo se ha utilizado material vegetal de distinta procedencia génica. En todos los casos se realizó una evaluación agronómica inicial

que permitió seleccionar, de entre las progenies iniciales, aquellos genotipos más prometedores desde el punto de vista agronómico en base, principalmente, a su productividad y rendimiento graso. De esta manera se seleccionaron un total de 146 genotipos. De ellos, 52 genotipos proceden de polinización libre de 15 variedades de olivo y 38 genotipos proceden de tres cruzamientos que incluían al menos un parental categorizado como resistente a la VO ('Changlot Real' x 'Dolce Agogia', 'Frantoio' x 'Arbosana' y 'Koroneiki' x 'Empeltre'). También se han evaluado otros 56 genotipos procedentes de prospecciones de olivos silvestres o acebuches (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) y de subespecies afines del género *Olea* (*Olea europaea* subsp. *guanchica*), así como de cruzamientos dirigidos entre la variedad 'Picual' y dos acebuches.

En una primera etapa, los genotipos seleccionados se propagaron vegetativamente por estaquillado semileñoso y las plantas obtenidas se inocularon artificialmente por inmersión de las raíces en una suspensión de conidias de un aislado altamente virulento del patotipo defoliante (D) de *V. dahliae* (Rodríguez-Jurado et al., 1993). Después de la inoculación, las plantas se trasplantaron a macetas de plástico con suelo estéril y permanecieron en cámara de crecimiento bajo condiciones controladas de humedad, temperatura (22/24 °C) y fotoperiodo (14 horas de luz) durante 16 semanas (Figura 1).

Los genotipos que mostraron mayor nivel de resistencia al desarrollo de síntomas y a otros parámetros de enfermedad en esta primera etapa de selección están siendo evaluados para confirmar su respuesta en ensayos en condiciones de infestación artificial en microparcelas y en condiciones de campo. Los ensayos en condiciones de campo fueron establecidos en el año 2015, en suelos naturalmente infestados y con una alta presión de inóculo de *V. dahliae*. En total se establecieron cuatro ensayos en diferentes áreas de la provincia de Jaén (Figura 2), en los que el material vegetal a evaluar se ha dispuesto en bloques al azar, con tres a cuatro bloques y tres a seis repeticiones en función del terreno disponible en cada ensayo. La presencia de distintos patotipos en estos campos se ha determinado mediante PCR específica. En el ensayo en microparcelas experimentales el suelo se infestó con el patotipo D más virulento a una concentración de inóculo muy superiores a las encontradas de forma natural en los campos. Se han plantado 24 genotipos distribuidos al azar en 10 bloques.

En todos los experimentos realizados se utilizan las variedades 'Picual' y 'Frantoio' de reacción conocida a la enfermedad, susceptible y resistente respectivamente. Se han evaluado diferentes parámetros de enfermedad comúnmente utilizados y se ha confirmado la colonización de la planta por el hongo mediante aislamientos de tejido aéreo y radicular.

Partiendo de genes potencialmente implicados en la resistencia al hongo en otras especies (Kawchuk et al 2001; Fernández-Ocaña et al., 2010, Zhu et al., 2007), se ha realizado una búsqueda *in silico* de la secuencia homóloga en el genoma de olivo. La expresión génica de estas regiones fue analizada en PCR cuantitativa en las variedades 'Picual' y 'Frantoio'. Las plantas se inocularon según la metodología descrita previamente para la evaluación de resistencia en condiciones controladas, y fueron muestreadas en ocho tiempos a partir del momento de la inoculación y hasta las 144h. Se realizaron muestreos destructivos en los que la raíz y el tallo de cada planta se separaron, identificaron y conservaron a -80°C hasta la extracción de ARN y posterior síntesis de cDNA, usando para ello la metodología modificada de Córdoba-Jiménez (2012).

Por otro lado, se está llevando a cabo un estudio de la diversidad alélica de genes previamente descritos como posibles candidatos para la resistencia a la VO (Gómez-Lama Cabanás et al., 2015). Para ello, se han seleccionado 77 genotipos diferentes y de distinta procedencia (Banco de Germoplasma Mundial de Olivo en IFAPA Córdoba, acebuches y progenies procedentes de cruzamientos del programa de mejora), los cuales han sido clasificados previamente por su distinto nivel de resistencia/susceptibilidad a la VO.

Resultados y discusión

Se ha observado una amplia variabilidad en el desarrollo de síntomas a la enfermedad y se han podido seleccionar genotipos con un nivel de resistencia similar a 'Frantoio' (usado como control resistente) en los tres grupos de material evaluado. En total, 31 de los 146 genotipos evaluados (21 %) se han caracterizado como resistentes: 8 genotipos procedentes de variedades en polinización libre (15.4% de los evaluados), 10 genotipos procedentes de cruzamientos dirigidos (26.3%) y 13 (23.2%) procedentes de origen silvestre y especies afines (Tabla 1).

Los genotipos seleccionados por su nivel significativo de resistencia a la VO en este trabajo se han establecido en nuevos ensayos, tanto en microparcels infestadas artificialmente como en ensayos en condiciones naturales de infestación en campo (Figura 2), para confirmar el nivel de resistencia a la enfermedad y el interés como posibles futuras nuevas variedades de olivo. La identificación del patotipo mediante cebadores específicos ha permitido determinar que el patotipo D estuvo mayoritariamente presente en los árboles que desarrollaron enfermedad en los ensayos en campos naturalmente infestados.

Los resultados obtenidos hasta la fecha parecen confirmar los resultados de la selección inicial en condiciones controladas, con altos niveles de resistencia en la mayoría de los genotipos seleccionados. También se ha podido realizar una caracterización agronómica inicial, que muestra en algunos de ellos valores interesantes para rendimiento graso, composición acídica y otros componentes minoritarios de interés nutricional. Asimismo, algunos de ellos se han utilizado como genitores en nuevos ciclos de mejora: ya se dispone de nuevas descendencias de segunda generación lo que permitirá a medio plazo ampliar conocimientos acerca de la herencia de la resistencia a la enfermedad.

La metodología descrita llevada a cabo en estos trabajos, hace de la selección y desarrollo de posibles nuevas variedades de olivo adaptadas a las necesidades del sector una tarea que requiere un largo proceso y a menudo costes elevados por las características del cultivo. La aplicación de procedimientos y técnicas de biotecnología puede optimizar la mejora del cultivo del olivo. El objetivo de esta estrategia es buscar en olivo genes homólogos a los descritos en otras especies con funciones interesantes en mecanismos de la resistencia a la enfermedad. Una revisión bibliográfica de trabajos previos de otros huéspedes del género *Verticillium* permitió identificar seis genes implicados y estudiarlos en material contrastante de olivo frente a la enfermedad utilizando PCR cuantitativa en tiempo real. Este estudio permite identificar respuestas diferenciales interesantes entre variedades y entre la parte aérea y la raíz. En este sentido se ha identificado una mayor expresión relativa de algunos genes en la variedad resistente 'Frantoio' frente al genotipo susceptible 'Picual' (Figura 3).

Conclusiones

Como conclusión general hasta el momento se desprende que existe una amplia variabilidad de reacción al desarrollo de síntomas de la Verticilosis en olivo y de colonización de los genotipos por el hongo. En este trabajo, los genotipos seleccionados en condiciones de ambiente e inóculo controladas se han establecido en ensayos en campos naturalmente infestados y en microparcelas artificialmente infestadas para confirmar el nivel de resistencia a la enfermedad y el interés como posibles futuras nuevas variedades de olivo resistentes a la enfermedad, y se han utilizado como genitores en nuevos ciclos de mejora. Los resultados obtenidos con la aplicación de técnicas biotecnológicas pueden contribuir en el futuro a mejorar el conocimiento de los mecanismos que se activan ante la infección por el patógeno, proporcionando información de utilidad para el manejo de la enfermedad, así como para completar la selección de genotipos de interés y validar los resultados hasta ahora obtenidos.

Agradecimientos

Estos trabajos se financian con los proyectos RTA2013-00019 del INIA y AVA.201601.2 del IFAPA, parcialmente financiados por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Alicia Serrano agradece la financiación del programa de formación de personal investigador en agroalimentación en los centros de investigación INIA-Comunidades Autónomas (FPI-INIA). Se agradece asimismo la colaboración de los propietarios de las fincas donde se están realizando los ensayos de campo.

Referencias

- Córdoba-Jiménez, E. (2012). Estudios agronómicos y de mejora genética en *Hedysarum coronarium* L.: alternativa en agrosistemas de secano mediterráneos. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba.
- Fernández-Ocaña, A., Carmen García-López, M., Jiménez-Ruiz, J. et al. (2010). *Tree Genetics & Genomes* 6: 891-903.
- Gómez-Lama Cabanás, C., Schilirò, E., Valverde-Corredor, A., Mercado-Blanco, J. (2015). Systemic responses in a tolerant olive (*Olea europea* L.) cultivar upon root colonization by the vascular pathogen *Verticillium dahliae*. *Front. Microbiol.* 6:928. doi: 10.3389/fmicb.2015.00928
- Kawchuk, L.M., Hachey, J., Lynch, D.R., et al. (2001) Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(11):6511-6515. doi:10.1073/pnas.091114198.
- León, L., Velasco, L., De la Rosa, R. (2015). Initial selection steps in olive breeding programs. *Euphytica* 201:53-462
- López-Escudero, F.J., del Río, C., Caballero, J.M., Blanco-López, M.A. (2004). Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. *European Journal Plant Pathology* 110:79-85
- Martos-Moreno, C., López-Escudero, F.J., Blanco-López, M.A. (2006). Resistance of olive cultivars to the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *HortsScience* 41:1313-1316
- Rodríguez-Jurado, D., Blanco-López, M.A., Rapoport, H.F., Jiménez-Díaz, R.M. (1993). Present status of *Verticillium* wilt of olive in Andalucía (southern Spain). *Bull. OEPP/EPPO Bull.* 23:513-516

Zhu, L., Zhang, X., Tu, L., Zeng, F., Nie, Y., Guo, X. (2007). Isolation and characterization of two novel dirigent-like genes highly induced in cotton (*Gossypium barbadense* and *G. hirsutum*) after infection by *Verticillium dahliae*, *J Plant Pathol* 89, 41-45.

Tablas y Figuras

Tabla 1 – Origen de los genotipos resistentes seleccionados

Genotipo	Origen
OP45	'Picudo' o.p. ¹
OP46	Manzanilla de Sevilla' o.p.
OP47	'Picual' o.p.
OP48	'Koroneiki' o.p.
OP49	'Frantoio' o.p.
OP50	'Empeltre' o.p.
OP51	'Arbequina' o.p.
OP52	'Koroneiki' o.p.
FrAr-5	'Frantoio' x 'Arbosana'
FrAr-6	'Frantoio' x 'Arbosana'
FrAr-10	'Frantoio' x 'Arbosana'
FrAr-11	'Frantoio' x 'Arbosana'
FrAr-13	'Frantoio' x 'Arbosana'
CRxDA-11	'Changlot Real' x 'Dolce Agogia'
CRxDA-15	'Changlot Real' x 'Dolce Agogia'
CRxDA-16	'Changlot Real' x 'Dolce Agogia'
KoxEm-4	'Koroneiki' x 'Empeltre'
KoxEm-7	'Koroneiki' x 'Empeltre'
PixW3-1	'Picual' x Wild
PixW3-2	'Picual' x Wild
PixW3-3	'Picual' x Wild
W12	subsp. europaea var. sylvestris
W13	subsp. europaea var. sylvestris
W15	subsp. europaea var. sylvestris
W16	subsp. europaea var. sylvestris
W19	subsp. europaea var. sylvestris
W35	subsp. europaea var. sylvestris
W5	subsp. europaea var. sylvestris
W6	subsp. europaea var. sylvestris
G1	subsp. guanchica
G2	subsp. guanchica

¹ o.p.: procedentes de polinización libre



Figura 1 - Cámara de cultivo donde se desarrollan los experimentos para el seguimiento de la evaluación de síntomas en condiciones controladas

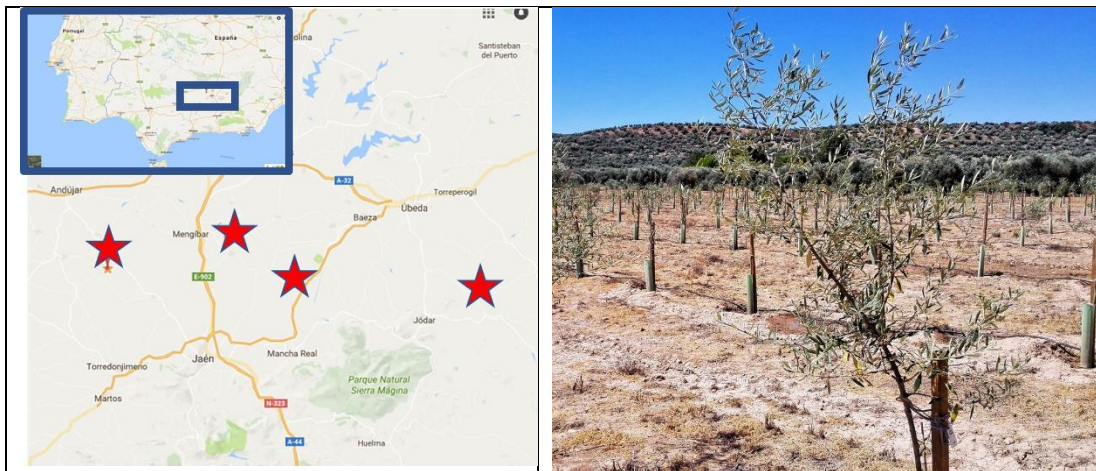


Figura 2 - Localización de los campos de ensayo y vista parcial de uno de ellos

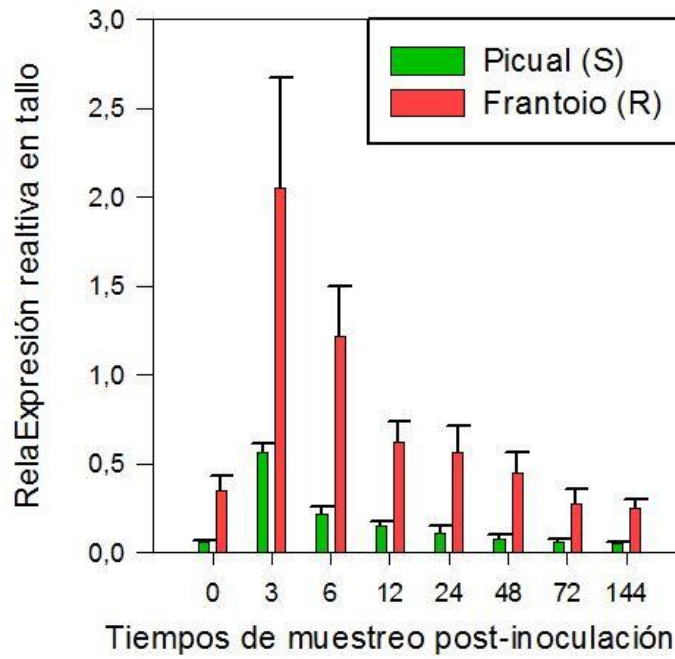


Figura 3 - Expresión relativa de uno de los seis genes evaluados en tallo en los cultivares ‘Picual’, de reacción conocida susceptible a la enfermedad; y ‘Frantoio’, de mayor resistencia al desarrollo de síntomas.

Avances en la selección de nuevas variedades de olivo resistentes a la verticilosis en el Programa de Mejora de Olivo de la Universidad de Córdoba

Pedro Valverde^{1*}, Carlos Trapero¹, Diego Barranco¹, Fco. Javier López Escudero¹, Concepción M. Díez¹

¹Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio C4, 14014 Córdoba; *E-mail: pedrovalverde@uco.es

Abstract

Verticillium wilt, caused by the fungus *Verticillium dahliae*, is currently the most devastating disease of the olive tree, causing important losses in producing countries worldwide. The use of genetic resistance is likely the most efficient, economically convenient and environmentally friendly control method to fight the disease as well as a fundamental piece to develop an integrated management strategy. In 2008, the selection of new olive cultivars resistant to Verticillium wilt was included as a goal in the Olive Breeding Program started at the University of Cordoba in 1991. Previous studies carried out by the Agronomy Department of this University, characterized the resistance to the disease of a vast collection of olive cultivars to be used as genitors in the breeding program. In addition, effective inoculation methods for identifying resistant genotypes were significantly improved for optimizing the breeding process. The root-dipping inoculation of five week-old olive seedlings was the most effective inoculation method for screening thousands of genotypes and discarding highly susceptible ones. Up to date, 18315 genotypes derived from directed crosses between olive cultivars, cultivars and wild olives (*Olea europaea* subsp. *Europaea* var. *sylvestris*) and olive cultivars and other species and subspecies of the genus *Olea* in open pollination, have been evaluated. From the resultant seedlings, 2874 resistant genotypes have been preselected and since 2011, they have been progressively transferred to field trials naturally infested with *V. dahliae* for their long-term evaluation. Nowadays, after several years of evaluation, first results have allowed the identification of 13 genotypes showing desirable agronomic characteristics and a high level of resistance to Verticillium wilt.

Key words: *Olea europaea* L., new cultivars, resistance, *Verticillium dahliae*.

Introducción

La Verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo *Verticillium dahliae*, es en la actualidad la enfermedad más preocupante del olivar en todos los países de la Cuenca Mediterránea donde tiene importancia el cultivo. Particularmente es una enfermedad devastadora en España, y, especialmente en Andalucía, donde los aislados más virulentos del patógeno (patotipo defoliante) están provocando una elevada mortalidad de árboles. El uso de resistencia genética es una herramienta fundamental y necesaria en el control integrado de la enfermedad, por ser eficaz, económica y respetuosa con el medio ambiente (1). En los más de 270 cultivares evaluados hasta la fecha, no se ha encontrado resistencia completa, aunque se han identificado cultivares con una resistencia horizontal elevada ('Frantoio', 'Changlot Real' o 'Empeltre') o moderada ('Arbequina', 'Arbosana', 'Sevillena' o 'Koroneiki'). En cualquier caso, la mayoría de los cultivares son susceptibles a la VO, incluyendo los cultivares de mayor interés agronómico, como 'Picual', 'Cornicabra' o 'Manzanilla' (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) (Figura 1). En 2008 se incluyó en el Programa de Mejora del Olivo de la Universidad de Córdoba (UCO) una línea

dirigida a la obtención de nuevas variedades resistentes a la VO y que además mostraran características agronómicas adecuadas. Los trabajos que se presentan a continuación, están siendo realizados conjuntamente por los Grupos de Investigación de Pomología (AGR-157) y Patología Agroforestal (AGR-216) de la UCO y suponen un avance significativo en la obtención de variedades resistentes a la VO.

Materiales y métodos

Antes de iniciar los trabajos para incluir el carácter de resistencia a la VO en el Programa de Mejora de Olivo de la UCO se realizaron varios estudios previos, particularmente: 1) la identificación de genotipos que transmitieran eficientemente su resistencia a la descendencia, para usarlos como parentales (9, 10, 11) y 2) la mejora de los métodos de inoculación del hongo, optimizando el espacio y el tiempo (9).

En conjunto el Programa de Mejora para VO consta de varias fases.

Fase 0: o “screening”, que comprende: 1) el cruzamiento de parentales seleccionados por sus características agronómicas o su resistencia a la VO, actuando como padre o madre en cruzamientos dirigidos, o bien en polinización libre; y 2) Inoculación de los individuos descendientes con 5 semanas de edad procedentes de semilla mediante la inoculación en condiciones controladas por inmersión radicular en una suspensión de conidias del patógeno (Figura 2). Este método permite evaluar cientos de genotipos antes de su evaluación en campo, discriminando fácilmente los susceptibles.

Fase 1: en la que los genotipos que resultan resistentes se trasladan a campos naturalmente infestados con elevadas densidades de inóculo de *V. dahliae* y la enfermedad se evalúa durante aproximadamente cuatro años (Figura 3).

Fase 2: en la que se seleccionan los genotipos que mantienen su resistencia a la VO y destacan por sus características agronómicas. Estos individuos son propagados por estaquillado semileñoso obteniendo repeticiones y evaluándose de nuevo a largo plazo en suelos altamente infestados por el patógeno, periodo en el que se evalúa con particular atención las características agronómicas adecuadas que pueda tener una potencial futura variedad.

Fase 3: que supone el establecimiento de plantaciones experimentales en varias localidades sobre suelos infestados de los genotipos finalmente seleccionados, sobre los que se hará de nuevo un seguimiento de su valor agronómico y de resistencia a VO para ser finalmente registrados como variedades comerciales.

Resultados

Estos trabajos han permitido evaluar mediante inoculaciones anuales desde 2008 hasta la fecha un total de 18.315 genotipos distintos procedentes de 212 cruzamientos diferentes entre variedades de olivo, acebuches (olivo silvestre), y algunas especies y subespecies del género *Olea* (Tabla 1). De éstos cruzamientos, se han seleccionado mediante el test de selección precoz (inoculación de plántulas de semilla) solo aquellos genotipos que mostraban un elevado nivel de resistencia a *V. dahliae*. En total, se han preseleccionado 2874 genotipos resistentes, que se han sido progresivamente trasladados desde 2011 a campos infestados por el patógeno, donde están siendo evaluados en la actualidad. Tras varios años de observaciones, los primeros resultados han permitido la identificación de 9 genotipos con buenas características agronómicas y alto nivel de resistencia a la VO (Tabla 2).

Conclusiones

El uso de variedades resistentes dentro de una estrategia de control integrado es la medida más eficaz, barata y respetuosa con el medio ambiente. El “Programa de Mejora

de Olivo de la Universidad de Córdoba para la búsqueda de nuevas variedades resistentes a la Verticilosis” se encuentra actualmente en la Fase 2 en la cual se han identificado 9 genotipos candidatos a ser variedades comerciales, que deberán ser evaluados para una selección final en una Fase 3.

Referencias

- López-Escudero, F. J., Mercado-Blanco, J. 2011. Verticillium wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. *Plant and Soil*, 344: 1-50.
- García-Ruiz, G.M., Trapero, C., Varo-Suárez, A., Trapero, A., López-Escudero F.J., 2015. Identifying resistance to Verticillium wilt in local Spanish olive cultivars. *Phytopathologia Mediterranea* 54:67-74.
- López Escudero, F. J.; del Río, C.; Caballero, J. M., Blanco López, M. A. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to Verticillium dahliae. 2004. *European Journal of Plant Pathology* 110: 79-85.
- López Escudero, F. J.; del Río, C.; Caballero, J. M., Blanco López, M. A. 2007. Response of olive cultivars to stem puncture inoculation with a defoliating pathotype of Verticillium dahliae. *Hortscience* 42: 294-298.
- García-Ruiz, G.M., Trapero, C., Del Río, C., López-Escudero, F.J., 2014. Evaluation of Spanish olive cultivars resistance to Verticillium dahliae under greenhouse conditions. *Phytoparasitica* 42 (2), 205 – 212.
- Martos-Moreno, C., López Escudero, F. J., Blanco López, M. A. 2006. Resistance of Olive Cultivars to the Defoliating Isolate of Verticillium dahliae. *Hortscience* 41: 1313-1316.
- Trapero, C., Serrano, N., Arquero, O., Del Río, C., Trapero, A., and López-Escudero, F. J., 2013. Field resistance to Verticillium wilt in selected olive cultivars grown in two naturally infested soils. *Plant Dis.* 97:668-674.
- Rallo, L., Muñoz-Díez, C. 2010. El olivar en tiempos de cambio. Citoliva edición.
- Trapero, C., Muñoz-Díez, C., Rallo, L., Barranco, D., López-Escudero, F.J. 2013. Effective inoculation methods to screen for resistance to Verticillium wilt in olive. *Scientia Horticulturae*: 162: 252–259.
- Trapero, C., Muñoz-Díez, C., Rallo, L. López-Escudero, F.J., Barranco, D., 2011. Screening olive progenies for resistance to Verticillium dahliae. *Acta Horticulturae* 924: 137-140.
- Trapero, C., Rallo, L., López-Escudero, F.J., Barranco, D., Díez, C.M., 2015. Variability and selection of Verticillium wilt resistant genotypes in cultivated olive and in the Olea genus. *Plant Pathology* 64: 890-900.

Tablas y Figuras



Figura 1- A la izquierda de la imagen el cultivar ‘Picual’ (muy susceptible) y a la derecha ‘Frantoio’ (resistente) en una evaluación en campo naturalmente infestado.



Figura 2- Evaluación en condiciones controladas de los genotipos inoculados mediante inmersión radicular en una suspensión de conidias (Fase 0).



Figura 3- Evaluación en campo de genotipos previamente inoculados y seleccionados por su resistencia a *Verticillium dahliae* (Fase 1).

Tabla 1- Año de cruzamiento, año de inoculación, número de progenies evaluadas, número de genotipos inoculados y número de genotipos resistentes desde el comienzo del Programa de Mejora.

Año cruzamiento/ año inoculación	Progenies	Inoculados	Resistentes
2008/09	8	137	33
2009/10	45	1829	301
2010/11	26	3324	419
	23	2365	184
2011/12	36	1953	195
	2	32	0
2013/14	12	916	224
	89	1155	195
	26	2300	1105
2014/15	32	2123	622
	9	240	40
	6	466	151
2015/16	24	990	761
2016/17	18	485	255
Total	212	18315	3129

Tabla 2- Año de plantación, número de progenies evaluadas, fase del Programa en la que se encuentran, número de genotipos plantados y localización de la parcela experimental.

Año plantación	Progenies evaluadas	Fase	Genotipos plantados en campo (resistentes)	Repeticiones	Localización de la parcela experimental
2011	53	Fase 1	197	1	Guadalcazar (Córdoba)
2012	33	Fase 1	120	1	Guadalcazar/ Utrera (Sevilla)
			184		
2013	36	Fase 1	134	1	Utrera (Sevilla)
2014	111	Fase 1	656	1	Vva. de la Reina (Jaén)
2015	26	Fase 1	1001	1	Almensilla (Sevilla)
2016	6	Fase 2	9	12	Vva. de la Reina (Jaén)
2017	32	Fase 1	622	1	Almensilla (Sevilla)
2017	6	Fase 2	7	20	Carmona (Sevilla)

Perfil morfológico e molecular das cultivares de oliveira portuguesas ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’

Inês C¹, Simões F², Lourenço D², Matos J², Cordeiro AM¹

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS Biotecnologia e Recursos Genéticos. Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, 7351-901 Elvas, Portugal. e-mail: antonio.cordeiro@iniav.pt

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS Biotecnologia e Recursos Genéticos. Quinta do Marquês Av. da República, 2780-157 Oeiras, Portugal

Resumo

Em Portugal, e nas últimas décadas, assistiu-se a um forte incremento da olivicultura, seja pela plantação de novos olivais, seja pela reconversão de olivais antigos. A preservação e a valorização dos recursos genéticos nacionais nesta espécie têm assim na atualidade uma enorme importância. Através da caracterização morfológica e molecular pretende-se a identificação da diversidade intervarietal e o esclarecimento de sinonímias e homonímias.

Neste trabalho apresenta-se o perfil comparativo morfológico e molecular das duas principais cultivares de oliveira portuguesas – ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’. Estes materiais estão presentes na Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira instalada no INIAV, I.P. em Elvas, num delineamento experimental composto por seis repetições de duas árvores num compasso 7x5m plantadas em 2012. A caracterização morfológica seguiu a metodologia UPOV apresentando-se neste trabalho as 24 características mais discriminantes. A caracterização molecular foi realizada com um painel de doze *loci* microssatélites - GAPU71B, DCA9, GAPU103, GAPU101, DCA3, PA(A)5, EMO3, DCA15, DCA18, DCA5, DCA13, DCA16.

O perfil morfológico da ‘Galega Vulgar’ difere do evidenciado pela ‘Cobrançosa’ em 33% das características fundamentais. Destacam-se nas características da árvore: o vigor e o hábito de crescimento; nas características do fruto: o peso médio e a coloração à plena maturação; e nas características do endocarpo: o peso, a forma do ápice e da base na posição A e a rugosidade. O perfil molecular das duas cultivares relativamente aos *loci* caracterizados foi coincidente apenas para seis alelos entre os 24 alelos possíveis, *loci* DCA3, PA(A)5, EMO3, DCA15, DCA18, DCA5.

A caracterização primária é um instrumento fundamental para o correto conhecimento do material vegetal. Desta forma pretende-se clarificar, evitar equívocos e erros e, em trabalhos experimentais, especificar verdadeiramente os materiais vegetais.

Palavras-chave: *Olea europaea* L., caracterização primária, UPOV, microssatélites.

Abstract

In Portugal during the last decades there has been a strong increase in olive cultivation, either by planting new olive groves or by the conversion of the old ones. The preservation of national genetic resources in this species is of great importance. Our work is based on both morphological and molecular characterization in order to identify the intervarietal diversity and clarify cases of cultivars synonyms and homonyms. The olive trees of the two main Portuguese olive cultivars ‘Galega Vulgar’ and ‘Cobrançosa’ are grown in open field from June 2012 in Elvas, Portugal, at Coleção Portuguesa de

Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) which belongs to INIAV, I.P. The seedlings were vegetatively propagated and 6 replications of 2 trees were randomly established in a 7x5 planting compass. The methodology used to perform the morphological characterization was the UPOV Test Guidelines, and in this publication we refer the 24 asterisked characteristics. The molecular characterization was performed with a panel of 12 *loci* microsatellite: GAPU71B, DCA9, GAPU103, GAPU101, DCA3, PA(A)5, EMO3, DCA15, DCA18, DCA5, DCA13, DCA16.

The morphological profile of 'Galega Vulgar' differs from that of 'Cobrançosa' in 33% of the asterisked characteristics. These characteristics were the following, tree: vigor and growth habit; fruit: the average weight and the coloration to full ripeness; and endocarp: weight, both apex and base shape at position A and roughness.

The primary characterization is a fundamental tool for the correct knowledge of the vegetal material. Through the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability we intend to avoid misunderstandings and errors and, in experimental works, to truly specify the plant materials.

Keywords: *Olea europaea* L., primary characterization, UPOV, microsatellites.

Introdução

A caracterização e a avaliação da diversidade genética existente nas espécies vegetais são de grande importância. Em oliveira sugere-se que a proximidade genética entre as atuais cultivares e as formas ancestrais é elevada, contribuindo para esse facto a seleção empírica de genótipos e os métodos de multiplicação vegetativa. O condicionalismo edafoclimático em que um material está instalado pode alterar as suas características fenotípicas, relativamente às que apresentaria na região de origem, e torná-lo muito semelhante a outros genótipos de oliveira.

Em Portugal, e nas últimas décadas, assistiu-se a um forte incremento da olivicultura, seja pela plantação de novos olivais, seja pela reconversão de olivais antigos. A preservação e a valorização dos recursos genéticos nacionais nesta espécie têm assim, na atualidade, uma enorme importância. No INIAV, I.P.-Pólo de Elvas está estabelecida a **Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO)** que inclui a diversidade intervietal presente na instituição desde as décadas de 60 a 90 do séc. XX e o material vegetal recolhido em ações de prospeção de material autóctone.

Através da caracterização morfológica e molecular pretende-se a identificação da diversidade intervietal e o esclarecimento de sinónimas e homónimas. Neste trabalho apresenta-se o perfil comparativo morfológico e molecular das duas cultivares de oliveira portuguesas – 'Galega Vulgar' e 'Cobrançosa' – com maior difusão no olival em Portugal.

Material e Métodos

Material vegetal

As plantas da cultivar 'Cobrançosa' existentes no INIAV, I.P., Elvas (Herdade do Reguengo) são material monoclonal procedente de oliveiras estabelecidas na Quinta do Romeu localizada no concelho de Mirandela, distrito de Bragança, Portugal. Este material autóctone foi facultado por membros da família Menéres na década de 60 do século XX, sendo incluído nos antigos Campos de Adaptação de Cultivares e posteriormente, em 1984, no Campo de Pés-mãe atual Parcela de Conservação/Preservação da CPRCO.

As plantas da cultivar 'Galega Vulgar' existentes no INIAV, I.P., Elvas são procedentes de viveiristas da região de Coimbra adquiridas em 1958 e plantadas na

Herdade do Reguengo de acordo com os planos dos Campos de Adaptação de Cultivares em fase de instalação. A seleção do melhor material para a propagação vegetativa por estacaria permitiu escolher o material monoclonal ‘Galega Vulgar’ para o Campo de Pés-mãe em 1984, atual Parcela de Conservação / Preservação da CPRCO.

Em 2012 estabeleceu-se a Parcela de Avaliação 1 (AV1) da CPRCO, na qual estão as oliveiras das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’ utilizadas neste estudo. Estas plantas foram obtidas por propagação vegetativa de estacas semilenhosas procedentes da Parcela de Conservação / Preservação. A Parcela AV1 foi estabelecida num compasso de 7x5m com um delineamento experimental de seis repetições aleatoriamente distribuídas de duas árvores por cada cultivar.

Caracterização morfológica

A caracterização morfológica seguiu a metodologia proposta pela *International Union for the Protection of New Varieties of Plants* (UPOV) para todas as variedades de *Olea europaea* L., documento TG/99/4 (UPOV, 2011). Durante dois ciclos de crescimento e uma oliveira por bloco, avaliaram-se as características da árvore e colheram-se amostras (cinco órgãos por planta) de folhas, de inflorescências, de frutos verdes e de frutos em plena maturação, os quais foram descaroçados para a caracterização dos endocarpos. Do conjunto das 41 características avaliadas, neste trabalho apresentam-se apenas as 24 características mais discriminantes, ou seja aquelas que no documento TG/99/4 (UPOV, 2011) estão acompanhadas por um asterisco (*).

Caracterização molecular

A caracterização molecular realizou-se através de marcadores moleculares microssatélites ou repetições de sequências simples (*simple sequence repeats*; SSRs).

Extração de DNA: das amostras de folhas congeladas a -70°C, retirou-se uma porção de 200 mg a qual foi fragmentada e desidratada em vácuo à temperatura ambiente durante 90 minutos. As amostras desidratadas foram depois colocadas em microtubos contendo esferas e homogeneizadas no equipamento Speed Mill P12 com um programa de 1 minuto de maceração e 1 minuto de repouso. O DNA foi isolado e purificado utilizando o kit comercial “innuprep Plant DNA” (Analytikjena) de acordo com as instruções do fabricante e por fim guardado a -20°C até à sua utilização.

Marcadores microssatélite (SSRs): o painel de doze *loci* microssatélites utilizados neste trabalho foi já descrito na literatura, nomeadamente:

GAPU71B, GAPU101 e GAPU103 (Carriero et al., 2002);

DCA3, DCA5, DCA9, DCA13, DCA15, DCA16 e DCA18 (Sefc et al., 2000);

PA(A)5 (Saumitou-Laprade et al., 2000);

EMO3 (De la Rosa et al., 2002).

Amplificação dos fragmentos microssatélites por PCR: as reações de PCR multiplex foram preparadas utilizando o Multiplex PCR Kit (Qiagen) e os referidos iniciadores de PCR, todos numa concentração de 10pmol/μL. As reações de amplificação foram realizadas em multiplex num volume total de 20μL com 1μL de DNA (≈30–50ng). Para cada par de iniciadores de cada *locus*, o iniciador direto foi marcado com um fluóforo. As reações de amplificação foram realizadas num termociclador Applied Biosystems nas seguintes condições: passo inicial de desnaturação a 94°C durante 15 minutos, seguido de 32 ciclos de desnaturação a 94°C durante 30 segundos, emparelhamento a 56°C durante 1 minuto e 30 segundos e extensão da cadeia a 72°C durante 1 minuto. Depois dos 32 ciclos houve um passo de extensão final a 72°C durante 10 minutos. Procedeu-se à genotipagem das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’ em eletroforese capilar utilizando o sequenciador automático Genetic Analyser ABI310 (Applied Biosystems) e o sequenciador Beckmann CEQ 2000 (Beckmann Coulter).

Resultados e Discussão

Na Figura 1 apresenta-se o perfil molecular das cultivares de oliveira ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’. O perfil molecular das duas cultivares relativamente aos *loci* caracterizados foi coincidente apenas para cinco alelos entre os 24 alelos possíveis *loci* DCA3, PA(A)5, DCA15, DCA18 e DCA5 (Figura 1). Nos restantes *loci* (GAPU71B, DCA9, GAPU103, GAPU101, EMO3, DCA13 e DCA16) não houve coincidência de alelos.

Os doze marcadores moleculares usados neste trabalho demonstraram ser polimórficos e discriminatórios para ambas cultivares portuguesas estudadas, e permitiram evidenciar que não se trata de uma situação de sinonímia e portanto são duas cultivares distintas. Trabalhos anteriores referem regiões de origem distintas para estas cultivares. Gemas et al. (2004) num estudo sobre a diversidade genética em cultivares de oliveira utilizadas em Portugal recorrendo a RAPD e marcadores ISSR concluíram que foi na região do Ribatejo, distrito de Santarém, que mais provavelmente a ‘Galega Vulgar’ teve a sua origem. Relativamente à cultivar ‘Cobrançosa’ Martins-Lopes et al. (2009) referiram que se trata de uma cultivar muito antiga na região da Terra Quente em Trás-os-Montes e que as suas características peculiares motivaram a dispersão deste material para as restantes regiões olivícolas portuguesas.

Na Figura 2 apresentam-se os perfis morfológicos UPOV, respeitantes às características mais discriminativas, das cultivares de oliveira ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’. O perfil morfológico da ‘Galega Vulgar’ (linha azul) difere do evidenciado pela ‘Cobrançosa’ (linha preta) em 33% das características fundamentais (Figura 2). Nas características da árvore observaram-se diferenças ao nível do vigor (forte em ‘Galega Vulgar’ e médio em ‘Cobrançosa’) e no hábito de crescimento das árvores (ereto em ‘Galega Vulgar’ e aberto em ‘Cobrançosa’). Relativamente às características do fruto diferenciaram-se no peso médio (médio baixo em ‘Galega Vulgar’ e médio alto em ‘Cobrançosa’) e na coloração à plena maturação (preto em ‘Galega Vulgar’ e violeta escuro em ‘Cobrançosa’). Por fim, nas características do endocarpo observou-se o maior número de diferenças entre as duas cultivares, nomeadamente o peso médio (médio em ‘Galega Vulgar’ e alto em ‘Cobrançosa’); a forma do ápice na posição A (agudo em ‘Galega Vulgar’ e obtuso em ‘Cobrançosa’); a forma da base na posição A (redonda em ‘Galega Vulgar’ e aguda em ‘Cobrançosa’); e a rugosidade da superfície (liso em ‘Galega Vulgar’ e médio em ‘Cobrançosa’).

As cultivares de oliveira apresentam uma grande variabilidade entre os parâmetros agronómicos e/ou morfológicos (Caballero e Del Río, 1999), que adicionalmente é mais ou menos condicionada pelas condições edafoclimáticas. No sentido de minimizar esses efeitos os estudos de caracterização de materiais devem ser realizados em Coleções ou Bancos de Germoplasma. A informação sobre a real diversidade varietal de oliveira existente em Portugal encontra-se bastante dispersa e incompleta (Cordeiro et al., 2014). O INIAV, I.P. assumiu a missão de estabelecer a CPRCO, e em 2012 foram plantados os primeiros acessos nas parcelas de avaliação. Neste estudo apresentou-se a variabilidade nos perfis morfológico e molecular das duas principais cultivares de oliveira portuguesas, a ‘Galega Vulgar’ e a ‘Cobrançosa’. O documento Dados Passaporte da CPRCO já indiciava serem cultivares diferentes uma vez que a procedência também é diferente. Atualmente a ‘Galega Vulgar’ e a ‘Cobrançosa’ são as principais cultivares autóctones portuguesas de âmbito nacional (Cordeiro e Inês, 2013) e a sua importância no sector é inegável.

Conclusões

A grande mais-valia do sector olivícola em Portugal assenta na diversidade de cultivares existente e atualmente em produção. Adicionalmente, as condições edafoclimáticas das várias regiões olivícolas portuguesas motivam a diferente expressão do potencial genético de uma mesma cultivar, por exemplo ao nível de aspetos relacionados com a produção e as características organolépticas dos azeites. Este estudo compila a informação necessária e suficiente para a correta caracterização / identificação de duas das principais cultivares de oliveira portuguesas, a ‘Galega Vulgar’ e a ‘Cobrançosa’. Este passo é imprescindível para valorizar e proteger as variedades autóctones ameaçadas pela erosão genética, motivada pela reconversão do olival tradicional e a importação de cultivares estrangeiras.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Programa ProDeR, Ação 3.2, PA 18659.

Referências

- Caballero JM, Del Río C, 1999. Conservación de los recursos genéticos del olivo. Seminario Internacional sobre innovaciones científicas y su aplicación en la olivicultura y la elaiotecnía. Consejo Oleícola Internacional, Florencia: 10-12 de marzo.
- Carriero F, Fontanazza G, Cellili F, Giorio G, 2002. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). *Theor Appl Genet* 104: 301-307.
- Cordeiro AM, Inês C, 2013. A diversidade intervarietal da oliveira em Portugal: Notas para um roteiro. *Vida Rural* 1790: 32-34.
- Cordeiro AM, Inês C, Morais N, 2014. Principais cultivares de oliveira existentes em Portugal. In: Boas práticas no olival e no lagar; Jordão P (coord.). pp: 44-51. INIAV, IP, Lisboa. ISBN: 978-972-579-041-0
- De la Rosa R, James CM, Tobutt KR, 2002. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in olive (*Olea europaea* L.) and their transferability to other genera in the Oleaceae. *Molecular Ecology Resources*, 2(3): 265-267.
- Gemas VJV, Almadanim MC, Tenreiro R, Martins A, Fevereiro P, 2004. Genetic diversity in the Olive tree (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) cultivated in Portugal revealed by RAPD and ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 501–511.
- Martins-Lopes P, Gomes S, Lima-Brito J, Lopes J, Guedes-Pinto H, 2009. Assessment of clonal genetic variability in *Olea europaea* L. ‘Cobrançosa’ by molecular markers. *Scientia Horticulturae* 123: 82–89.
- Saumitou-Laprade P, Vassiliadis C, Epplen JT, Hardt C, 2000. Isolation of microsatellite loci for paternity testing in *Phillyrea angustifolia* L. (Oleaceae). *Molecular Ecology* 9(1): 112–114.
- Sefc K M, Lopes M S, Mendonça D, Rodrigues dos Santos M, Laimer da Câmara Machado M, Câmara Machado A, 2000. Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olives trees. *Mol Ecol* 9: 1171-1173.

Tabelas e Figuras

Amostra	Alelos Marcadores microsatélites											
	GAPU71B	DCA9	GAPU103	GAPU101	DCA3	PA(A)5	EMO3	DCA15	DCA18	DCA5	DCA13	DCA16
Galega_vulgar	Light Green	Light Orange	Light Green	Light Green	Light Orange	Light Blue	Light Green	Light Blue	Light Purple	Light Blue	Light Red	Light Green
Cobrançosa	Light Green	Light Orange	Light Blue	Light Blue	Light Orange	Light Blue	Light Green	Light Blue	Light Purple	Light Blue	Light Orange	Light Green

Figura 1 – Diferenças no perfil molecular das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’ relativamente aos *loci* dos microsatélites utilizados.

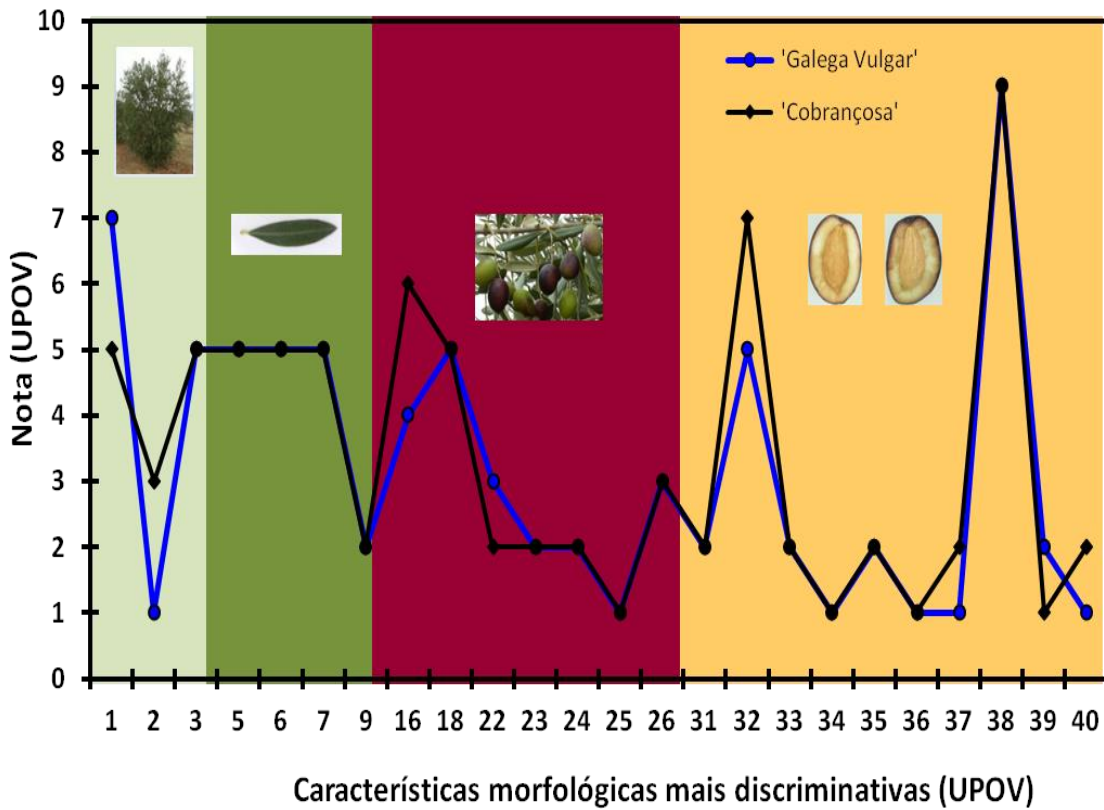


Figura 2 – Diferenças no perfil morfológico UPOV das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’.

Analysis of genes involved in sterol biosynthesis during olive-flower opening and early fruit development

Carla Inês¹, Miguel A. Paredes¹, António M. Cordeiro² & Maria C. Gomez-Jimenez¹

¹Plant Physiology, University of Extremadura, Avda de Elvas s/n, 06006 Badajoz, Spain, e-mail: mcgomez@unex.es

²INIAV, I.P., Elvas, Apartado 6, 7350-901 Elvas, Portugal, e-mail: antonio.cordeiro@iniav.pt

Abstract

Analysis of genes involved in sterol biosynthesis during olive-flower opening and early fruit development was carry out because sterols are lipophilic membrane components essential for diverse cellular functions and they are involved in various biological roles in plants, including cell and plant growth, and fertility. In olive, sterols are of particular importance since they are lipids related to oil quality. However, sterol composition during early olive-fruit development remains largely unknown. In the present study, the accumulation of sterols and the expression profile of two genes involved in sterol biosynthesis, such as sterol 14 α -demethylase (*OeCYP51*) and sterol methyltransferase 2 (*OeSMT2*), were examined during flowering and early fruit development in olive (*Olea europaea* cv. Picual). *OeCYP51* and *OeSMT2* were up-regulated by floral anthesis. The most abundant sterol in olive flower and fruit was β -sitosterol, followed by cicloartenol, but the content of the former decreased with flower opening and the content of cicloartenol did not significantly change during olive flowering. During early fruit development, *OeCYP51* and *OeSMT2* gene expression showed a similar pattern with a peak at 21 days post-anthesis in parallel to the sterol content increase (β -sitosterol and squalene). By contrast, the cycloartenol content was reduced during early fruit development, while the campesterol and cholesterol contents remained unaltered. A correlation was detected between the *OeSMT2* accumulation transcript and β -sitosterol levels during early olive-fruit development, implying that the synthesis of 24-ethylidenelophenol might be a rate-limiting step in β -sitosterol biosynthesis. The relatively high expression levels of *OeCYP51* and *OeSMT2* at 21 days of fruit development could possibly be attributed to the implication of β -sitosterol in physiological processes taking place during early fruit development.

Keywords: fruit development, gene expression, CYP51, SMT2, sterol.

Introduction

Free sterols are integral components of the membrane lipid bilayer that interact with phospho- and sphingolipids since their length is similar to that of the phospholipid monolayer (Valitova et al., 2016). Plant sterols consist of a mixture of three major species, namely β -sitosterol (the most abundant one), stigmasterol, and campesterol, as well as a variety of minor sterols that are biosynthetic precursors of the main sterols (Benveniste, 2004). β -sitosterol, stigmasterol, and campesterol are the bulk membrane sterols (Valitova et al., 2016), and campesterol is also a precursor of the brassinosteroids (Fujioka and Yokota, 2003; Valitova et al., 2016). Sterols are important in plant growth, are key components of cell membranes, are dynamic modulators of their biophysical properties. Hence, changes in the composition of sterols not only affect membrane fluidity and permeability (Roche et al., 2008; Grosjean et al., 2015) but also modulate the activity of

membrane bound proteins (Cooke and Burden, 1990; Grandmougin-Ferjani et al., 1997) and plant adaptive responses to different types of abiotic and biotic stress (Posé et al., 2009; Kopischke et al., 2013; Wagatsuma et al., 2015; Valitova et al., 2016).

In plants, the sterol biosynthesis pathway from squalene formation represents a sequence of more than 30 enzyme-catalyzed reactions (Benveniste, 1986), and all plant tissues are able to form their own sterols. The proportions of end sterol products are determined by the activity of sterol methyltransferases. There are two classes of sterol C24 - methyltransferases, SMT1 and SMT2 (Fujioka and Yokota, 2003). The plant sterol biosynthetic pathway contains a bifurcation that leads to the formation of β -sitosterol or campesterol, with the flux controlled by the activity of two enzymes, SMT2 and sterol 4 α -methyl oxidase 2 (SMO2) (Darnet and Rahier, 2004). Therefore, it is plausible that the relative activity and/or expression of these enzymes could play a pivotal role in determining the relative amounts of β -sitosterol and campesterol in cells and organs. In several plants species the conversion of 14 α -obtusifoliol to δ 14-sterol is catalyzed by obtusifoliol 14 α -demethylase (Bak et al., 1997; Cabello-Hurtado et al., 1999; Kim et al., 2005a), which belongs to the cytochrome P450 subfamily 51 (CYP51) (Benveniste, 2004; Vriet et al., 2013). CYP51 is required at the middle pathway between SMT1 and SMT2.

In olive, sterols are of particular importance since they are lipids related to oil quality (Fernández-Cuesta et al., 2013). However, sterol composition during early olive-fruit development remains largely unknown. To understand further the developmental regulation of the sterol biosynthesis pathway during early fruit development, in this study we explore the developmental regulation of sterol 14 α -demethylase (OeCYP51) and sterol methyltransferase 2 (OeSMT2), key steps in the sterol biosynthesis pathway, and sterol composition during olive-flower opening and early fruit development.

Material and Methods

Plant material and treatments

Twenty-year-old olive tree (*O. europaea* L.) cv. 'Picual' grown under drip irrigation and fertirrigation (irrigation with suitable fertilizers in the solution) in an orchard near Badajoz (Spain) was studied. Flowers were collected at two developmental stages (closed flower and open flower at anthesis stage) and fruits were sampled at 14, 21 and 28 days post-anthesis (DPA), using 300 fruits for each developmental stage, during the 2013 growing season (Gomez-Jimenez et al., 2010). The closed flowers were collected 7 days before (-7 DPA) the floral anthesis (0 DPA), using 150 flowers for each developmental stage. Flowers and whole fruits from different developmental stages were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until used for RNA extraction, sterol-related genes expression and sterols content.

Sterol analysis

Sterols were quantified by gas chromatography-mass spectrometry as described previously (Closa et al., 2010).

RNA isolation

Total RNA was extracted from flower and fruit tissues as described by Gómez-Jiménez et al. (2010).

Quantitative RT-PCR

The cDNA was amplified using SYBR-Green® PCR Master Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, US) containing an AmpliTaq Gold polymerase on an iCycler (BioRad Munich, Germany), following the protocol provided by the supplier. Samples were subjected to thermal cycling conditions of DNA polymerase activation at 94°C 45s at 52°C, 45s at 72°C and 45s at 80°C; a final elongation step of 7min at 72°C

was performed. The melting curve was designed to increase 0,5°C every 10s from 62°C. Real-time PCR analysis was performed with two different cDNAs from the same time point (from two different RNAs) and each was made in triplicate. The amplicon was analyzed by electrophoresis and sequenced once for identity confirmation. Real-time PCR efficiency was estimated via a calibration dilution curve and slope calculation. The expression levels were determined as the number of cycles needed for the amplification to reach a threshold fixed in the exponential phase of the PCR (CT). The DDCT method was used to analyze data (Pfaffl 2001).

Results and Discussion

Changes of sterol contents in olive reproductive tissues

To study changes in sterol levels during flower opening and early fruit development, we extracted sterol from olive reproductive organs at -7 (closed flower), 0 (flower at anthesis stage), 7, 14 and 28 (whole fruit) days post-anthesis (DPA) (Table 1).

During the two floral development stages analyzed (-7 and 0 DPA), β -sitosterol was the main sterol found, comprising more than 90% of total sterols followed by cycloartenol (3–5% of total sterols). At 0 DPA (anthesis stage) the total sterols content decreased which was related to a decline of the β -sitosterol concentration, approximately 41%. However, our data show that an increase of cholesterol content in olive fruit at the anthesis stage (0 DPA).

During the early fruit development (14, 21 and 28 DPA), β -sitosterol was the major sterol detected (89–94% of total sterols) followed by cycloartenol (4–10% of total sterols) (Table 1). Campesterol, cholesterol and stigmastenol were the minor sterols detected in olive fruit, constituting up to 1,06–1,24% of total sterols; and their levels showed some stability during early fruit development. The higher cycloartenol concentration was detected in olive fruit at 14 DPA, while the higher β -sitosterol and total sterols content were observed at 21 DPA. The sterol precursor squalene was only detected in olive during early fruit development. Squalene contents were higher in olive fruit at 21 DPA and lower in olive fruit at 28 DPA.

Sterol-related gene expression patterns during flowering and early fruit development

To determine the expression profiles of *CYP51* and *SMT2* genes during flower opening and early fruit development, we performed real-time RT-PCR on total RNA isolated from olive reproductive organs at -7 (closed flower), 0 (flower at anthesis stage), 7, 14 and 28 (whole fruit) DPA. Figure 1 shows the expression profile of *CYP51* and *SMT2* genes during flowering and early fruit development. The *CYP51* and *SMT2* were differentially expressed during early fruit development in olive.

From -7 DPA to 0 DPA, *OeCYP51* and *OeSMT2* expression was increased in olive flower, suggesting that *OeCYP51* and *OeSMT2* genes were up-regulated during the olive floral anthesis (Fig. 1). During early fruit development, from 14 to 21 DPA, *OeCYP51* and *OeSMT2* mRNA levels increased 206- and 11-fold, respectively, reaching their maximum amount. Both genes transcript levels declined at 28 DPA relative to the first fruit development level. This meaning an mRNA levels decreased to 99% in *OeCYP51* and 90% in *OeSMT2*.

Interactions between sterols and the expression of sterol related genes during flowering and early fruit development

Both *OeCYP51* and *OeSMT2* transcript levels had a peak at 0 DPA and at 21 DPA (Figure 1), and this coincided with the major decrease of total sterols content and the higher levels (Table 1), respectively. Flower at anthesis stage analyses revealed that the two genes expression induction occurred when β -sitosterol concentration was decreasing and for the first time cholesterol was being produced. At the middle of fruit development

phase studied (21 DPA) *OeCYP51* and *OeSMT2* transcript levels had a peak when squalene (sterols precursor) concentration was slightly increasing (since 14 DPA) simultaneous with β -sitosterol content; contrary cycloartenol levels decreased.

Ovary fertilization is followed by an active cell division phase (Rapoport and Rallo, 1991). During the ‘Picual’ fruit rapid cell division phase the *OeCYP51* and *OeSMT2* gene expression increased markedly at 21 DPA. Our results suggest that both genes are involved in controlling aspects of early fruit development such as cell division. The involvement of these two genes in embryogenesis has been reported by other researchers (Kim et al., 2005; Fu et al., 2008; Carland et al., 2010). In cucumber the transcript levels of *SMT* gene was increased by pollination (Fu et al., 2008). *Arabidopsis cyp51* mutants show postembryonic seedling lethality (Kim et al., 2005) that is caused by the lack of membrane integrity. In the same species the loss of function mutant *smt2* results in moderate developmental defects, including aberrant cotyledon vein patterning, serrated floral organs, and reduced stature, however plants are viable (Carland et al., 2010).

Conclusions

A correlation was detected between the *OeSMT2* accumulation transcript and β -sitosterol levels during early olive-fruit development, implying that the synthesis of 24-ethylidenelophenol might be a rate-limiting step in β -sitosterol biosynthesis. The relatively high expression levels of *OeCYP51* and *OeSMT2* at 21 days of fruit development could possibly be attributed to the implication of β -sitosterol in physiological processes taking place during early fruit development.

Acknowledgments:

Project funding by ‘Ministerio de Economía y Competitividad’, Spain (AGL2014-52194-R)

References

- Bak S, Kahn R, Olsen C, Halkier B, 1997. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the obtusifoliol 14 α -demethylase of *Sorghum bicolor* (L.) Moench, a cytochrome P450 orthologous to the sterol 14 α -demethylases (CYP51) from fungi and mammals. *Plant Journal* 11: 191–201.
- Benveniste P, 1986. Sterol biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 37: 275-308.
- Benveniste, P. (2004). Biosynthesis and accumulation of sterols. *Annu Rev Rev Plant Biol* 429-457.
- Cabello-Hurtado F, Taton M, Forthoffer N, Kahn R, Bak S, Rahier A, Werck-Reichhart D, 1999. Optimized expression and catalytic properties of a wheat obtusifoliol 14 α -demethylase (CYP51) expressed in yeast – complementation of *erg11* delta yeast mutants by plant CYP51. *European Journal of Biochemistry* 262: 435–446.
- Carland F, Fujioka S, Nelson T, 2010. The sterol methyltransferases SMT1, SMT2, and SMT3 influence *Arabidopsis* development through nonbrassinosteroid products. *Plant Physiol.* 153, 741–756.
- Closa, M., Vranová, E., Bortolotti, C., Bigler, L., Arró, M., Ferrer, A., et al. (2010). The *Arabidopsis thaliana* FPP synthase isozymes have overlapping and specific functions in isoprenoid biosynthesis, and complete loss of FPP synthase activity causes early developmental arrest. *Plant J.* 63, 512-525.
- Cooke, D.J., and Burden, R.S. (1990). Lipid modulation of plasma-membrane bound ATPases. *Physiol. Plantarum* 78, 153-159.

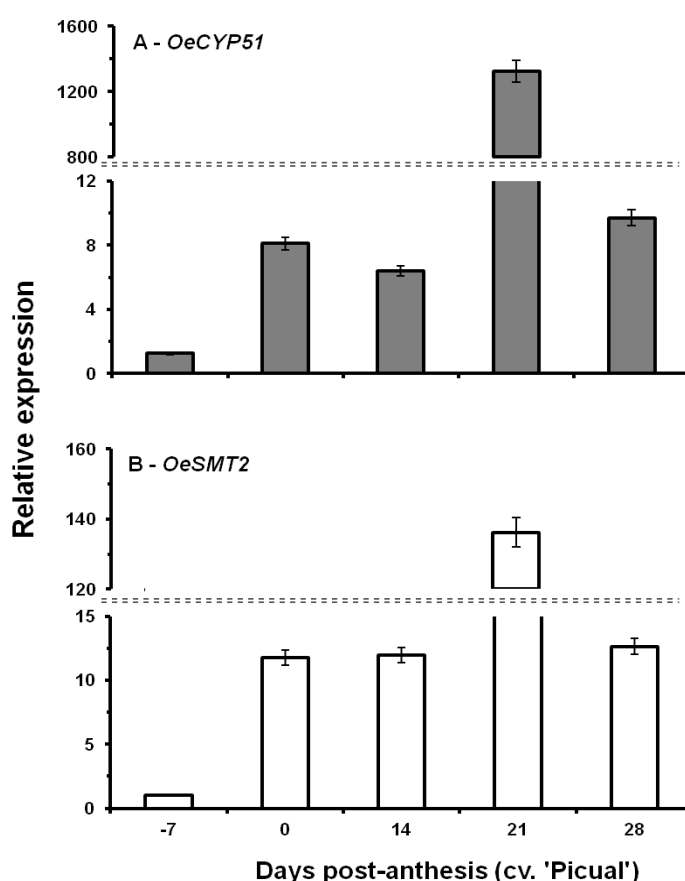
- Darnet S. and Rahier, A. (2004). Plant sterol biosynthesis: identification of two distinct families of sterol 4 α -methyl oxidases. *Biochem. J.* 378: 889-898.
- Fernández-Cuesta A, León L, Velasco L, De la Rosa R, 2013. Changes in squalene and sterols associated with olive maturation. *Food research international*, 54(2): 1885-1889.
- Fu FQ, Mao WH, Shi K, Zhou YH, Asami T, Yu JQ, 2008. A role of brassinosteroids in early fruit development in cucumber. *Journal of experimental botany*, 59(9), 2299-2308. A role of brassinosteroids in early fruit development in cucumber. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 59, No. 9, pp. 2299–2308. doi:10.1093/jxb/ern093
- Fujioka S, Yokota T, 2003. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annu Ver Plant Biol* 54: 137-164. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134921>
- Goad LJ, 1990. Application of sterol synthesis inhibitors to investigate the sterol requirements of protozoa and plants. *Biochem. Soc. Trans.*, 18: 63-65.
- Gómez-Jiménez MC, Paredes MA, Gallardo M, Fernandez-Garcia N, Olmos E, *et al.*, 2010. Tissue-specific expression of olive S-adenosyl methionine decarboxylase and spermidine synthase genes and polyamine metabolism during flower opening and early fruit development. *Planta* 232: 629-647. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-010-1198-6>
- Grandmougin-Ferjani, A., Schuler-Muller, I., Hartmann, M.A. (1997). Sterol modulation of the plasma membrane H⁺-ATPase activity from corn roots reconstituted into soybean lipids. *Plant Physiol.* 113, 163–174
- Grosjean, K., Mongrand, S., Beney, L., Simon-Plas, F., Gerbeau-Pissot, P. (2015). Differential effect of plant lipids on membrane organization: specificities of phytosphingolipids and phytosterols. *J. Biol. Chem.* 290, 5810-5825.
- Kim H, Schaller H, Goh C, Kwon M, Choe S, An C, Durst F, Feldmann K, Feyereisen R, 2005. Arabidopsis cyp51 mutant shows postembryonic seedling lethality associated with lack of membrane integrity. *Plant Physiology* 138: 2033–2047.
- Kopischke, M., Westphal, L., Schneeberger, K., Clark, R., Ossowski, S., Wewer, V., *et al.* (2013). Impaired sterol ester synthesis alters the response of *Arabidopsis thaliana* to *Phytophthora infestans*. *Plant J.* 73, 456-468.
- Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucl Acids Res* 29:2002–2007
- Posé, D., Castanedo, I., Borsani, O., Nieto, B., Rosado, A., Tacconnat, L., *et al.* (2009). Identification of the Arabidopsis *dry2/sqe1-5* mutant reveals a central role for sterols in drought tolerance and regulation of reactive oxygen species. *Plant J.* 59, 63-76.
- Rapoport HF, Rallo L, 1991. Fruit set and enlargement in fertilized and unfertilized olive ovaries. *HortScience* 26(7): 896-898.
- Roche, Y., Gerbeau-Pissot, P., Buhot, B., Thomas, D., Bonneau, L., Gresti, J., *et al.* (2008). Depletion of phytosterols from the plant plasma membrane provides evidence for disruption of lipid rafts. *FASEB J.* 22, 3980-3991.
- Valitova, J.N., Sulkarnayeva, A.G., and Minibayeva, F.V. (2016). Plant sterols: diversity, biosynthesis, and physiological functions. *Biochemistry (Mosc)*. 81, 819-834.
- Vriet C, Russinova E, Reuzeau C. 2013. From squalene to brassinolide: the steroid metabolic and signaling pathways across the plant kingdom. *Molecular Plant* 6: 1738–1757.
- Wagatsuma, T., Khan, M.S., Watanabe, T., Maejima, E., Sekimoto, H., Yokota, T., *et al.* (2015). Higher sterol content regulated by *CYP51* with concomitant lower phospholipid contents in membranes is a common strategy for aluminium tolerance in several plant species. *J. Exp. Bot.* 66, 907-918. doi: 10.1093/jxb/eru455.

Tables and Figures

Table 1 – Squalene and sterol content (mg/kg) from olive reproductive organs at -7 (closed flower), 0 (flower at anthesis stage), 7, 14 and 28 (whole fruit) days post-anthesis (DPA).

	-7	0	14	21	28
Squalene	n.d.	n.d.	63	71	38
Cycloartenol	85	84	249	164	106
24-methylenecycloartanol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24-ethylidenelophenol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -sitosterol	2504	1483	2301	2724	2436
Campesterol	n.d.	n.d.	20	19	19
Cholesterol	n.d.	3	12	12	12
Stigmasterol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Stigmastenol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1
Total sterol	2589	1570	2582	2919	2574

n.d. – not detected.

**Figure 1** – Expression of two genes of the sterol synthesis pathway in olive reproductive tissues (flowers: -7 and 0 days post-anthesis; fruits: 14, 21 and 28 days post-anthesis). Real-time PCR was used to analyze the expression patterns of *OeCYP51*, and *OeSMT2*. Each value represents the means \pm SE of three replicates.

Determination of the Leaf Area Index (LAI) of an old olive tree

Renato Coelho¹, Ana Elisa Rato², Rita Pires³, Teresa Mendes³, Alexandre Madruga³, Alfredo Peneda³, Jorge Pais³, Augusto Ribeiro³ and Augusto Peixe²

¹ ICAAM, Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, rcoelho@uevora.pt

² ICAAM, Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

³ Universidade de Évora, Master students

Abstract

Assessment of the leaf area index (LAI) is of fundamental importance to calculate diverse physiological parameters such as plants vigour, total rate of transpiration or photosynthesis.

This paper reports the determination of LAI of an old (70 + years) olive tree using two easy methods.

Initially, the projected area of the tree was calculated by measuring four diameters of the canopy, averaging them to north-south and east-west and assuming an ellipsoid shape. LAI was then determined for the entire tree by the measurement of light interception with a ceptometer along the four cardinal directions and by taking four hemispherical photographs from the bottom of the tree, also from the four cardinal points. After that, about two thirds of the branches were pruned and carefully kept in a container to avoid leaf lost. Once again the projected area of the canopy was measured and LAI was determined by the two methods on the pruned olive tree. The remaining branches were then removed (except for two small branches whose leaf area was assessed by leaf counting).

To assess actual leaf area of each pruning, eleven samples of 30 to 80 fresh leaves were photographed and then dried for 7 days at 70° C. Total leaf area of each sample was determined using ImageJ software. This permitted to establish a mean relation between leaf dry weight and fresh leaf area.

Total leaf area of each pruning was then determined by removing the leaves from the branches, drying them in the same way, weighing and using the dry weight/area relation previously obtained.

Both methods gave good estimation of LAI, better for the entire tree than after pruning.

Keywords: LAI, olive tree, ceptometer, Hemisfer software, ImageJ software.

Introduction

Leaf area index (LAI) is a dimensionless parameter defined as the one-sided leaf area of a plant per unit ground surface area (Watson, 1947). This ground area may be either the projected area of the crown (which will be used in this report) or the area allocated to each tree in an orchard (which is generally much higher).

Assessment of the leaf area index (LAI) is of fundamental importance to calculate diverse physiological parameters such as plants vigour, total rate of transpiration or rate of photosynthesis.

There are several direct or indirect methods for the determination of LAI (a review may be found in Breda, 2003).

This paper reports the determination of LAI (leaf area index) of an old (70 + years) olive tree of the Portuguese variety 'Galega', without pruning for some years, using two easy methods.

Material and Methods

The tree is located at Herdade da Mitra, the campus of the University of Évora, Portugal, at 38° 31' 36,8'' N and 8° 00' 59,2'' W.

LAI was determined twice on the same tree, initially for the entire tree and, after pruning about two thirds of the canopy volume, for the remaining of the tree. This method permits the determination of LAI as if two trees were analysed, one with high and another with low LAI, but using just one tree and thus saving time, as the extremely labour-intensive task of detaching leaves can be used in part for both situations (entire tree and pruned tree).

At the end, to assess total leaf area, all branches of the tree had to be cut down except for two of them which were left on the tree to diminish tree damage.

Determination of the projected area of the crown

The projected area of the tree was calculated by measuring four diameters of the crown (N:S, E:W, NW:SE and NE:SW). These were averaged to north-south (N:S and NW:SE) and east-west (E:W and NE:SW). Projected area was calculated assuming an ellipsoid shape using the equation $Area = a \times b \times \pi$, where a and b are the lengths of the semi-major (N:S) and semi-minor (E:W) axes, respectively. The same procedure was done for the tree after pruning.

Determination of LAI using hemispherical photographs

On the same tree, four hemispherical photographs (Nikon 500 with eye-fish lens) were taken from the bottom to the top of the tree, one photo from each of the four cardinal points. The same was done after pruning the tree. These photographs were analysed with Hemisfer software (Schleppi et al, 2007) which gives directly the values of LAI.

Determination of LAI using a ceptometer

Subsequently, the light interception by the canopy of the entire tree was measured with a ceptometer (Skye) along the four cardinal directions, starting at 0,50 m from the trunk and then every 0,4 m until 2,10 m, i.e., a total of 20 measurements. The same procedure was done for the tree after pruning. LAI was calculated for each point by the equation $LAI = - \ln \tau/A$, where τ is the ratio between the radiation above and below the canopy and A took the value of 0,86 as measurements were on a cloudy day.

Determination of the actual leaf area of the tree

To assess actual leaf area of the entire tree, and leaf area after pruning, a relation between leaf dry weight and leaf area was established. Eleven samples of 30 to 80 fresh leaves (588 in total) were photographed and then dried for 7 days at 70° C. Total leaf area of each sample was determined using ImageJ software. This permitted to establish a mean relation between leaf dry weight and fresh leaf area.

Total leaf area of each pruning was then determined by removing all the leaves from the branches, drying them in the same way, weighing and using the dry weight/area relation previously obtained.

Leaf area of the two small branches left on the tree after (almost) complete branch removal was calculated by leaf counting and using the average leaf area obtained on the leaf samples previously used.

Results and discussion

Projected area of the tree crown

There was no substantial decrease of the projected area of the crown after pruning as long branches remained and, therefore, tree diameters were not much reduced. Table 1 shows the surface area of the projection of the crown before and after pruning.

Determination of LAI using hemispherical photographs

Table 2 shows the results of the determinations of LAI from hemispherical photographs using Hemisfer software. Pruned tree had less than one third of LAI of the entire tree.

Determination of LAI using a ceptometer

Table 3 shows the values of LAI measured with the ceptometer. A few measurements of the radiation were outside the projection of the crown (PAR below equal to PAR above) and were excluded, except for one point (1,7 m from the trunk), in the pruned tree, which was clearly inside the projection area.

Determination of the actual leaf area of the tree

Actual (or quite close) leaf area of the olive tree was calculated from the relation between leaf dry weight and fresh leaf area. This ratio (Kg m^{-2}) was slightly different for young or old leaves, $0,194 \pm 0,01$ and $0,213 \pm 0,01$, respectively. But the differences were not significant ($p = 0,2$) and, therefore, the average value ($0,204 \text{ Kg m}^{-2}$, $n = 588$ leaves) was used for all following calculations avoiding in this way the extra work of dealing separately with young or old leaves.

Table 4 shows the results from the hardworking task of removing, drying and weighing the leaves of each pruning necessary for the accurate estimation of the tree LAI.

The tree had almost 100 square meters of leaf area and a total number of leaves around 252 thousand. Pruning reduced leaf area to almost one third. In Table 5, compares the determination of LAI by the three methods.

Conclusions

Hemisfer software gave a good estimation of LAI for the entire olive tree.

Ceptometer about 20% bellow actual LAI.

None of the methods did well for the olive tree after pruning (low LAI).

References

- Breda, N. 2003. Ground-based measurements of leaf area index: A review of methods, instruments and current controversies. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2403-2417
- Schleppi, P., Conedera, M., Sedivy, I., Thimonier, A. 2007. Correcting non-linearity and slope effects in the estimation of the leaf area index of forests from hemispherical photographs. *Agricultural and Forest Meteorology* 144: 236-242
- Watson, D.J. 1947. Comparative physiological studies in the growth of field crops. I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. *Annals of Botany* 11: 41-76.

Table and Figure**Table 1** - Tree diameter in the four directions and surface area (m²) of the projection of the entire olive crown and the crown after pruning

Tree crown Diameter (m)	N:S	E:W	NW:S E	NE:S W	Average N:S	Average E:W	Projected Area (m ²)
Entire tree	6,70	5,85	6,42	5,95	6,56	5,90	30,4
Pruned tree	6,60	6,2	5,6	5,5	6,40	5,55	27,9

Table 2 - Leaf area index (LAI) measured on photographs taken at each cardinal point using Hemisfer software

LAI	North	South	East	West	Average
Entire tree	2,40	2,84	3,88	3,35	3,12 ± 0,32
Pruned tree	0,43	1,39	0,89	1,26	0,99 ± 0,22

Table 3 - Leaf area index (LAI) measured with the ceptometer along four directions and at five distances from the trunk.

		LAI					
Distance (m)		0,5	0,9	1,3	1,7	2,1	Average
Entire tree	North	2,49	2,65	2,08	2,00	1,26	2,09
	South	2,94	3,11	3,45	1,98		2,87
	East	2,66	3,15	2,72	2,89	2,74	2,83
	West	3,40	2,27	2,21	2,11		2,50
LAI = 2,57							
Pruned tree	North	0,34	0,15	0,88	0,27	0,04	0,33
	South	0,04	0,03	0,06	0,00		0,03
	East	1,32	0,97	0,84	1,19	0,13	0,87
	West	0,23	0,22	0,20	0,22		0,21
LAI = 0,37							

Table 4 - Dry weight of leaves collected from branches after each pruning and calculated values of leaf area and leaf number

	Dry weight of leaves (Kg)	Leaf area (m ²)	Number of leaves
1st pruning	13,236	64,97	164 661
2nd pruning¹	6,903	34,58	87 649
Entire tree	20,139	99,56	252 311

¹Includes 0,70 m² of leaf area from the 1773 leaves that were not removed from the tree.

Table 5. Comparison of the values of LAI obtained with the three methods.

	LAI		
	Measured	Ceptometer	Hemisfer
Entire tree	3,28	2,57 (-22%)	3,12 (- 5%)
Pruned tree	1,24	0,37 (-70%)	0,99 (-20%)

Percentages indicate deviation from control method.

Evolução da maturação, produção e rendimento em gordura de cultivares de oliveira portuguesas em Coleção, campanha 2016-2017

Inês C^{1*}, Arias-Calderón R¹, Quintans F¹, Fernandes JL¹, Peixe A², Carvalho MT¹, Cordeiro AM¹

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS Biotecnologia e Recursos Genéticos. Estrada de Gil Vaz, Apartado 6, 7351-901 Elvas, Portugal. antonio.cordeiro@iniav.pt

² Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas / Instituto de Investigação e Formação Avançada – ICAAM/IIFA, Universidade de Évora, 7006-554 Évora, Portugal

Resumo

No Alentejo as principais cultivares de oliveira são ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal Alentejana’. Neste estudo apresenta-se a caracterização da evolução dos estados fenológicos (EF) da maturação, a produção de azeitona e o rendimento em gordura na matéria seca (% GMS por RMN) destas cultivares. As plantas estão integradas na Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) instalada no INIAV, I.P. em Elvas, e foram plantadas em 2012 num compasso 7x5m em seis repetições de duas árvores.

A ‘Galega Vulgar’ foi a primeira cultivar a iniciar a maturação (EF mais adiantado 2: manchas violáceas em menos de metade da epiderme do fruto), seguindo-se ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’ e ‘Cobrançosa’. A variabilidade na evolução da maturação e a queda fisiológica antecipada do fruto condicionaram a data de colheita em ‘Azeiteira’ e ‘Blanqueta de Elvas’. Apresentaram à colheita a epiderme dos frutos totalmente negra como EF dominante ‘Galega Vulgar’ e ‘Blanqueta de Elvas’. Nesta última cultivar a elevada produção em algumas oliveiras atrasou a maturação o que resultou num índice de maturação à colheita de 1,7. Em ‘Verdeal Alentejana’ os frutos mesmo em dezembro ainda apresentavam o EF 2 como dominante.

A produção média por árvore foi menor em ‘Verdeal Alentejana’ e maior em ‘Galega Vulgar’ e ‘Azeiteira’, 7, 12 e 14kg, respetivamente. A ‘Azeiteira’ apresentou um menor conteúdo de GMS, 34%; por outro lado, ‘Blanqueta de Elvas’ e ‘Verdeal Alentejana’ apresentaram os maiores rendimentos, 46 e 43%, respetivamente.

Este estudo fornece dados importantes da evolução da maturação, produção e rendimento em gordura necessários para calendarizar a colheita da azeitona e potenciar a obtenção de azeites em quantidade e com qualidade, valorizando as cultivares de oliveira autóctones.

Palavras-chave: *Olea europaea* L., CPRCO, fenologia, colheita.

Abstract

In Alentejo, a Portuguese very important olive-producing region, the main traditional cultivars used are ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ and ‘Verdeal Alentejana’. Olive trees are grown in open field from June 2012 in Elvas, Portugal, at Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) which belongs to INIAV, I.P.

‘Galega Vulgar’ was the first cultivar initiating maturation of fruit, and then ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’ and ‘Cobrançosa’. Different maturation periods and

early fruit drop have determined the harvest timing of ‘Azeiteira’ and ‘Blanqueta de Elvas’. At harvest only in ‘Galega Vulgar’ and ‘Blanqueta de Elvas’ was observed the fruit epidermis completely black. This last one cultivar also showed highly fruit production in some trees which resulted in a slower maturation phase and low average ripening index: 1,7. In ‘Verdeal Alentejana’, the majority of the fruits showed less than half of the surface turning red still in December.

Average total yield ranged from 7kg/tree in ‘Verdeal Alentejana’ and 12 and 14kg/tree in ‘Galega Vulgar’ and ‘Azeiteira’, respectively. Oil content ranged from 34% in ‘Azeiteira’ and 43 and 46% in ‘Verdeal Alentejana’ and ‘Blanqueta de Elvas’, respectively.

These results are extremely useful to determine the harvest timing of these six olive cultivars in order to obtain high quantities of olive oil and at the same time a product with a unique regional flavor.

Keywords: *Olea europaea* L., CPRCO, phenology, harvest.

Introdução

A cultura da oliveira em Portugal perde-se no tempo. Nas últimas décadas tem-se assistido a uma reforma na olivicultura, e atualmente é uma das mais importantes atividades socioeconómicas nacionais. O motor da dinamização do setor tem sido, sobretudo, a valorização do azeite pelo consumidor devido às mais-valias nutricionais deste alimento, relativamente a outras gorduras vegetais e, principalmente, gorduras de origem animal. A área de olival em Portugal tem aumentado, principalmente na região do Alentejo, na sequência dos novos empreendimentos hidráulicos da região e reconversão de solos outrora utilizados para culturas arvenses (INE, 2011). De qualquer forma, Portugal apresenta limitações geográficas que impossibilitam a competição por novos mercados com base no volume de azeite produzido. Por outro lado, a riqueza de recursos genéticos autóctones de oliveira deste país é enorme e o potencial oferecido pela imensa variabilidade existente não está totalmente explorado e aprofundado. As características edafoclimáticas das regiões olivícolas condicionaram a seleção das cultivares tradicionais, que geralmente são as que apresentam maior vigor e frutificação mais abundante naquele ambiente. A mesma cultivar estabelecida em regiões distintas irá seguramente desenvolver características agronómicas diferentes, que se evidenciam desde o vigor da planta e fenologia até às características organolépticas do azeite, o que nos vinhos se designa por “terroir” (Cordeiro e Inês, 2013a).

A orientação empresarial do olival em Portugal tem sido importante para a sustentabilidade de regiões rurais, porém transporta o risco da perda dos recursos genéticos autóctones, uma vez que o número das variedades mais utilizadas não supera a dezena e na sua maioria provenientes de outras regiões olivícolas (Cordeiro e Inês, 2013b). No Alentejo, no passado, tiveram muita representatividade cerca de meia dúzia de cultivares e atualmente as novas plantações de olival incluem, quase exclusivamente, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’ e ‘Galega Vulgar’ entre as nacionais e ‘Arbequina’, ‘Picual’, ‘Hojiblanca’ entre as estrangeiras (Cordeiro e Inês, 2013a).

É responsabilidade nacional a conservação e a preservação dos recursos genéticos autóctones e evitar a sua erosão genética. Nesta perspetiva surgiu o projeto ProDeR, ação 2.2.3.1: “OLEAREGEN: Conservação e Melhoramento de Recursos Genéticos – OLIVEIRA” – PA 18659. De âmbito nacional, este projeto visou, em primeiro lugar, a prospeção de cultivares e/ou denominações varietais de oliveira autóctones e posteriormente o seu estabelecimento na Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) na Herdade do Reguengo, Elvas propriedade do INIAV, I.P.. Mais

recentemente, foi aprovado o projeto “Valorização das Variedades de Oliveira Portuguesas (Oleavalor)” (Operação ALT20-03-0145-FEDER-000014). O anterior projeto está em fase de execução e visa avaliar e melhorar o potencial produtivo das principais variedades de oliveira do Alentejo com vista à sua utilização em sistemas de produção intensiva. O objetivo do trabalho realizado foi realizar a caracterização da evolução dos estados fenológicos (EF) da maturação, a produção de azeitona e o rendimento em gordura na matéria seca (% GMS) das principais cultivares de oliveira dos azeites alentejanos: ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal Alentejana’, na campanha de 2016 – 2017.

Material e Métodos

As seis cultivares (‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal Alentejana’) utilizadas neste estudo estão estabelecidas na Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) instalada no INIAV, I.P., Pólo de Elvas. As plantas foram obtidas por propagação vegetativa (material monoclonal) e plantadas em junho de 2012, num compasso de plantação de 7x5m e com rega gota-a-gota. Estabeleceram-se repetições de duas árvores lado-a-lado aleatoriamente distribuídas por seis blocos.

A fenologia da maturação do fruto iniciou-se em setembro e terminou com a colheita da azeitona. Utilizaram-se os seis blocos experimentais e as duas repetições de cada cultivar por bloco. As observações tiveram uma periodicidade semanal e para representar a proporção dos vários estados de maturação na copa da árvore seguiu-se a metodologia citada por Fernández-Escobar e Rallo (1981). Assim, após uma apreciação qualitativa dos quadrantes da oliveira registava-se o estado de maturação mais atrasado, o dominante e o mais adiantado. A escala de maturação de azeitonas utilizada foi a estabelecida por Frías et al. (1991) na qual se consideram cinco estados de maturação que variam do zero (0) – verde intenso – até quatro (4) – epiderme dos frutos totalmente negra. Após a colheita retirou-se uma amostra de 100 frutos para a determinação do índice de maturação à colheita (Ferreira, 1979). Por ser uma amostragem destrutiva permite observar a evolução da maturação na polpa da azeitona e por isso incluir mais três classes de maturação, sendo a classe sete (7) a polpa rosada até ao endocarpo.

A produção de azeitona foi determinada por árvore e representa o somatório da quantidade de frutos no chão e os frutos na árvore (Del Río e Caballero, 1994).

O rendimento em gordura foi determinado após a colheita, e por árvore, por ressonância magnética nuclear (RMN) e expressa a proporção em % de gordura na matéria seca (GMS) (Beltrán et al., 2008).

Para o tratamento dos dados das características estudadas calculou-se primeiramente o valor médio de cada cultivar por bloco e seguidamente a média dos 6 blocos.

Resultados e Discussão

As cultivares estudadas apresentaram pautas de maturação distintas (Figura 1). Considera-se que iniciou a maturação do fruto quando na copa da planta o estado fenológico de maturação mais adiantado é o estado 2 (X-X-2, em que X é um qualquer EF) (COI, 1997), ou seja, quando na epiderme dos frutos são visíveis manchas violáceas, porém estas ainda não ocupem metade da sua superfície (Frías et al., 1997). A ‘Galega Vulgar’ foi a primeira cultivar a iniciar a maturação (27 de setembro), seguindo-se no dia 3 de outubro ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’ e ‘Cobrançosa’ (Figura 1). A ‘Cordovil de Serpa’ manifestou esta fase fenológica no dia 25 de outubro, e os frutos que mais tardiamente começaram a mudar de cor foram os de ‘Verdeal Alentejana’. Esta cultivar

apresentou pela 1.^a vez o estado 2 de maturação como EF mais adiantado só no dia 15 de novembro. A progressão da cor violácea nos frutos também foi diferente nos genótipos estudados. As primeiras cultivares a apresentar pela 1.^a vez o estado 3 de maturação – as manchas violáceas ocupam mais de metade da superfície do fruto – como EF dominante foram ‘Galega Vulgar’ e ‘Blanqueta de Elvas’, no dia 17 de outubro. ‘Azeiteira’ e ‘Cobrançosa’ atingiram esta fase da maturação nos dias 25 e 31 de outubro, respetivamente. Note-se que as três últimas cultivares iniciaram a maturação (X-X-2) ao mesmo tempo, no dia 3 de outubro (Figura 1), mas as suas características varietais determinaram as diferenças de duração do período de maturação observadas. A ‘Cordovil de Serpa’ manifestou a etapa (X-3-X) no dia 29 de novembro, e a ‘Verdeal Alentejana’ apenas atingiu o estado 3 de maturação como EF mais adiantado, não chegando a ser dominante na copa. A plena maturação, ou seja, frutos com a epiderme totalmente negra, observou-se em oliveiras das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Blanqueta de Elvas’ a partir de 31 de outubro. Ao nível da polpa da azeitona apenas em ‘Galega Vulgar’ foi possível observar um ligeiro avanço de cor rosada na direção do endocarpo e em média obteve-se um índice de maturação (IM) de 4,2. Em relação à ‘Blanqueta de Elvas’, as diferenças de carga de frutos nas árvores provocaram a diminuição do IM médio à colheita, que foi inferior a 4 (Figura 1). Maior quantidade de frutos na copa atrasa o processo de maturação dos mesmos (Beltrán et al., 2008) o que resultou num IM à colheita médio de 1,7, embora em algumas oliveiras o estado 4 fosse dominante. A variabilidade na evolução da maturação e a queda fisiológica antecipada do fruto condicionaram a data de colheita em ‘Azeiteira’ e ‘Blanqueta de Elvas’. A colheita destas cultivares tem de ser realizada antes de os frutos adquirirem a coloração negra porque nessa fase a quantidade de frutos no chão aumenta rapidamente.

A produção média por árvore das seis cultivares estudadas na campanha de 2016 – 2017 variou entre 7,6kg em ‘Verdeal Alentejana’ e 14kg em ‘Azeiteira’ (Figura 2). Estes materiais foram plantados em 2012 e, portanto, no momento da colheita encontravam-se no 4.^o ano após a plantação; além disso para algumas cultivares a campanha de 2016/17 foi a sua 3.^a campanha. As plantas estão sob as mesmas condições de campo, portanto as diferenças observadas refletem as diferenças genéticas existentes no conjunto e as potencialidades que as mesmas oferecem ao nível do retorno económico do olivicultor após o investimento de instalação do olival.

Relativamente ao teor de GMS, a cultivar com menor rendimento foi a ‘Azeiteira’, 34%; por outro lado, ‘Blanqueta de Elvas’ e ‘Verdeal Alentejana’ apresentaram os maiores rendimentos, 46 e 43%, respetivamente (Figura 3). A acumulação de gordura na azeitona é uma característica varietal, sendo condicionada por fatores como as condições climáticas e a carga de frutos (Beltrán et al., 2008). As diferenças de rendimento encontradas entre as repetições de uma mesma cultivar refletem principalmente a juventude das plantas, uma vez que segundo Del Río e Caballero (1994) as características varietais consideram-se estabilizadas após 10 anos de campo.

Conclusões

O sector olivícola em Portugal tem boas razões para o sucesso e a diversidade intervietal autóctone é uma das ferramentas para atingir esse fim. Contudo, para se poder disfrutar dessa mesma diversidade, a implementação das boas práticas culturais, a laboração da azeitona no momento ótimo e a elaboração criteriosa do azeite não podem ser descurados. Este estudo fornece dados importantes sobre a evolução da maturação, a produção e o rendimento em gordura de seis cultivares de oliveira tradicionais no Alentejo. O conhecimento destas características é necessário para calendarizar a colheita

da azeitona e potenciar a obtenção de azeites em quantidade e com qualidade, valorizando as cultivares de oliveira autóctones.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo FEDER e por Fundos Nacionais, através do Programa Operacional Regional ALENTEJO 2020, Operação ALT20-03-0145-FEDER-000014 – “Valorização das Variedades de Oliveira Portuguesas (Oleavalor)”. (*) Bolseira de Investigação Mestre Projeto OLEAVALOR

Referências

- Beltrán G, Uceda M, Hermoso M, Frías L, 2008. Maduración. In: El cultivo del olivo; Barranco D, Fernández-Escobar R, Rallo L (eds.). pp: 163-187. Junta de Andalucía y Ed. Mundi-Prensa, 6ª ed., Madrid.
- COI, 1997. Méthodologie pour la caractérisation primaire des variétés d'olivier. Projet RESGEN-CT (96/97), Union Européenne/Conseil Oléicole International.
- Cordeiro AM, Inês C, 2013a. A diversidade intervartietal da oliveira em Portugal: Notas para um roteiro. *Vida Rural* 1790: 32-34.
- Cordeiro AM, Inês C, 2013b. Recursos genéticos em Olivicultura. *Agrotec* 9(4): 52-53.
- Del Río C, Caballero JM, 1994. Preliminary agronomical characterization of 131 cultivars introduced in the olive germplasm bank of Córdoba in March 1987. *Acta Horticulturae* 356: 110-115.
<http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.356.24>
- Fernández-Escobar R, Rallo L, 1981. Influencia de la polinización cruzada en el cuajado de frutos de cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). *ITEA*, 45: 51-58.
- Ferreira J, 1979. Explotaciones olivareras colaboradoras, nº 5. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- Frías L, García-Ortiz A, Hermoso M, Jiménez A, Llaverro MP, Morales J, Ruano T, Uceda M, 1991. Analistas de laboratorio de almazaras. *Informaciones Técnicas* 6/91, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía.
- INE, I.P., 2011. Olival. In: Recenseamento Agrícola 2009 - Análise dos principais resultados, Parte I; Instituto Nacional de Estatística, I.P. (ed.). pp: 46-48, Lisboa-Portugal.
http://ra09.ine.pt/xportal/xmain?xpid=RA2009&xpgid=ine_ra2009_publicacao_det&contexto=pu&PUBLICACOESpub_boui=119564579&PUBLICACOESmodo=2&selTab=tab1&pra2009=70305248 [20 April 2015].

Tabelas e Figuras

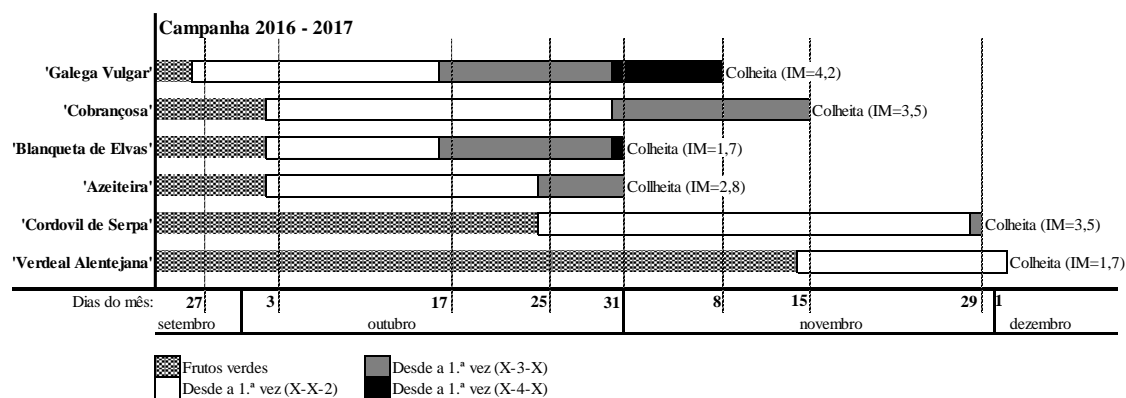


Figura 1 – Evolução dos estados fenológicos (EF) da maturação da azeitona em seis cultivares de oliveira e índice de maturação (IM) (Frías et al., 1991) à colheita, na campanha de 2016 – 2017. (X-X-2) refere-se ao início da maturação: aparecimento de manchas violáceas em menos de metade da epiderme do fruto como EF dominante; (X-3-X) refere-se à maturação violeta: manchas violáceas em mais de metade da epiderme do fruto como EF dominante; (X-4-X) refere-se à maturação completa: frutos apresentam a epiderme totalmente negra como EF dominante.

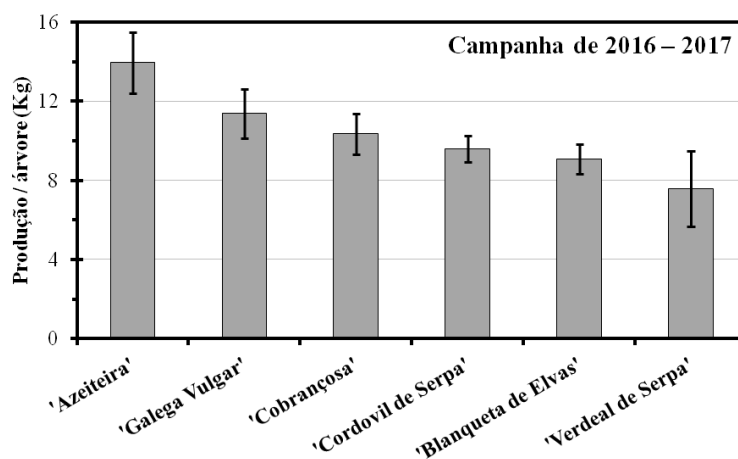


Figura 2 – Produção por árvore de seis cultivares de oliveira na campanha de 2016 – 2017 (valor médio \pm erro-padrão).

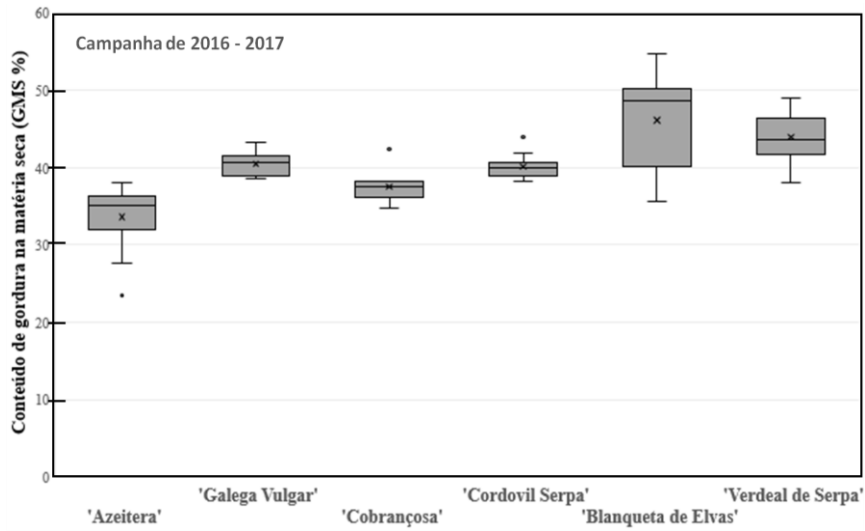


Figura 3 - Diagrama de caixas e bigodes do conteúdo de gordura na matéria seca (GMS %) das seis cultivares de oliveira em estudo na campanha de 2016-2017.

Sphingolipid and sterol accumulation during mature-fruit abscission in olive

Maria C. Parra-Lobato¹, Miguel A. Paredes¹, Juana Labrador¹ & Maria C. Gomez-Jimenez¹

¹Plant Physiology, University of Extremadura, Avda de Elvas s/n, 06006 Badajoz, Spain, e-mail: mcgomez@unex.es

Abstract

Sphingolipids, found in membranes of eukaryotic cells, have been demonstrated to carry out functions in various processes in plant cells. However, the roles of these lipids in abscission processes remains to be determined in plants. Biochemical and fluorescence microscopic imaging approach has been adopted to investigate the accumulation and distribution of sphingolipids during mature-fruit abscission in olive (*Olea europaea* L. cv. Picual). Here, a lipid-content analysis in live protoplasts of olive abscission zone (AZ) is made with fluorescent dyes and lipid analogues, particularly plasma membrane sphingolipid-enriched domains, and their dynamics are investigated in relation to the timing of mature-fruit abscission. In olive AZ cells, the proportion measured of sphingolipids increases during mature-fruit abscission. Likewise, mature-fruit abscission resulted in quantitative and qualitative changes in sphingolipid long-chain bases (LCB) in olive AZ. The total LCB increase was due essentially to extension of t18:1(8E) LCBs, suggesting that C-4 hydroxylation and $\Delta 8$ desaturation with a preference for (*E*)-isomer formation are quantitatively the most important in olive AZ during abscission. However, our results also showed a specific association between the dihydroxylated LCB sphinganine (d18:0) and the mature-fruit abscission. These results indicate a clear correlation between the sphingolipid distribution and mature-fruit abscission. Moreover, measurements of endogenous sterol levels in the olive AZ revealed that it accumulates sitosterol and campesterol with a concomitant decrease in cycloartenol during abscission. In addition, underlying the distinct sterol composition of AZ during abscission, genes for key biosynthetic enzymes for sterol synthesis for obtusifoliol 14 α -demethylase (CYP51) and C-24 sterol methyltransferase2 (SMT2) were up-regulated during mature-fruit abscission parallel to the increase in sitosterol content. The differences found in AZ lipid composition, and the relationships established between LCB and sterol composition, offer new insights about sphingolipids and sterols in abscission signalling.

Keywords: Abscission, fruit, *Olea europaea* L., sphingolipid, sterol.

Introduction

Sphingolipids are a diverse set of structurally and metabolically related lipids that have numerous functions in cell structure and signalling (Michaelson et al., 2016; Kraft et al., 2017). Recent knowledge of the functions of sphingolipids in plants has revealed their critical role both in physiological or stress situations (Michaelson et al., 2016). Part of the vital necessity of the plant to possess sphingolipids can be explained in terms of the competence of these lipids to form the lipid matrix of the membranes and hence, to their contribution of their functions. The amphipatic structural backbone of complex sphingolipids is ideal to form lipid bilayers. This backbone is composed of a long-chain base (LCB) that amidates a fatty acid and binds a polar head formed by a carbohydrate and, optionally, a phosphate group (Chen et al., 2009).

Free sterols are integral components of the membrane lipid bilayer that interact with phospho- and sphingolipids since their length is similar to that of the phospholipid monolayer (Valitova et al., 2016).

The molecular genetic and biochemical analyses using *Arabidopsis* mutants for genes encoding sphingolipid and sterol metabolic enzymes have provided new insights into the essential roles of sphingolipids and sterols in a wide variety of physiological or stress situations (Clouse, 2002; Michaelson et al., 2016). However, until now, it is still not clear whether these lipids are involved in the abscission process. The purpose of this study was to elucidate further the potential involvement of sphingolipids and sterols in the abscission process in olive. To this end, using specific fluorescent lipophylic probes, we visualized sphingolipid-enriched regions in the plasma membranes of live protoplasts from fruit AZ, and were also investigated sphingolipid LCB composition during mature-fruit abscission in olive. In addition, sterol content and biosynthetic gene expression were also analysed during fruit abscission. These data highlight a new facet of sphingolipids and sterols in abscission signalling.

Material and Methods

Plant material

Twenty-year-old olive trees (*Olea europaea* L. cv 'Picual') grown under drip irrigation and fertigation (irrigation with suitable fertilizers in the solution) in an orchard near Badajoz (Spain) were studied. This olive cultivar exhibits massive natural fruit abscission at maturity, and mature-fruit abscission occurred at the pedicel-fruit AZ (Gomez-Jimenez et al., 2010; Parra-Lobato and Gomez-Jimenez, 2011; Gil-Amado and Gomez-Jimenez, 2012, Gil-Amado and Gomez-Jimenez, 2013). A first group of freshly excised AZ samples at two different stages (pre-abscission and abscission) was used for protoplast isolation, and another group were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for analysis of LCB and sterol content.

Dye staining of protoplasts

Protoplast imaging was made using a FluoView 1000 spectral confocal microscopy (Olympus, Tokyo, Japan) equipped with 405, 488, 543, and 633 nm laser lines. Fluorescence acquisition was selected to maximize fluorochrome emission using spectral detectors, in each case.

Sphingolipid analysis

Sphingolipids were analysed from their released LCB as previously described (Markham et al., 2006).

Sterol analysis

Sterols were quantified by gas chromatography-mass spectrometry as described previously (Closa et al., 2010). 5- α cholestane (Sigma-Aldrich, Spain) was added as internal standard.

Quantitative RT-PCR

Previously published RNA-Seq data (Gil-Amado and Gomez-Jimenez, 2013), were mined for sterol biosynthesis-related genes. Expression levels were obtained for genes encoding the obtusifoliol 14 α -demethylase (*OeCYP51*) and sterol methyltransferase (*OeSMT2*) by qRT-PCR (Gil-Amado and Gomez-Jimenez, 2013).

Results and discussion

Visualization of sphingolipids enriched plasma membrane regions in olive AZ during mature-fruit abscission

In order to specifically study the distribution pattern of sphingolipids in the AZ cells during mature-fruit abscission in olive, AZ live protoplasts were stained with Bodipy

Sphingomyelin FL C12 (BD-SM), a fluorescent shingolipid analogue with the same stereochemical conformation as native, biologically active shingolipids. Therefore, BD-SM molecules incorporate into the plasma membrane and mix up with native sphingolipids. As shown in Figure 1, BD-SM fluorescence was observed mainly as intracellular structures rather than in plasma membrane suggesting endosomes staining without elucidating intracellular localization. Quantification of BD-SM showed approximately 5-fold increase of BD-SM in AZ cells at the abscission stage compared with AZ cells at the pre-abscission stage in olive (Figure 1E). Therefore, there is a close relationship between high sphingolipid levels in olive AZ and mature-fruit abscission.

Sphingolipid LCB content and composition of olive AZ during mature-fruit abscission

To investigate the possible relationship between sphingolipids composition and the mature-fruit abscission, we analysed the LCB profiles derived from hydrolysis of sphingolipids in the olive fruit AZ during abscission. As shown in Figure 2A, total LCB hydrolysed from sphingolipids were clearly higher in the olive AZ at the abscission stage as compared to the olive AZ at the pre-abscission stage. A detailed analysis of the total LCB composition showed that, similarly, mature-fruit abscission also significantly raised its dihydroxy and trihydroxy LCB levels in the AZ at the abscission stage (Figure 2A), but as $\geq 81\%$ of the sphingolipids LCBs are tri-hydroxylated in olive AZ at the abscission stage. In fact, mature-fruit abscission shows an increase in all LCB species studied in olive AZ, t18:1 (8E) isomer being the most abundant LCB in olive AZ at the abscission stage (Figure 2B,C). This suggests that C-4 hydroxylation and $\Delta 8$ desaturation with a preference for (*E*)-isomer formation are quantitatively the most important features of the complex sphingolipids present in olive AZ during abscission. Likewise, in olive AZ, dihydroxylated LCBs such as d18:0 were absent at the pre-abscission stage but were also enriched during abscission (Figure 2B,C), suggesting a specific association between these lipids and the mature-fruit abscission in olive. Thus, mature-fruit abscission resulted in quantitative and qualitative changes in sphingolipids in olive AZ.

Changes in squalene and sterols associated with olive mature-fruit abscission

Since some gene expression related to sterol metabolism were up-regulated in the olive AZ during mature-fruit abscission (Gil-Amado and Gomez-Jimenez, 2013), we addressed the possibility that these lipids were involved in the mature-fruit abscission. For this, we extracted total sterols from the olive fruit AZ during abscission. As shown in Table 1, squalene, campesterol, and β -sitosterol levels rose in the olive AZ during mature-fruit abscission. By contrast, cycloartenol levels fell during abscission, whereas cholesterol, stigmasterol, and 24-methylene-cycloartenol was not detected in any olive AZ samples (Table 1). Thus, measurements of endogenous sterol levels in the olive AZ revealed that β -sitosterol and campesterol are accumulated during mature-fruit abscission.

Sterol biosynthetic gene expression during mature-fruit abscission

To gain information concerning sterols dynamics during mature-fruit abscission, we addressed the possibility that sterol biosynthetic genes were differentially regulated in the olive AZ during abscission. We assessed the expression profiles of *OeCYP51* and *OeSMT2* genes in fruit AZ during abscission using real-time RT-PCR (Figure 3). Olive AZ exhibited a rise in the transcript levels of the *OeCYP51* and *OeSMT2* mRNAs in association with mature-fruit abscission. Thus, *OeCYP51* and *OeSMT2* were up-regulated during mature-fruit abscission parallel to the β -sitosterol content increase.

Conclusions

Taken together, our results demonstrate that lipid content and composition of the olive AZ change both qualitatively and quantitatively during mature-fruit abscission. These data show large differences in sphingolipid and sterol content/composition and biosynthetic gene expression in olive AZ during abscission, including the identification of specific LCB and sterol in AZ during abscission, indicating that these sphingolipids and sterols may play a role in AZ during mature-fruit abscission.

Acknowledgments

Project funding by ‘Ministerio de Economía y Competitividad’, Spain (AGL2014-52194-R). We thank J.L. Grosson for free access to the plant material.

References

- Chen, M., Cahoon, E.B., Saucedo-García, M., Plasencia, J., and Gavilanes-Ruíz, M. (2009). Plant sphingolipids: Structure, synthesis and function. In: Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions. (Wada H, Murata N, eds). Advances in Photosynthesis and Respiration. Vol. 30. Series editor, Govindjee, ISBN 978-90-481-4 (Hb) e ISBN 978-90-481-2863 (e-book), Springer, New York. 77-115.
- Closa, M., Vranová, E., Bortolotti, C., Bigler, L., Arró, M., Ferrer, A., and Grissem, W. (2010). The Arabidopsis thaliana FPP synthase isozymes have overlapping and specific functions in isoprenoid biosynthesis, and complete loss of FPP synthase activity causes early developmental arrest. *Plant Journal* 63, 512-525.
- Clouse, S.D. (2002). Arabidopsis mutants reveal multiple roles for sterols in plant development. *Plant Cell* (9), 1995-2000.
- Gil-Amado, J.A., and Gomez-Jimenez, M.C. (2012). Regulation of polyamine metabolism and biosynthetic gene expression during olive mature-fruit abscission. *Planta* 235, 1221-1237.
- Gil-Amado, J.A., and Gomez-Jimenez, M.C. (2013). Transcriptome analysis of mature fruit abscission control in olive. *Plant Cell Physiology* 54, 244-269.
- Gomez-Jimenez, M.C., Paredes, M.A., Gallardo, M., and Sanchez-Calle, I.M. (2010). Mature fruit abscission is associated with up-regulation of polyamine metabolism in the olive abscission zone. *Journal Plant Physiology* 167, 1432-1441.
- Kraft, M.L. (2017). Sphingolipid Organization in the Plasma Membrane and the Mechanisms That Influence It. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 4, 154. doi: 10.3389/fcell.2016.00154.
- Michaelson, L.V., Napier, J.A., Molino, D., and Faure, J.D. (2016). Plant sphingolipids: Their importance in cellular organization and adaptation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1861, 1329-1335. doi: 10.1016/j.bbali.2016.04.003.
- Parra-Lobato, M.C., and Gomez-Jimenez, M.C. (2011). Polyamine-induced modulation of genes involved in ethylene biosynthesis and signalling pathways and nitric oxide production during olive mature fruit abscission. *Journal of Experimental Botany* 62, 4447-4465.
- Valitova, J.N., Sulkarnayeva, A.G., and Minibayeva, F.V. (2016). Plant Sterols: Diversity, Biosynthesis, and Physiological Functions. *Biochemistry (Mosc)*. 81, 819-834.

Tables and Figures

Table 1 - Changes in the total sterol content (mg Kg^{-1}) in olive AZ during mature-fruit abscission. Each value represents the mean of three independent experiments \pm S.E. Statistically significant differences based on unpaired Students's t test at $P < 0.05$ are denoted by asterisk; nd not detectable.

mg Kg^{-1}	AZ at the pre-abscission stage	AZ at the abscission stage
Squalene	nd	113 ± 7.5
Cycloartenol	725 ± 17.9	$527 \pm 12.6^*$
Campesterol	nd	281 ± 16.3
β -Sitosterol	3564 ± 103.1	$5323 \pm 97.5^*$
Cholesterol	nd	nd
Stigmasterol	nd	nd
24-methylene-cycloartenol	nd	nd

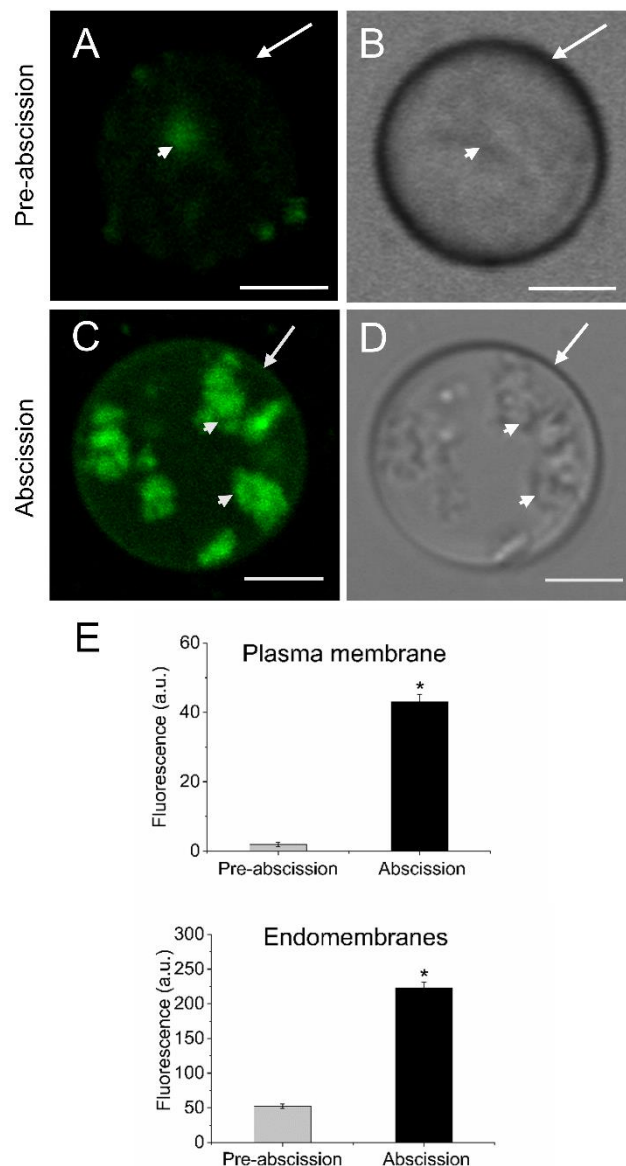


Figure 1 - Changes in the sphingolipid content in live protoplasts from olive AZ during mature-fruit abscission. (A) BD-SM stained protoplast from the olive AZ at the stage pre-abscission compared to the white-light image (B). (C) BD-SM stained protoplast from the olive AZ at the stage abscission compared to the white-light image (D). (E) Quantification of BD-SM fluorescence in the plasma membrane and the intracellular membranes of live protoplasts from olive fruit AZ at different stages during abscission. About 10 protoplasts were acquired for each sample, and data were obtained with FV10 4.2 software (Olympus). Columns and bars indicate means \pm SD, respectively, from five independent experiments. Statistically significant differences based on unpaired Student's t test at $P < 0.05$ are denoted by asterisk. Scale bars are 5 μ m. Arrow: plasma membrane. Arrowhead: endomembranes.

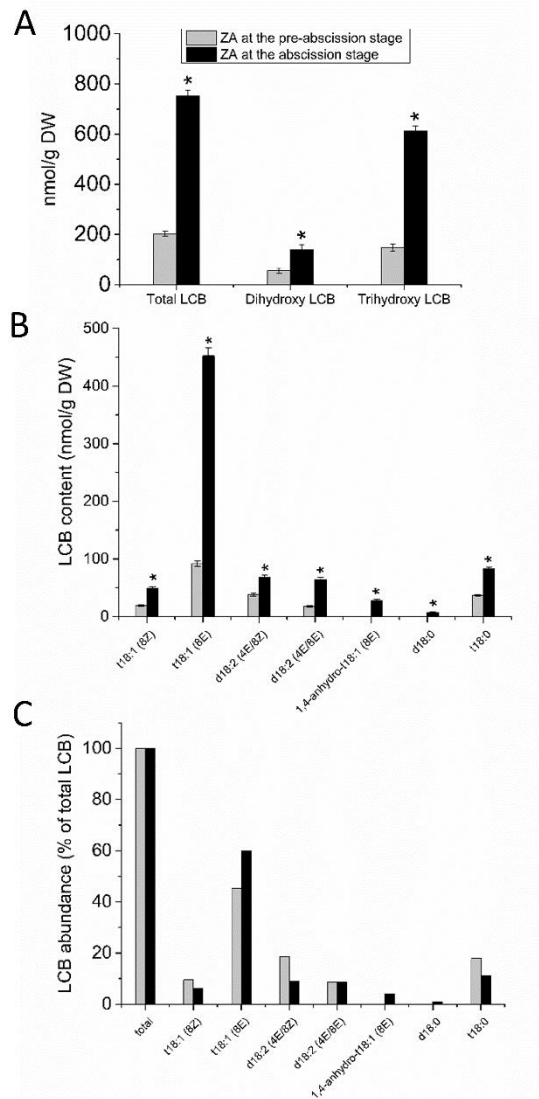


Figure 2 - Sphingolipid LCB content and composition of olive AZ during mature-fruit abscission. (A) The total LCB content and the relative content of dihydroxy or trihydroxy LCBs in total LCB extracts, (B) profiles of LCBs and (C) relative abundance of the different LCB from olive-fruit AZ at two different stages (pre-abscission and abscission). C-The content of every LCB species detected is expressed as a percentage of the total LCB content. Data are the means of three independent biological repeats. Statistically significant differences based on unpaired Student's t test at $P < 0.05$ are denoted by asterisks. t18:1((Z)-Glc, t18:1((E)-Glc, d18:2(4E/8Z)-Glc, d18:2(4E/8E)-Glc, d18:1(8Z)-Glc, d18:1(8E)-Glc, d18:1(8Z), d18:1(8E), d18:1(4E), d18:2(4E/8E), 1,4-anhydro-t18:1(8Z) and 1,4-anhydro-t18:0 were undetectable in both stages of the ZA.

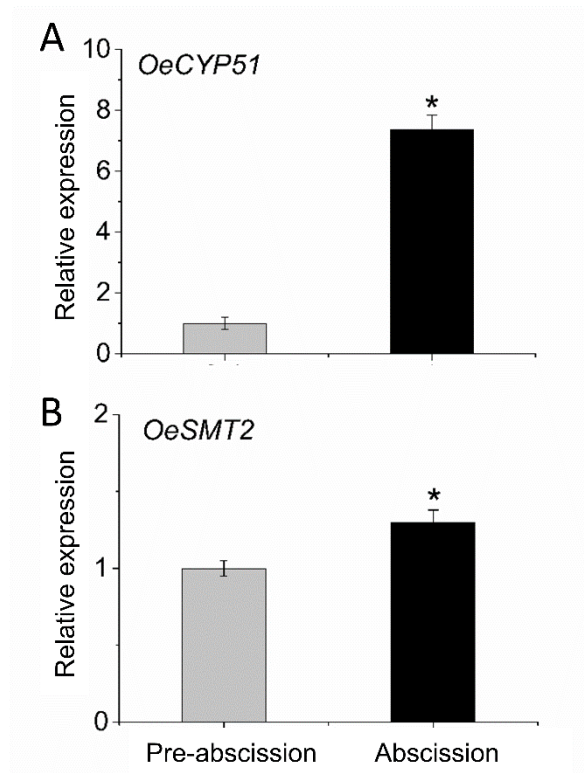


Figure 3- Transcript analysis by real-time PCR of (A) *OeCYP51* and (B) *OeSMT2* mRNAs in olive AZ during mature-fruit abscission. Total RNAs were isolated from olive-fruit AZs at two different stages (pre-abscission and abscission) and subjected to *qRT-PCR* analysis using *O. europaea* ubiquitine as an internal control. The data represent the mean values (\pm SEs) of duplicate experiments from three independent biological samples. Statistically significant differences based on unpaired Student's t test at $P < 0.05$ are denoted by asterisk.

Evolução da maturação de seis variedades nacionais de azeitona baseada em três metodologias de avaliação da cor

Graça Pacheco de Carvalho¹, Elsa Lopes¹, Francisco Mondragão-Rodrigues^{1,2}, Luís Alcino Conceição¹, Augusto Peixe² & Josefa Bernalte Garcia³

¹Instituto Politécnico de Portalegre, Portugal, gpcarvalho@esaelvas.pt

²ICAAM, Universidade de Évora, Portugal

³Universidad de Extremadura, Escuela de Ingenierias Agrárias, Espanha

Resumo

A avaliação da evolução da maturação da azeitona é fundamental para a determinação da data de colheita. Durante o período de maturação verificam-se diversas alterações nos frutos nomeadamente na sua cor. Este estudo tem como principal objetivo determinar a melhor data de colheita com base na evolução da cor dos frutos. Foram utilizados três métodos: IM – índice de maturação de Jaén (8 grupos de cor); IMS – índice de maturação simplificado (3 grupos de cor) e CI – *Colour Index* utilizando o sistema CIELab, em três fases de maturação. As seis variedades utilizadas foram “Galega Vulgar”, “Cobrançosa”, “Cordovil de Serpa”, “Azeiteira”, “Blanqueta” e “Carrasquenha de Elvas” em seis olivais da região do Alentejo. Os resultados obtidos permitem verificar uma correlação entre os métodos de avaliação da cor utilizados. O índice de maturação simplificado apresentou uma elevada correlação com o índice de maturação de Jaén, assim como o “*Colour Index*”, através da utilização de um método colorimétrico instrumental pelo sistema CIELab, com o índice de maturação de Jaén. Estes resultados permitem concluir que o método analítico instrumental comprova a eficácia do método (índice de maturação de Jaén) e que o índice de maturação simplificado permite ao olivicultor fazer uma avaliação expedita, mais fácil e mais rápida, da determinação da data de colheita.

Palavras-chave: Índice de maturação, índice de cor, data de colheita, olival, Alentejo.

Abstract

The evaluation of olives ripening evolution is crucial to determine the right harvesting date. During the ripening period there are several changes in the fruit, namely in their color. The main objective of this study was to determine the best date of harvest based on the olives color evolution. Three methods were used: IM - maturity index of Jaén (8 groups of color); IMS - simplified maturation index (3 color groups) and CI - Color Index using the CIELab system, in three phases of maturation. The six olive varieties studied were "Galega Vulgar", "Cobrançosa", "Cordovil de Serpa", "Azeiteira", "Blanqueta" and "Carrasquenha de Elvas" in six olive orchards of the Alentejo region. The results obtained allow verifying a correlation between the methods of color evaluation used. The simplified maturation index showed a high correlation with the maturity index of Jaén, as well as the "Color Index", through the use of an instrumental colorimetric method by the CIELab system, with the maturity index of Jaén. These results allow us to conclude that the instrumental analytical method proves the effectiveness of the method (Jaén maturity index) and that the simplified maturation index allows the olive grower to make a simple, quick and easy evaluation of the date of harvest.

Keywords: Ripening index, color index, harvesting date, olive orchard, Alentejo

Introdução

A avaliação da evolução da maturação da azeitona é fundamental para a determinação da data de colheita. Durante o período de maturação da azeitona ocorrem diversas modificações bioquímicas no fruto, muitas das quais expressas por alterações de coloração (Beltrán et al., 2004). O processo de amadurecimento pode ser observado visualmente nas variedades de azeitonas à medida que mudam gradualmente de cor, de verde-escuro a violeta e preto. A cor e a textura do endocarpo também mudam durante esses estágios, assim como a cor e as características sensoriais do azeite obtido (COI, 2011). Durante a maturação ocorrem importantes transformações químicas no interior da drupa, relacionadas com a síntese e conteúdo de substâncias orgânicas, sendo a formação de triglicéridos de particular importância na qualidade do azeite obtido. O conteúdo em azeite nas azeitonas é bastante variável e depende da variedade, das condições climáticas, dos recursos hídricos disponíveis e do momento da colheita (Di Giovacchino, 1998). O acompanhamento das alterações da cor ao longo do processo de maturação dos frutos tem sido descrito por diversos autores (Beltrán et al., 2004; Garcia e Yousfi, 2005; COI, 2011; Peres et al., 2012) constituindo-se como um bom indicador complementar para a determinação da data de colheita pelo produtor. Com efeito, a seleção inadequada da época de colheita da azeitona pode comprometer a quantidade e a qualidade comercial de muitos azeites virgens (Di Giovacchino, 1998; Dag et al., 2011; Peres et al. 2012 cit. García et al., 1996).

Em Portugal o conhecimento das cultivares locais está ainda incompleto, estando em curso trabalhos de prospeção de variedades locais autóctones nas Beiras, no Ribatejo e no Alentejo (Cordeiro et al., 2014). Inserido no projeto OLEAVALOR – caracterização de algumas das principais variedades de oliveira cultivadas no Alentejo em sistema de condução intensivo e regime de regadio, pretende-se com este trabalho contribuir para a determinação de um método simples e de fácil utilização na definição da data de colheita com base na avaliação da evolução da cor da azeitona ao longo da sua maturação. Os resultados apresentados sugerem a possibilidade dos produtores poderem utilizar um método mais simples de avaliação da cor dos frutos ao longo da maturação, devendo por isso, proceder-se à sua confirmação nos anos seguintes do projeto.

Material e Métodos

Material vegetal

Em seis olivais da região do Alentejo, alguns com duas parcelas distintas, foram recolhidas, de Outubro de 2016 a Janeiro de 2017, amostras das variedades “Galega Vulgar”, “Cobrançosa”, “Cordovil de Serpa”, “Azeiteira”, “Blanqueta” e “Carrasquenha de Elvas”. Por variedade, marcaram-se 5 repetições com 4 árvores, num total de 20 árvores, recolhendo-se 5 amostras. Os frutos foram colhidos aleatoriamente à altura do operador, nos quatro quadrantes de cada uma das árvores. Recolheram-se amostras de, aproximadamente, 1kg por repetição, num total de 5 kg em três datas distintas.

Avaliação da cor

Em laboratório, depois de homogeneizadas, separaram-se aleatoriamente 100 frutos saudáveis de cada variedade e classificaram-se de acordo com as classes dos índices de maturação: Índice de Maturação de Jaén (IM) que varia de 0 a 7 baseado na coloração da epiderme e do mesocarpo dos frutos segundo a metodologia e fórmula aplicada pelo IFAPA de Mengíbar, Jaén (COI, 2011) e Índice de Maturação Simplificado (IMS) que varia apenas de 1 a 3 classes de cor do fruto e da epiderme (Verde, Seminegra e Negra) (Peres et al., 2012). Na medição instrumental da cor utilizou-se um Colorímetro Minolta CR-300 obtendo-se as coordenadas L^* , a^* e b^* , onde L^* indica a luminosidade, a^* significa o eixo de cor verde a vermelho e b^* significa o eixo de cor amarelo a azul.

Determinou-se o CI (Colour Index) através da fórmula $CI = L^* (b^* - a^*)/100$ (Yousfi et al., 2006).

Tratamento Estatístico

Os resultados foram analisados por análise de variância usando o software *Statistica* v. 12 (*Statsoft*). As diferenças significativas foram estabelecidas a partir de um teste de Tukey ($p < 0,05$). Foram realizadas ainda outras análises estatísticas para avaliar as relações entre os diferentes índices de maturação. Para cada variedade realizou-se a regressão linear das médias obtidas definindo-se a respetiva reta e o coeficiente de determinação entre os três índices em estudos IM, IMS e CI.

Resultados e Discussão

A data de colheita e os fatores genotípicos (cultivar) tiveram uma influência altamente significativa em todos os parâmetros de cor (Quadros 1, 2 e 3).

Verifica-se um elevado coeficiente de variação, na primeira data de colheita, para todas as variedades e para todos os parâmetros em análise, o que indica uma grande variabilidade da cor das azeitonas nesta fase (Quadro 1). Nas restantes datas e para a maioria das variedades, esta variação vai diminuindo indicando uma maior homogeneidade da cor das azeitonas, verifica-se uma diminuição dos valores das médias de CI e um aumento dos valores dos índices IM e IMS em estudo. Resultados semelhantes foram obtidos por Barros et al. (2013), que observaram uma diminuição geral dos parâmetros de cor da fruta (L^* , a^* e b^*) ao longo do período de amadurecimento do fruto em três cultivares, Blanqueta, Galega e Cobrançosa, e por Peres et al. (2012) para os índices de maturação das cultivares Galega e Cobrançosa. Os valores do IM e do IMS respetivamente, das variedades de Azeitona- 3,16 e 4,23; 3,26 e 3,90, Cobrançosa- 3,91; 3,98, Blanqueta- 3,63; 3,70 e Carrasquenha- 3,75; 3,79 na colheita são semelhantes ao referido por outros autores como valor indicador para a colheita (IM=3,5) (Ramos et al., 2008; Peres et al., 2012). As variedades Galega- 2,48 e Cordovil- 3,26 e 2,96 atingiram valores relativamente mais baixos.

Nos quadros 2 e 3 apresentam-se os resultados da Nested Design ANOVA, resultados univariados para cada variável dependente - Modelo sobre parametrizado Decomposição Tipo III e da comparação de médias do teste de Tukey, respetivamente, verificando-se a existência de diferenças significativas em todos os parâmetros de cor avaliados entre as datas de colheita de cada amostra para a maioria das variedades, com exceção das variedades Carrasquenha, Cobrançosa do olival da Boavista e Cordovil nos dois olivais, devido provavelmente à pouca diferença entre as datas de colheita nestes olivais. O número elevado de variedades, de olivais envolvidos e das atividades nos próprios olivais, dificultaram a realização de alguns trabalhos previstos neste estudo, nomeadamente, o cumprimento integral das datas de colheita inicialmente programadas.

De um modo geral verificam-se alterações significativas na cor dos frutos no final do período de crescimento da azeitona, entre outubro e dezembro, sendo por isso fundamental acompanhar a evolução da cor neste período. A diminuição dos valores do CI deve-se ao escurecimento dos frutos, chegando mesmo a atingir valores perto de zero (0,14) na Azeitona ou mesmo negativos (-0,87) na Cobrançosa, indicadores do desaparecimento dos tons vermelhos, verdes e amarelos com um aumento dos tons azuis e um escurecimento geral, característico dos frutos por acumulação de antocianinas (Roca e Minguez-Mosquera, 2001 cit. Dag et al. 2011). Os resultados obtidos por Yousfi et al. (2006) em azeitona 'Arbequina' e 'Picual' apresentam um decréscimo do CI ao longo da maturação assim como os trabalhos de Peres et al. (2012) nas variedades 'Galega Vulgar' e 'Cobrançosa'. Barros et al. (2013) também verificaram uma diminuição nos parâmetros de cor (L^* , a^* , C^* e H^*) ao longo da maturação para as variedades Blanqueta, Cobrançosa

e Galega. No que respeita aos resultados obtidos pelos diferentes parâmetros IM, IMS e CI, constata-se uma concordância entre estes relativamente às diferentes variedades em estudo, que se pode confirmar quando se estabeleceram as relações entre estes parâmetros (Figuras 1 e 2). Verificam-se valores do coeficiente de determinação entre o IMS e o CI ($R^2=0,8279$) e entre o IM e o CI ($R^2=0,8132$), inferiores a 0,90, já o valor do coeficiente de determinação entre o IM e o IMS ($R^2=0,9519$) indica uma forte relação entre estes dois métodos de avaliação da cor. Para cada uma das variedades em estudo, os coeficientes de determinação desta relação (resultados não apresentados) variaram entre 0,998 para a ‘Carrasquenha de Elvas’ e 0,885 para a ‘Cordovil de Serpa’, Peres et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes para as variedades ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’. Estes resultados indicam que o CI constitui um bom parâmetro a partir de um método instrumental de análise da cor e da sua evolução e ainda que o IMS pode ser utilizado pelos produtores para uma avaliação rápida do estado de maturação da azeitona sem necessidade de outros recursos.

Conclusões

Os resultados obtidos nesta primeira campanha do projeto, permitem verificar que o método analítico instrumental (Colour Index) permite comprovar a eficácia do método visual (índice de maturação de Jaén) (IM), baseado na avaliação da cor do fruto para a determinação da melhor data de colheita. O índice de maturação simplificado (IMS) pode permitir ao olivicultor fazer uma avaliação expedita, mais fácil e mais rápida, da determinação da data de colheita no campo. O número elevado de variedades e de olivais envolvidos neste estudo dificultaram a realização de algumas atividades inicialmente planeadas devendo-se confirmar estes resultados nas próximas campanhas.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo FEDER e por Fundos Nacionais, através do Programa Operacional Regional ALENTEJO 2020, Operação ALT20-03-0145-FEDER-000014 – “Valorização das Variedades de Oliveira Portuguesas (Oleavalor)”. Os autores agradecem aos proprietários dos olivais a possibilidade da realização deste estudo.

Referências

- Barros, A. L., Freire, L., Gonçalves, B., Bacelar, E., Gomes, S., Lopes, J. & Martins-Lopes, P., 2013. Evaluation of chemical and phenotypic changes in Blanqueta, Cobrançosa and Galega during olive fruits ripening. *Journal of Food*, 11 (2), 136-141.
- Beltrán, G., del Río, C., Sánchez, S. & Martínez L. 2004. Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. *J. Sci. Food Agric.* 84:1783-1790.
- Cordeiro, A., Inês, C. & Morais, N., 2014. Principais cultivares de Oliveira existentes em Portugal. Boas Práticas no Olival e no Lagar. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.)
- Di Giovacchino, 1998. Recolección de las aceitunas y extracción del aceite de oliva. *Química y Tecnología del Aceite de Oliva*, 1ª edición (25-30). Ed. Mundi-Prensa
- Dag, A., Kerem, Z., Yogeve, N., Zipori, I., Lavee, S. & Ben-David, E. 2011. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae* 127 (2011) 358-366.
- COI, 2011. Guide for the determination of the characteristics of oil-olives. INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL COI/OH/Doc. No 1 November 2011

- Garcia, J.M. e Yousfi M., 2005. Non-destructive and objective methods for the evaluation of the maturation level of olive fruit. *European Food Research & Technology*; Aug2005, Vol. 221 Issue 3/4, p538-541.
- Peres F., Ramos, A., Vitorino C., Gouveia C. , Ferreira-Dias S. & Martins L.L. , 2012. Avaliação da maturação em azeitona ‘Cobrançosa’ e ‘Galega Vulgar’ com recurso a diferentes metodologias baseadas na cor dos frutos. VI Simpósio Nacional de Olivicultura, Mirandela
- Ramos, A., Peres, M.F., Simões-Lopes, P. & Pinheiro-Alves, M.C. 2008. Olive ripening and harvest time in Portuguese cultivars of “Beira Interior” region. *Acta Hort.* 791: 693-696.
- Yousfi, K., Cert, R.M. & García, 2006. Changes in quality and phenolic compounds of virgin olive oils during objectively described fruit maturation. *J.M. European Food Research & Technology* (2006) 223: 117.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Valores da Média, Desvio-Padrão (D.P.) e Coeficiente de variação (CV) do Índice de Maturação (IM), Índice de Maturação Simplificado (IMS) e do Colour Index (CI) por olival, variedade e data de colheita

Olival	Variedade	Data	IM	IMS	CI
			Media		
T Figueiras	Azeiteira	07.10.16	0,806a	1,226a	31,124a
T Figueiras	Azeiteira	14.11.16	3,162b	3,258b	8,842b
T Figueiras	Cobrançosa	07.10.16	0,168a	1,000a	32,032a
T Figueiras	Cobrançosa	21.10.16	1,082b	1,158a	30,530a
T Figueiras	Galega	10.10.16	0,568a	1,166a	24,526a
T Figueiras	Galega	21.10.16	2,482b	2,874b	10,062b
H.Castros	Azeiteira	14.10.16	1,592a	1,846a	10,412a
H.Castros	Azeiteira	28.10.16	2,732b	3,080b	7,586a,b
H.Castros	Azeiteira	20.12.16	4,228c	3,900c	0,144b
H.Castros	Blanqueta	14.10.16	0,380a	1,056a	53,380a
H.Castros	Blanqueta	28.10.16	1,200b	1,222a	25,428b
H.Castros	Blanqueta	20.12.16	3,633c	3,703b	0,830c
H.Castros	Carrasquenha	17.10.16	1,116a	1,210a	29,298a
H.Castros	Carrasquenha	28.10.16	1,184a	1,202a	30,984a
H.Castros	Carrasquenha	06.01.17	3,750b	3,793b	0,563b
Boavista	Cobrançosa	19.10.16	1,380a	1,534a	26,53a
Boavista	Cobrançosa	03.11.16	1,522a	1,680a	25,41a
Boavista	Cobrançosa	09.01.17	3,906b	3,980b	-0,87b
Belmeque	Cordovil	23.11.16	2,794a	3,218a	6,02a
Belmeque	Cordovil	29.11.16	3,262a	3,154a	9,92a
Vila Nova	Cordovil	23.11.16	2,454a	2,920a	10,20a
Vila Nova	Cordovil	29.11.16	2,962a	3,276a	6,25a

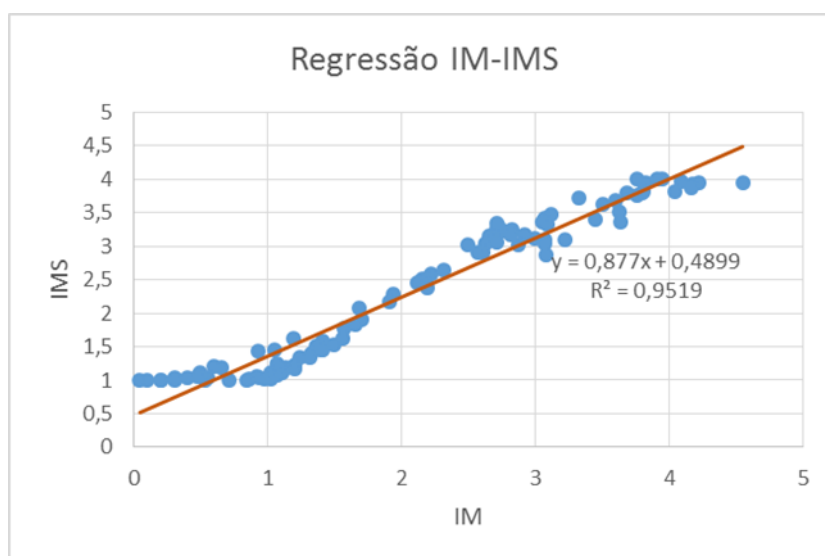
Nota: letras diferentes para cada variedade e para cada parâmetro (coluna) apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$)

Quadro 2 - Resultados Univariados da *Nested design ANOVA*, considerando IM, IMS e CI como variáveis dependentes e Olival, Variedade e Data como variáveis independentes (fatores)

Nested Design ANOVA													
Resultados univariados para cada DIV Modelo sobre paremetrizado Decomposição Tipo III													
	IM (Índice Maturação)					IMS (Ind. Maturação Simplificado)				CI (Colour Index)			
Efeito	G.L.	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Interc.	1	457,34	457,34	7275,73	0,00	564,66	564,66	7755,89	0,00	23823,11	23823,11	1693,79	0,00
Olival	4	28,78	7,20	114,47	0,00	22,35	5,59	76,75	0,00	2623,35	655,84	46,63	0,00
Variedade	4	18,86	4,71	75,00	0,00	15,38	3,85	52,83	0,00	4150,47	1037,62	73,77	0,00
Data Colheita (Oliv*Var)	13	99,88	7,68	122,23	0,00	78,21	6,02	82,64	0,00	11945,31	918,87	65,33	0,00
Erro	84	5,28	0,06			6,12	0,07			1181,46	14,06		
Total	105	158,41				128,00				21450,80			

Quadro 3 – Comparação de médias dos três parâmetros em estudo entre datas de colheita para cada uma das variedades

Olival	Variedade	Data	IM			IMS			CI		
			Media	D.P.(+/-)	CV(%)	Media	D.P.(+/-)	CV(%)	Media	D.P.(+/-)	CV(%)
T Figueiras	Azeitira	07.10.16	0,806	0,299	37%	1,226	0,297	24%	31,124	7,00656	23%
T Figueiras	Azeitira	14.11.16	3,162	0,284	9%	3,258	0,181	6%	8,842	3,144	36%
T Figueiras	Cobrançosa	07.10.16	0,168	0,100	60%	1,000	0,000	0%	32,032	2,017	6%
T Figueiras	Cobrançosa	21.10.16	1,082	0,179	17%	1,158	0,157	14%	30,530	1,534	5%
T Figueiras	Galega	10.10.16	0,568	0,237	42%	1,166	0,162	14%	24,526	3,176	13%
T Figueiras	Galega	21.10.16	2,482	0,261	11%	2,874	0,326	11%	10,062	4,159	41%
H.Castros	Azeitira	14.10.16	1,592	0,232	15%	1,846	0,327	18%	10,412	4,478	43%
H.Castros	Azeitira	28.10.16	2,732	0,366	13%	3,080	0,449	15%	7,586	4,891	64%
H.Castros	Azeitira	20.12.16	4,228	0,191	5%	3,900	0,051	1%	0,144	0,622	433%
H.Castros	Blanqueta	14.10.16	0,380	0,130	34%	1,056	0,081	8%	53,380	1,735	3%
H.Castros	Blanqueta	28.10.16	1,200	0,122	10%	1,222	0,137	11%	25,428	2,869	11%
H.Castros	Blanqueta	20.12.16	3,633	0,152	4%	3,703	0,08	2%	0,830	0,667	80%
H.Castros	Carrasquenha	17.10.16	1,116	0,225	20%	1,210	0,202	17%	29,298	2,731	9%
H.Castros	Carrasquenha	28.10.16	1,184	0,167	14%	1,202	0,186	15%	30,984	3,295	11%
H.Castros	Carrasquenha	06.01.17	3,750	0,065	2%	3,793	0,031	1%	0,563	0,709	126%
Boavista	Cobrançosa	19.10.16	1,380	0,467	34%	1,534	0,508	33%	26,53	6,76	25%
Boavista	Cobrançosa	03.11.16	1,522	0,413	27%	1,680	0,538	32%	25,41	7,28	29%
Boavista	Cobrançosa	09.01.17	3,906	0,127	3%	3,980	0,028	1%	-0,87	0,60	-69%
Belmeque	Cordovil	23.11.16	2,794	0,193	7%	3,218	0,164	5%	6,02	2,05	34%
Belmeque	Cordovil	29.11.16	3,262	0,267	8%	3,154	0,226	7%	9,92	2,88	29%
Vila Nova	Cordovil	23.11.16	2,454	0,247	10%	2,920	0,362	12%	10,20	2,71	27%
Vila Nova	Cordovil	29.11.16	2,962	0,243	8%	3,276	0,277	8%	6,25	3,05	49%

**Figura 1** - Relação entre o IM e o IMS da média de todos os frutos analisados, respetiva reta de regressão (Y) e coeficiente de determinação (R^2)

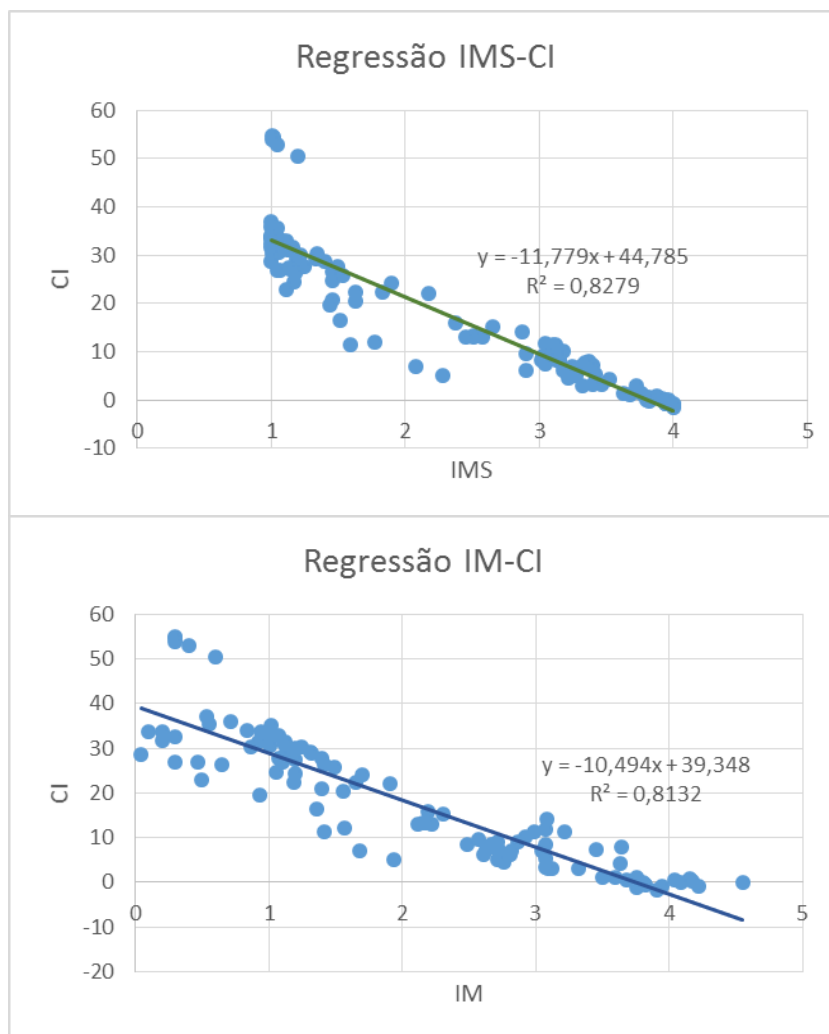


Figura 2 - Relação entre o IMS e o CI e entre o IM e o CI da média de todos os frutos analisados, respetiva reta de regressão (Y) e coeficiente de determinação (R^2)

Sessão Temática: Rega e Fertilização

Uso del riego subterráneo y riego parcial de raíces para mejorar la eficiencia productiva y económica del agua en limonero temprano

Pérez-Pérez J.G.^{1*}, Robles J.M.¹, Quinto V.B.¹, Lozano J.L.¹, García-García, J.¹, Botía P.¹

¹Equipo de Riego y Fisiología del Estrés, Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), c/Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia). *e-mail: juang.perez@carm.es

Resumen

La escasez de recursos hídricos que sufre la cuenca mediterránea obliga a la búsqueda de nuevas estrategias para mejorar la eficiencia en el uso del agua, manteniendo la rentabilidad en el cultivo de cítricos. En la actualidad existen sistemas (riego subterráneo) y estrategias (RDC y PRD) de manejo del riego que han demostrado su eficacia en la optimización de los recursos hídricos. El objetivo principal de este estudio fue evaluar si la combinación de estrategias de manejo del riego (riego subterráneo y/o PRD) puede mejorar la productividad del agua en el cultivo del limón sin afectar a la rentabilidad del cultivo. El estudio se llevó a cabo durante 4 años en árboles 20 de edad de limonero 'Fino 49' injertado sobre *Citrus macrophylla* Wester. El riego se aplicó mediante dos líneas portagoteros en dos sistemas: superficial (SUP) y subterráneo (SUB), y en ambos casos se aplicaron dos tratamientos de riego, control (C) y riego parcial de raíces (PRD). La dosis del tratamiento C se calculó utilizando los coeficientes de cultivo específicos para cada sistema de riego. Al tratamiento de PRD se le aplicó un 75% ETc en el lado regado, y éste se alternó cada 28 días, durante el periodo comprendido entre mediados de abril hasta primeros de agosto, aplicando el resto del ciclo de cultivo el 100% ETc de forma convencional. La combinación de riego subterráneo y PRD consiguió un ahorro medio de agua del 21%, frente al 10% y 14% de los tratamientos SUP-PRD y SUB-C respectivamente. Durante la aplicación del PRD, se observaron cambios en el estado hídrico del cultivo, sufriendo en ocasiones un mayor nivel de estrés los árboles del sistema subterráneo. El PRD produjo un descenso del crecimiento del tronco similar en ambos sistemas de riego. Los tratamientos SUP-PRD y SUB-C aumentaron la productividad del agua y la rentabilidad del cultivo, respecto al tratamiento SUP-C, debido a un aumento de la producción y mejora de la precocidad. Sin embargo, el tratamiento SUB-PRD también aumentó la productividad del agua (similar a SUP-PRD y SUB-C) manteniendo la rentabilidad, pero afectó negativamente a la precocidad y al tamaño del fruto.

Palabras clave: Cítricos, relaciones hídricas, riego deficitario, producción, análisis de costes.

Abstract

The shortage of water resources in the Mediterranean basin has forced the search for new strategies to improve water use efficiency, while maintaining the profitability, in citrus crops. Currently there are systems (subsurface irrigation) and strategies (RDC and PRD) of irrigation management that have demonstrated their efficacy in the optimization of the water resources. The main objective of this study was to evaluate whether the combination of irrigation management strategies (subsurface irrigation and/or PRD) can enhance water productivity in the lemon crop without affecting profitability. The study was carried out over 4 years in 20-year-old 'Fino 49' lemon trees grafted on *Citrus*

macrophylla Wester. The irrigation was applied through two drip lines in two systems: surface (SUP) and subsurface (SUB), and in both cases two irrigation treatments were applied, control (C) and partial rootzone drying (PRD). The dose of the C treatment was calculated using specific crop coefficients for each irrigation system. The PRD treatment supplied 75% ETC in the irrigated side, which was alternated every 28 days, during the period from the middle of April to early August, applying during the rest of the crop season the conventional 100% ETC. The combination of subsurface irrigation and PRD achieved a water saving of 21%, compared to 10% and 14% for SUP-PRD and SUB-C, respectively. During the application of PRD, changes in the crop water status were observed, the level of stress sometimes being greater than in trees from the subsurface system. The SUP-PRD and SUB-C treatments increased the water productivity and the profitability of the crop, with respect to the SUP-C treatment, due to an increase in yield and enhancement of the precocity. However, the SUB-PRD treatment also increased the water productivity (similarly to SUP-C and SUB-C) while maintaining the profitability, but affected negatively the precocity and the fruit size.

Keywords: Citrus, water relations, deficit irrigation, yield, costs analysis.

Introducción

El cultivo de limón para el mercado en frescos es uno de los cultivos más importantes a nivel socioeconómico en el sureste español. Los principales parámetros de calidad del limón que determinan su precio son el calibre (58-67 mm) y la precocidad, en el caso de las variedades tempranas. En esta región, caracterizada por un clima semiárido, con veranos calurosos y secos, la escasez de recursos hídricos representa el principal factor limitante de la producción de este cultivo. Por este motivo resulta de vital importancia la búsqueda de nuevas estrategias de manejo del cultivo que permitan optimizar los recursos hídricos y mantengan su rentabilidad.

Una tecnología de riego empleada desde los años 80, y que viene siendo popularmente conocida como el sistema de riego más eficiente es el riego por goteo subterráneo (Camp, 1998). En este sistema de riego el agua se aplica en profundidad (30-40 cm) directamente en la zona de mayor concentración de raíces, induciendo numerosos beneficios al cultivo como la reducción de las pérdidas por evaporación y lixiviado de nutrientes y favorecer una distribución más uniforme del agua y de los fertilizantes en el suelo (Camp, 2000). En el caso del cultivo del limón, un estudio publicado recientemente ha mostrado que el uso de este sistema ha conseguido un ahorro medio de agua del 19%, sin afectar ni a la producción ni a la calidad del fruto (Robles et al., 2016).

Por otro lado, el uso de nuevas estrategias de manejo del riego, como el riego parcial de raíces (PRD), han sido propuestas como prácticas agronómicas para conseguir un uso más eficiente de los escasos recursos hídricos disponibles (Stoll et al., 2000). Esta técnica está basada en la aplicación alternada de ciclos de sequedad/humedad en la zona radicular, con el propósito de aplicar agua suficiente para prevenir o atenuar cualquier déficit hídrico en la parte aérea, mientras que parte de las raíces son expuestas a condiciones de sequedad del suelo, para estimular la producción de señales químicas y su transmisión a la parte aérea, para restringir el uso del agua y conseguir así hacer un uso más eficiente del agua (Dodd et al., 2006). El uso continuado del PRD en árboles de limonero, comparado con el riego deficitario convencional (aplicando la misma dosis de agua), supuso una mejora significativa de la eficiencia en el uso del agua (Pérez-Pérez et al., 2012). Sin embargo, en otro estudio realizado en naranjo y donde se aplicó PRD durante todo el ciclo de cultivo (alternando el lado regado cada 14 días) el rendimiento no se vio afectado, pero sí que observó una disminución del tamaño del fruto (Hutton &

Loveys, 2011), sugiriendo que esta estrategia de riego solo podría ser útil para cultivos destinados a la industria de zumos. Por otro lado, estudios recientes han demostrado que el uso de largos ciclos de PRD (ciclos de 28 días), y solo durante las primeras etapas de crecimiento del fruto, han conseguido mejorar el estado hídrico del fruto durante el posterior periodo de recuperación, consiguiendo un efecto positivo sobre la precocidad y el tamaño final del fruto (Pérez-Pérez et al., 2016).

A la vista de que en la actualidad existen tecnologías y estrategias de manejo del riego que pueden aumentar la productividad del agua, el objetivo principal de este estudio fue evaluar si el uso combinado de tecnologías y estrategias de riego (riego subterráneo y PRD) puede mejorar la productividad del agua en el cultivo del limonero temprano sin afectar a la rentabilidad del cultivo.

Material y métodos

El ensayo se llevó a cabo durante cuatro campañas consecutivas (2013-2016) en una finca experimental del IMIDA localizada en Torre Pacheco (Murcia), en árboles de limonero (*Citrus limon* (L.) Burm. fil.) injertados sobre el portainjerto *Citrus macrophylla* Wester, con un marco de plantación de 3 × 8 m. En este caso el riego se aplicó mediante dos sistemas por goteo, superficial (SUP) y subterráneo (SUB). En ambos casos se utilizaron dos líneas portagoteros (UniRAM™, diseñada específicamente para sistemas de riego por goteo, Netafim) por cada fila de árboles, situadas a cada lado a 1 m del tronco, con 6 goteros autocompensantes, anti-sifón y anti-drenantes por árbol a 1 m de separación. En el sistema de riego subterráneo la tubería se enterró a 40 cm en el año 2007. La dosis de riego de los árboles bien regados se calculó semanalmente, de forma independiente para cada sistema de riego, estimando la evapotranspiración del cultivo (ET_c), usando la siguiente ecuación: $ET_c = ET_o \times K_c \times K_{sub}$, donde la ET_c viene expresada en mm, la ET_o es la evapotranspiración de referencia según Penman Monteith expresada en mm, la K_c es el coeficiente de cultivo y K_{sub} es el coeficiente utilizado para corregir la dosis de riego solo en el sistema SUB. Los valores de la ET_o se obtuvieron de una estación ubicada en la propia parcela experimental, y los de K_c utilizados fueron para árboles de limonero temprano injertado sobre *C. macrophylla*, siendo ambos parámetros obtenidos del SIAM-IMIDA (<http://siam.imida.es>). El K_{sub} se obtuvo en años anteriores siguiendo los criterios de programación descritos por Robles et al. (2016), y los valores utilizados por periodos fenológicos han sido: 0.6 – parada vegetativa, brotación-floración; 0.75 fase I; 0.85-1 fase II, 1 - fase III hasta 1^{er} corte; 0.8 – fase III hasta 2^o corte. La cantidad media de fertilizante anual aplicada fue de 300 UF de N, 100 UF de P₂O₅, 180 UF de K₂O, 5 UF de MgO y 100 g por árbol de quelato de Fe EDDHA. Se han aplicado 2 tratamientos de riego en cada sistema de riego: Control (100% ET_c) y PRD, el cual recibió el 75% ET_c durante el periodo de mayor crecimiento radicular (desde mediados de abril hasta primeros de agosto) alternando el lado regado cada 28 días y el 100% ET_c durante el resto del ciclo de forma convencional.

El control del estado hídrico del cultivo se llevó a cabo midiendo periódicamente el potencial hídrico de tallo al mediodía (Ψ_{tallos}) con una cámara de presión (modelo 3000, Soil Moisture Equipment Corp.). Para el control del crecimiento vegetativo se instalaron dendrómetros de banda permanente (modelo D1, UMS) y en momentos representativos del ensayo se tomó lectura del diámetro del tronco (*D*). Con estas lecturas se calculó el área de sección transversal del tronco con la ecuación $ASTT = \pi \times D^2 / 4$. La tasa de crecimiento absoluto del ASTT se calculó mediante la ecuación $TCA = (M_2 - M_1) / (t_2 - t_1)$, siendo *M* el valor de ASTT (mm²) y *t* el tiempo entre medidas (días). También se controló el peso de poda de cada árbol al finalizar cada ciclo de cultivo. El control de la cosecha se realizó en dos veces (o “cortes”), retirando en el primer corte los frutos que superaron

el calibre comercial ($\varnothing > 58$ mm). En cada corte, se pesaron y contaron todos los frutos de cada árbol y también se calculó el peso medio de fruto. La eficiencia productiva en el uso del agua (EPUA) se calculó como la relación entre la cosecha total y el agua de riego anual aplicada en cada tratamiento.

Para realizar el estudio económico comparativo entre los diferentes tratamientos de riego aplicados se ha utilizado la contabilidad de costes (Pérez-Pérez et al., 2010). Para ello se ha establecido para cada tratamiento de riego una plantación tipo de 10 ha, considerando las prácticas del cultivo las típicas de la zona. El precio del agua de riego utilizado es el de los últimos 4 años (2013-2016) y ha sido de 0,22 € m⁻³ (agua procedente del Trasvase Tajo-Segura). Respecto al precio del limón, se ha aplicado el precio medio del momento de cada corte, siendo de 0,41 € kg⁻¹ y 0,22 € kg⁻¹ para el 1^{er} y 2^o corte respectivamente (precio medio de 5 años, 2010-2014; CARM, 2016). Respecto al apartado de costes, las diferencias entre tratamientos sólo se deben a los *costes diferenciales* que son: la inversión y la correspondiente amortización de la *red de riego*, al *agua de riego* y a la *energía eléctrica* asociada al riego. Además, el *coste medio* para cada tratamiento, se ha obtenido a partir de la suma de los *costes diferenciales* y de los *costes comunes* propios del cultivo García-García (2014). El *Margen Neto* (Ballester, 2000), se ha obtenido como la diferencia entre la *corriente de ingresos* y el *coste medio*. La *eficiencia económica en el uso del agua* (EEUA) se ha calculado como el *margen neto* generado por m³ de agua de riego aplicada (€ m⁻³) (García-García et al., 2013).

El diseño experimental fue de tres bloques al azar, con dos árboles controlados por tratamiento y bloque. El análisis estadístico consistió en un ANOVA bifactorial formado por dos factores: sistema de riego (SUP y SUB) y estrategia de riego (Control y PRD). Para ello se utilizó el paquete estadístico Statsgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc.). Para la separación de medias se aplicó el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$).

Resultados y discusión

Siguiendo los criterios de programación del riego, indicados en el material y métodos, la dosis de riego media aplicada durante los cuatro años de ensayo en árboles de limonero temprano bien regados del sistema superficial (SUP-C) fue de 680 mm (tabla 1). En el caso de los árboles del tratamiento SUB-C, y utilizando los Kc específicos para riego subterráneo, el volumen de riego medio disminuyó un 14% respecto al tratamiento SUP-C, atribuyéndose este menor volumen a la reducción por pérdidas por evaporación. A nivel de planta, la aplicación del riego a través de ambos sistemas mostró ligeras diferencias en el estado hídrico del cultivo durante los meses de máxima demanda (julio-agosto), con valores medios de Ψ_{tallo} de -1.2 MPa y -1.4 MPa para SUP-C y SUB-C respectivamente (fig. 1). Sin embargo, como se ha observado en estudios anteriores, es posible estas diferencias no se deban a un déficit hídrico en el suelo en el sistema subterráneo (Robles et al., 2016). Respecto al crecimiento vegetativo, el efecto del sistema de riego solo produjo alteraciones en el crecimiento del tronco durante el periodo de agosto-diciembre del año 2014 (tabla 2), aunque no afectaron significativamente al peso de poda (tabla 3). A nivel productivo, el sistema de riego subterráneo en condiciones control demostró ser un sistema eficiente en el uso del agua en limonero, como se puede observar en la mejora significativa en la eficiencia productiva en el uso del agua (EPUA) (29% mayor) respecto al sistema de riego superficial (SUP-C) (tabla 3). El ahorro de agua de riego no afectó negativamente al rendimiento, es más, se observó un ligero aumento del rendimiento total (15% mayor) y una mejora de la precocidad (15% más en la cosecha del primer corte) (tabla 3).

Por otro lado, la aplicación de la estrategia de PRD en ambos sistemas de riego supuso un ahorro de la dosis de riego del 10% en SUP y del 21% SUB, respecto al tratamiento de referencia (SUP-C) (tabla 1). Durante el periodo de déficit hídrico (75% ETc, abril-agosto) largos ciclos de PRD (28 días) ocasionaron situaciones de estrés hídrico en el cultivo en ambos sistemas de riego, acentuándose hacia el final del periodo (fig. 1). No obstante, aunque los valores mínimos alcanzados de Ψ_{tallo} fueron ligeramente más negativos en el tratamiento SUB-PRD (≈ -1.5 MPa) que en el tratamiento SUP-PRD (≈ -1.4 MPa), los ciclos de PRD tuvieron un menor impacto sobre el estado hídrico del cultivo en el sistema subterráneo, reflejado en una menor disminución del Ψ_{tallo} entre PRD y su tratamiento control ($\Delta\Psi_{\text{C-PRD}} = 0.22$ MPa en SUP y 0.13 MPa en SUB). Tras la finalización del periodo de déficit hídrico (mediados de agosto), y el restablecimiento del riego en ambos lados del sistema radicular, el estado hídrico de los árboles de PRD (en ambos sistemas de riego) se recuperó rápidamente, mostrando a los 7 días valores de Ψ_{tallo} similares a su respectivo tratamiento control (fig. 1). Respecto al crecimiento vegetativo, los ciclos de PRD provocaron una reducción parcial del crecimiento del tronco solo durante el periodo de déficit hídrico en los años 2015 y 2016, siendo similar en ambos sistemas de riego (tabla 3). Pese a ello, no tuvo una repercusión significativa sobre el crecimiento anual del tronco (tabla 3) ni sobre el peso de poda (tabla 4). Respecto a la respuesta productiva, el efecto del PRD sobre el rendimiento fue significativamente diferente según el sistema de riego empleado. La estrategia de PRD en el sistema superficial tuvo un impacto muy positivo sobre la precocidad y el rendimiento (21% mayor que SUP-C), como ha sido descrito en estudios previos (Pérez-Pérez et al., 2016). En cambio, en el sistema subterráneo la estrategia de PRD no tuvo un efecto significativo sobre la cosecha total ni sobre la precocidad. La estrategia de PRD ha producido un aumento significativo de la EPUA, pero similar en ambos sistemas de riego (tabla 3), por lo que la combinación de PRD y riego subterráneo no tuvo el efecto esperado. Este diferente comportamiento observado entre sistemas de riego, puede ser debido a que a menor dosis de riego aplicada en el tratamiento SUB-PRD, que provocó que los árboles de este tratamiento alcanzaran valores de Ψ_{tallo} próximos a los establecidos como críticos para evitar reducciones de calibre del fruto ($\Psi_{\text{tallo}} \approx -1.5$ MPa) (Pérez-Pérez et al., 2014), y por lo tanto, haya ralentizado el crecimiento del fruto.

Analizando los resultados obtenidos desde un punto de vista económico, hay que destacar que la reducción de la dosis de agua de riego aplicada fue el principal elemento diferenciador del *coste total* del cultivo en los diferentes tratamientos estudiados, respecto al tratamiento de referencia (SUP-C) (tabla 4). Este elemento ha permitido en el caso del sistema de riego subterráneo (SUB), que el sobrecoste de 0.45 € árbol⁻¹ debido al coste de instalación del sistema de tuberías enterrado (que supuso la realización de una zanja de 40 cm de profundidad), haya sido compensado por la reducción en el *coste del agua* y de la *energía eléctrica* (0.57 € árbol⁻¹), lo que se ha traducido en una pequeña disminución del *coste total* del cultivo de 0.12 € (tabla 4). Por otro lado, para la aplicación de la estrategia de PRD ha sido necesaria la duplicidad de parte del sistema de tuberías terciarias y válvulas para el control del lado regado en ambos sistemas de riego, que sólo ha supuesto un sobrecoste de 0.08 € árbol⁻¹ en el tratamiento SUP-PRD, y que junto con los gastos añadidos de la implantación del sistema de riego subterráneo, y un sobrecoste de 0.53 € árbol⁻¹ en el caso del tratamiento SUB-PRD. Sin embargo, y al igual que ha ocurrido en el tratamiento SUB-C, el ahorro de agua conseguido por la aplicación del PRD, en ambos sistemas de riego, ha reducido el *coste total* del cultivo en 0.31 € árbol⁻¹. Estos resultados indican que el sobrecoste que puede generar, respecto al sistema de riego convencional, tanto el uso del riego subterráneo como el PRD, y como su uso combinado,

es compensado con la reducción del *coste del agua y la energía eléctrica* que se obtiene por el ahorro de agua de riego conseguido.

Por otro lado, y desde el punto de vista de la rentabilidad del cultivo, el principal elemento diferenciador ha sido el impacto que han tenido los diferentes tratamientos de riego sobre la precocidad de la cosecha, debido al mayor precio del limón en este periodo (0.42 € kg⁻¹). En base a esto, y comparando los tratamientos de riego evaluados con el tratamiento de referencia (SUP-C), el tratamiento SUP-PRD fue el que mayor impacto tuvo sobre el *margen neto*, seguido del tratamiento SUB-C (tabla 4). En ambos casos, la mejora de la rentabilidad del cultivo se debió al mayor rendimiento obtenido en el primer corte de limón, lo que ha supuesto un aumento de beneficio de 9.39€ árbol⁻¹ en SUP-PRD y de 4.88 € árbol⁻¹ en SUB-C. En ambos tratamientos, la eficiencia económica en el uso del agua (EEUA) aumentó considerablemente, siendo otra vez el tratamiento SUP-PRD el que mayor rentabilidad económica mostró por m³ de agua de riego aplicada (0.71 € m⁻³ en SUP-PRD y 0.46 € m⁻³ en SUB-C) (tabla 4). En cambio, en el tratamiento que combinó riego subterráneo y PRD, la rentabilidad del cultivo descendió muy ligeramente (solo 0.78 € árbol⁻¹), ocasionado por el ligero descenso en la cosecha del primer corte (5% menos). Sin embargo, el ahorro importante de agua de riego obtenido (21%) permitió mantener una EEUA ligeramente superior al tratamiento SUP-C de 0.12 € m⁻³.

Conclusiones

En base a estos resultados podemos concluir que, tanto el uso del riego subterráneo (utilizando los K_{sub}) como la aplicación controlada de largos ciclos de PRD en el sistema de riego superficial, son alternativas potenciales para mejorar la eficiencia productiva y económica en el uso del agua, frente al manejo del riego de manera convencional en limonero temprano. No obstante, la combinación de ambas estrategias representa una alternativa viable, tanto a nivel productivo como de rentabilidad del cultivo, ante futuras situaciones escasez de recursos hídricos.

Referencias

- Ballesteros, E. 2000. Economía de la empresa agraria y alimentaria. Mundi-prensa, Madrid, 416 pp.
- Camp, C.R. 1998. Subsurface drip irrigation: a review. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 41(5):1353-1367.
- Camp, C.R., Lamm, F.R., Evans, R.G. & Phene, C.J. 2000. Subsurface drip irrigation: past, present, and future. In: *Proc. 4th Decennial National Irrigation Symposium*, 363-372. R.G. Evans, B.L. Benham, T.P. Trooieneds, eds. St. Joseph, Mich.: Am. Soc. Agric. Biol. Eng.
- CARM. 2016. Estadística agraria regional. <http://www.carm.es>.
- Dodd, I.C., Theobald, J.C., Bacon, M.A. & Davies, W.J. 2006. Alternation of wet and dry sides during partial rootzone drying irrigation alters root-to-shoot signalling of abscisic acid. *Functional Plant Biology*, 33:1081-1089.
- García-García, J. 2014. Análisis del sector del limonero y evaluación económica de su cultivo. IMIDA, Consejería de Agricultura y Agua, 142 pp.
- García-García, J., Contreras López, F., Usai, D. & Visani, C. 2013. Economic assesment and socio-economic evaluation of water use efficiency in artichoke cultivation. *Open Journal of Accounting*, 2013, 2:45-52.
- Hutton, R.J. & Loveys, B.R. 2011. A partial root zone drying irrigation strategy for citrus – Effects on water use efficiency and fruit characteristics. *Agricultural Water Management*, 98:1485-1496.

- Pérez-Pérez, J.G., Dodd, I.C. & Botía, P. 2012. Partial rootzone drying increases water-use efficiency of lemon Fino 49 trees independently of root-to-shoot ABA signalling. *Functional Plant Biology*, 39:366-378
- Pérez-Pérez, J.G., García-García, J., Robles, J.M. & Botía, P. 2010. Economic analysis of navel orange cv. 'Lane late' grown on two different drought-tolerant rootstocks under deficit irrigation in South-eastern Spain. *Agricultural Water Management*, 97:157-164.
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M. & Botía, P. 2014. Effects of deficit irrigation in different fruit growth stages on 'Star Ruby' grapefruit trees in semi-arid conditions. *Agricultural Water Management*, 133:44-54.
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Botía, P., Dodd, I.C. & Quinto, V. More cash per drop: Partial rootzone irrigation increased water use efficiency compared with conventional deficit irrigation by enhancing fruit water status in 'Fino 49' lemon trees. Libro de comunicaciones del XIII Simposio Hispano-Portugués de Relaciones Hídricas en las Plantas, Pamplona, Septiembre 2016.
- Robles, J.M., Botía, P. & Pérez-Pérez, J.G., 2016. Subsurface drip irrigation affects trunk diameter fluctuations in lemon trees, in comparison with surface drip irrigation. *Agricultural Water Management* 165:11-21.
- Stoll, M., Loveys, B.R. & Dry, P.R., 2000. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. *J.Exp. Bot.*, 51:1627-1634.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el INIA a través del proyecto RTA2012-00102-00-00 y por los contratos FIT a través del programa FEDER-80%. Juan G. Pérez-Pérez también agradece al INIA su contrato postdoctoral INIA-Doc CCAA, y al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad su contrato postdoctoral "Ramón y Cajal".

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Valores anuales de evapotranspiración de referencia (ET_o), precipitación (P) y de agua aplicada para ambos sistemas de riego (superficial – SUP y subterráneo – SUB) y estrategias de riego (Control – C y riego parcial de raíces – PRD) durante el periodo experimental (2013-2016).

		2013	2014	2015	2016	Media
ET _o (mm)		1276	1329	1287	1266	1289
P (mm)		174	166	257	370	242
Agua aplicada (mm)						
SUP	C	730	708	639	642	680
	PRD	698	637	554	567	614
SUB	C	607	605	575	546	583
	PRD	591	552	502	501	536

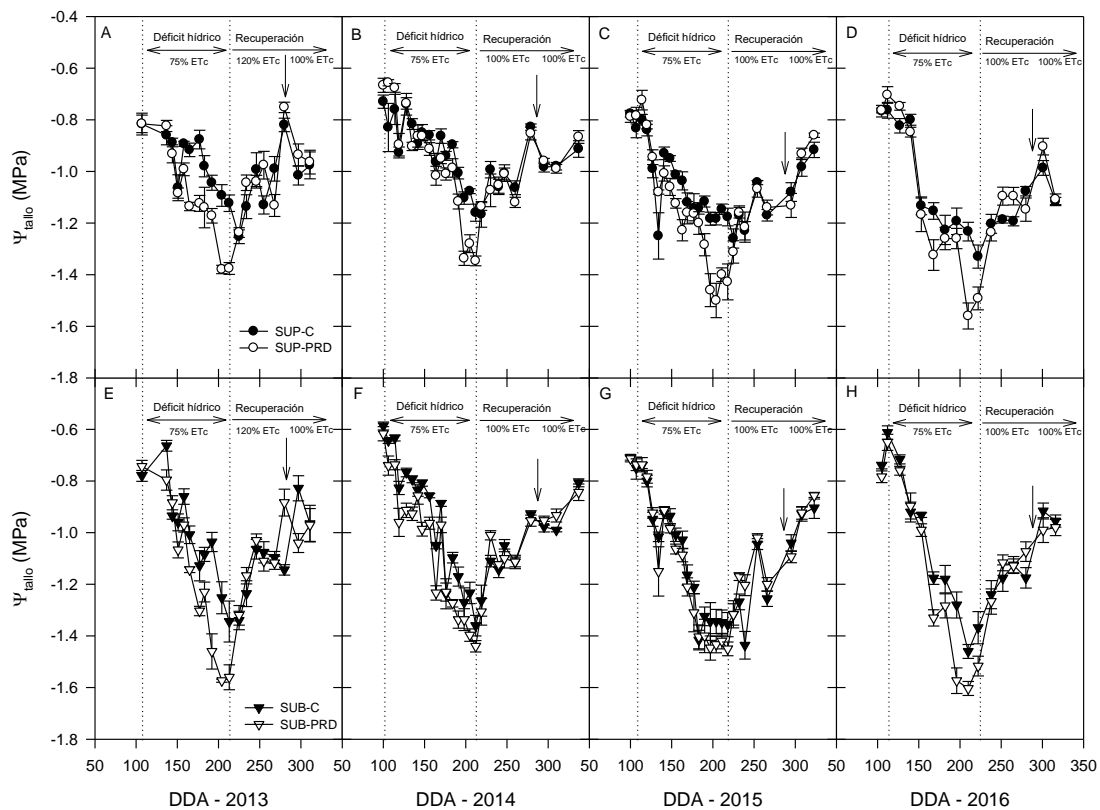


Figura 1 – Evolución estacional del potencial hídrico de tallo (Ψ_{tallo}) para ambos para ambos sistemas de riego (superficial – SUP y subterráneo – SUB) y estrategias de riego (Control – C y riego parcial de raíces – PRD) durante el periodo experimental (2013-2016). Las flechas indican el momento del primer corte de cosecha.

Tabla 2 - Tasa de crecimiento absoluta de la sección del área transversal del tronco (AGR_{ASTT}) para ambos sistemas de riego (superficial – SUP y subterráneo – SUB) y estrategias de riego (Control – C y riego parcial de raíces – PRD) durante los años 2014, 2015 y 2016. * y ‘ns’ indican diferencias significativas a $p < 0,05$ y no significativas respectivamente. Letras diferentes dentro de cada columna y año indican diferencias significativas a $p < 0,05$ según el test de Duncan. “D.H.” periodo de déficit hídrico (abril agosto) y “Recup.” periodo de recuperación (agosto-diciembre).

		TCA_{ASTT} ($mm^2 \text{ día}^{-1}$)								
		2014			2015			2016		
		D.H.	Recup.	Total	D.H.	Recup.	Total	D.H.	Recup.	Total
SUP	C	1,28	8,18	4,97	3,13	6,33	4,75	2,86	3,51	3,28
	PRD	1,19	8,91	5,32	1,55	7,54	4,58	2,28	3,68	3,17
SUB	C	0,58	5,75	3,35	1,92	6,29	4,13	2,68	3,48	3,19
	PRD	0,13	5,50	3,00	0,99	5,57	3,31	0,88	3,13	2,32
Sistema		ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Tratamiento		ns	ns	ns	*	ns	ns	*	ns	ns
Sist. × Trat.		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Tabla 3 - Parámetros productivos y productividad del agua (P.A.) para ambos sistemas (superficial – SUP y subterráneo – SUB) y estrategias de riego (Control – C y riego parcial de raíces – PRD) medios durante el periodo experimental (2013-2016). * y ‘ns’ indican diferencias significativas a $p < 0,05$ y no significativas respectivamente. Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas a $p < 0,05$ según el test de Duncan.

2013-2016		Cosecha 1 ^{er} Corte ($kg \text{ árbol}^{-1}$)	Cosecha 2 ^o Corte ($kg \text{ árbol}^{-1}$)	Cosecha total ($kg \text{ árbol}^{-1}$)	Peso de poda ($kg \text{ árbol}^{-1}$)	EPUA ($kg \text{ m}^{-3}$)
SUP	C	70,2 b	59,3	129,5 b	17,9	7,9 b
	PRD	85,1 a	71,3	156,4 a	19,6	10,6 a
SUB	C	81,0 ab	61,4	142,4 ab	22,1	10,2 a
	PRD	66,4 b	61,5	128,0 b	21,3	9,9 a
Sistema		ns	ns	ns	ns	ns
Tratamiento		ns	ns	ns	ns	*
Sist. × Estr.		*	ns	*	ns	*

Tabla 4 – Coste diferencial, coste total, ingreso bruto, margen neto y eficiencia económica en el uso del agua (EEUA) medios anuales para ambos sistemas (superficial – SUP y subterráneo – SUB) y estrategias de riego (Control – C y riego parcial de raíces – PRD) durante el periodo experimental (2013-2016).

2013-2016		Coste diferencial ($€ \text{ árbol}^{-1}$)	Coste total ($€ \text{ árbol}^{-1}$)	Ingreso bruto ($€ \text{ árbol}^{-1}$)	Margen neto ($€ \text{ árbol}^{-1}$)	EEUA ($€ \text{ m}^{-3}$)
SUP	C	4,57	31,00	41,53	10,53	0,64
	PRD	4,27	30,69	50,61	19,92	1,35
SUB	C	4,45	30,88	46,29	15,41	1,10
	PRD	4,26	30,68	40,43	9,75	0,76

Red de dispositivos de bajo coste para la monitorización de parámetros ambientales relacionados con la gestión del agua y la energía en riego de hortícolas

Francisco Franco Martínez¹, Martin John Oates¹, Manuel Ferrández-Villena García¹, José Miguel Molina Martínez¹, Antonio Fernández López¹, Antonio Ruiz Canales¹

¹ Departamento de Ingeniería, Universidad Miguel Hernández, Crta de Beniel km. 3,2 C.P.: 03312 Orihuela, Alicante, e-mail: acanales@umh.es

² Grupo de Investigación de Ingeniería Agromótica y del Mar. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII nº 48 C.P. 30202, Cartagena, Murcia, España, e-mail: josem.molina@upct.es

Resumen

Las actuales tecnologías para acceder a redes de áreas locales y metropolitanas, son a menudo inapropiadas para instalaciones a gran escala en el entorno agrícola. El uso de transductores extendidos de bajo coste permitiría el desarrollo de redes malladas en el rango de 10 m a 10 km. Se usarían baterías de coste y consumo bajos, los nodos funcionarían con energía solar y se cubrirían grandes áreas de zonas agrícolas (potencialmente muchos miles de hectáreas). Es posible también interconectar esta red a redes convencionales en puntos clave dentro de la malla para permitir acceso remoto de datos y gestión. Teniendo en cuenta lo anterior, se presenta una red de conexión entre nodos que permite monitorizar grandes extensiones de terreno agrícola para la gestión del agua y la energía en instalaciones de riego en horticultura. La red recogería valores de temperatura y humedad ambientales y del suelo que posteriormente son recopilados y transmitidos de forma inalámbrica para su posterior procesamiento. Además, puede actuar alternativamente activando válvulas, bombas, motores y todos aquellos elementos necesarios para el funcionamiento de una instalación de riego.

La red interconecta nodos constituidos por un microcontrolador y un circuito electrónico que permite la toma de datos, transmisión y almacenamiento de información entre otros atributos. El sistema funciona durante largos períodos de tiempo, por lo que es fundamental la gestión de la energía. Se emplea un panel fotovoltaico de dimensiones reducidas y una batería para alimentar toda la red mediante la implementación de softwares para la reducción del consumo. Se ha de asegurar una comunicación robusta y estable, la flexibilidad de poder añadir nodos a la red a placer, buscar la mejor combinación para ahorro energético y accesibilidad entre otros.

Se describen en esta comunicación algunas características tecnológicas y resultados iniciales de este prototipo para su uso en la gestión del riego en horticultura.

Palabras claves: Gestión de datos, nodos, FDR, red de comunicaciones, horticultura de precisión.

Abstract

Current technologies for Local and Metropolitan Area Networks' (LANs and MANs), are often inappropriate for great scale system in the agricultural sector. The use of low cost extended transducers would allow the development of meshing networks in the range from 10 m to 10 km. For this purpose, low cost and consumption batteries can be used. Nodes would be supplied by solar energy and great agricultural areas would be covered (potentially, many thousands of hectares). Moreover, it is possible to interconnect this network to conventional networks in key points in the mesh in order to allow the

remote access of data and management. Taking into account the previous ideas, a network for nodes connection is presented. With this network is possible monitoring great agricultural areas for water and energy management in irrigation for horticultural crops. This network would gather up environmental values of temperature, humidity and soil moisture that subsequently are recovery and wireless transmitted. Additionally, this network can active valves pumps, engines, and all the additional elements in an irrigation system.

The interchanged nodes of the network are constituted by a microcontroller and an electronic circuit. This allows the data gathering, transmission and information storage and additional functions. This system is working during large time periods, then it is very important the energy management. A photovoltaic panel of reduced dimensions and a battery is used. Implemented software for energy consumption reduction is employed. A robust and stable communication has to be ensured. Additionally, it must be possible adding nodes to the network, looking for the best combination for energy saving and accessibility, among others.

In this paper, some technological characteristics and initial results of this prototype for irrigation of horticultural crops are described.

Keywords: Data management, nodes, FDR, communication network, precision horticulture.

Introducción

Las actuales tecnologías para acceder a redes de áreas locales y metropolitanas, en inglés ‘Local and Metropolitan Area Networks’ (LANs and MANs) son a menudo inapropiadas para instalaciones a gran escala en el entorno agrícola (Gallart et al., 2011; Lajara et al., 2010). En determinadas áreas rurales, tanto GPRS (teléfonos móviles) como el acceso de WiFi tienen baja señal o inexistente. Además, el coste de estas tecnologías, tanto en términos del hardware actual y de requerimientos de energía, es muy elevado (Shen et al., 2016). Las soluciones de onda corta de radio no son efectivas en muchas ocasiones dada la gran cantidad, extensión y variabilidad de datos agroambientales que se manejan además de la orografía variable, con zonas a menudo montañosas o boscosas en las que tales unidades deben operar. Las soluciones comerciales basadas en tecnología como ‘SIGFOX’, demandan una alta cobertura geográfica, pero están principalmente dirigidas a áreas residenciales para aplicaciones de medida, lectura, etc. Pese a ello, la solución Libelium’s Waspote (LORA WAN solution) puede resultar excesivamente cara, dado el gran número potencial de nudos que se requieren para monitoreo práctico de cultivos y control. El uso de los transductores extendidos Spectrum de bajo coste desarrollados recientemente (Low Cost Spread Spectrum Transceivers, tales como RFM69 y LORA RFM95/6/7) permitiría el desarrollo de redes malladas en el rango de 10m a 10km. Se usarían baterías de coste y consumo bajos, los nodos funcionarían con energía solar y se cubrirían grandes áreas de zonas agrícolas (potencialmente muchos miles de hectáreas). Sería posible entonces interconectar esta red a redes convencionales (Wide Area Network) en puntos clave dentro de la malla, para permitir acceso remoto de datos y gestión.

Por otra parte, el empleo de estas redes de comunicaciones para conectar dispositivos de automatización y telecontrol de los sistemas de riego en especies hortícolas, permite registrar y repartir el agua con diversas herramientas tecnológicas proporcionadas por la electrónica digital mediante la gestión de indicadores de todo tipo (medioambientales, ecológicos, energéticos, rendimiento de la producción, etc.) (Delamo et al., 2015). En zonas semiáridas del Mediterráneo, como el sureste de la península

ibérica, es básica una gestión eficiente del agua de riego. Por la importancia de la agricultura de regadío, con escasas precipitaciones y uso de aguas salinas, los agricultores deben optimizar la eficiencia de uso del agua, así como usar estrategias y métodos de programación de riego más eficientes. Los sensores y sistemas de comunicación comerciales de estas instalaciones suelen tener un precio elevado y en algunos casos se emplean sólo en centros de investigación. Alternativas más competitivas permitirían extender estas herramientas a un mayor número de usuarios y controlarían mejor los recursos hídricos en agricultura. Los componentes electrónicos de estos dispositivos son cada vez más asequibles y fundamentan el sistema desarrollado en este proyecto (Oates et al., 2015).

Se ha propuesto aunar las dos ideas previas en un proyecto de investigación. En una primera fase se trata de diseñar y desarrollar un hardware de sistemas de comunicaciones y nodos de bajo coste y por otro lado un software para cada nodo integrante de la red mallada para complementar las soluciones comerciales que existen en el mercado.

En esta comunicación se presenta un aspecto del primer paso del proyecto citado previamente. Se trata de integrar las distintas tecnologías y redes que conforman un sistema de información en entornos agrarios, para constituir una red escalable y abierta basada en protocolos IP, que permita liberar a las aplicaciones de la necesidad de conocer la configuración de las comunicaciones y la gestión de redes. En el desarrollo de la red se diferencian tres niveles de comunicación básicos (Internet, acceso y captación) siendo el nivel de captación el más cercano a los sensores del sistema. En este nivel de captación se evalúa una red matricial interconectada de dispositivos o nodos los cuales poseen, cada uno, su propio microcontrolador ATmega328P y un circuito electrónico. Esta red controla inicialmente varios parámetros medioambientales relacionados con la gestión del agua y la energía en riego de hortalizas: humedad del suelo, temperatura y cantidad de agua aplicada para riego. Su configuración permite ampliar el número de sensores empleados. Se describen en esta comunicación algunos de los aspectos tecnológicos relacionados con este dispositivo, una descripción de su arquitectura y una aplicación práctica para el control del consumo del agua y la energía en el riego de especies hortícolas.

Material y métodos

La red propuesta en esta comunicación está debe tener un diseño para que sea polivalente y flexible para la aplicación relacionada con el uso del agua y la energía en el control del riego en especies hortícolas. Se propone una red matricial interconectada de dispositivos o nodos con su propio microcontrolador ATmega328P y un circuito electrónico. Ver Fig 1.

Para la comunicación entre los diferentes nodos, que integran la red de muestreo de la humedad del suelo se emplea la comunicación serie o USART (Universal Synchronous and Asynchronous serial Receiver and Transmitter) basada en enviar la información bit a bit. La comunicación serie consiste en enviar un bit de start, después de una serie de bits con los datos y finalmente un bit de stop. La duración de cada bit está determinada por la velocidad de transmisión (baudios). Haciendo una correcta manipulación de los registros que configuran la comunicación USART se seleccionan distintas configuraciones como la tasa de transferencia, comunicación síncrona o asíncrona, modo SPI, añadir bits de paridad, añadir bits de stop y los bits a transmitir.

La configuración más adecuada para este proyecto es seleccionar una configuración asíncrona con 9 bits a transmitir. Dada que la transferencia de datos es de 1 byte (8 bits), se tiene un bit extra accesible en un registro. Este bit permite saber si el

byte transmitido o recibido es un tipo de dato (0) u otro (1). Este aspecto es fundamental para diferenciar entre direcciones de nodo (1) y datos o funciones (0).

La red de nodos es gobernada por un nodo maestro. Éste es el que controla a cada uno de los nodos activos en cuanto a cuál de ellos suministra energía a otro, para solicitar información recogida por cada uno, asignación de direcciones a nodos nuevos, entre otras muchísimas funciones posibles. Es importante destacar que las necesidades de procesamiento de datos en el nodo maestro son muy superiores a las de un simple nodo activo que con las limitaciones de un microcontrolador ATmega328P es suficiente. Por tanto, hay que seleccionar un microcontrolador para el maestro que tenga capacidades suficientes para gestionar la información como los de 32 bits. Ejemplos pueden ser SAM3X8E ARM Cortex-M3, STM32 e incluso compatibilizar la información con una placa Raspberry Pi 3.

El nodo maestro está conectado a un nodo de la matriz y éste a su vez a una serie de nodos, y así hasta interconectar a todos ellos. Después de activar el primer nodo, el maestro le ordena que suministre energía en una dirección hasta encender un segundo nodo. Posteriormente, el nodo maestro reconoce que uno nuevo ha sido activado y le ordena que suministre energía a otro contiguo. Este proceso iterativo hace que se vayan activando uno a uno los nodos mientras el nodo maestro es capaz de asignarles direcciones nuevas (si son nodos recientemente conectados), pedirles en qué dirección alimentar, solicitar datos recogidos, etc.

Incluye un software para el maestro lo suficientemente dinámico para que el usuario varíe sus funciones a placer y con un único software para todos los nodos. Además, se puede programar, añadir o quitar nodos según la extensión de terreno que se quiera monitorizar.

Resultados y discusión

El código empleado para utilizar la comunicación serie/USART con 9 bits debe ser fuertemente programado para asegurar una comunicación robusta y fiable con el fin de que no cause problemas durante largos periodos de tiempo.

Un problema que se planteó era como conseguir que el microcontrolador atendiese un dato o dirección recibida por el puerto serie mientras estaba en modo operativo. Existe la opción de las “Interrupciones”. En este caso el microcontrolador interrumpe la ejecución habitual del programa cuando ocurre un evento, realiza un código previamente programado y vuelve por donde se quedó anteriormente. Mediante la modificación del software se incluye un código que gestiona la información recibida y la clasifica según si es una dirección o un dato/función.

Cuando el microcontrolador ha detectado la entrada de información puede diferenciar si es una dirección o un dato, si ha recibido su propia dirección y luego un dato es en realidad el nodo maestro el que lo ha llamado y le ordena realizar una función. Esto nos permite realizar tantos casos diferentes como sean necesarios para realizar ciertos procesos.

Conclusiones

El empleo de esta red de dispositivos de bajo coste para la monitorización de parámetros ambientales relacionados con la gestión del agua y la energía en riego de hortícolas permite integrar información variada y de gran volumen en entornos agrarios, para constituir una red escalable y abierta. Está basada en protocolos IP, que permita liberar a las aplicaciones de la necesidad de conocer la configuración de las comunicaciones y la gestión de redes.

Se consigue con esta red, una arquitectura de red abierta, escalable y modular que permitirá el acceso a la información y la gestión del sistema desde cualquier dispositivo conectado a Internet.

Esta red permitirá integrar un sistema de bajo coste, para su uso comercial en explotaciones hortícolas, que mida y gestione el riego con precisión, en tiempo real. El sistema permite obtener datos agronómicos específicos para aplicaciones a gran escala.

Otra de las mejoras conseguidas por este sistema es el ahorro de agua y energía para el riego.

Mediante esta tecnología se avanza en sistemas para programar de forma óptima el riego de los cultivos hortícolas mediante sensores suelo-planta-atmósfera.

Igualmente es posible la disminución del impacto ambiental del regadío: la optimización del riego y, por tanto, la reducción de los fertilizantes aportados durante el riego, evitará la contaminación de los acuíferos y ayudará a solventar el problema de eutrofización marina mediante la reducción de nitratos percolados, y la reducción del consumo de energía supondrá una disminución en la emisión de gases de efecto invernadero.

El empleo de esta red en otros sectores análogos abre un amplio abanico en su comercialización final.

Agradecimientos

Los autores de la comunicación quieren agradecer el apoyo tecnológico prestado por la empresa Telenatura EBT, S.L.

Referencias

- Delamo, M., Santiago Felici-Castell, Juan J. Pérez-Solano, Andrew Foster, Designing an open source maintenance-free Environmental Monitoring Application for Wireless Sensor Networks, *Journal of Systems and Software* (Elsevier), Volume 103, May 2015, Pages 238-247, ISSN 0164-1212.
- Gallart, V., Felici-Castell, S., Delamo, M., Foster, A., & Perez Solano, J. J. (2011, October). Evaluation of a real, low cost, urban WSN deployment for accurate environmental monitoring. In *IEEE 8th International Conference on Mobile Adhoc and Sensor Systems (MASS)*, 2011 (pp. 634-639).
- Lajara, R., Pelegrí-Sebastiá, J., & Solano, J. J. P. Power consumption analysis of operating systems for wireless sensor networks. *Sensors*, 10(6), (2010). Pages 5809-5826.
- Oates, M.J., Vázquez de León, A.L., Intrigliolo, D.S., Molina Martínez, J.M., Ruiz-Canales, A. 2015. Evaluation of an experimental system of soil moisture registration for irrigation management in potted vineyard (*Vitis vinifera* L. CV Bobal) of multi-depth temperature compensation based in resistivity measurements. *Agricultural Water Management* 151 (2015) 126–135.
- Shen, H., & Bai, G. Routing in wireless multimedia sensor networks: A survey and challenges ahead. *Journal of Network and Computer Applications*, 71, (2016) Pages 30-49.

Tablas y Figuras

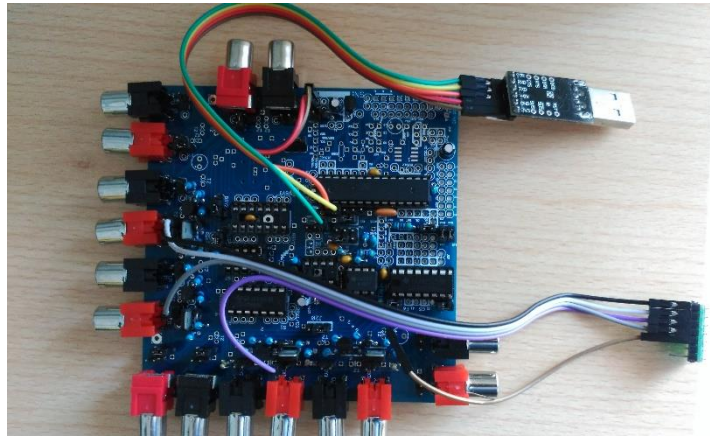


Figure 1. Nodo de red con conexiones.

Uso eficiente del agua en los frutales del Sureste español

Amparo Melián Navarro¹, María Dolores de Miguel Gómez², Antonio Ruiz Canales¹,
María Ángeles Fernández-Zamudio³

¹ Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández, Crta de Beniel km. 3,2 C.P.: 03312 Orihuela, Alicante, e-mail: amparo.melian@umh.es
acanales@umh.es

² Departamento de Economía de la Empresa. Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII nº 48 C.P. 30202, Cartagena, Murcia, España, e-mail: md.miguel@upct.es

³ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra. Moncada-Náquera, km. 4,5 C.P.: 46113 Moncada (Valencia), e-mail: fernandez_marzam@gva.es

Resumen

El agua es un patrimonio que hay que proteger, defender y tratar acorde al recurso escaso que es, y así lo indica la DMA (Directiva Marco del Agua, 2000/60/CE). En la Vega Baja del Segura (Alicante, Sureste español) la gestión de los recursos hídricos en las explotaciones agrarias está muy condicionada por su escasez, y el agua es un bien con un aprovechamiento muy intensivo. La agricultura se caracteriza por su larga tradición en la zona, con producciones de excelente calidad y buena competitividad, para lo que es fundamental el buen clima, la calidad de las tierras y la experiencia de los agricultores. Sin embargo el sector agrario está perdiendo importancia, en parte por las limitaciones hidrológicas.

La escasez de agua hace que este recurso tenga un alto coste de oportunidad y exige un uso muy eficiente. En la DMA Europea se plantean distintas medidas para promover el uso eficiente y sostenible del agua en los territorios. Precisamente el conocimiento de los niveles de eficiencia que tienen las producciones agrarias en el uso del agua de riego es previo a cualquier posterior iniciativa, ya sea pública o privada.

En este trabajo se analiza la eficiencia de los principales frutales de regadío de la zona. Para ello, se han realizado cálculos de distintos indicadores de eficiencia, a partir de datos tomados a agricultores de tres de las principales UDAs (unidades de demanda agraria) que recoge el actual PHDS (Plan Hidrológico de la Demarcación del Segura). Estas UDAs cubren una superficie bruta de 41.700 ha, y tienen sistemas de riegos distintos en función del grado de modernización de las explotaciones. Tras el análisis queda patente que los cultivos con una mayor tradición en la zona (como son limón o granado) son también los que utilizan el agua con más eficiencia.

Palabras claves: Eficiencia, uso del riego, indicadores, cultivos mediterráneos, Cuenca del Segura.

Abstract

Water is a scarce resource, a heritage that must be protected and defended, as this is indicated in the EU Water Framework Directive (WFD, order 200/60/CE). In a Spanish Mediterranean Area (*Vega Baja del Segura*, Alicante province) the water management are very conditioned by its scarcity, and they use is very intensive. The agricultural sector has a great tradition in this area, with good climate, land of quality and experience of the producers, with all this it achieve high quality in productions and good level of competitiveness. However, the agricultural industry is losing importance, partly because of hydrological limitations.

The water opportunity cost is high because of its scarcity, and the efficiency of this resource is important. In WFD there are different measures to promote the efficient and sustainable use of water in the territory. Previously to the implementation of any public or private initiative, it is necessary to know the efficiency levels of the irrigation water of the different agrarian productions.

In this paper, it is analyzed the efficiency in the most popular fruit crops in this area. For this, calculations of different efficiency indicators have been made, based on data taken from farmers in three of the main Units of Agricultural Demand (UDA) that are included within the Segura river hydrological plan. These UDA cover around 41.700 hectares, and there have a representation of different types of irrigation, in function of technological level of exploitations. After the analysis it is clear that the crops with a greater tradition in the area, such as lemon or pomegranate, are also those that use water more efficiently.

Keywords: irrigation use, indicators, citrus, pomegranate, Segura River.

Introducción

Cada día hay más demanda de agua de calidad para cubrir las necesidades vitales de la población (alimentarias, urbanas, saneamiento). El agua hoy por hoy se cataloga como un patrimonio a proteger, y necesita un trato adecuado acorde al recurso escaso que es, y como tal se indica en la DMA (Directiva Marco del Agua, 2000/60/CE). En el Mediterráneo español la agricultura ha sido siempre una actividad económica fundamental, alcanzando gran calidad y competitividad en los mercados internacionales. Sin embargo el futuro de esta actividad queda condicionado a la disponibilidad que se tenga de recursos hídricos.

En la Vega Baja del Segura (Alicante, Sureste español) la gestión de los recursos hídricos en las explotaciones agrarias está muy condicionada por su escasez, y el agua es un bien con un aprovechamiento muy intensivo. La superficie cultivada en esta comarca es de 48.130 ha, y las aguas de riego proceden del propio Río Segura (aguas superficiales), completadas con los aportes del Trasvase Tajo-Segura, de pozos (aguas subterráneas), así como de aguas regeneradas y depuradas (procedentes de EDARs).

La superficie total de cultivos en secano es de 16.044 ha y de regadío 32.086 ha, lo que supone que un 67% se halla en regadío, y con una característica clara, pues predomina el minifundio y las explotaciones de pequeño tamaño (el 76 % son menores de 5 ha) (Tabla 1). En cuanto a la distribución de cultivos la mayoría son árboles frutales (ESYRCE, 2013).

La zona de estudio, la Vega Baja del Segura ha quedado integrada en el PHDCS (Plan Hidrológico de la Demarcación de la Cuenca del Segura) 2009-2015 (CHS, 2015) en 3 UDAs (46, 48 y 51), cuya superficie bruta y neta de regadío se recoge en la Tabla 2 adjunta, así como las principales características de la procedencia del agua en la Tabla 3.

El origen de los recursos hídricos en la comarca permite establecer una diferenciación entre zonas, según sean de aguas superficiales (pueden ser recursos propios o externos de la demarcación), aguas subterráneas, o mixtas. La procedencia del recurso es un elemento que repercute en la tarifa final de éste. En los últimos años, ante la creciente necesidad de acceder al agua, y la baja disponibilidad natural, se están potenciando el uso de aguas depuradas y regeneradas.

El sistema de riego empleado también es sensiblemente distinto en función de la UDA. Así, es principalmente por gravedad en la UDA-46 (regadío tradicional), y principalmente por goteo en la UDA-51, siendo un reparto algo más equilibrado aunque con mayoría de riego por goteo en la UDA-48 (Tabla 4). La adopción de tecnología, el

manejo de técnicas ahorradoras de agua y los avances en la gestión del uso del agua son más proclives en riego por goteo.

Los cultivos predominantes en la zona son los cítricos (en torno al 58% del total de la superficie de la comarca), otros frutales no cítricos y un grupo diverso de cultivos (principalmente hortícolas en la UDA-46) (Tabla 5). La demanda bruta de agua en hm^3 año por UDAs varía enormemente, en función de los cultivos implantados, siendo los datos de referencia los recogidos en la Tabla 6.

La escasez de agua en la zona y las demandas de sus cultivos exige un uso eficiente, o lo que es lo mismo, que se obtengan las máximas producciones con el menor volumen de agua posible. Los recursos limitados tienen un alto coste de oportunidad, por lo que la toma de decisiones que condicionen los distintos usos debe ser siempre meditada. Igualmente, todas las medidas que promuevan un uso sostenible, técnicas de riego, adaptación de cultivos, adopción de tecnología, etc., son bienvenidas. En el caso de los Estados miembros de la UE cuentan con un amplio programa de medidas dentro de la DMA, dirigidas a promover el uso eficiente y sostenible del agua en los territorios. Precisamente el conocimiento de los niveles de eficiencia en el uso del agua, debería ser previo a cualquier posterior iniciativa, ya sea pública o privada.

En este trabajo se analiza la eficiencia con que los principales frutales de regadío de la zona emplean el agua de riego, y atendiendo a las características particulares de las explotaciones se busca poder detectar cuál de todos ellos es más eficiente en el uso del recurso.

Material y métodos

Se ha realizado un estudio exploratorio consultando mediante encuesta de 40 preguntas a una selección de 35 fruticultores representativos de la zona. La base de datos usada para elegir los agricultores proviene de los censos de las Comunidades de Regantes y Juzgados Privativos de Aguas (julio 2013). En la encuesta se han tratado diversos aspectos que versan sobre varios bloques de información: 1) los rasgos básicos de las explotaciones, tipo de cultivo, superficies, sistema de riego e infraestructuras; 2) el consumo de agua, origen de la misma, precio, calidad, pertenencia a asociaciones relacionadas con la gestión del agua; 3) las tecnologías usadas en la explotación, instalaciones que posee y equipos; 4) los insumos usados, tratamientos y labores; 5) la dimensión económica de la explotación, caracterización del titular, edad, estudios, experiencia, régimen de tenencia, mano de obra en la explotación; 6) las vías de comercialización, asociación a entidades; 7) los objetivos empresariales de cara al futuro; y finalmente 8) aspectos del medio ambiente, y la sensibilidad mostrada ante las prácticas medioambientales.

Para medir la eficiencia del uso del agua se han determinado diferentes indicadores. Por un lado los que hacen alusión a la eficiencia de la producción, medida básicamente en la productividad que se obtiene para una hectárea de terreno. Por otra parte, se han planteado distintos indicadores de eficiencia económica, en forma de cocientes entre los márgenes brutos y márgenes netos, bien respecto al volumen de agua incorporada al cultivo (lo que también es dependiente de la modalidad del riego), y respecto a la mano de obra empleada.

Cabe simplemente recordar que por margen bruto se entiende el resultado de restar a los ingresos los costes variables, mientras que por margen neto además de los costes variables hay que restar los costes fijos.

Resultados y discusión

El análisis de las encuestas ha permitido tener una idea clara sobre cómo son los fruticultores de la zona. La composición varietal por explotaciones muestra un predominio del limón y del naranjo (un 72 % de las explotaciones encuestadas tienen entre su composición varietal de cultivos, el limón, un 69%, el naranjo). El rendimiento de los cultivos es especialmente elevado en el limón (58.906 kg/ha) seguido del granado (23.854 kg/ha), sin embargo ni el naranjo y sobre todo el mandarino, consiguen una productividad tan alta (Figuras 1 y 2).

En cuanto al tipo de riego (Figura 3), se observa que es mayoritariamente por gravedad en el granado, y por goteo en el limón y naranja, con unos pesos aproximados del 60% de las instalaciones entrevistadas. El riego por gravedad se corresponde con riegos tradicionales, UDA-46, mientras que en la UDA-51 predomina en mayor medida el goteo. La proporción de mandarina y pomelo es prácticamente en su totalidad en riego por goteo. Habitualmente esta modalidad de riego asegura altas producciones, pero en esta zona esta especie no consigue tener grandes cosechas.

Respecto a los otros indicadores, donde se valora el comportamiento de los cultivos tomando como base los márgenes brutos (MB) y netos (MN), se ha partido de los valores modales de rendimiento, precio medio de la producción en campo, y costes medios de producción. Se han calculado distintos cocientes y los resultados se muestran en la Tabla 5.

En todos los casos que se relacionan los MB y MN bien con la cantidad de agua aportada o bien con la mano de obra empleada, el limón siempre es la especie de mejor respuesta, seguida del granado.

Conclusiones

Limón y granado son especies predominantes en la zona y la explicación puede encontrarse en que cubriendo las necesidades hídricas estándares se obtienen márgenes económicos mucho mayores que los que se logran con otros frutales, tal es el caso del naranjo y mandarino.

Estas dos últimas especies son también tradicionales en la zona, pero su adaptación es menor, y sobre todo el mandarino (aunque también el naranjo) se han manifestado especialmente ineficientes. Su ineficiencia se debe a que tienen producciones medias relativamente bajas, por lo tanto el agua que se les aporta se rentabiliza mucho menos que la aportada al limón y al granado.

Es cierto que el granado es catalogado con frecuencia como el gran superviviente de las zonas áridas y salinas, muy características del sureste español. Es una especie que genera márgenes económicos aceptables en condiciones que otras simplemente son inviables.

Por su parte el limón logra unas producciones tan altas que hace que todos sus indicadores sean más favorables que el resto. Esa gran adaptación que tiene a este clima del sur de Alicante y Murcia lo hacen un cultivo esencial en estas zonas. Respecto al uso del agua, consigue valores que llegan a 1,39 €/m³, medido sobre el margen neto de la explotación. Finalmente, si lo que se mide es el MN respecto a la mano de obra empleada, este cociente llega a superar los 38€ por hora de trabajo aportado, un ratio que duplica al conseguido en el granado.

Agradecimientos

Proyecto financiado por Ministerio de Economía y Competitividad y Fondos FEDER, “Gestión y eficiencia del uso sostenible del agua de riego en la Cuenca Mediterránea” (AGL2010-22221-C02-01), y por la Fundación Séneca-Agencia de la

Ciencia y la Tecnología “El papel de los mercados del agua en la gestión integrada de los recursos hídricos en las cuencas deficitarias” (REF: 19325/PI/15).

Referencias

- CHS. 2015. Plan Hidrológico de la Demarcación del Segura 2015/21. Ed. Confederación Hidrográfica del Segura. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. URL: <https://www.chsegura.es/chs/planificacionydma/planificacion15-21/>
- Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000 (DOCE, 22.12.2000), por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
- ESYRCE (2013). Encuestas sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos: resultados nacionales y autonómicos. URL: http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_ESRC%2FESRC_2013.pdf

Tablas y Figuras

Tabla 1- Número de explotaciones en la Comarca de la Vega Baja (según tamaño expresado en ha).

	≥ 0,1 - < 5	≥ 5 - < 10	≥ 10 - < 20	≥ 20 - < 50	≥ 50 - < 100	≥ 100	Total
Total	4.795	772	383	218	90	68	6.326

Fuente: Instituto Nacional de Estadística. Censo de Agricultura 2009

Tabla 2- Superficie bruta y neta de regadío en las UDAs 46, 48 y 51 (Vega Baja del Segura).

UDA	Nombre	Superficie bruta (ha)	Coefficiente de improductivos ¹	Coefficiente rotación cultivos ²	Superficie neta (ha)
46	Tradicional Vega Baja	20.326	0,790	0,884	14.195
48	Vega Baja, post. al 33 y ampl. del 53	8.793	0,808	0,976	6.934
51	Regadíos mixtos de acuíferos, depuradas y trasvase del Sur de Alicante. La Pedrera	12.666	0,591	0,830	6.213
Total		41.786			27.342

Fuente: CHS

¹ Estima las superficies no susceptibles de ser regadas (bien por no ser uso de suelo agrario, bien por no disponer de infraestructuras para ello) dentro de las superficies brutas de cada UDA

² Cociente entre la superficie neta y la superficie bruta tras aplicarle el coeficiente de improductivos

Tabla 3- Procedencia del agua en las UDAs analizadas de la Vega Baja del Segura

UDA	Nombre	Origen principal del recurso	Otros orígenes secundarios
46	Tradicional Vega Baja	Aguas superficiales	Aguas depuradas (indirecta) Aguas depuradas (directa)
48	Vega Baja, post. al 33 y ampl. del 53	Aguas superficiales	Azarbes Aguas depuradas (directa) ATS Aguas depuradas (indirecta)
51	Regadíos mixtos de acuíferos, depuradas y trasvase del Sur de Alicante. La Pedrera	Aguas subterráneas	Aguas depuradas (directa) ATS

Fuente: CHS

Tabla 4. Porcentajes de tipo de riego en la Vega Baja del Segura

UDA	Nombre	Por gravedad	Por aspersión	Por goteo	Coefficiente de aplicación
46	Tradicional Vega Baja	84,8	3,0	12,2	0,735
48	Vega Baja, post. al 33 y ampl. del 53	38,8	0,9	60,3	0,852
51	Regadíos mixtos de acuíferos, depuradas y trasvase del Sur de Alicante. La Pedrera	14,7	2,6	82,7	0,912

Fuente: CHS

Tabla 5- Superficie bruta de cultivos (has) en UDAS 46, 48 y 51 de Vega Baja del Segura

UDA	Cítricos	Frutales no cítricos	Resto Frutales	Resto cultivos	Total
46	10.148,21	476,18	609,07	10.914,54	22.148,00
48	6.686,39	992,89	253,14	1.012,58	8.945,00
51	8.677,10	874,30	46,88	3.072,72	12.671,00
Total	25.511,70	2.343,37	909,09	14.999,84	43.764,00

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6- Demanda bruta¹ (hm³/año) en UDAS 46, 48 y 51 de Vega Baja del Segura

UDA	Cítricos	Frutales no cítricos	Almendro	Viñedo	Olivar	Total Demanda bruta
46	58,92	1,83	0	0,01	0,72	94,2
48	36,47	3,6	0,51	0	0,05	43,5
51	29,18	0,19	1,25	0,02	0,01	40,2

Fuente: CHS. ¹Cociente entre las necesidades netas teóricas de agua (producción en condiciones normales) y el coeficiente de eficiencia global del riego. Incluye las pérdidas en el transporte y aplicación del recurso en la parcela de riego)**Tabla 7-** Indicadores de eficiencia de producción de cultivos frutales en el sureste español (datos para 2013)

	Limón	Granado	Naranja	Mandarino
Producción (kg ha-1)	59.906	23.854	22.700	7.913
Ingresos (€ ha-1)	14.726	13.954	4.994	2.216
Margen Bruto (MB) (€ ha-1)	11.099	8.079	949	-2.361
Margen Neto (MN) (€ ha-1)	9.342	6.968	-905	-4.254
Indicador de eficiencia de producción (MB/gravedad)	1,66	1,41	0,17	-0,43
Indicador de eficiencia de producción (MN/goteo)	1,39	1,22	-0,16	-0,77
Indicador de eficiencia de producción (MB/MO)	45,68	17,7	3,45	-7,16
Indicador de eficiencia de producción (MN/MO)	38,45	15,27	-3,29	-12,89

Fuente: elaboración propia.. MO=mano de obra en horas

Figura 1.- Presencia de los diferentes frutales en las explotaciones de la Vega Baja (Alicante) en %

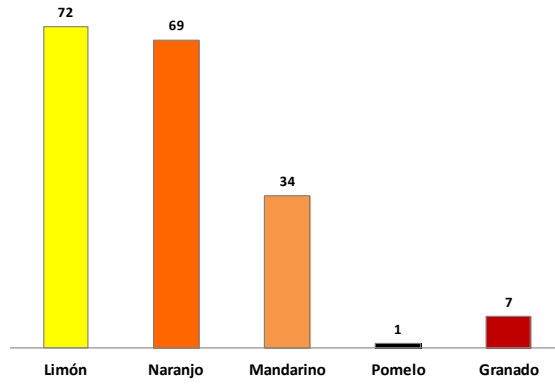


Figura 2.- Rendimiento medio de los cultivos frutales en la Vega Baja (Alicante) en Kg/ha

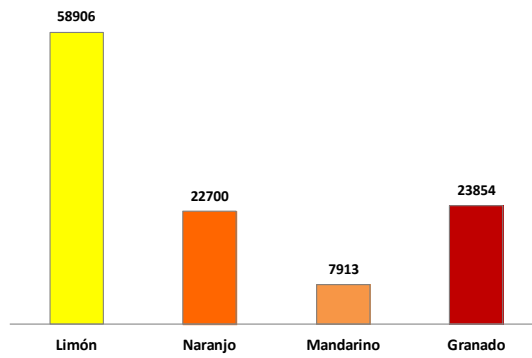
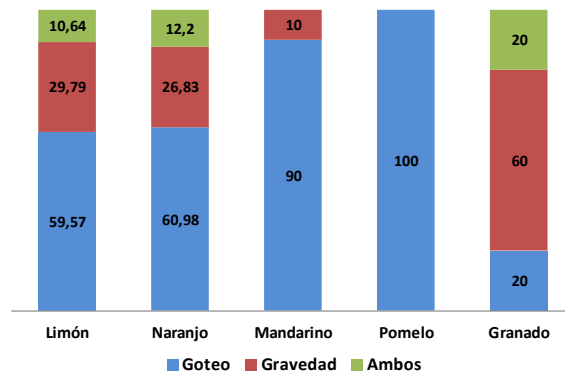


Figura 3.- Sistema de riego en frutales de la Vega Baja (Alicante) en % de la superficie regada



Efeito da fertilização com composto no crescimento e produtividade de estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Mário Reis^{1,2}, Luísa Coelho^{1,2}, Gilberto Santos¹, Udo Kienle³ e José Beltrão⁴

¹ Universidade do Algarve. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

² MeditBio, Universidade do Algarve. Campus de Gambelas, 8005-191 Faro

³ Universität Hohenheim Institut für Agrartechnik (440) Garbenstrab 70599, Stuttgart, Alemanha.

⁴ Centro de Investigação sobre Espaço e Organizações (CIEO), Universidade do Algarve. FCT. Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal.

Resumo

A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) é uma cultura recente, com interesse pelo seu elevado teor em edulcorantes de baixo valor calórico, que pode ser cultivada em regiões semi-áridas e zonas costeiras. Neste trabalho, testou-se o efeito da aplicação de um composto de resíduos vegetais na cultura de estévia na zona mediterrânica (Algarve, Portugal). O composto (Nutriverde[®], ALGAR, Portugal) foi obtido em pilha com reviramento mecânico, a partir de resíduos de jardinagem (restos de poda e aparas de relva). Plantou-se estévia num solo Vt, em três modalidades de cultivo: sem composto (NC), com composto à superfície (CS) e com composto incorporado no solo, até 15 cm (CI). Nas modalidades CS e CI aplicou-se a mesma quantidade de composto: uma camada de cerca 0,05 m de altura, numa faixa de 0,5 m de largura ao longo da linhas de cultivo, correspondendo a cerca de 200 t.ha⁻¹, o qual foi deixado à superfície (CS) ou incorporado no solo (CI). Plantaram-se 44 500 plantas por ha e regou-se com sistema gota-a-gota. Todas plantas receberam fertilização foliar, semanal. O ensaio decorreu de 21 de Julho a 22 de Setembro. Na altura da colheita mediram-se as seguintes variáveis nas plantas: altura; peso fresco e seco das folhas, caules e flores; e n^o de folhas.

Expressa através do peso seco das folhas, a aplicação do composto aumentou a produtividade em 162 e 171% quando o composto foi incorporado no solo ou deixado à superfície, respectivamente. Neste trabalho evidenciou-se a eficácia da aplicação de composto na fertilização de estévia, sobretudo quando empregue como cobertura de solo, o que, além de ser uma forma de aplicação do composto mais económica, permitirá ainda obter as vantagens habitualmente conseguidas com a cobertura de solo com materiais orgânicos.

Palavras-chave: cobertura de solo, infestantes

Abstract

Stevia rebaudiana Bertoni is an interesting new crop in Europe, due to its content in low calories sweeteners, which is suitable to be cultivated in semiarid climates and coastal areas. The Mediterranean basin (Algarve region, Portugal) was chosen to study the effect of the application of organic compost on the growth and yield of stevia. The organic compost was obtained through windrow composting of gardening pruning's and grass clippings (Nutriverde[®], ALGAR, Portugal). Stevia plants were grown on an Aplic arenosol under three treatments, as follows: no compost application (NC), soil surface application (CS) and soil incorporation (CI). Both in the CS and CI treatments the same quantity of compost was applied, a layer of about 0,05 m, in a strip 0,5 m wide along the crop lines, corresponding to about 200 t.ha⁻¹, applied superficially (CS) or incorporated

in the soil (CI). Plantation density was 44 500 plants ha⁻¹ and they were drip irrigated. All the plants received a weekly foliar fertilization. The essay occurred between July, 21st and September, 22nd. At the time of harvesting the following variables were measured: height, leaves, stem and flowers fresh and dry weight and number of leaves. When expressed as leaves dry weight, compost application increased productivity by 162 and 171% when the compost was incorporated in the soil or on the surface, respectively. This work showed the effectiveness of compost fertilization in stevia cultivation, namely when applied as mulch, a more economical way of applying the compost, which allows the benefits usually related to soil organic mulches.

Keywords: compost, mulching, stevia, yield, weeds

Introdução

A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) é uma planta herbácea com aspecto de pequeno arbusto, da Família Asteraceae (Compositae), que cresce no estado selvagem em algumas regiões da América do Sul, no Paraguai e Brasil (Ramesh et al., 2006). Na Europa, a estévia pode ser cultivada como uma cultura de Verão, regada, ainda pouco conhecida, embora tenha sido já objecto de estudo em algumas zonas (Reis et al., 2014).

A estévia poderá ser uma cultura alternativa em muitas áreas do sul da Europa, onde frequentemente os solos apresentam baixa fertilidade, resultante sobretudo de um baixo teor em matéria orgânica, que se tem vindo a agravar, sobretudo em consequência das práticas culturais seguidas (Zdruli et al., 2004). Por isso, uma fertilização sustentável dos solos é da maior importância, económica e ambiental. A produção de fertilizantes tradicionais consome energia e recursos, que em alguns casos são limitados, e a poluição causada pela fertilização é um problema importante, que envolve solos e água. A inovação tecnológica através do uso de fertilizantes de libertação controlada é uma das soluções para limitar o impacto da fertilização sobre os solos e a água (Guerrero et al., 2005), mas estes fertilizantes, pelo seu custo elevado têm uma aplicação reduzida em comparação com os fertilizantes químicos convencionais (Shaviv e Mikkelsen, 1993). Uma possibilidade para a fertilização sustentável da estévia é através da aplicação de fertilizantes orgânicos obtidos a partir de diferentes actividades humanas, tais como as lamas de tratamento de águas (André et al., 2002), estrumes (Costa et al., 2010) ou resíduos agro-industriais (Cabecinha et al. 2010, Coelho et al. 2009, Reis et al. 2014), contribuindo assim para a desejada economia circular (Mateus et al., 2017). Estes resíduos, sobretudo após submetidos à compostagem, representam uma alternativa sustentável para manter ou aumentar a fertilidade dos solos, nomeadamente o seu teor de matéria orgânica (Barker, 2001). A baixa taxa de mineralização dos compostos origina a lenta libertação de azoto e outros nutrientes no solo, reduzindo as suas perdas através do solo para os aquíferos, contribuindo assim para um ambiente mais seguro (Lawrence et al., 2005; He et al., 2005; Reis et al. 2014). Neste trabalho avalia-se o efeito da aplicação de um composto comercial (Nutriverde[®], ALGAR, Portugal), obtido em pilha com reviramento mecânico a partir de resíduos de jardinagem, no crescimento e produtividade da estévia, quando aplicado à superfície ou incorporado no solo.

Material e métodos

Solo e condições climáticas

O ensaio descrito neste trabalho foi realizado no Campus de Gambelas da Universidade do Algarve, Portugal (37°02'35,45" N, 7°58'20,64" W), num solo classificado como *Haplic Arenosol* (ARh, classificação da FAO; WRB, 2006) ou Litólicos, Não Húmicos, Pouco Insaturados Normais, de arenitos grosseiros (Vt; Cardoso, 1974). O

clima do Algarve é do tipo mediterrâneo, Csa, com condições semi-áridas, com temperatura máxima do ar entre 15 e 35°C, e temperatura mínima entre 5 e 20°C (Köppen, 1936).

Operações culturais

O composto (Nutriverde[®], ALGAR, Portugal) (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**) foi obtido em pilha com reviramento mecânico a partir de resíduos de jardinagem, basicamente aparas de relva e resto da poda de árvores e arbustos, de jardins públicos e privados. Este composto cumpre a norma técnica das matérias fertilizantes de Classe I segundo o DL 103/2015 de 15 de Junho, e para utilização em Modo de Produção Biológico. Testaram-se 3 modalidades de cultivo: sem aplicação de composto (NC), composto colocado à superfície, como cobertura do solo (CS) e a mesma quantidade de composto, mas incorporado no solo (CI). As modalidades com composto receberam uma camada de 5 cm de composto, que correspondeu a 200 t.ha⁻¹, aplicado como cobertura de solo (CS) ou incorporado até 15 cm no solo (CI).

Durante o ensaio, a condutividade eléctrica da água de rega (EC_w) foi 0,5 dS.m⁻¹. No Quadro 1 apresenta-se a caracterização geral do solo no início do ensaio, destacando-se a sua textura arenosa, ausência de salinidade, baixo teor de matéria orgânica e sem metais pesados.

Utilizaram-se plantas de estévia produzidas na Universidade de Hohenheim, (Alemanha) de uma variedade designada “Green”. Desde a sua chegada até à plantação, as plantas foram mantidas num abrigo de sombra, devido à elevada temperatura em estufa nesse período. Antes da plantação eliminaram-se todas as infestantes no solo com herbicida sistémico (glifosato, Montana, Sapec, Portugal) para reduzir ao mínimo a ocorrência de infestantes durante o ensaio. Em 21 de Julho de 2010 (tardamente em relação ao normal), plantou-se em linhas com 0,75 m de distância entre si, e aplicou-se o composto numa faixa de 0,5 m ao longo de cada linha de cultivo. Nas linhas a distância entre plantas foi de 0,3 m, resultando uma densidade de plantação de cerca de 44 500 plantas.ha⁻¹.

Regou-se por sistema gota-a-gota, com emissores *on-line* anti-drenantes e auto-compensantes (NetafimTM de 10L.h⁻¹). Após a plantação regou-se até se atingir a capacidade de campo à profundidade de 0,5 m (Lavini et al., 2008), tendo em conta as características do sistema radicular. Posteriormente, regou-se diariamente com uma dotação calculada segundo Allen et al. (1998), tomando como coeficiente cultural (K_c) o valor 1, em função dos valores médios de K_c obtidos por Fronza et al. (2003) e Lavini et al. (2008) na cultura de estévia.

As plantas das três modalidades foram fertilizadas semanalmente, por via foliar, com um fertilizante organo-mineral (Ret-Sul, Eibol, Spain), na concentração recomendada de 150 mL.100 L⁻¹.

Três semanas após a plantação, as plantas foram podadas a 15 cm de altura para homogeneizar a sua altura. A cada duas a três semanas, aplicou-se, de forma localizada com campânula de protecção, o mesmo herbicida que anteriormente, para eliminar as infestantes que entretanto se desenvolveram, entre as linhas de cultivo (fora das faixas onde se aplicou composto). Efectuaram-se tratamentos preventivos para doenças da parte aérea com mancozebe (mildio) e fenhexamida (botritis).

Colheita e determinações efectuadas

Colheu-se quando as plantas mais desenvolvidas atingiram 0,45 m de altura, o que ocorreu a partir de meados de Setembro, tendo-se colhido dia 22 (63 DAT). Nesta data mediu-se a altura total (cm), a altura até à inflorescência (cm) e contou-se o nº de caules por planta, após o que as plantas foram cortadas à distância de 0,15 a 0,20 m do solo. No material colhido determinou-se: peso fresco total (g), peso fresco das folhas (g), peso seco

das folhas (g), peso seco dos caules (g), peso seco das inflorescências (g), e calculou-se as relações entre o peso fresco das folhas e dos caules, e o peso seco das folhas e caules. O peso seco foi obtido após secagem até peso constante a 60° C.

Delineamento experimental e análise estatística

O ensaio foi instalado com 4 blocos completos, cada um com 6 repetições casualizadas de cada modalidade. A unidade experimental de cada modalidade era constituída por 3 plantas na linha, das quais se recolhia informação na planta intermédia, para evitar o efeito de bordadura. Assim, foram avaliadas 24 plantas por modalidade (4 blocos x 6 repetições x 1 planta). Os resultados foram submetidos à Análise de Variância seguida do teste de separação de médias de Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*), usando o programa SPSS® (v. 15.0, SPSS Inc.).

Resultados e Discussão

Durante o período de crescimento activo das plantas a temperatura do ar variou entre 15 e 35°C, com subida pontual acima de 35°C (Figura 1). A humidade do ar variou acentuadamente, entre 20 e 100%. Ocorreu alguma precipitação, por curtos períodos, no início e a meio do ensaio, situação pouco frequente, mas não ocorreu mais precipitação até à última colheita.

O reduzido período de crescimento, resultante da plantação tardia, não permitiu a plena expansão vegetativa das plantas e por isso não foi possível efectuar mais que uma colheita. Apesar disso, foi possível observar que o composto aumentou o crescimento e produtividade da estévia (

	Composto	Solo	
Matéria orgânica (%)	60	1,36	baixo
pH	8,3	7,31	neutro
Condutividade eléctrica (dS.m ⁻¹)	2,6	0,058	sem efeito salino
Humidade (%)	21		
Azoto total (%)	1	0,62	
N-NH ₄ ⁺ (mg.kg ⁻¹)		43,3	
N-NO ₃ ⁻ (mg.kg ⁻¹)	50	181	
K ₂ O (g.kg ⁻¹)	8,3	0,11	alto
P ₂ O ₅ (g.kg ⁻¹)	6,0	0,23	alto
Ca total (g.kg ⁻¹)	53	0,51	
Mg total (g.kg ⁻¹)	5,7	-	
S (mg.kg ⁻¹)	217	-	
Fe (mg.kg ⁻¹)	8,6	-	
Mn (mg.kg ⁻¹)	219	4,31	muito baixo
Mo (mg.kg ⁻¹)	0,7	-	
B (mg.kg ⁻¹)	358	-	
Se (mg.kg ⁻¹)	< 0,3	-	
Zn (mg.kg ⁻¹)	67,5	0,089	muito baixo
Índice de germinação (%)	84,8	-	

Quadro 22 e Quadro 3). Os valores obtidos, sugerem um maior efeito positivo do composto quando este foi aplicado como cobertura de solo (CS) do que quando incorporado (CI), embora as diferenças entre estas duas modalidades nunca tenham sido estatisticamente significativas. Por exemplo, com composto o peso seco das folhas aumentou 172% e 161% em relação à ausência de composto, quando este foi aplicado em cobertura ou incorporado no solo, respectivamente.

Referindo o peso obtido por unidade de área ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), evidencia-se o elevado aumento de produtividade proporcionado pelo composto (Quadro 3), apesar de, conforme referido anteriormente, os valores obtidos sejam baixos devido ao curto período de cultivo. Por exemplo, o peso fresco das folhas aumentou de $311 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ sem composto, para 880 ou $893 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ com composto, incorporado ou em cobertura respectivamente, o que representa um aumento de cerca de 285%.

Outro facto relevante, foi a aplicação do composto em cobertura de solo ter apresentado resultados iguais ou superiores aos da incorporação do composto no solo, o que em condições de cultivo simplifica a aplicação do fertilizante.

Embora a estévia apresente baixa exigência em nutrientes, adaptando-se a solos de baixa qualidade (Ramesh et al., 2006), a fertilização destes solos é benéfica para a cultura, pois uma carência de nutrientes pode-se tornar prejudicial (Utumi et al., 1999). O esperado aumento do crescimento e a produtividade da estévia (Reis et al., 2014) terá resultado dos efeitos benéficos do composto, nomeadamente pelos nutrientes que disponibiliza à planta (devido à quantidade aplicada) e pela melhoria da fertilidade geral do solo. No entanto, embora a incorporação do composto no solo possa ter uma acção mais acentuada na melhoria da estrutura do solo, ou de outras propriedades, verifica-se um efeito tão ou mais favorável sobre a planta, quando o composto fica à superfície. Para esta situação concorre o sistema de rega usado, o qual deixando percolar lentamente a água através da camada de composto sobre o solo, permite lixiviar nutrientes para a zona superficial do solo, onde as condições de humidade, temperatura e arejamento serão mais favoráveis à actividade microbiana (Coyne, 1999) e das raízes, contribuindo desse modo para o igual ou melhor desenvolvimento das plantas com composto em cobertura. Sabe-se que o sistema radicular da estévia é pouco ramificado e profundante, distribuindo-se próximo da superfície do solo (Vargas, 1980, Zaiden et al., 1980), e que por isso beneficiará de uma zona superficial de solo húmido, arejado e mais rico em nutrientes.

A produtividade obtida com o composto em cobertura, a ausência de necessidade da sua incorporação no solo e outros benefícios, como a redução de infestantes (Coelho e Reis, 2011), recomendam aquela forma de aplicação do composto como uma prática a considerar, com melhoria da sustentabilidade da cultura da estévia.

Conclusões

A fertilização com composto aumentou a produtividade da estévia mesmo quando aplicado em cobertura de solo, opção que pode reduzir os custos de produção, ao dispensar a necessidade de incorporação do composto no solo. Além disso, a redução da emergência de infestantes, quando o composto é aplicado à superfície do solo, reduz também os custos da sua eliminação. Por isso, a aplicação localizada de composto em cobertura de solo será uma técnica cultural de elevado interesse na cultura da estévia, sobretudo em solo pobres. A maior limitação desta técnica estará relacionada com os custos de aquisição e transporte do composto, que têm de ser ponderados, mas sem esquecer as vantagens económicas e ambientais que a técnica permite, contribuindo deste modo para a consolidação da economia circular na agricultura.

Referências

- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration – Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Papers, Rome.
- André, F., Guerrero, C., Beltrão, J., & Brito, J. 2002. Comparative study of *Pelargonium* sp. grown in sewage sludge and peat mixtures. *Acta Horticulturae* 573:63-69.

- Barker, A.V. 2001. Compost utilization in sod production and turf management. p. 201-225. In: P.J. Stoffella and B.A. Kahn (eds.), Compost utilization in horticultural cropping systems. Lewis Publications, Boca Raton.
- Cabecinha, A., Guerrero, C., Beltrão, J. & Brito, J. 2010. Carob residues as a substrate and a soil organic amendment. *Transactions on Environment and Development* 6 (5):317-326.
- Cardoso, J.C. 1974. A classificação dos solos de Portugal – Nova Versão. *Boletim de Solos dos S.R.O.A.*, 17:14-46.
- Coelho, L., Portela, C., Cravo, A. & Reis, M. 2009. Valorização do bagaço de azeitona por compostagem, para utilização agrícola. V Simpósio Nacional de Olivicultura, 24-26 de Setembro, Santarém.
- Coelho, L. & Reis, M. 2011. Efeito da aplicação de composto ao solo no controlo das infestantes. 3º Colóquio Nacional de Horticultura Biológica. Braga, 22 a 24 de Setembro. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 17:104-111.
- Costa, M., Beltrão, J., Brito, J., Neves, M.A., & Guerrero, C. 2010. The sludge and manure effects on the growth of citrus trees. *Transactions on Environment and Development*. 6(11):721-730.
- Coyne, M.S. 1999. Soil microbiology: an exploratory approach. Delmar Publishers, Nova Iorque.
- WRB, 2006. World reference base for soil resources. A framework for international classification, correlation and communication. *World Soil Reports* 103, 2ª ed. FAO, Roma.
- Fronza, D. & Folegatti, M.V. 2003. Water consumption of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.)Bertoni] crop estimated through microlysimeter. *Scientia Agricola* 60(3):595-599.
- Guerrero, C. Faleiro, M. L., Pita, P., Beltrão, J. & Brito, J. 2005. Inorganic and organic Fertilization of “Leeks” cultivated in pots: Yield, Plant mineral Content and Microbial Quality. *European Water* 11/12:9-16
- He, Z., Yang, X., Kahn, B.A., Stoffella, P.J. & Calvert, D.V. 2005. Ventajas que suponen la utilización de compost para la nutrición fosfórica, potásica, cálcica, magnésica y de micronutrientes. p. 307-319. In: P.J. Stoffella and B.A. Kahn (eds.), Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola. Ediciones Mundi-Prensa.
- Köppen, W. 1936. The geographical system of climate. Berlim, Alemanha.
- Lavini, A.A., Riccardi, M., Pulvento, C., de Luca, S., Scamosci, M. & d’Andria, R. 2008. Yield, quality and water consumption of *Stevia rebaudonia* Bertoni under different water regimes in South Italy. *Italian Journal of Agronomy* 2:135-143.
- Lawrence, J.S., Sikora, J. & Szmids, R.A.K. 2005. Los compost como fuentes de nitrógeno, aportación a la mineralización y ventajas para la nutrición nitrogenada de las plantas. p. 287-305. In: P.J Stoffella and B.A. Kahn (eds.), Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola. Ediciones Mundi-Prensa.
- Mateus, A. & Associados. 2017. Estudo sobre a Relevância e o Impacto do Setor dos Resíduos em Portugal na Perspetiva de uma Economia Circular. Disponível em: http://www.smartwasteportugal.com/fotos/editor2/setor_dos_residuos_em_portugal_sumario_executivo_2017_02.pdf
- Ramesh, K., Virendra, S. & Megeji, N.W. 2006. Cultivation of Stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A comprehensive Review. *Advances in Agronomy* 89, 137-177. DOI: 10.1016/S0065-2113(05)89003-0
- Reis, M., Coelho, L., Beltrão, J., Domingos, I. & Moura, M. 2014. Comparative effects of inorganic and organic compost fertilization on lettuce (*Lactuca sativa*). *International Journal of Energy and Environment* 8:108-117.

- Shaviv, A. & Mikkelsen, R.L. 1993. Controlled release fertilizers to increase efficiency of nutrient use and minimize environmental degradation – A review. *Fert. Res.* 35:1-12.
- Zdruli, P., Robert J.A., Jones, R.J.A. & Luca Montanarella. L. 2004. Organic Matter in the Soils of Southern Europe. Office for Official Publications of the European Communities, Luxemburgo. Disponível em: <http://esdac.jrc.ec.europa.eu/content/organic-matter-soils-southern-europe>.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Caracterização do composto Nutriverde[®], e do solo antes do ensaio.

	Composto	Solo	
Matéria orgânica (%)	60	1,36	baixo
pH	8,3	7,31	neutro
Condutividade eléctrica (dS.m ⁻¹)	2,6	0,058	sem efeito salino
Humidade (%)	21		
Azoto total (%)	1	0,62	
N-NH ₄ ⁺ (mg.kg ⁻¹)		43,3	
N-NO ₃ ⁻ (mg.kg ⁻¹)	50	181	
K ₂ O (g.kg ⁻¹)	8,3	0,11	alto
P ₂ O ₅ (g.kg ⁻¹)	6,0	0,23	alto
Ca total (g.kg ⁻¹)	53	0,51	
Mg total (g.kg ⁻¹)	5,7	-	
S (mg.kg ⁻¹)	217	-	
Fe (mg.kg ⁻¹)	8,6	-	
Mn (mg.kg ⁻¹)	219	4,31	muito baixo
Mo (mg.kg ⁻¹)	0,7	-	
B (mg.kg ⁻¹)	358	-	
Se (mg.kg ⁻¹)	< 0,3	-	
Zn (mg.kg ⁻¹)	67,5	0,089	muito baixo
Índice de germinação (%)	84,8	-	

Quadro 2 – Valores médios das variáveis determinadas.

Variável ¹	Sem composto	Composto incorporado	Composto em cobertura
Mortalidade (%)	1,39a	1,39a	1,39a
Altura até à 1 ^a inflorescência (cm)	12,4b	16,4a	15,5ab
Altura total da planta (cm)	29,8b	46,7a	50,6a
Número de lançamentos (n ^o)	3,17a	3,54a	3,67a
Peso fresco total (g)	18,6b	57,5a	60,5a
Peso seco total (g)	4,21b	12,3a	12,9a
Peso fresco das folhas (g)	6,99b	19,8a	20,1a
Peso fresco dos caules (g)	4,64b	15,3a	18,4a
Peso fresco das flores (g)	6,92b	22,5a	22,0a
Peso seco das folhas (g)	1,61b	4,22a	4,37a
Peso seco dos caules (g)	1,01b	3,18a	3,93a
Peso seco das flores(g)	1,59b	4,77a	4,71a
Relação peso fresco folhas/ p.f. caules	2,09a	1,65a	1,45a
Relação peso seco das folhas/p.s. caules	3,55a	1,90a	1,82a

¹ Em cada linha, os valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças estatísticas para $p \leq 0,05$.

Quadro 3 - Produtividade das modalidades testadas (kg.ha⁻¹).

Variável ¹	Sem composto	Composto incorporado	Composto em cobertura
Peso total			
Peso fresco	824b	2557 ^a	2688a
Peso seco	187b	548 ^a	571a
Peso fresco			
Folhas	311b	880 ^a	894a
Caules	206b	678 ^a	816a
Peso seco			
Folhas	72b	188 ^a	194a
Caules	45b	141 ^a	175a

¹ Em cada linha, os valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças estatísticas para $p \leq 0,05$.

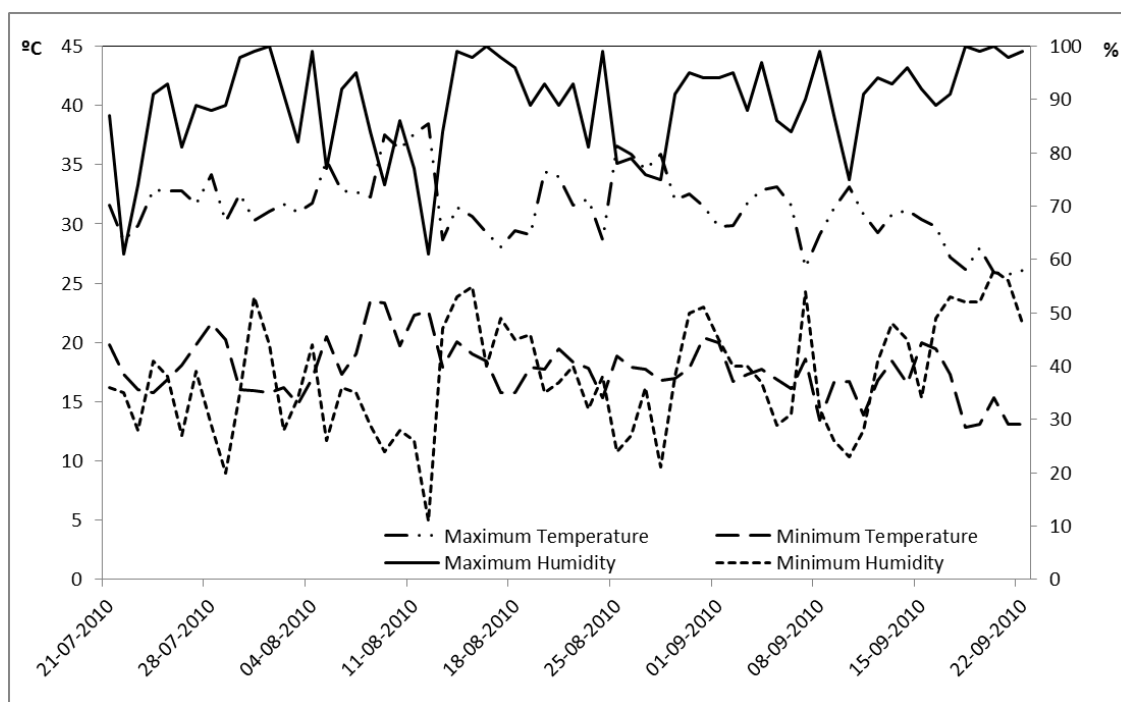


Figura 1 – Temperatura do ar durante o ensaio. A zona no rectângulo sombreado assinala o período de crescimento mais activo das plantas.

Un sistema para manejar el riego en cultivos hortícolas mediante la monitorización del estado del suelo

Iván Nicolás¹, José M. De la Rosa¹, Juan A. López², Pencho Soto², Roque Torres², Alejandro Pérez² & Rafael Domingo²

¹Widhoc Smart Solutions S.L., CEDIT – Parque Tecnológico de Fuente Álamo, Ctra. del Estrecho-Lobosillo, km. 2, 30320 – Fuente Álamo (Murcia), {jmdelarosa, ivan}@widhoc.com

²Univesidad Politécnica de Cartagena, Pza. del Cronista Isidoro Valverde, Edif. La Milagrosa, CP. 30202 Cartagena, {jantonio.lopez; pencho.soto, roque.torres, alex.perez, rafael.domingo}@upct.es

Resumen

Los agricultores de zonas áridas y semiáridas, como las del sureste español, no disponen de los recursos suficientes para satisfacer las necesidades hídricas de sus cultivos y, por esta razón, se ven obligados a optimizar dichos recursos.

En este trabajo se describe un sistema que permite programar el riego en hortícolas a partir del estado hídrico del suelo. Dicho estado se mide utilizando sensores de potencial matricial y contenido volumétrico, colocados a diferentes profundidades del bulbo húmedo y conectados a un nodo inalámbrico GPRS, autónomo desde el punto de vista energético. Dicho nodo facilita la conexión de la mayoría de los sensores agronómicos existentes en el mercado.

El equipo de técnicos agrónomos de la empresa Widhoc Smart Solutions S.L., responsable del diseño, desarrollo y despliegue del dispositivo mencionado, analiza la información registrada y realiza, semanalmente, informes con recomendaciones de riego para sus clientes. Dichas recomendaciones se determinan en base a valores umbrales de estado hídrico del suelo que varían en función del tipo de cultivo, fase fenológica, calidad del agua de riego y tipo de suelo. Además, se tienen en cuenta otras variables como la meteorología.

La utilización de este sistema ha permitido disminuciones importantes de riego (entre el 20 y 40 %) sin mermas en la cantidad y calidad de la cosecha (incluso en ocasiones se ha incrementado), mejorando de esta forma la eficiencia en el uso del agua de riego y disminuyendo las pérdidas de fertilizantes por lixiviación, lo que además de disminuir los costes, evita el problema de la contaminación de acuíferos.

Palabras-clave: horticultura de precisión, optimización del riego, Wireless Sensor Networks, GPRS node, sensores de suelo.

Abstract

Farmers in arid and semi-arid areas, such as those in southern Spain, do not have enough resources to meet the water needs of their crops and, for this reason, they are forced to optimize these resources.

This work describes a system that allows the scheduling irrigation task in horticulture crops by using information from the matrix potential of the soil. This state is measured using matrix potential sensors and volumetric content, placed at different depths of the wet bulb and connected to an energy-independent GPRS wireless node. This node facilitates the connection of most agronomic sensors on the market.

The team of agronomists from Widhoc Smart Solutions S.L., responsible for the design, development and deployment of the mentioned device, analyses the recorded

information and weekly reports with irrigation recommendations for their clients. These recommendations are determined based on threshold values for soil water status, which vary according to the type of crop, phenological phase, irrigation water quality and soil type. In addition, other variables such as meteorology are taken into account.

The use of this system has allowed significant decreases in irrigation (between 20 and 40%) without any reduction in the quantity and quality of the harvest (sometimes even increased), thus improving the efficiency of irrigation water use and reducing losses of fertilizers by leaching which, in addition to cost reduction, avoids the problem of aquifer contamination.

Keywords: precision horticulture, irrigation optimization, Wireless Sensor Networks, GPRS node, soil sensors.

Introducción

La escasez de agua constituye uno de los principales desafíos del siglo XXI al que se están enfrentando ya numerosas sociedades de todo el mundo. A lo largo del último siglo, el uso y consumo de agua creció a un ritmo dos veces superior al de la tasa de crecimiento de la población (WWAP, marzo de 2012). En regiones áridas y semiáridas, como las del sureste español, los agricultores no disponen de los recursos suficientes para satisfacer las necesidades hídricas de sus cultivos y, por esta razón, se ven obligados a optimizar dichos recursos.

Para conseguir esta optimización de recursos es necesario recurrir a metodologías como la denominada Agricultura de Precisión, que entre otras tareas persigue conocer lo que le ocurre a la planta y a su entorno. Para ello, se suelen llevar a cabo tareas de instrumentación en suelo, agua y planta.

El concepto de Agricultura de Precisión (AP), está fuertemente ligado a las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TICs), ya que son éstas las que lo hacen viable, posibilitando la adquisición de datos que proporcionan conocimiento acerca del estado del suelo, de la planta y del ambiente (Zhang et al., 2002). Dicho conocimiento se utiliza para realizar predicciones y tomar decisiones sobre los cultivos. De esta forma, pueden construirse modelos de riego adaptados a cada cultivo. Sin embargo, en muchas ocasiones, el proceso de instrumentación de la planta supone un gran inconveniente para el agricultor, ya que al utilizarse la tecnología cableada, puede dificultar las labores agrícolas (M.R. Conesa, 2013). Por este motivo, en la última década los investigadores han llevado a cabo interesantes avances en el contexto de las Redes Inalámbricas de Sensores (WSNs), aplicadas a la AP, permitiendo el despliegue de dispositivos de forma eficiente y compatible con las actividades agrícolas (Akyildiz et al., 2002); prestando especial atención a cuestiones esenciales: robustez, mejora de las comunicaciones, reducción del consumo energético y del coste económico.

En este trabajo se describe un sistema que permite programar el riego en cultivos hortícolas a partir de la demanda climática y la monitorización del estado hídrico del suelo. Dicho estado se mide utilizando sensores de potencial matricial y contenido volumétrico, colocados a diferentes profundidades del bulbo húmedo y conectados a un nodo inalámbrico GPRS, autónomo desde el punto de vista energético. Dicho nodo facilita la conexión de la mayoría de los sensores agronómicos existentes en el mercado, y almacena la información registrada en una plataforma de Cloud Computing, que se ha diseñado a medida y está basada en Google App Engine. Posteriormente, el equipo agronómico de Widhoc analiza la información registrada y genera los correspondientes informes con las recomendaciones de riego a sus clientes semanalmente.

La utilización de este sistema ha permitido disminuciones importantes de riego (entre el 20 y 40 %) sin mermas en la cantidad y calidad de la cosecha, tal y como se describirá más adelante.

Materiales y Métodos

En este trabajo, se pretende realizar contribuciones a los problemas planteados, es decir, la optimización de los recursos hídricos. Para ello, se propone un sistema que hace uso de las tecnologías inalámbricas, por lo que no interfiere en las labores agrícolas. El sistema es totalmente autónomo y está alimentado por baterías y paneles solares, por tanto, su autonomía es prácticamente ilimitada. Además, puesto que hace uso de una arquitectura de red distribuida, toda la información monitorizada con un nodo sensor GPRS y procedente de los sensores, es enviada al Datastore de Google, que es uno de los módulos clave que se utiliza para implementar la plataforma de Cloud Computing, basada en Google App Engine, que ha sido diseñada y desarrollada ad-hoc para Widhoc. El usuario, a través de cualquier dispositivo (móvil, tablet u ordenador) y por medio de un sistema de autenticación, puede ver el estado de su cultivo, analizar las gráficas de la evolución de la información obtenida por los sensores con múltiples opciones y descargar los datos del mismo, entre otras características.

El nodo sensor GPRS (ver fig. 1) está basado en un diseño modular, compuesto por dos placas electrónicas:

1) Una placa principal o base denominada MEWIN Main-Board. Esta placa contiene los componentes básicos más importantes que permiten su utilización en cualquier aplicación dentro del ámbito de las WSNs. Estos componentes son el micro-controlador de ultra bajo consumo MSP430F2618 y el módulo de radio IEEE 802.15.4/ZigBee CC2520 junto con el PA/LNA CC2591, que dotan al dispositivo de capacidad de procesamiento y comunicación. Sin embargo, en la mayoría de instalaciones de Widhoc las comunicaciones están basadas en GPRS y el módulo de radio CC2520-CC2591 no se utiliza.

2) Una placa secundaria, MEWIN GPRS-Board. Esta placa ha sido diseñada específicamente para su uso con un módem GPRS, concretamente el módulo SIM 900. Además, permite la conexión de una gran variedad de sensores en el ámbito de la AP. Se conecta a la Main-Board a través de conectores de expansión tal y como indica en la fig. 1.

Una de las principales características de los dispositivos, es que son totalmente configurables por medio de la tarjeta microSD, de forma que, cambiando un archivo de configuración en la misma, se pueden especificar varios parámetros: el periodo de muestreo y envío de los datos, el número y tipo de sensores conectados, entre otros. Una vez configurado, el nodo realiza la lectura de los sensores y almacena en la microSD el dato con su correspondiente marca de tiempo, así como una “flag” que indica si el dato se ha enviado, o no, a la Nube. Posteriormente, el nodo envía todos los datos almacenados y no enviados hasta ese momento, de esta forma, se optimiza al máximo el uso de la batería, ya que el mayor consumo del dispositivo se da cuando se establece la comunicación a través del modem GPRS. Además, para registrar temporalmente los datos en la tarjeta de memoria microSD, se utiliza un RTC que está conectado con el microcontrolador MSP430F2618 mediante bus I²C.

Los datos se envían a la Nube a través de una petición HTTPS (de modo que la información se transmite cifrada, manteniéndose la privacidad y la seguridad de la misma). Específicamente, se ha usado Google como proveedor y sus servicios a través de Google App Engine. En particular, se ha diseñado e implementado el backend utilizando el sistema de Endpoints que Google provee. De este modo, es muy sencillo intercambiar

datos, en formato JSON, de forma segura con el cliente y almacenarlos en el Datastore (un almacén de datos no relacional altamente escalable y encriptado, optimizado para permitir consultas rápidas). El Datastore de Google se puede manejar de distintos modos. En este caso, se ha elegido la interfaz estándar JDO 3.0, ya que permite el acceso al Datastore asociando clases Java con entidades de datos (que en el Datastore son equivalentes a las filas de las tablas de un modelo relacional). Además, a través de JDO 3.0 se pueden realizar consultas similares a SQL, aunque la base de datos no sea relacional.

Las operaciones que se proporcionan a través del Endpoint de Google diseñado se pueden llamar desde un cliente escrito en diferentes lenguajes, para diferentes plataformas. En este caso, se ha desarrollado un cliente WEB (con HTML5 y Javascript), que facilita el acceso a todos los datos relevantes a aquellos usuarios que superan un proceso de autenticación. Los datos se muestran de forma gráfica, pueden exportarse a formato Excel, es posible configurar alarmas, obtener la posición geográfica de los nodos y realizar otras operaciones interesantes para el usuario final.

Resultados y Discusión

Para comprobar el correcto funcionamiento de todo el sistema se realizaron múltiples ensayos con diferentes cultivos hortícolas (ver fig. 2): escarola, pimiento, tomate, etc. Concretamente, en este trabajo se hace hincapié en un ensayo que se ha realizado en un cultivo de pimiento en invernadero, en el que se han desplegado 2 nodos GPRS para monitorizar el cultivo mencionado, y del que se presentarán los resultados más relevantes. Dicho despliegue se realizó en Miranda (Cartagena), en una finca de 4 ha, donde se ha utilizado el sistema de Widhoc con el objetivo de conocer en todo momento el estado del cultivo y de esta forma optimizar al máximo el agua de riego.

Los sensores se colocaron, tanto en la zona de máxima densidad radicular, como debajo del bulbo húmedo, con objeto de mantener un correcto estado hídrico y detectar las posibles pérdidas de agua por drenaje, respectivamente. En concreto, el sistema está compuesto por sensores que miden el contenido volumétrico de agua en el suelo (10HS), la tensión matricial (MPS6), la conductividad eléctrica aparente del suelo (5TE), parámetros ambientales (VP4), todos ellos comercializados por Decagon Devices, Inc. El volumen de riego aportado es medido por caudalímetros en la línea de riego.

Los datos de todos los sensores son enviados a la nube y almacenados en el Datastore de Google App Engine. El usuario puede acceder a los datos de forma cómoda y rápida, tal y como se muestra en la fig. 3, donde se puede apreciar el aspecto de frontend del sistema de Cloud Computing, que permite elegir los parámetros a visualizar, así como rangos de medida y fecha, representación de límites de la medida, descarga de datos en formato Excel, descarga de la gráfica, etc.

En la fig. 4 se observa la disminución del potencial matricial después de los riegos, debido a la extracción radicular, alcanzándose valores mínimos (pre-riego) entre -15 y -25 kPa lo que indica que el suelo se mantuvo en un correcto estado hídrico. El volumen de agua aplicado en los riegos fue suficiente para recargar plenamente el suelo.

En la fig. 5 se aprecia los incrementos de humedad a 40 cm de profundidad lo que indica que hay drenaje. El agricultor pudo ajustar el tiempo de riego y los intervalos entre riegos para conseguir el drenaje óptimo. Las variables climáticas monitorizadas (fig. 6) presentan las fluctuaciones diarias típicas para el déficit de presión de vapor y la humedad relativa del aire. Esta información es especialmente útil para cultivos en invernaderos, ya que ayuda a decidir el momento y tiempo de apertura de ventanas.

El sistema de gestión de variables de suelo y clima proporcionado por Widhoc, ha demostrado ser eficaz por su flexibilidad en la instalación, su autonomía energética y su

capacidad para instrumentar un gran número de sensores de uso agronómico. La gestión de los datos se realiza desde cualquier plataforma y sistema operativo, permitiendo múltiples visualizaciones y la gestión de alarmas para asistir de un modo apropiado al técnico agrícola en el manejo del riego.

Conclusiones

Se ha diseñado un sistema que permite monitorizar cultivos hortícolas, y que está basado en un nodo GPRS al que se le pueden conectar los sensores agronómicos comerciales más habituales en aplicaciones de Agricultura de precisión.

El sistema descrito en este trabajo ha demostrado tener una elevada flexibilidad en la instalación, tener la robustez necesaria para aplicaciones agronómicas reales e incorporar un diseño electrónico adecuado que asegura su autonomía energética mediante el uso de un panel solar para recargar la batería, entre otras características.

La utilización de este sistema ha permitido disminuciones importantes de riego (entre el 20 y 40 %) sin mermas en la cantidad y calidad de la cosecha, mejorando de esta forma la eficiencia en el uso del agua de riego y disminuyendo las pérdidas de fertilizantes por lixiviación, lo que además de disminuir los costes, evita el problema de la contaminación de acuíferos.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a los proyectos cDrone (ref. TIN2013-45920-R), RIDEFRUT (ref. AGL2013-49047-C2-1-R) y ARIFRUT (AGL2016-77282-C3-3-R) su apoyo para realizar este trabajo. Agradecer también a Widhoc Smart Solutions S.L. por permitir utilizar sus instalaciones para realizar las pruebas. Este trabajo también es resultado de la actividad llevada a cabo dentro del “Programa de Investigación para Grupos de Excelencia Científica en la Región de Murcia” de la Fundación Séneca (Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia).

Referencias

- Akyildiz, I.F., Su, W., Sankarasubramaniam, Y., Cayirci, E., 2002. Wireless sensor networks: a survey, *Computer Networks* 38, 393-422.
- Informe sobre el desarrollo de los recursos hídricos en el mundo. Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos (WWAP), marzo de 2012.
- J.A. López Riquelme, M. García Riquelme, R. Domingo Miguel, H. Navarro Hellín, J. Suardíaz Muro, R. Torres Sánchez, A. Pérez Pastor. Uso de redes inalámbricas de sensores para la optimización del riego en frutales, SAAEI'13, Cd de Actas.
- M.R. Conesa Saura, H. Navarro Hellín, J.M. de la Rosa Sánchez, A. Pérez Pastor, R. Torres Sánchez. Redes de sensores cableadas e inalámbricas. Estudio y aplicación en la instrumentación y control de riego en cultivos, SAAEI'13, Cd de Actas.
- Zhang, N., Wang, M., Wang N. 2002. Precision agriculture-a worldwide overview, *Computers and Electronics in Agriculture* 36, 113-132.

Tablas y Figuras

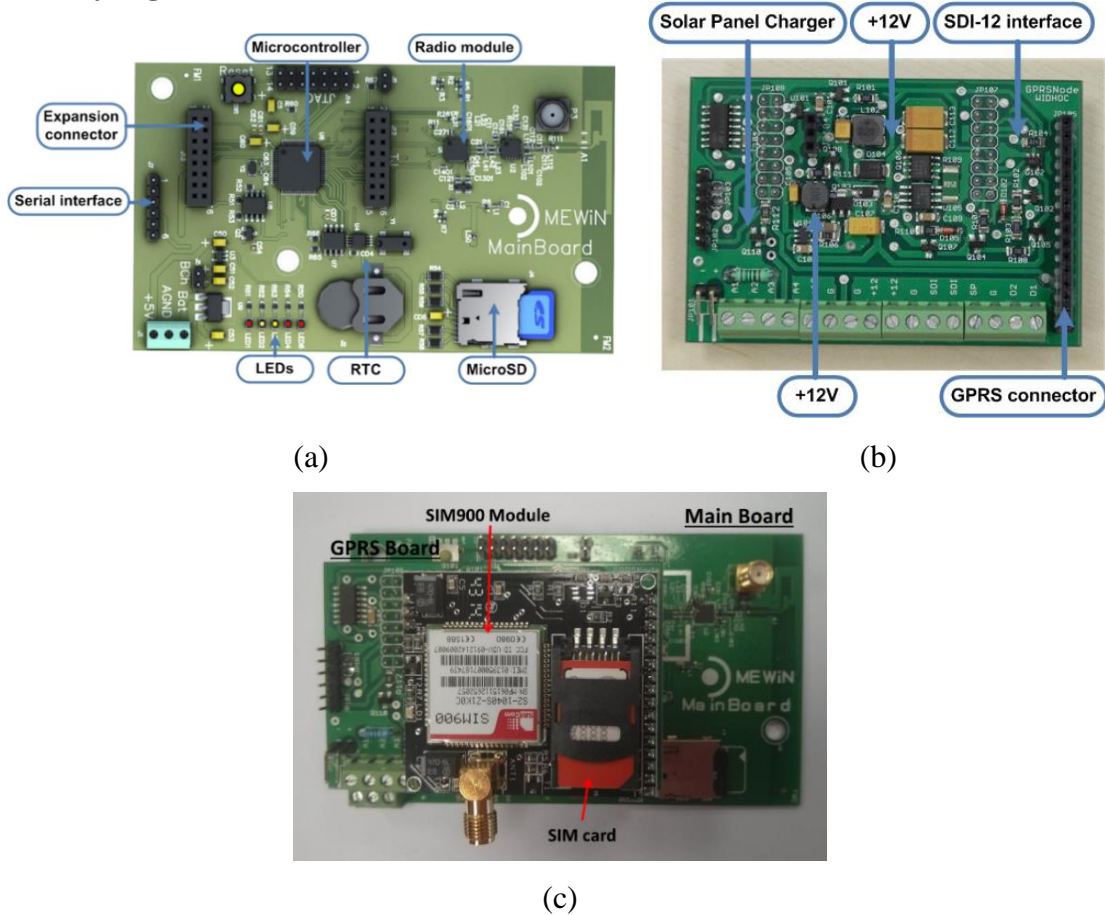


Figura 1 – PCBs del nodo sensor GPRS. (a) Main-Board: placa base del dispositivo. (b) MEWIN GPRS-Board: PCB que se conecta sobre la anterior e incorpora conectores para los sensores agronómicos más habituales, así como pines de conexión para el módulo GPRS SIM900. (c) Vista del conjunto ensamblado con el módulo SIM900.



Figura 2 – Vistas de ensayos realizados. (a) Fotografía de uno de los nodos en un cultivo de tomates. (b) Fotografía de uno de los nodos en un cultivo de escarola.



Figura 3 – Vista del frontend del sistema de cloud computing que utiliza el equipo agronómico de Widhoc para preparar los informes con las recomendaciones de riego a sus clientes.

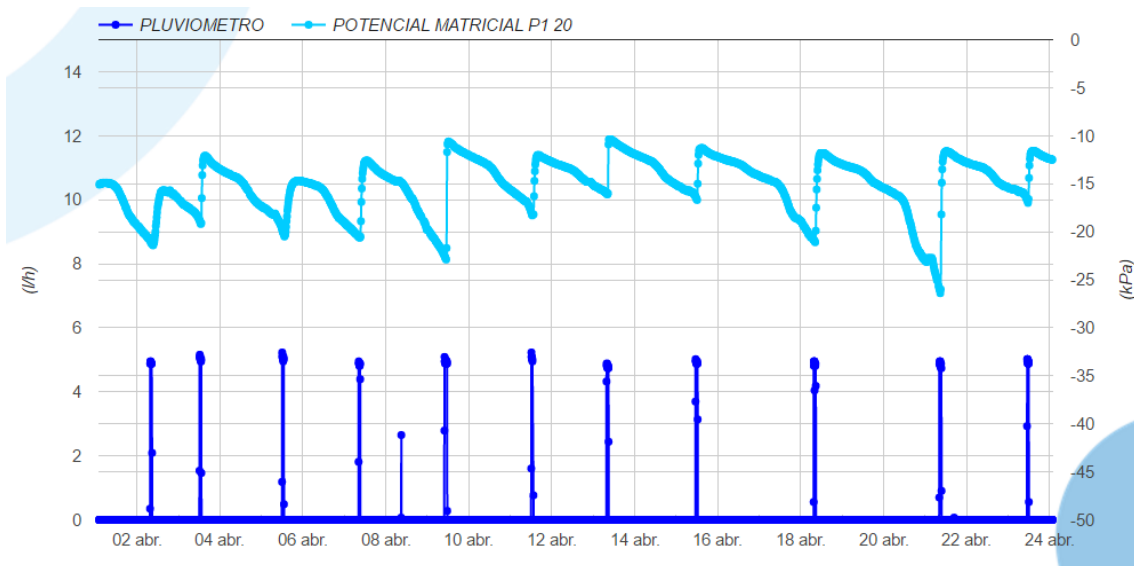


Figura 4 - Evolución del potencial matricial (azul claro) y el caudal de los riegos aplicados en cultivo de pimienta (azul oscuro).

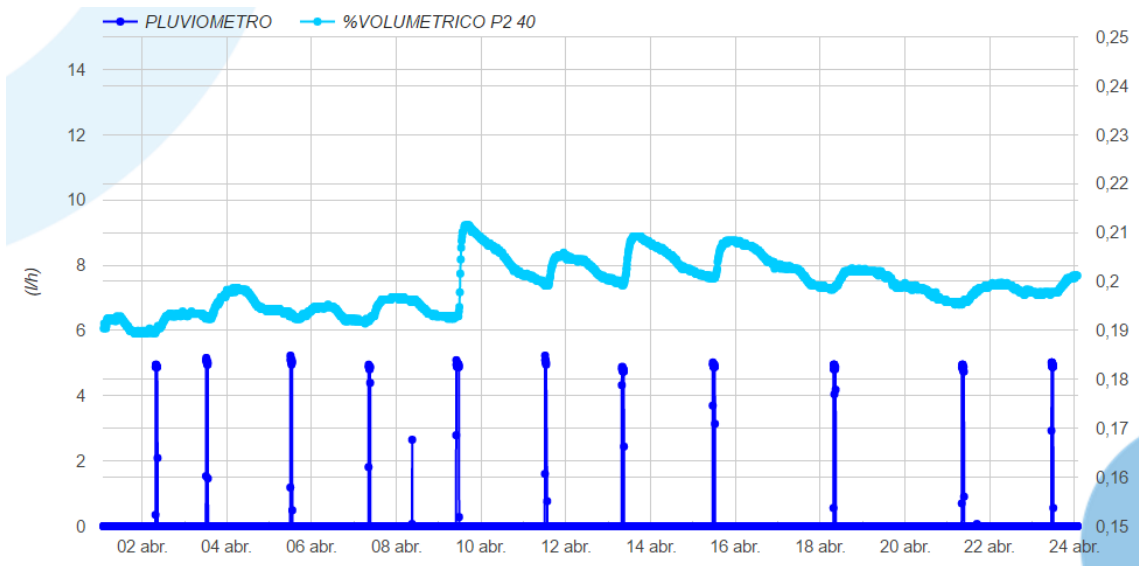


Figura 5 - Evolución de la humedad volumétrica a 40 cm de profundidad (azul claro) y caudal de los riegos (azul oscuro) en cultivo de pimiento.

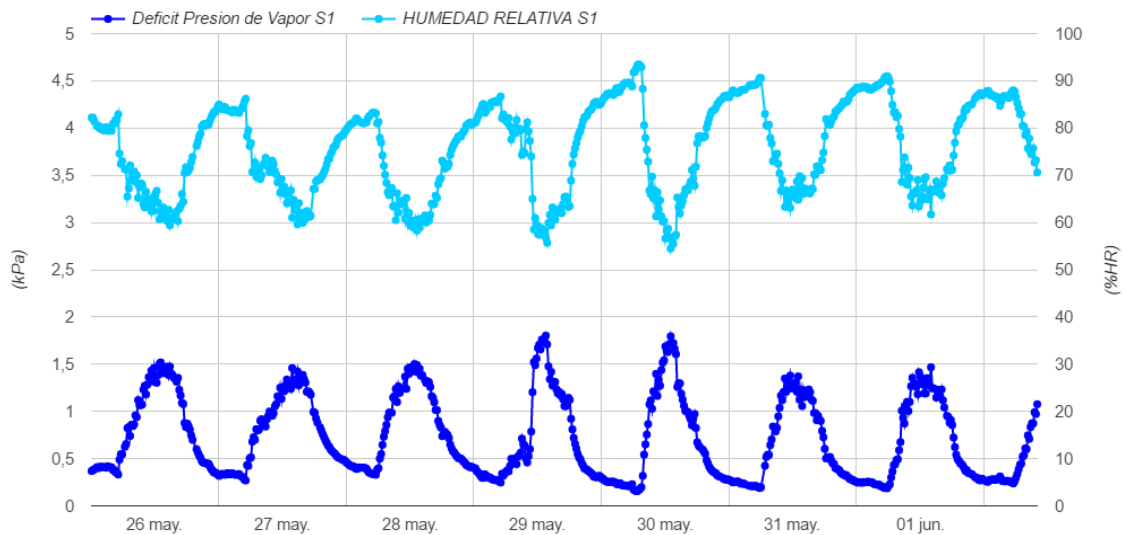


Figura 6 - Evolución de la humedad relativa del aire (azul claro) y el déficit de presión de vapor (azul oscuro) en invernadero de pimiento.

Aplicación de tensioactivos no iónicos para mejorar la productividad del agua en condiciones de riego deficitario en mandarino híbrido ‘Ortanique’

Pérez-Pérez J.G. *, Robles J.M., García-Oller M.I., Frutos J.M., Quinto V.B., Botía P.

Departamento de Recursos Naturales, Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), c/Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia).

e-mail: juang.perez@carm.es

Resumen

Los agentes tensioactivos no iónicos (también conocidos como agentes humectantes y/o “surfactantes”) son sustancias del tipo detergentes que reducen la tensión superficial del agua, favoreciendo su movimiento en el suelo y la retención de nutrientes, por lo que aplicados en el agua de riego pueden ayudar a mejorar la eficiencia en el uso del agua y de los fertilizantes. Por este motivo, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia sobre la respuesta del cultivo de agentes humectantes en condiciones de riego deficitario durante tres campañas. Para ello se utilizaron árboles de 17 años de edad, de mandarino híbrido ‘Ortanique’ (*Citrus sinensis* (L.) Osb × *Citrus reticulata* Blanco) injertado sobre mandarino ‘Cleopatra’ (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka). Se aplicaron tres tratamientos de riego: Control (100% ETc sin surfactante), RD (50% ETc sin surfactante) y RD+KMA (50% ETc con surfactante). El agente humectante se aplicó 6 veces al año a una dosis de 2.4 mL árbol⁻¹, desde primeros de junio hasta mediados de agosto. En condiciones de riego deficitario, se observó que la aplicación del agente humectante produjo una eventual mejora en el contenido de humedad del suelo, aunque no produjo cambios en el estado hídrico del cultivo. Por otro lado, también se observó una mayor retención de nitratos en el suelo, hecho que se manifestó en un aumento del contenido de N en hoja. Los árboles del tratamiento RD+KMA no mostraron cambios significativos en el desarrollo vegetativo ni en la calidad del fruto (comparados con el tratamiento RD); sin embargo, si se observó un menor impacto del déficit hídrico aplicado sobre la respuesta productiva. Por lo tanto, en base a estos resultados, el uso de agentes humectantes puede representar una herramienta positiva para minimizar los efectos producidos por el déficit hídrico en el cultivo de cítricos regados con infradotación hídrica.

Palabras clave: Cítricos, agentes humectantes, déficit hídrico, relaciones hídricas en planta, nutrición mineral, producción, calidad del fruto.

Abstract

Non-ionic tensoactive compounds (also known as wetting agents and/or “surfactants”) are detergent-like substances that reduce the surface tension of water, enhancing its movement in the soil and the retention of nutrients, and therefore their application in irrigation water can help to improve water and fertilizer use efficiency. For that reason, the aim of this study was to evaluate the influence of wetting agents on the crop response under deficit irrigation conditions during three seasons. For this purpose 17-year-old trees of ‘Ortanique’ hybrid mandarin (*Citrus sinensis* (L.) Osb × *Citrus reticulata* Blanco) grafted on ‘Cleopatra’ mandarin (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka) were used. Three irrigation treatments were applied: Control (100% ETc without surfactant), RD (50% ETc without surfactant) and RD+KMA (50% ETc with surfactant). The wetting agent was applied 6 times a year at a dose of 2.4 mL tree⁻¹, from early June to mid- August.

Under deficit irrigation conditions, an eventual improvement of the soil water content caused by the application of the wetting agent was observed, but did not produce changes in the crop water status. On the other hand, greater retention of nitrate in the soil was also observed, which was manifested as an increase in the leaf N content. The RD+KMA trees did not show significant changes either in vegetative development or in fruit quality (compared with the RD treatment); however, there was a lower impact of the water stress applied on the productive response. Therefore, based on these results, the use of wetting agents can represent a positive tool to minimize the effects of water stress on under-watered crops.

Keywords: Citrus, wetting agents, water stress, plant water relations, mineral nutrition, yield, fruit quality.

Introducción

En el levante español los cítricos constituyen el cultivo arbóreo de regadío más importante a nivel socioeconómico. El clima de estas regiones es típico Mediterráneo (caracterizado por la escasez de lluvias y la alta evapotranspiración) donde tienen lugar largos períodos de escasez de recursos hídricos, especialmente en verano. Actualmente, la demanda hídrica existente en estas regiones está muy por encima de los recursos hídricos disponibles, lo que obliga a buscar nuevas estrategias que permitan un uso más eficiente del agua en agricultura.

Los cítricos se consideran un cultivo sensible al déficit hídrico (Doorembos & Kassam, 1979), cuya dotación teórica anual en esta región no solo es insuficiente para cubrir plenamente su demanda, sino que además está a expensas de la disponibilidad de agua en cada momento. El riego deficitario (RD) ha sido ampliamente estudiado como una estrategia productiva valiosa y sostenible en regiones semiáridas, que mediante la reducción del agua aportada puede permitir aumentos significativos de la productividad del agua (Feres et al., 2003). Sin embargo, la aplicación de este tipo de estrategias puede ocasionar en la planta situaciones de estrés hídrico indeseadas, que afectan al cultivo negativamente tanto al desarrollo vegetativo (Pérez-Pérez et al., 2008a), como al productivo (García-Tejero et al., 2011).

También existen ocasiones en las que, a pesar de disponer de agua de riego suficiente, el cultivo puede estar expuesto a periodos de estrés hídrico y nutricional pasajeros derivados de problemas de infiltración y/o distribución heterogénea en el suelo, tanto del agua (McCauley et al., 1985) como de los fertilizantes (Lowery et al., 2005). Este tipo de problemas pueden ser ocasionados por varios motivos, entre los que destacan la repelencia del suelo al agua (suelos arenosos con carácter hidrofóbico) (Doerr et al., 2000), poseer un tamaño de poro demasiado pequeño (suelos muy arcillosos) o sencillamente por la compactación del suelo ocasionada por las propias labores de cultivo (Laker, 2001). Además, este tipo de problemas pueden agravarse durante periodos prolongados de sequía o de baja humedad del suelo. En estas situaciones, si el agua no puede penetrar en el suelo con facilidad, la disponibilidad de agua y nutrientes para la planta disminuye limitando el desarrollo vegetativo y la producción.

En la actualidad existen agentes humectantes (también conocidos como “surfactantes”), que son sustancias del tipo detergentes que reducen la tensión superficial del agua, favoreciendo su movimiento uniforme y la retención de nutrientes en el suelo (Lowery et al., 2005). Existen estudios en diversos cultivos en los que se ha demostrado la eficacia de estos compuestos, como por ejemplo en maíz (Chaichi et al., 2013) y patata (Arriaga et al., 2009). Sin embargo, no existe información acerca de su uso en cultivos arbóreos, y más concretamente, en cítricos. Por este motivo, el principal objetivo de este

estudio fue evaluar la eficacia de una formulación comercial de agentes humectantes sobre la respuesta fisiológica y agronómica en condiciones de riego deficitario de árboles adultos de mandarino híbrido ‘Ortanique’.

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo durante tres campañas (2010/11-2012/13) en una parcela experimental de cítricos del IMIDA ubicada en Torre Pacheco (Murcia), la cual posee un suelo representativo de la zona (textura franco-arcillo-arenosa), con bajo contenido en materia orgánica (0.53%). El ensayo se realizó en árboles de 17 años de edad de mandarino híbrido ‘Ortanique’ injertado sobre mandarino ‘Cleopatra’, con un marco de plantación de 4×3 m. El sistema de riego utilizado constó de una línea portagotos por fila de árboles, con tres goteros autocompensantes (4 L h^{-1}) por árbol. La programación del riego se efectuó semanalmente, teniendo en cuenta la evapotranspiración de referencia (ET_o) calculada con el método de Penman-Monteith, mediante la siguiente ecuación: $ET_c = ET_o \times K_c$, donde la ET_o viene en mm y K_c es el coeficiente de cultivo. Los valores de K_c aplicados han sido los siguientes: enero-junio 0.4, junio-agosto 0.5, agosto-octubre 0.7, noviembre-diciembre 0.4. La cantidad media anual de fertilizante aplicado en la parcela experimental fue 874 kg ha^{-1} de NH_4NO_3 , 191 kg ha^{-1} de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 441 kg ha^{-1} de KNO_3 , 207 g nitro-magnesio y 66 g por árbol de quelato de Fe EDDHA.

En este experimento se aplicaron tres tratamientos de riego: Control (100% ET_c y sin agente humectante), RD (50% de la ET_c y sin agente humectante) y RD+KMA (50% ET_c y con la aplicación del agente humectante). En el tratamiento RD+KMA se realizaron 6 aplicaciones anuales (durante el periodo comprendido entre el 1 junio y el 15 de agosto), con una frecuencia de aplicación de 15 días (fig. 1) y una dosis de $2.4 \text{ mL árbol}^{-1}$ (2 L ha^{-1}) del producto, compuesto por agentes tensoactivos no iónicos de la marca comercial ‘KAMASOL® AQUA’ (COMPO EXPERT Spain S.L.).

El contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) se midió utilizando una sonda de capacitancia (Diviner 2000, Sentek), a través de un tubo de acceso de PVC, instalado a una profundidad de 100 cm y a 10 cm del gotero. El estado hídrico del cultivo se determinó mediante la medida del potencial hídrico del tallo al mediodía (Ψ_{tallo}), utilizando una cámara de presión (modelo 3000; Soil Moisture Equipment Corp.). Para evaluar el efecto del producto a corto plazo, en el año 2012 se realizaron controles del estado hídrico del suelo durante los 6 días de aplicación del producto, justo antes y 24 horas después de su aplicación.

La concentración de N-NO_3^- de la solución de suelo se midió periódicamente durante el año 2011; para ello se instalaron sondas de succión ubicadas en el bulbo húmedo del suelo (a 10 cm de la línea de goteros y a 30 cm de profundidad). La determinación de la concentración de N-NO_3^- se llevó a cabo mediante cromatografía iónica (mod. Dionex ICS-3000). Para el análisis foliar de N, se tomaron seis muestras por tratamiento de 25 hojas completamente maduras (de cinco a ocho meses de edad) en momentos representativos del ensayo del año 2011. El material vegetal fue lavado con agua destilada, secado en estufa a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 horas y triturado, y se determinó el N total mediante el proceso de combustión de Dumas utilizando un analizador de nitrógeno Leco FP-428.

Al final de cada ciclo de cultivo se controló el peso de poda de cada árbol (kg árbol^{-1}). A finales del mes de febrero de los tres años de ensayo se controló la producción, el número de frutos y se determinó el peso medio de fruto de cada árbol, y se calculó la productividad del agua (PA) como la relación entre la cosecha y el agua de riego aplicada durante el mismo periodo (kg m^{-3}). Para el control de la calidad del fruto, en el momento de la cosecha, se tomó una muestra de nueve frutos por árbol (seis muestras por

tratamiento). Los parámetros de calidad del fruto analizados fueron: diámetro del fruto (mm), índice de color externo (IC_{ext}), espesor de corteza (mm), porcentaje de zumo y de corteza, sólidos solubles totales (SST; °Brix), acidez valorable (AT; $g L^{-1}$) e índice de madurez (IM).

El diseño experimental fue de tres bloques al azar, con dos árboles controlados por tratamiento y bloque. El análisis estadístico consistió en un ANOVA unifactorial con tres tratamientos. Para ello se utilizó el paquete estadístico Statsgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies Inc.). Para la separación de medias se aplicó el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$).

Resultados y discusión

Los árboles del tratamiento Control recibieron un volumen de riego medio anual de 609 mm, mientras que la aplicación del tratamiento de riego deficitario (50% ETc; tratamientos RD y RD+KMA) supuso una reducción media del volumen de agua de riego anual de 311 mm (un 49% menos) (fig. 1). La menor dosis de riego aplicada en ambos tratamientos deficitarios (RD y RD+KMA) supuso una disminución del θ_v en el perfil 0-60 cm del suelo (zona con mayor concentración de raíces), con respecto al tratamiento control (fig. 1). La aplicación del agente humectante en condiciones de riego deficitario (RD+KMA) propició solo una ligera mejora del θ_v , respecto al tratamiento de riego deficitario sin producto (RD), en la campaña 2011-2012 (fig. 1E). Sin embargo, en las campañas 2010-2011 y 2012-2013, el efecto del agente humectante sobre el θ_v no fue significativo, tal vez influenciado por el régimen de lluvias. Con el fin de poder evaluar la eficacia del agente humectante a corto plazo, se estudiaron las variaciones de humedad producidas durante las primeras 24 horas tras la aplicación del producto en el perfil 0-80 cm del suelo ($\Delta\theta_{0-80cm}$) durante la última campaña del estudio (tabla 1). El efecto del agente humectante indujo una mayor $\Delta\theta_{0-80cm}$ que en el tratamiento control, y ligeramente superior a la del tratamiento RD a partir de la segunda aplicación. Sin embargo, las variaciones a corto plazo observadas en el θ_{0-80cm} inducidas por el agente humectante no tuvieron un impacto significativo en el θ_v a largo plazo. Por este motivo, es posible que la persistencia del producto en el suelo fuese baja y que su efecto sobre la humedad del suelo pueda desaparecer a los pocos días (Mobbs et al., 2012). La reducción del riego aplicada en los tratamientos deficitarios afectó significativamente al Ψ_{tallo} , con respecto al tratamiento control. En cambio, el efecto observado por la aplicación del agente humectante sobre el θ_v no se vio reflejado en el estado hídrico del cultivo en nuestras condiciones de estudio. El Ψ_{tallo} mostró valores similares en ambos tratamientos deficitarios (RD y RD+KMA) durante el periodo de aplicación del producto (junio-agosto). La ausencia de diferencias en el estado hídrico de los tratamientos deficitarios (con y sin producto) indica que los cambios inducidos en la humedad del suelo no influyeron de forma significativa en el estado hídrico del cultivo, en base a los parámetros evaluados en nuestro estudio.

El control periódico del extracto obtenido de las sondas de succión, realizado en la campaña 2011-2012, detectó un aumento significativo de la concentración de $N-NO_3^-$ en los primeros 30 cm del suelo en los tratamientos de riego deficitario respecto al tratamiento control (fig. 2A). La aplicación del agente humectante tuvo un efecto positivo sobre la capacidad de retención de $N-NO_3^-$ en el suelo tras la primera y la segunda aplicación del producto (del 1 al 20 junio), con valores significativamente más elevados que en el tratamiento RD (fig. 2A), tal vez debido a una redistribución del N aplicado más uniforme en la zona del bulbo húmedo, aumentando la disponibilidad de N para la planta (Arriaga et al., 2009). A nivel de planta, se observó que el contenido de N en hoja del tratamiento RD+KMA fue significativamente más elevado que el del tratamiento RD, a

partir de la segunda aplicación del producto, manteniendo estas diferencias hasta el mes de noviembre. Además, hay que destacar que tras la cuarta aplicación del producto (20 julio), el contenido de N en hoja del tratamiento deficitario con agente humectante (RD+KMA) mostró valores significativamente más elevados que el tratamiento Control.

Respecto al desarrollo vegetativo, la menor dosis de riego aplicada en los tratamientos deficitarios se vio reflejada en el peso de poda (tabla 2). Al finalizar el ensayo, el peso de poda acumulado durante las tres campañas disminuyó en ambos tratamientos deficitarios. Pese a esto, los árboles del tratamiento RD+KMA sufrieron una menor reducción del peso de poda (30%) que el tratamiento RD (45%), lo que denota que la aplicación agente humectante estimuló ligeramente el desarrollo vegetativo, comparado con el tratamiento RD.

Como era de esperar, y después de tres campañas, la producción acumulada de los árboles del tratamiento RD disminuyó significativamente respecto al tratamiento Control (25% menos) (tabla 2). Sin embargo, la reducción de la cosecha en los árboles del tratamiento RD+KMA fue menor (13% menos). Este menor impacto sufrido en el tratamiento RD+KMA no se tradujo en una mejora de la PA global (2010-2013), siendo similar a la obtenida por el tratamiento RD (tabla 2). No obstante, analizando la respuesta productiva obtenida individualmente para cada año, hay que destacar que la PA del tratamiento RD+KMA fue significativamente superior a la obtenida por el tratamiento RD, siendo en la campaña 2010-2011, un 87% más elevada con respecto al tratamiento Control, frente al 55% del tratamiento RD. En el resto de campañas (2011-2012 y 2012-2013) el efecto del producto fue menor, consiguiendo aun así una mejora media de la productividad del agua del 60%, frente al 39% obtenida por el tratamiento RD (datos no mostrados).

El análisis de los parámetros de calidad del fruto reflejó un claro efecto del déficit hídrico aplicado (tabla 3). Los principales efectos mostrados en ambos tratamientos deficitarios fueron un menor diámetro de fruto, y un retraso en la madurez del fruto debido a valores significativamente más bajos del IC_{ext} (solo en 2011-2012) y del IM (ocasionados por un mayor aumento de la acidez que de los SST). El efecto del agente humectante solo se reflejó en la composición del fruto, mostrando un menor porcentaje de zumo, respecto a los tratamientos Control y RD (en las campañas 2011-2012 y 2012-2013), tal vez debido mayormente a un aumento del porcentaje de corteza, que a una reducción por deshidratación del fruto (Pérez-Pérez et al., 2008b).

Conclusiones

La aplicación de agentes humectantes no iónicos en condiciones de riego deficitario tuvo un efecto positivo sobre la respuesta agronómica de árboles de mandarina híbrido 'Ortanique', ya que redujo ligeramente los efectos del déficit hídrico sobre el desarrollo vegetativo y la producción. El principal efecto de estos agentes se debió a una mejora de la disponibilidad de nutrientes en el suelo (hecho reflejado en el estado nutricional), más que por una mejora del estado hídrico del suelo y de la planta. Por lo tanto, y en base a los resultados obtenidos en este estudio, podemos concluir que el uso de agentes humectantes puede representar una alternativa positiva, fácil de aplicar, para mejorar/minimizar los efectos del déficit hídrico sufridos en cultivos regados con infradotación hídrica.

Agradecimientos

Los autores agradecen el soporte y apoyo técnico prestado por la empresa COMPO EXPERT Spain S.L., y la financiación de los contratos FIT a través del programa FEDER-80%. Juan G. Pérez-Pérez también agradece al INIA su contrato

postdoctoral INIA-Doc CCAA, y al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad su contrato postdoctoral “Ramón y Cajal”.

Referencias

- Arriaga, F.J., Lowery, B. & Kelling, K.A. 2009. Surfactant impact on nitrogen utilization and leaching in potatoes. *Am. J. Potato Res.* 86:383–390.
- Chaichi, M.R., Nurre, P., Slaven, J. & Rostamza, M. 2015. Surfactant Application on Yield and Irrigation Water Use Efficiency in Corn under Limited Irrigation. *Crop Sci.* 55:386-393.
- Doerr, S.H., Shakesby, R.A. & Walsh R.P.D. 2000. Soil water repellency: its causes, characteristics and hydro-geomorphological significance. *Earth-Sci. Rev.* 51:33–65.
- Doorenbos, J. & Kassam, A.H. 1979. Yield response to water. FAO irrigation and drainage paper no. 33, pp 81–87.
- Fereres, E., Goldhamer, D.A. & Parsons L.R. 2003. Irrigation water management of horticultural crops. *Hort. Sci.* 38:1036–1042.
- García-Tejero, I., Durán-Zuazo, V.H., Muriel-Fernández, J.L., Martínez-García, G. & Jiménez-Bocanegra J.A., 2011. Benefits of low-frequency irrigation in citrus orchards. *Agron. Sustain. Dev.* 31:779–791.
- Laker, M.C. 2001. Soil Compaction: Effects and Amelioration. *Proc. 75th Annu. Congr. South African Sugar Technol. Assoc.* 125–128.
- Lowery, B., Speth, P. & Kelling K. 2005. Use of surfactant to increase water and nitrogen use efficiency in potato production in hydrophobic sandy soil in Wisconsin, USA. *Geophysical Research Abstracts* 7:490.
- McCauley, G.N., Hossner, L.R. & Nesmith D.M. 1985. Sprinkler Irrigation as an Energy and Water Saving Approach to Rice Production and Management of Riceland Pests. TexasWater Research Institute: Texas.
- Mobbs, T.L., Peters, R.T., Davenport, J.R., Evans, M.A. & Wu J.Q. 2012. Effects of four soil surfactants on four soil-water properties in sand and silt loam. *J. Soil Water Conserv.* 67:275–283.
- Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M. & Botía, P. 2008a. Response of sweet orange cv ‘Lane late’ to deficit irrigation in two rootstocks. I: Water relations, leaf gas exchange and vegetative growth. *Irrig. Sci.* 26(5):415–425.
- Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M. & Botía P. 2008b. Response of sweet orange cv ‘Lane late’ to deficit-irrigation strategy in two rootstocks. II. Flowering, fruit growth, yield and fruit quality. *Irrig. Sci.* 26(6):834–839.

Tablas y Figuras

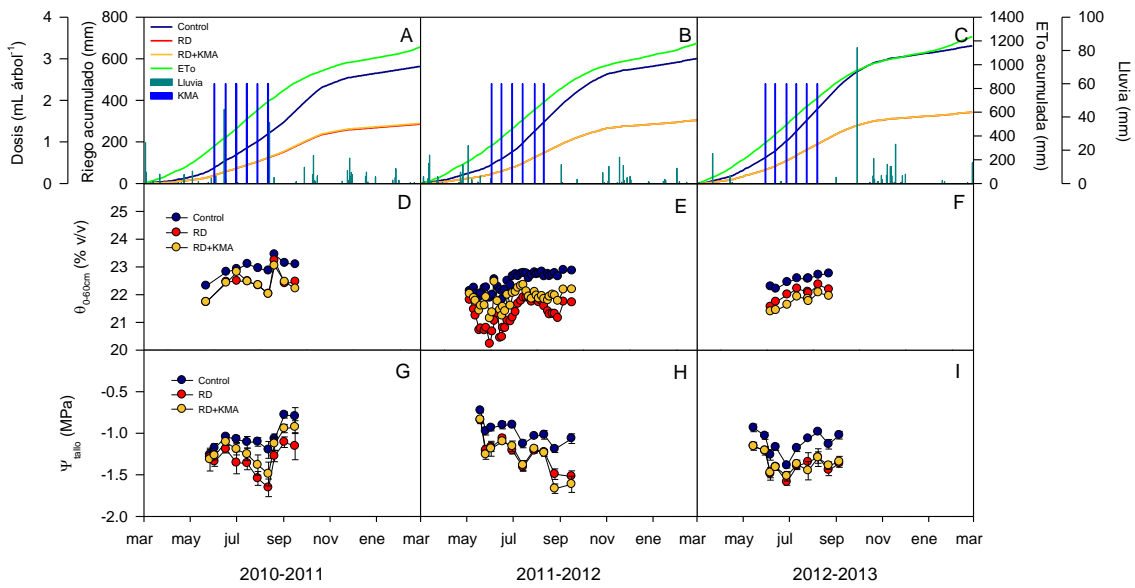


Figura 1 - Evolución estacional de la evapotranspiración de referencia (ET0), agua de riego aplicada acumulada y precipitaciones (A, B y C); del contenido volumétrico de agua en el perfil suelo 0-60 cm (θ_{0-60cm}) (D, E y F); del potencial hídrico de tallo al mediodía (Ψ_{tallos}) (G, H e I) en los diferentes tratamientos de riego aplicados durante el periodo experimental (2010-2013).

Tabla 1 - Variación del stock del contenido volumétrico de humedad del perfil de suelo 0-80 cm ($\Delta\theta_{0-80cm}$) tras 24 horas de su aplicación en los diferentes tratamientos de riego aplicados durante la campaña 2012-2013. * indica diferencias significativas entre tratamientos a $p < 0,05$. Para cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$ según el test de Duncan.

2012-2013	$\Delta\theta_{0-80cm}$ (% v/v)					
	1ª Apl.	2ª Apl.	3ª Apl.	4ª Apl.	5ª Apl.	6ª Apl.
Control	0,40 b	0,49 b	0,81 b	0,50 b	0,47 b	0,67 b
RD	0,77 a	0,71 ab	1,12 ab	0,69 ab	0,62 ab	0,84 ab
RD+KMA	0,78 a	1,08 a	1,53 a	1,03 a	0,94 a	1,20 a
ANOVA	*	*	*	*	*	*

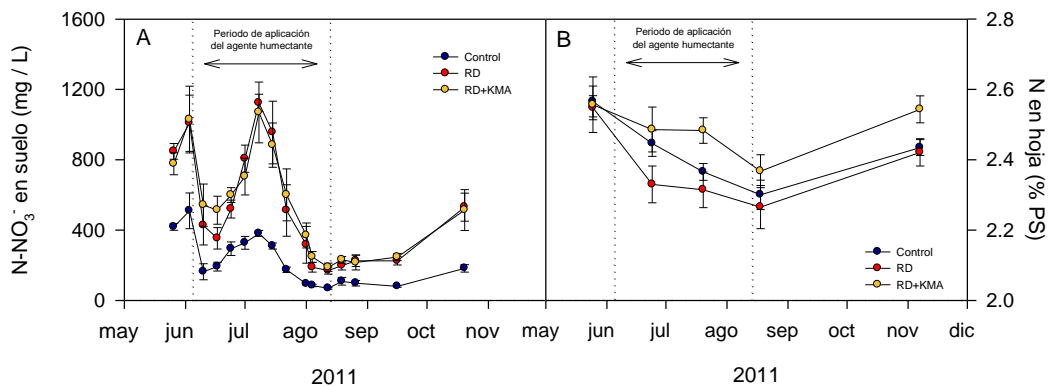


Figura 2 - Evolución estacional de la concentración de nitrato (N-NO₃⁻) en la solución de suelo (A) y del contenido de nitrógeno en hoja (B) en los diferentes tratamientos de riego aplicados durante la campaña de 2011-2012.

Tabla 2 - Parámetros productivos, la productividad del agua (PA) y el peso de poda en los diferentes tratamientos de riego aplicados durante el periodo experimental (2010-2013). *, ** y 'ns' indican diferencias significativas a $p < 0,05$, $p < 0,01$, y no significativas respectivamente. Para cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$ según el test de Duncan.

2010-2013	Producción acumulada (kg árbol ⁻¹)	Carga total (n° frutos árbol ⁻¹)	Peso de fruto (g fruto ⁻¹)	PA media (kg m ⁻³)	Peso de poda acumulada (kg árbol ⁻¹)
Control	332,9 a	1826	183	14,7 b	54,1 a
RD	247,7 b	1566	160	21,2 a	29,8 b
RD+KMA	289,6 ab	1631	176	24,8 a	37,7 ab
ANOVA	*	ns	ns	**	*

Tabla 3 - Parámetros de calidad del fruto en los diferentes tratamientos de riego aplicados durante el periodo experimental (2010-2013). *, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0,05$ según el test de Duncan.

	Diámetro (mm)	IC _{ext}	Zumo (%)	SST (°Brix)	Acidez (g L ⁻¹)	I.M.
2010-2011						
Control	76,1	19,5	46,6	11,8 b	13,7 b	8,7 a
RD	73,8	18,3	47,8	12,9 a	18,6 a	7,0 b
RD+KMA	75,0	19,3	47,5	12,7 a	17,8 a	7,3 b
ANOVA	ns	ns	ns	*	*	**
2011-2012						
Control	75,0 a	17,8 a	50,2 a	12,4 b	14,3 b	8,7 a
RD	70,9 b	16,1 b	50,2 a	14,8 a	23,1 a	6,5 b
RD+KMA	72,0 b	16,6 ab	47,5 b	14,6 a	24,2 a	6,1 b
ANOVA	*	*	*	***	***	***
2012-2013						
Control	78,3 a	17,4	50,0 a	12,1 b	12,0 b	10,2 a
RD	74,3 b	19,0	48,5 a	13,3 a	15,2 a	8,7 b
RD+KMA	75,2 b	16,9	46,6 b	12,5 b	14,7 a	8,6 b
ANOVA	*	ns	*	***	**	*

Riego Deficitario Controlado en Ciruelo Japonés de ciclo tardío: déficit intenso frente a déficit tardío

Fernando Blanco-Cipollone¹, María Henar Prieto¹, Antonio Vivas¹, Santiago Lledó¹, María José Moñino¹

¹Departamento de Hortofruticultura, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Finca La Orden, Gobierno de Extremadura, Autovía A-V, Km 372, 06187 Guadajira (Badajoz), España
Dirección de email: fernando.blanco@juntaex.es

Resumen

El ciruelo japonés es un frutal de gran importancia en Extremadura, siendo la región con más producción de España, el cv. Angeleno destaca por ser el más tardío y presentar buen comportamiento postcosecha. La competencia por el agua hace que la eficiencia en su uso sea una exigencia, económica, social y medioambiental siendo las estrategias de riego deficitario controlado (RDC) una solución eficaz. En frutales de hueso se recomienda la reducción del aporte de agua en una fase intermedia de crecimiento del fruto, esta estrategia, puesta a punto sobre melocotonero, ha sido aplicada a ciruelo y en el caso del cv. Angeleno se ha observado que, sin afectar a la producción, puede comprometer el tamaño final del fruto.

El objetivo de este trabajo es valorar estrategias de RDC alternativas para este cv., durante tres años consecutivos se ha realizado un experimento con tres tratamientos de riego: tratamiento control (C), reponiendo el 100% de ETc, un tratamiento de Riego Deficitario Intenso (RDI) al que se le interrumpió el riego durante un mes en una fase intermedia del desarrollo del fruto y se le aplicó un 30% ETc en la fase postcosecha y un tratamiento de Riego Deficitario Tardío (RDT) al que se redujeron las aportaciones al 75% respecto al tratamiento C 20 días antes de recolección, continuando durante postcosecha; tanto el RDI como RDT el resto del ciclo se regaron como C.

Los resultados muestran que el volumen de agua aplicado al RDT fue menor que a RDI manteniendo una productividad similar al C con un peso de fruto mayor al RDI, por tanto la eficiencia en el uso del agua fue mayor en RDT, así como el valor de la cosecha. Esta estrategia parece más interesante para este cv. ya que está más adaptada al ritmo de crecimiento del fruto.

Palabras clave: Eficiencia en el uso del agua, Estrategias de riego, Estado hidrico, Produccion, Tamaño del fruto

Abstract

Controlled Deficit Irrigation in late Japanese plum: intense deficit versus late deficit.

Japanese plum is a very important fruit tree in Extremadura, being the spanish region with highest production, cv. 'Angeleno' highlight due is the latest cv. and has a good postharvest behavior. Competence for the water made its efficiency be a social, economic and environmental requirement; in this sense, deficit irrigation strategies (RDC) are an effective solution. In stone fruit trees is recommended a water supply reduction in an intermediate phase of the fruit develop, this strategy developed in peach trees, has been apply in plum trees, and in cv. 'Angeleno' has been observed that without affecting yield the final fruit size could be compromised.

The goal of this work is to evaluate other alternative RDC strategies for this cv., during three years an experiment was carried out with three irrigation treatments: a control treatment (C), recovering 100% of ET_c, an intense deficit treatment (RDI) where irrigation was stopped one month in an intermediate fruit develop phase and a 30% Etc applied during postharvest, and a late deficit irrigation (RDT) wherein 20 days before harvest the irrigation was reduced, applied 75% respect C treatment and continuing all postharvest stage; both the RDI and RDT treatments were irrigated as C treatment the rest of the cycle.

The results show that the volume of water applied to RDT was lower than RDI, sustaining a similar yield than C with a higher fruit weight than RDI, so the water use efficiency was higher in RDT, as well as the harvest value. This strategy seems more interesting for this cv. because it is more adapted to the fruit growth rate.

Keywords: water use efficiency, irrigation strategies, water status, yield, fruit size.

Introducción

La competencia por el uso del agua entre los sectores agrícola e industrial junto con el abastecimiento de la población se ha presentado de manera tradicional como una problemática a la que actualmente hay que añadirle un importante aumento en los costes de las explotaciones (electricidad, agua, mano de obra...). Una gestión sostenible de este recurso hace necesario el incremento en la eficiencia en el uso del agua y en la reducción del impacto de su consumo sobre el medio ambiente (Intrigliolo et al., 2014; Fereres & Gonzalez-Dugo, 2009).

Extremadura tiene más de 6500 ha dedicadas al cultivo del ciruelo japonés en regadío (fuente: mapama) siendo uno de los pilares de la fruticultura regional. Se trata de un cultivo de regadío, con unos consumos muy altos, en una zona de climatología semiárida y con riego localizado en la mayor parte de las parcelas. Las variedades utilizadas son muy vigorosas y abarcan un amplio periodo de recolección, desde ciclos cortos a tardíos. Las técnicas de RDC son una opción interesante para reducir el los aportes de agua de riego y controlar el vigor de las plantaciones, con un impacto positivo en el balance económico de la plantación (Samperio et al., 2015a).

Un aspecto fundamental para el éxito de estas técnicas es adaptar los periodos de estrés a los periodos de menor sensibilidad para la producción del año y posteriores. En melocotonero de ciclo medio y tardío corresponde a una fase intermedia en el crecimiento del fruto que se identifica con la ralentización del crecimiento y coincide con la fase de endurecimiento del hueso (Li et al., 1989; Berman & DeJong, 1996; Genard & Huguet, 1996; Girona et al., 2003; Naor et al., 2003). Sin embargo, de acuerdo al patrón de crecimiento del fruto, en el cv. tardío de ciruelo japonés, esta fase no está bien definida, mientras que se observa una ralentización del crecimiento previo a la cosecha (Samperio et al., 2015b).

Tradicionalmente, el periodo de postcosecha se ha presentado como adecuado para la aplicación de técnicas de RDC (Larson et al., 1988) ya que al no encontrarse el fruto en el árbol, la falta de recursos no afecta a la calidad ni cantidad de los mismos (Johnson et al., 1994), y en función de la especie y cultivar puede representar además un gran ahorro hídrico en relación al total del ciclo.

El objetivo de este trabajo es comparar la respuesta del cv. Angeleno frente a una estrategia de RDC similar a la utilizada en otros frutales de hueso frente a un recorte del caudal previo a la recolección, como una opción adaptada al ritmo de desarrollo del fruto

Materiales y métodos

Características de la parcela experimental

El experimento fue llevado a cabo durante los años 2014, 2015 y 2016 en una parcela experimental de 1 ha ubicada en el término municipal de Guadajira (Badajoz) perteneciente al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (Cicytex) Finca “La Orden” Longitud: 6° 40'33''W, Latitud: 38° 21'40''N, a 180 m s.n.m. La zona tiene un clima mediterráneo continental con influencia atlántica (Csa), los veranos son secos y templados y los inviernos fríos y húmedos, la precipitación y evapotranspiración (ETo) media anuales son de 495 y 1290 mm respectivamente (Redarex, 2017). El suelo tiene una textura homogénea de tipo franco-arenoso con un contenido de 19.4% arcillas, 40.2% limo, y 40.4% de arena

La plantación estaba formada por árboles de ciruelo japonés *Prunus salicina* (Lindl) cv. ‘Angleno’ de 9 años al inicio del ensayo, cultivar de ciclo de maduración largo e injertados en patrón Marianna 2629 con un marco de plantación de 6 x 4 m y formación tipo vaso con cuatro ramas principales por árbol con polinizadores intercalados en la plantación. El riego consistió en una línea portagoteros con cuatro goteros autocompensantes de 4 l h⁻¹ por árbol. Para el experimento se utilizaron cuatro parcelas experimentales por tratamiento distribuidas de forma aleatoria en bloques al azar; cada parcela se componía por cuatro filas de árboles con cuatro árboles por fila. Los árboles de estudio eran los dos árboles centrales de segunda y tercera hilera, el resto de los árboles sirvieron como árboles guarda.

Tratamientos de riego

Durante el ensayo se establecieron tres tratamientos de riego: el tratamiento control (C): cubriendo el 100% de las necesidades hídricas del cultivo (ETc), un tratamiento de riego deficitario intenso (RDI) en el que se anuló el aporte de agua coincidiendo con el periodo en que la tasa de crecimiento del fruto se redujo (endurecimiento del hueso), reestableciendo los valores de riego del tratamiento C a los 30 días y, en el periodo postcosecha reduciendo de nuevo los aportes hídricos a un valor del 30% ETc; y un tratamiento de riego deficitario precosecha (RDT) que se basó en reducir los aportes de agua 20 días antes de recolección hasta fin de cultivo, manteniendo un Ψ_{st} sostenido de -1.1 MPa; manteniendo en ambos tratamientos los mismos aportes que C durante el resto de cultivo. Los periodos de reducción de riego se pueden observar en la fig. 1; el tratamiento RDI se inició en el año 2005 sobre los mismos árboles y ha continuado ininterrumpidamente hasta 2016.

La ETc fue calculada como el producto entre la evapotranspiración de referencia (ETo) y el coeficiente de cultivo (Kc), La Eto fue obtenida mediante una estación agrometeorológica ubicada junto a la parcela de ensayo (redarex, 2017) y el coeficiente de cultivo fue obtenido mediante balance de agua. Para ello se utilizó semanalmente una sonda de neutrones (CPN 503DR Hydroprobe, CPN International, Inc., Port Chicago Highway, CA, USA).

El control de los volúmenes de agua de riego se realizó mediante la lectura diaria de contadores inteligentes (Contazara CZ4000 RI), colocados en la entrada de la instalación de riego para cada tratamiento.

Toma de medidas

Durante los 3 años de ensayo se controló el estado hídrico de los árboles en los diferentes tratamientos de riego mediante la medida del potencial hídrico de tronco (Ψ_{st}). Para ello se utilizó una cámara de presión Scholander (Modelo 3005; Soil Moisture Equipment, Santa Barbara, CA, USA.) y siguiendo el protocolo dispuesto por Shackel (1997) se realizaron 16 medidas por tratamiento.

La evolución del crecimiento de los frutos se realizó midiendo semanalmente el diámetro ecuatorial de los mismos sobre 8 frutos por árbol en dos árboles por parcela elemental (64 frutos por tratamiento) desde cuajado hasta recolección. El control vegetativo consistió en determinar la materia seca de la madera retirada de la poda en verde y durante la parada vegetativa en invierno mediante el secado de las mismas en estufas de ventilación forzada hasta peso constante. La producción de cada tratamiento se calculó mediante los $\text{kg} \times \text{árbol}^{-1}$, número de frutos $\times \text{árbol}^{-1}$ y el peso medio del fruto (g).

Resultados y Discusión

A pesar de que la duración del periodo de déficit en el tratamiento RDI fue más del doble que en el tratamiento RDT; debido al incremento en las necesidades del cultivo en los diferentes periodos de RDC, el ahorro hídrico medio conseguido con las estrategias de riego varió entre 161 mm para la más moderada (RDT) y 142 mm para la más severa (RDI) en los periodos deficitarios (Tabla 1), esto supuso un en torno a los 22.2 % y 19.5 % de media con respecto al tratamiento C.

Las condiciones climatológicas fueron muy variables entre años, principalmente en las precipitaciones, destacando 2015 por ser muy seco, y en las temperaturas máximas alcanzadas, a la vez que sostenidas durante los meses de verano, especialmente en el año 2016 que fue el más caluroso; el potencial hídrico de tronco, fue el indicador utilizado para conocer el estado hídrico de los árboles durante el cultivo (figura 1), durante el ensayo, el tratamiento C mantuvo los valores en torno a -0,90 MPa durante la campaña, valor considerado como de confort para ciruelo japonés (Intrigliolo & Castel; 2010). Las estrategias deficitarias presentaron un estado hídrico similar a C excepto en los periodos de déficit hídrico en cada una de ellas, en la más moderada (RDT), el Ψ_{st} medio de los 3 años desde antes de cosecha hasta fin de cultivo fue de -1,20 MPa, mientras que en la estrategia RDI, los valores de Ψ_{st} medio para cada periodo de déficit fueron de -1,26 MPa (con un mínimo de -2,30 MPa en 2015) en el precosecha y -1,06 MPa en postcosecha.

La intensidad del estrés sufrida por RDI en precosecha de 2015 ocasionó una parada del crecimiento del fruto que continuó hasta restablecimiento del riego (figura 1); sin embargo, la tasa de crecimiento una vez igualado el Ψ_{st} fue similar al del tratamiento C no existiendo un crecimiento compensatorio y ocasionando un tamaño final de los frutos RDI significativamente menor que los del tratamiento C (tabla 1). Por otra parte, aunque el número de frutos en recolección es otro factor que afecta al tamaño final del fruto, el efecto de la baja carga de 2015 no influyó en este parámetro dado que fue contrarrestado por el nivel de estrés, coincidiendo con Intrigliolo & Castel (2005).

El desarrollo vegetativo durante el ensayo fue mayor en C que en los tratamientos RDC (Mitchell & Chalmers, 1982) y no hubo diferencias entre las estrategias deficitarias excepto en 2015, caracterizado por tener una baja producción y unos valores de potencial extremadamente bajos, donde la reducción del volumen de poda fue mayor que en otros años, poniendo de manifiesto que la asimilación de los recursos de la parte vegetativa en dicho periodo es alta y se vio afectada gravemente por los bajos potenciales alcanzados.

En los 3 años de ensayo, hubo gran variabilidad respecto a la producción total obtenida en cada campaña (2014 y 2016 on y 2015 off) pero no hubo diferencias entre las estrategias de riego utilizadas en cuanto a los $\text{kg} \times \text{árbol}^{-1}$ (Tabla 2).

Conclusiones

Las estrategias de riego deficitario en ciruelo japonés de maduración tardía resultan beneficiosas aplicándolas en determinados momentos del cultivo y controlando la intensidad del estrés.

Un déficit hídrico severo en precosecha, durante el periodo con baja tasa de crecimiento del fruto y durante postcosecha (tratamiento RDI), aumenta el número de frutos en recolección y afecta negativamente al tamaño de los frutos.

La implantación de riego deficitario desde que el fruto cesa de crecer antes de recolección y durante postcosecha (tratamiento RDT), permite un ahorro importante del agua de riego y control del tamaño de los árboles sin afectar la producción.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado por dos proyectos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) (RTA2012-00034-C02-02), CCESAGROS, GR15112 (AGA001), FEDER y la Junta de Extremadura. Fernando Blanco es beneficiario de una ayuda predoctoral de INIA (CPR-2014-0148).

Referencias

- Berman, M. E., & DeJong, T. M. 1996. Water stress and crop load effects on fruit fresh and dry weights in peach (*Prunus persica*). *Tree physiology*, 16(10): 859-864.
- Fereres, E., & Gonzalez-Dugo, V. 2009. Improving productivity to face water scarcity in irrigated agriculture. *Crop physiology: applications for genetic improvement and agronomy*. Academic Press, San Diego, 123-143.
- Genard M, J G Huguet 1996. Modeling the response of peach fruit growth to water stress. *Tree Physiol.* 16:407-415.
- Girona J, Mata M, Arbones A, Alegre S, Rufat J, Marsal J 2003. Peach tree response to single and combined regulated deficit irrigation regimes under shallow soils. *J Am Soc Hortic Sci* 128:432-440
- Intrigliolo, D. S., Castel, J. R. 2005. Effects of regulated deficit irrigation on growth and yield of young Japanese plum trees. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(2), 177-182.
- Intrigliolo, D. S. & Castel, J. R. 2010. Response of plum trees to deficit irrigation under two crop levels: tree growth, yield and fruit quality. *Irrigation science*, 28(6), 525-534.
- Intrigliolo, D. S., Ballester, C. & Castel, J. R. 2014. Crop load regulation and irrigation strategies to accelerate the recovery of previously water-stressed Japanese plum trees. *Agricultural Water Management*, 132, 23-29.
- Johnson, S; Handley, D. F., & Day, K. R. 1994. Postharvest water stress of an early maturing plum. *Journal of Horticultural Science*, 69(6), 1035-1041.
- Larson, K. D., DeJong, T. M. & Johnson, R. S. 1988. Physiological and growth responses of mature peach trees to postharvest water stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 113(3), 296-300.
- Li, S.H., Schoch, P.G. & Orlando, P. 1989. Irrigation scheduling in a mature peach orchard using tensometres and dendrometres. *Irrigation and Drainage Systems*. 3:1-12
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. 2017. <http://www.mapama.gob.es>
- Mitchell, P. D., & Chalmers, D. J. 1982. The effect of reduced water supply on peach tree growth and yields [Irrigation levels]. *Journal American Society for Horticultural Science*.
- Naor, A., Peres, M., Greenblat, Y., Gal, Y., Ben Arie, R. 2003. Effects of pre-harvest irrigation regime and crop level on yield, fruit size distribution and fruit quality of field-grown “Black Amber” Japanese plum. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 79:281-288

- Red de asesoramiento al regante de Extremadura. 2017 www.redarexplus.gobex.es
- Samperio, A., Prieto, M. H., Blanco-Cipollone, F., Vivas, A. & Moñino, M. J. 2015a. Effects of post-harvest deficit irrigation in ‘Red Beaut’ Japanese plum: tree water status, vegetative growth, fruit yield, quality and economic return. *Agricultural Water Management*, 150, 92-102.
- Samperio, A., Moñino, M. J., Vivas, A., Blanco-Cipollone, F., Martín, A. G., & Prieto, M. H. 2015b. Effect of deficit irrigation during stage II and post-harvest on tree water status, vegetative growth, yield and economic assessment in ‘Angelino’ Japanese plum. *Agricultural Water Management*, 158, 69-81.
- Shackel, K. A., Ahmadi, H., Biasi, W., Buchner, R., Goldhamer, D., Gurusinge, S., Hasey, J., Keste, D., Krueger, B., Lampinen, B., McGourty, G., Micke, W., Mitcham, E., Olson, B., Pelletrau, K., Philips, H., Ramos, D., Schwankl, L., Sibbett, S., Snyder, R., Southwick, S., Stevenson, M., Thorpe, M., Weinbaum, S., & Yeager J. 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *HortTechnology*, 7(1), 23-29.

Tablas y Figuras

Tabla 1 – Cantidad de agua aplicada en el tratamiento control y ahorros de agua para los tratamientos RDT y RDI, precipitación efectiva (Pe) y Evapotranspiración de referencia (ETo) a lo largo del periodo de riego para los tres años de estudio; todos los datos están expresados en mm

	2014					2015					2016				
	Contro I	RD I	RD T	P e	ETo	Contro I	RDI	RD T	P e	ETo	Contro I	RD I	RD T	P e	ETo
inicio riego a inicio RDI	19	0	0	3	20	37	0	0	1	12	4	0	0	3	50
inicio RDI a fin RDI	80	55	0	3	18	140	14	0	1	20	83	81	0	1	22
fin RDI a cosecha	426	0	74	2	51	531	0	171	5	50	558	0	98	2	54
Postcosecha	90	15	37	5	11	98	65	45	2	15	118	69	58	2	95
				8	1				4	8				0	

Tabla 2 – Producción final, características de la misma y cantidad de poda (suma de poda en verde y poda de invierno) para los diferentes tratamientos a lo largo de los tres años de estudio, diferentes letras expresan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos para el mismo año; n.s. expresa que no se encontraron diferencias significativas.

Parámetro	Tratamiento	Año					
		2014	2015	2016			
Producción (Kg/árbol)	C	163 ± 5	n.s.	30 ± 4	n.s.	102 ± 4	n.s.
	RDI	166 ± 6	n.s.	27 ± 4	n.s.	109 ± 6	n.s.
	RDT	162 ± 6	n.s.	28 ± 5	n.s.	105 ± 7	n.s.
Producción (nº frutos/árbol)	C	2152 ± 111	ab	293 ± 44	n.s.	1158 ± 34	n.s.
	RDI	2437 ± 124	a	331 ± 46	n.s.	1382 ± 47	n.s.
	RDT	2086 ± 85	b	289 ± 55	n.s.	1253 ± 43	n.s.
Peso medio fruto (g)	C	77,1 ± 2	a	103,1 ± 2	a	88,6 ± 3	a
	RDI	69,4 ± 2	b	82,7 ± 3	b	79,8 ± 7	b
	RDT	78,1 ± 1	a	98,8 ± 2	a	84,3 ± 9	ab
Total poda (kg m.s./árbol)	C	20,3 ± 1	a	22,3 ± 1	a	24,2 ± 1	a
	RDI	15,9 ± 1	b	14,8 ± 1	c	20,2 ± 1	b
	RDT	16,8 ± 1	ab	18,6 ± 1	b	20,0 ± 1	b

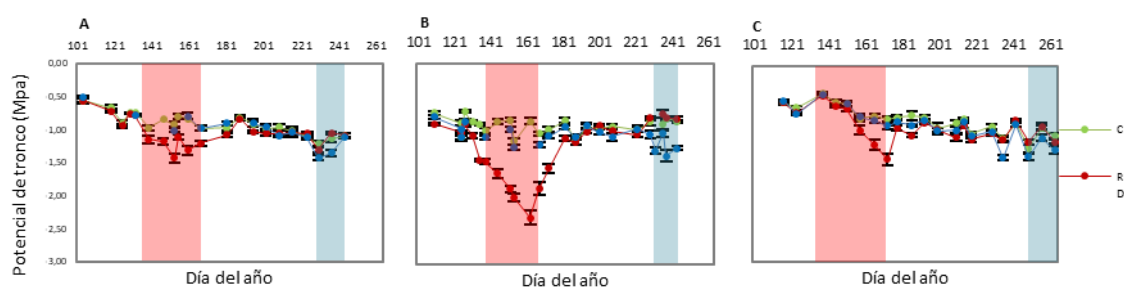


Figura 1 - Patrón estacional de los valores de Ψ_{st} (MPa) hasta recolección, para los tratamientos C (línea verde), RDI (línea roja) y RDT (línea azul), en los años 2014 (A), 2015 (B) y 2016 (C). Cada punto equivale a la media de 16 árboles. Las líneas verticales representan la desviación estándar. En cada gráfica, la primera zona sombreada corresponde al periodo de déficit del tratamiento RDI y la segunda al del tratamiento RDT.

Recursos hídricos disponibles para el riego de cultivos hortícolas intensivos en el Campo de Dalías

R. Baeza¹, F. Alonso¹, M.M. Parra¹, P. Gavilán¹, J.G. López¹ y J.I. Contreras¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Centro La Mojonera, Camino San Nicolás, nº1, 04745 La Mojonera, Almería.

Resumen

La comarca de El Campo de Dalías presenta la mayor concentración de cultivos hortícolas en invernadero de España. El agua es el principal factor limitante para el desarrollo de estos cultivos. El nivel de estudio de los sistemas acuíferos del Campo de Dalías y en general del factor agua en la comarca es muy elevado. Sin embargo existe una gran dispersión de la información. Con el presente trabajo se ha realizado una recopilación de información actualizada de la disponibilidad y calidad de las diferentes fuentes de agua disponibles. Esta información se ha utilizado para elaborar un documento de recomendación de mezclas de agua, que ha tenido en cuenta tanto la calidad como la disponibilidad de cada una de las fuentes. El estudio muestra una sobreexplotación del sistema acuífero de 65 hm³, de una extracción total de 146 hm³. Actualmente, con la puesta en marcha de la desaladora del Campo de Dalías, la sobreexplotación quedaría reducida a 25 hm³. Para suplir el resto de déficit se han de incorporar otras fuentes de agua. No obstante la cobertura del déficit no garantiza la sostenibilidad de los recursos subterráneos, por encontrarse los niveles piezométricos por debajo del nivel del mar. Para ello se han ampliado las fuentes alternativas, con un aumento de la producción de agua desalada, con un aprovechamiento de aguas pluviales y/o con un trasvase del cercano embalse de Rules. Se han simulado cuatro opciones de mezcla: dos hasta cobertura completa del déficit y dos planteando la recuperación de los acuíferos, reduciendo la extracción hasta 46 hm³. En ninguna de las opciones la calidad química del agua resultante debería plantear problemas por salinidad (CE máxima resultante 1,28 dSm⁻¹). El coste medio de las diferentes mezclas planteadas oscila entre 0,26 y 0,35 €/m³.

Palabras clave: Calidad de agua, disponibilidad de agua, invernaderos, desalación, acuíferos

Abstract

Campo de Dalías area in Almería presents the highest concentration of greenhouse horticultural crops in Spain. Water is the main limiting factor for the development of these crops. The level of study of the aquifer systems of the Campo de Dalías and in general of the water factor in the region is very high. However, there is a great dispersion of information. With the present work a compilation of updated information on the availability and quality of the different available water sources has been made. This information has been used to prepare a document recommending water mixtures, which has taken into account both the quality and the availability of each of the sources. The study shows an overexploitation of the aquifer system of 65 hm³, of a total extraction of 146 hm³. Currently, with the start-up of the Campo de Dalías desalination plant, overexploitation would be reduced to 25 hm³. In order to compensate for the remaining deficits, other sources of water must be incorporated. However, deficit coverage does not guarantee the sustainability of the underground resources, because the piezometric levels are below sea level. To this end, alternative sources have been expanded, with an increase in the production of desalinated water, with a use of rainwater and/or a transfer from the

nearby Reservoir of Rules. Four mixing options have been simulated: two to complete coverage of the deficit and two raising the recovery of aquifers, reducing extraction to 46 hm³. In none of the options would the chemical quality of the resulting water raise problems due to salinity (maximum EC resulting 1.28 dSm⁻¹). The average cost of the different mixtures is between 0.26 and 0.35 €m⁻³.

Keywords: Water quality, water availability, greenhouses, desalination, aquifers

Introducción

La superficie de cultivos hortícolas en invernadero supera las 30000 ha en la provincia de Almería (CAPDR, 2015). Este desarrollo agrícola ha ocasionado que, en algunas zonas, el sector consuma en torno al 90% de los recursos hídricos disponibles, que en su mayor parte son subterráneos. De todas las comarcas productoras la del Campo de Dalías es la que concentra la mayor superficie. Por su posición geográfica dispone de unas condiciones climáticas excepcionales para el desarrollo de este tipo de cultivos. Por contra estas condiciones limitan la disponibilidad de agua. Durante las primeras décadas de funcionamiento el agua utilizada para el riego ha sido casi exclusivamente de origen subterráneo y de una calidad muy estable permitiendo realizar una gestión del fertirriego bastante simplificada gracias a los equipos automatizados que se han ido implementando en la mayoría de las explotaciones (Baeza, 2015; García et al. 2016). La principal fuente de abastecimiento, el sistema acuífero denominado Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías, ha resultado afectado en cantidad y calidad del agua, como consecuencia de la sobreexplotación a la que ha estado sometido durante décadas. En la actualidad, los acuíferos superiores del sistema disponen de agua de calidad no adecuada para los usos más comunes, como consecuencia de procesos de salinidad natural, intrusión marina y retorno de regadíos y de usos urbanos. Los Acuíferos Inferiores, con agua de buena calidad en origen, soportan más del 80% de los bombeos y están sufriendo descensos continuados de nivel y el deterioro progresivo de su calidad por procesos de intrusión marina y contaminación desde los Superiores (Domínguez, 2013, IGME, 2014).

Para paliar el déficit hídrico existen tres alternativas principales: trasvases de agua procedentes de otras cuencas, desalación y reutilización de aguas residuales urbanas regeneradas. Sin embargo, a pesar de que se han incorporado nuevas fuentes de agua, de mayor coste generalmente, el sistema acuífero aún presenta sobreexplotación. La conjunción de todos estos hechos hace que los regantes hayan sufrido las siguientes modificaciones en el recurso hídrico disponible respecto a la situación de partida:

- Se ha producido un incremento de la salinidad del agua. Este incremento es variable dependiendo de la posición geográfica en la comarca, existiendo aún algunas áreas no afectadas.

- El agua distribuida por las principales comunidades de regantes no presenta una calidad homogénea, como consecuencia de la variación a lo largo de la campaña de riego de la mezcla de las diferentes fuentes de agua disponibles.

- El coste del agua se ha incrementado sustancialmente

La nueva situación afecta a la rentabilidad de las explotaciones hortofrutícolas y dificulta la gestión del fertirriego.

El nivel de estudio de los sistemas acuíferos del Campo de Dalías y en general del factor agua en la comarca es muy elevado. Sin embargo existe una gran dispersión de la información. Para disponer de una imagen de conjunto, que permita tomar decisiones de actuación a nivel de comunidades de regantes y usuarios, se necesita realizar una recopilación de información actualizada de la calidad física y química de las diferentes

fuentes de agua utilizadas o de uso previsto, completándola con aquellos aspectos menos estudiados. En este contexto se plantea el presente trabajo con los siguientes objetivos de:

-Caracterizar cuantitativa y cualitativamente las diferentes fuentes de agua disponibles en el Campo de Dalías, tanto las empleadas actualmente, como aquellas cuya incorporación esté prevista o demandada por el sector.

-Elaborar un documento de recomendación de mezclas de agua que tenga en cuenta tanto la calidad como la disponibilidad de cada una de las fuentes para obtener las aguas objetivo.

Material y Métodos

El trabajo se ha dividido en tres fases:

- Trabajo de campo: toma de muestras.

- Trabajo de laboratorio: análisis físico-químico.

- Trabajo de gabinete: revisión de datos históricos, tratamiento de datos y simulación de mezclas.

El área de estudio ha sido la comarca del Campo de Dalías (Almería). Sin embargo, con respecto a los recursos subterráneos, para simplificar la caracterización, el estudio se centró en los sondeos actualmente empleados por las dos principales comunidades de regantes de la zona (ambas pertenecientes a la Junta Central de Usuarios del Acuífero del Poniente Almeriense), que son “Sol y Arena” y “Sol Poniente”. Entre las dos, abastecen alrededor de 11.000 ha, lo que supone más del 50% del total de superficie cultivada en el Campo de Dalías, garantizando la representatividad de la información. Se han analizado 20 sondeos, el agua de la desaladora del Campo de Dalías y tres fuentes superficiales: embalse de Beninar, laguna de la Balsa del Sapo y embalse de Rules (figura 1). El agua del embalse de Beninar está siendo utilizada en la actualidad, mientras que la Balsa del Sapo y el embalse de Rules son recursos previstos o demandados por el sector. Finalmente se ha completado el estudio con las aguas regeneradas, de las que está previsto incorporar las obtenidas en los terciarios de las EDAR de Roquetas de Mar y El Ejido, cuyas obras están finalizadas, pero aún no se encuentran en funcionamiento, por lo que se han supuesto unas características similares a las actualmente obtenidas en el terciario de las aguas de la EDAR de El Bobar en Almería.

a) Trabajo de campo. Toma de muestras

Se ha realizado un seguimiento cualitativo de las diferentes fuentes de agua durante la campaña 2015-2016 y se ha completado con análisis previos disponibles. La periodicidad de muestreo ha sido bimensual. Para facilitar el muestreo se han instalado grifos en cada uno de los sondeos (figura 2). Los puntos de muestreo en las aguas superficiales han sido: embalse de Beninar en la conducción, conocida como Canal de Beninar, que abastece a los regadíos de la comarca; laguna de la Balsa del Sapo en la conducción del bombeo de desagüe de la laguna hacia el mar y embalse de Rules a 10 m de profundidad en la corona de la presa. En este último caso se ha empleado una botella para la toma de muestras en profundidad.

b) Trabajo de laboratorio

Las muestras han sido analizadas en un laboratorio acreditado por ENAC y certificado por AENOR. Para evitar alteraciones indeseadas en la composición original de las muestras, éstas han sido refrigeradas tras su transporte desde el campo y se ha intentado reducir al mínimo posible el tiempo transcurrido entre su toma y el traslado al laboratorio. Los parámetros analizados han sido: pH, CE, contenido de aniones (CO₃²⁻, HCO₃⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, Cl⁻), contenido de cationes (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺) y contenido de B. Por otro lado, se han determinado la dureza y el índice SAR. En las 2 últimas

campañas de muestreo, se ha realizado un contraanálisis en el laboratorio del IGME, ubicado en Madrid

c) Trabajo de gabinete

Para cuantificar los recursos hídricos se han revisado documentos oficiales de las Consejerías de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural y de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, del Instituto Geológico y Minero de España (IGME) y otros documentos públicos relacionados con la desaladora del Campo de Dalías, EDAR de Roquetas de Mar y EDAR de El Ejido. Una vez calculados los volúmenes máximos disponibles de cada recurso, y la calidad media de cada uno de ellos, se han elaborado tablas resumen que posteriormente se han utilizado para la simulación de mezclas. Para la simulación se han propuesto dos alternativas de gestión y cuatro alternativas de mezcla: i) nivel equilibrio (alternativas a y b)- Se mantiene la situación actual (de inexistencia real de medidas correctoras), tomando como única medida la detención de la sobreexplotación de los acuíferos. ii) nivel recuperación (alternativas c y d)- Se considera la protección de los acuíferos y la recuperación de los niveles originales, para ello se propone una mayor reducción de los volúmenes extraídos de los recursos subterráneos y su sustitución por otros recursos externos, siguiendo los criterios recomendados por Domínguez (2013). Las diferentes alternativas en cada nivel se diferencian en la elección de los recursos sustitutivos a las aguas subterráneas.

Finalmente se ha cuantificado el coste de cada una de las mezclas resultantes. Para ello se han considerado las tarifas a las que actualmente adquieren el agua de las diferentes fuentes las comunidades de regantes de la comarca.

Resultados y discusión

La calidad media de las aguas subterráneas analizadas no muestra parámetros que imposibiliten su uso para el riego de cultivos hortícolas (tabla 1) (Ayers y Westcot, 1985). Sin embargo alguno de los sondeos si muestran niveles problemáticos, especialmente a lo que salinidad se refiere. Además estos niveles muestran una tendencia creciente en la mayoría de los puntos de muestreo (tabla 2). En un sistema acuífero costero sobreexplotado se inicia el incremento de la salinidad en un punto cuando el frente de intrusión marina lo alcanza. En el caso del sistema acuífero del Campo de Dalías, todos los estudios realizados al respecto así lo señalan (Domínguez, 2013, IGME, 2014).

Las aguas superficiales también presentan una calidad variable, sin embargo la variabilidad no muestra tendencias y esta asociada principalmente a los episodios pluviométricos.

En cuanto a las aguas regeneradas y desaladas, por tratarse de aguas obtenidas mediante un proceso industrial, apenas muestran variabilidad, especialmente si el recurso de partida es estable, como ocurre con el agua de mar desalada.

Por lo que respecta a la cuantificación de los recursos, aún apreciándose ligeras diferencias entre los documentos analizados, consensuando la información se han considerado los volúmenes que aparecen en la tabla 3. En lo que a la demanda se refiere, las diferencias entre documentos analizados son más sensibles. Como referencia se ha empleado el dato reflejado en el documento aportado por el Instituto Geológico y Minero de España (IGME) que más profundamente ha analizado esta cuestión y que refleja que la demanda global del Campo de Dalías podría mantenerse en unos $145-147 \text{ hm}^3\text{año}^{-1}$ (IGME, 2014). Esta cifra de demanda y el hecho de que los recursos actualmente usados son exclusivamente los acuíferos, la desaladora del Campo de Dalías y el desembalse de Beninar evidencian la necesidad de recurrir a nuevas fuentes de suministro, para poder hacer frente a los volúmenes de sustitución necesarios para el mantenimiento o

recuperación de los acuíferos. Para estas nuevas fuentes se han estimado los volúmenes disponibles que podría suponer cada una de ellas (tabla 3).

La cuantificación de las alternativas propuestas de mezcla se muestra en la tabla 4. En general, en todas las mezclas propuestas la calidad se adapta relativamente a los estándares recomendados por la FAO para el agua de riego. La CE en las cuatro alternativas está comprendida entre 1,00 y 1,28 dS m⁻¹ y el contenido en Cl⁻ se encuentra en el rango entre los 230 y 300 mg L⁻¹, lo que supone unos niveles de calidad bastante buenos (tabla 5). No obstante, el seguimiento cualitativo del agua subterránea ha mostrado una clara tendencia hacia el empeoramiento de la calidad (tabla 2), por lo que si no se lleva a cabo alguna de las medidas planteadas u otras acciones, se incrementaría la salinidad de las mezclas propuestas. Con las alternativas a y b no se iniciaría la recuperación del sistema acuífero. La alternativa c obliga a la construcción de una nueva desaladora. Con las alternativas c y d si sería posible al reducir el índice de explotación (extracciones/recargas) a valores inferiores a 1, permitiendo la recuperación.

El coste medio de las diferentes mezclas planteadas, para el abastecimiento de las comunidades de regantes, oscilaría entre 0,26 y 0,35 € m⁻³. A este coste habría que incrementar los costes de distribución, pero en ningún caso el valor resultante sería limitante para el riego de cultivos hortícolas intensivos, encontrándose en el mismo orden o incluso inferior al agua suministrada por la Comunidad de Usuarios en la cercana comarca del Campo de Níjar (0,51 € m⁻³). En la propia comarca del Campo de Dalías, la Junta Central de Usuarios ha establecido un coste medio de 0,39 € m⁻³.

Conclusiones

La calidad físico-química media de las aguas subterráneas analizadas no muestra parámetros que imposibiliten su uso para riego, pero sí una clara tendencia hacia la salinización.

Los recursos hídricos actualmente empleados no cubren la totalidad de la demanda del Campo de Dalías por lo que se impescindible incorporar nuevas fuentes.

Las cuatro alternativas de mezcla planteadas obtendrían un agua resultante de calidad aceptable para el riego de cultivos hortícolas intensivos.

Las alternativas de mezcla c y d permitirían la recuperación del sistema acuífero del Campo de Dalías.

El coste medio de las diferentes mezclas propuestas no resulta limitante para el riego de cultivos hortícolas intensivos.

Referencias

- Ayers, R.S.; Westcot, D.W. 1985. Water quality for agriculture, FAO Irrigation and Drainage Paper no. 29, Rome, Italy, 174 pp.
- Baeza, R. 2015. Gestión a nivel de parcela de nuevos recursos hídricos. En: Baeza, R., López, J.G., Domínguez, P., de Miguel, J., Cánovas, G. Jornada Técnica. Los recursos hídricos en el Campo de Dalías. Almería. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. 50 pp. Formato digital (ebook) - (Producción Agraria).
- Consejería de Agricultura; Pesca y Desarrollo Rural (CAPDR). 2015. Boletín Final. Avance de la valoración de la campaña 2014/2015. Hortalizas protegidas. Almería. 36 pp.
- Domínguez, P. (IGME). 2013. Avance en el conocimiento de los acuíferos del Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías, mediante los trabajos de la fase inicial del Programa de investigaciones de apoyo a su protección – regeneración. En: VI

- Seminario Técnico Agronómico Sostenibilidad de la agricultura intensiva en Almería. Fundación Cajamar – COEXPHAL, Almería, pp. 1-47.
- García, M.C., Céspedes, A.J., Pérez, J.J., Lorenzo, P. 2016. El sistema de producción horticola protegido de la provincia de Almería. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.
- IGME. 2014. Extracto de contenidos de la Memoria final de los trabajos realizados durante la Fase I del Programa de Actividades científico-técnicas de apoyo a la protección-regeneración de los acuíferos del Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías (Almería). Convenio de colaboración Agencia Andaluza del Agua – IGME – ACUAMED – JCUAPA. Informe, Almería, 295 pp.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Niveles cualitativos medios de las aguas subterráneas.

Parámetro	Valor
CE a 25°C (dS m ⁻¹)	1,46
SAR	3,1
Dureza (°F)	44
Sales totales disueltas (g L ⁻¹)	0,94
Carbonatos, CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹)	0
Bicarbonatos, HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	215
Nitratos, NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	7
Sulfatos, SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	59
Cloruros, Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	370
Sodio, Na ⁺ (mg L ⁻¹)	150
Potasio, K ⁺ (mg L ⁻¹)	5
Calcio, Ca ²⁺ (mg L ⁻¹)	76
Magnesio, Mg ²⁺ (mg L ⁻¹)	61
Boro, B (mg L ⁻¹)	0,05

Tabla 2- Estimación de la calidad media de los recursos subterráneos para 2025.

Evolución	Lineal	Exponencial
CE (dS m ⁻¹)	2,84	3,21
Cloruros (mg L ⁻¹)	812	1241

Tabla 3- Volúmenes anuales disponibles de cada recurso.

Recurso	Volumen anual (hm ³)	Origen
Aguas subterráneas (Acuíferos Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías)	81,1	Subterráneo
Agua desalada (Desaladora Campo de Dalías)	30,0 + 10,0	Desalación
Aguas regeneradas (EDAR de Roquetas de Mar y de El Ejido)	8,4	Regeneración
Balsa del Sapo	5,0	Superficial
Embalse de Benínar	11,3	Superficial
Embalse de Rules	71,5*	Superficial

*Una parte importante de este recurso se destina al abastecimiento urbano y regadíos de la costa de Granada

Tabla 4- Volúmenes empleados en cada alternativa de mezcla.

Recurso	Volumen anual empleado en la alternativa (hm ³)			
	a	b	c	d
Aguas subterráneas	81,1	81,1	46	46
Agua desalada	30+10	30	30,0+10,0+30,0	30,0+10,0
Aguas regeneradas	8,4	8,4	8,4	8,4
Balsa del Sapo	5	5	5	5
Embalse de Benínar	11,3	11,3	11,3	11,3
Otro	0,2			
Embalse de Rules		10,2	5,3	35,3
	146 hm³	146 hm³	146 hm³	146 hm³

Tabla 5- Calidad media obtenida en cada alternativa de mezcla.

Recurso	Calidad media obtenida para la alternativa de mezcla			
	a	b	c	d
Volumen (hm³)	145,8	146,0	146,0	146,0
pH	-	-	-	-
CE a 25°C (dS m ⁻¹)	1,25	1,28	1,00	1,07
SAR	3,2	3,17	2,97	2,87
Dureza (°F)	35	36	28	30
Sales totales disueltas (g L ⁻¹)	0,8	0,82	0,64	0,68
Carbonatos, CO ₃ ²⁻ (mg L ⁻¹)	1	2	1	4
Bicarbonatos, HCO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	167	174	116	139
Nitratos, NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	6	6	4	4
Sulfatos, SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	77	82	66	80
Cloruros, Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	298	299	234	238
Sodio, Na ⁺ (mg L ⁻¹)	138	139	114	114
Potasio, K ⁺ (mg L ⁻¹)	6	7	6	7
Calcio, Ca ²⁺ (mg L ⁻¹)	65	66	55	58
Magnesio, Mg ²⁺ (mg L ⁻¹)	47	48	34	38
Boro, B (mg L ⁻¹)	0,18	0,16	0,25	0,19

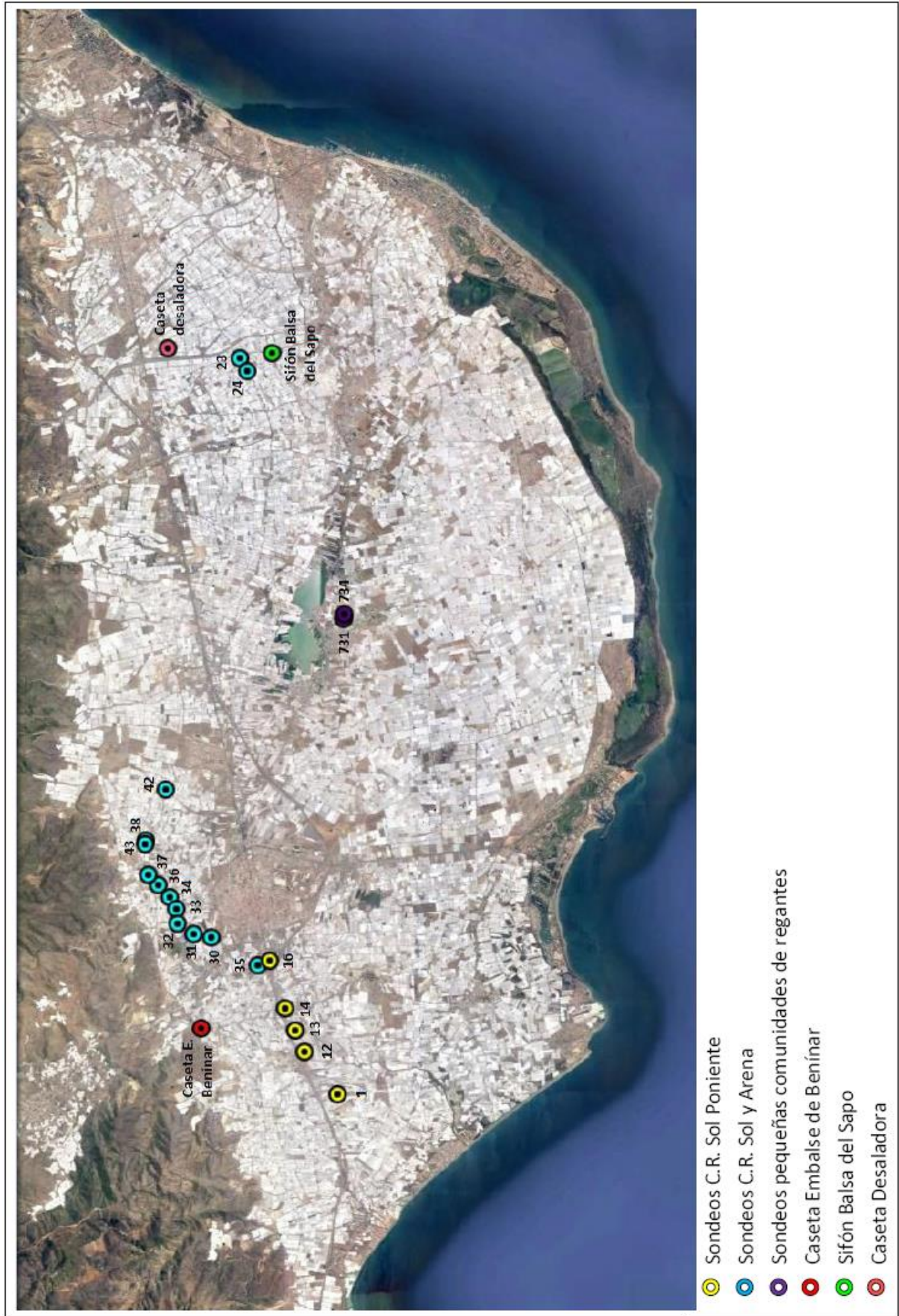


Figura 1- Localización de los diferentes puntos de muestreo.



Figura 2- Detalles de los grifos instalados en los sondeos.

Influencia del potencial matricial de suelo en la eficiencia de uso del agua y nutrientes en cultivo de calabacín en invernadero

J.I. Contreras¹, F. Alonso¹, G. Cánovas¹, M.L. Segura¹ y R. Baeza¹

¹IFAPA Centro La Mojonera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Camino San Nicolás nº1. 04745 La Mojonera (Almería).

Resumen

En áreas que presentan escasez de recursos hídricos y zonas vulnerables a la contaminación por nitratos resulta imprescindible maximizar la eficiencia en el uso del agua y nutrientes, y su productividad. En este trabajo se analiza la gestión del fertiriego automatizado con electrotensiómetros empleando distintas consignas de potencial matricial del suelo. El estudio se desarrolló en un invernadero del Centro IFAPA La Mojonera (Almería) sobre cultivo de calabacín (*Cucurbita pepo* L. var. Casiopee). Se establecieron tratamientos de fertiriego, T1: consigna de potencial matricial de suelo de -10 kPa y dotación de 1,5 L m⁻², T2: -25 kPa y 2 L m⁻² y T3: -40 kPa y 3 L m⁻². La concentración de nutrientes (mmol L⁻¹) en solución de fertirrigación fue la misma en todos los tratamientos: 12 de NO₃⁻, 1,5 de H₂PO₄⁻, 6,5 de K⁺, 4,5 de Ca²⁺ y 1,5 de Mg²⁺. Se determinó el volumen de fertiriego aplicado, volumen de drenaje, producción comercial, biomasa y absorción de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) calculando la eficiencia de uso del agua y nutrientes, y la distribución de nutrientes entre parte generativa y vegetativa. El volumen de agua total aplicado en el ciclo fue de 390, 315 y 272 L m⁻² para T1, T2 y T3 respectivamente, no existiendo drenaje en ninguno de los tratamientos. La producción comercial aumentó en los tratamientos con mayor volumen de fertirrigación aplicado. Los tratamientos T2 y T3 fueron los que presentaron mayores eficiencias productivas de uso de agua y nutrientes, sin embargo la eficiencia medioambiental de N, P y K, definida como nutriente absorbido en función del aplicado, no se vio modificada por los tratamientos. Los frutos fueron los mayores sumideros de N, P y K, independientemente del tratamiento.

Palabras clave: fertirrigación, electrotensiómetros, biomasa, extracción de nutrientes, automatización.

Abstract

In areas where there is a shortage of water resources and areas vulnerable to nitrate pollution, it is essential to maximize the efficiency of water and nutrient use and its productivity. This work analyzes the management of automated fertigation using electrotensimeters with different soil matric potential. An experiment was conducted in greenhouse-grown zucchini on a sand-mulched soil and fertigation with inorganic fertilizer at the IFAPA La Mojonera Center (Almería). Automatic activation of fertigation through an electrotensimeter and three treatments were applied: Activation of fertigation to -10 kPa and application of volume of 1.5 L m⁻² (T1), activation of fertigation to -25 kPa and application of volume of 2.0 L m⁻² (T2) and activation of fertigation to -40 kPa and application of volume of 3.0 L m⁻² (T3). The concentration of nutrients (mmol L⁻¹) in fertigation solution was the same in all treatments: 12 NO₃⁻, 1.5 H₂PO₄⁻, 6.5 K⁺, 4.5 Ca²⁺ and 1.5 Mg²⁺. The volume of applied fertigation, drainage volume, commercial production, biomass and nutrient absorption (N, P, K, Ca and Mg) were determinate. The use of water and nutrients, and the distribution of nutrients between generative and vegetative parts were calculated. The total volume of water applied in the cycle was 390,

315 and 272 L m⁻² for T1, T2 and T3 respectively. In none of the treatments, drainage was obtained. The commercial production increased in the treatments with greater volume of fertigation applied. However, the environmental efficiency of N, P and K, defined as a nutrient absorbed with respect to applied, was not modified by the treatments. The treatments T2 and T3 presented greater water and nutrient productive use efficiencies. The fruits were the largest sinks of N, P and K, regardless of the treatment.

Keywords: fertigation, electrotensiometers, biomass, nutrient extraction, automation.

Introducción y Justificación

El agua es un recurso escaso en regiones áridas y semiáridas, como la cuenca Mediterránea. La agricultura es el mayor consumidor mundial de agua dulce mundial, representando el riego el 70% de las extracciones (WWAP, 2009). El aumento de la eficiencia del uso del agua (EUA) en los sistemas agrícolas, definida como la producción obtenida por unidad de agua aplicada (Howell, 2003), es posible con una adecuada programación de riego (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015), reduciendo además los impactos ambientales asociados a las pérdidas de agua por percolación y nutrientes por lixiviación.

Las investigaciones más recientes se centran en optimizar la gestión del riego, basándose fundamentalmente en la medida del estado hídrico de la planta o en la medida directa de agua en el suelo (Buttaro et al., 2015; Létourneau et al., 2015). La medida del estado hídrico de la planta todavía presenta muchas dificultades teóricas y prácticas, la mayoría de las cuales se discuten en la revisión realizada por Jones (2004). Sin embargo, la medida directa del agua en el suelo, ya sea el contenido de agua o el potencial mátrico del suelo, es más factible ya que tiene la ventaja de ser relativamente fácil de medir y automatizar (Van Iersel et al., 2013), resultando viable para su aplicación a nivel de parcela. Los tensiómetros determinan el potencial mátrico del suelo y son dispositivos rápidos, baratos, fáciles de manejar y adecuados para el seguimiento del estado hídrico del suelo. A menudo se prefieren a otro tipo de sensores de humedad de suelo debido a su bajo coste, simplicidad de uso, alta precisión de la medición, y a que las mediciones no están influenciadas por la temperatura o el potencial osmótico del suelo, además presentan la posibilidad de la adquisición electrónica de datos a través de transductores de presión diferencial (Thalheimer, 2003) permitiendo la automatización de la fertirrigación. Sin embargo es determinante establecer un valor del potencial mátrico de suelo adecuado para cada cultivo y condiciones de desarrollo que optimice la producción y la EUA y los nutrientes como demuestran Buttaro et al. (2015) y Létourneau et al. (2015).

En este trabajo se analiza la gestión del fertiriego automatizado con electrotensiómetros empleando distintas consignas de potencial matricial del suelo sobre la bioproductividad del cultivo de calabacín, y eficiencia de uso del agua y nutrientes.

Material y Métodos

El ensayo se desarrolló en un invernadero parral de “raspa y amagado” situado en el Centro IFAPA La Mojonera, con suelo enarenado de textura franco limosa. Se realizó un cultivo de calabacín (*Cucurbita pepo* L. var. Casiopee). El trasplante fue el 13 de enero de 2015, finalizando el ciclo de cultivo el 1 de junio de 2015. La densidad de plantación era de 1 planta m⁻². El sistema de riego fue localizado con emisores compensantes y antidrenantes de 3 L h⁻¹ y 2 emisores m⁻². La solución de fertirrigación establecida en mmol L⁻¹ fue: 12 de NO₃⁻, 1,5 de H₂PO₄⁻, 6,5 de K⁺, 4,5 de Ca²⁺ y 1,5 de Mg²⁺, basada en

Camacho (2009). El invernadero estaba dotado de 12 lisímetros de drenaje de 1 m² de superficie, instalados a 50 cm de profundidad, descontando la capa superior de arena.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con tres tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos establecidos basados en el potencial matricial del suelo fueron: T1: activación del riego a -10 kPa y dotación de 1,5 Lm⁻², T2: activación del riego a -25 kPa y dotación de 2,0 Lm⁻² y T3: activación del riego a -40 kPa y dotación de 3,0 Lm⁻². La dotación de riego se estableció considerando la curva de retención de la humedad del suelo. Para la medida del potencial matricial del suelo se instalaron 12 tensiómetros (Irrometer Co, inc. Riverside, Ca), 4 por tratamiento, a 15 cm de profundidad y 20 cm de distancia a la planta y el gotero. Estaban acoplados a un transductor electrónico que transfería los datos a un equipo de control (Sistema Red Himarcan®).

Las determinaciones realizadas fueron: volumen de fertirriego aplicado (L m⁻²), volumen de drenaje (L m⁻²), producción comercial (kg m⁻²), biomasa y absorción de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) calculando la eficiencia de uso del agua y nutrientes, y la distribución de nutrientes entre parte generativa y vegetativa.

Se realizó un análisis de la varianza ANOVA para identificar el efecto de los tratamientos estudiados. Cuando el análisis estadístico reveló diferencias significativas entre tratamientos se aplicó un test de comparación de medias (LSD; mínima diferencia significativa) con $p \leq 0.05$.

Resultados y Discusión

Volumen de fertirriego aplicado y drenaje

El volumen de fertirriego fue diferente según tratamiento. El volumen de agua total aplicado en el ciclo difirió según tratamiento y fue de 390, 315 y 272 L m⁻² para T1, T2 y T3, respectivamente (Figura 1). Es de destacar que no se registró drenaje en ninguno de los tratamientos, así que el consumo de agua en los tratamientos estuvo asociado al desarrollo vegetativo del cultivo, siendo mayor en los tratamientos con mayor nivel de humedad en suelo.

Producción comercial, biomasa y absorción de nutrientes

La producción comercial de fruto se vio afectada por los tratamientos establecidos (Tabla 1). El descenso en la tensión matricial del suelo de -10 a -25 kPa afectó ligeramente la producción, reduciéndola significativamente en un 10%. Sin embargo, el descenso hasta -40 kPa (T3) supuso una reducción en la producción del 23%. La materia seca total producida por la parte aérea de la planta también fue afectada por la tensión matricial del suelo, el tratamiento con tensión más negativa (T3, -40 kPa) redujo la materia seca con respecto al tratamiento T1 (-10 kPa). Las extracciones de P, Ca y Mg no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, sin embargo, las extracciones de N y K se redujeron en el tratamiento T3 con respecto a T1 (Tabla 1).

Eficiencia de uso de agua y nutrientes

La EUA y nutrientes (EP: Eficiencia Productiva y EMA: Eficiencia Medio Ambiental) fueron modificadas por los tratamientos (Tabla 2). La mayor EUA fue alcanzada por los tratamientos T2 y T3, reduciendo T1 los valores de EUA. La reducción de la EUA al trabajar con una tensión matricial más alta (-10 kPa) coincide con los resultados obtenidos por Butaro et al. (2015) en tomate y pepino desarrollado en invernadero y con Létourneau et al. (2015) en cultivo de fresa. La EP de nutrientes también fue mayor en los tratamientos T2 y T3 para todos los nutrientes analizados (N, P, K, Ca y Mg), si bien no existieron diferencias significativas en la EMA para ninguno de los nutrientes.

Distribución de nutrientes

Los frutos fueron el mayor sumidero de N, P y K, independientemente del tratamiento (Figura 1), el porcentaje de nutrientes destinados al fruto con respecto al total absorbido por la parte aérea de la planta represento el 70% para el N, entre el 68-75% para el P, y entre el 63-66% para el K, según tratamiento. No hubo diferencias significativas entre tratamientos (Figura 1). Los resultados concuerdan con los trabajos publicados en diferentes cultivos hortícolas intensivos como tomate (Segura et al., 2009) y pimiento (Contreras et al., 2013) donde la parte generativa es el mayor sumidero de NPK, a diferencia de la judía verde donde la parte vegetativa es el mayor reservorio (Segura et al., 2012). El mayor porcentaje de Ca y Mg de la planta fue destinado a la parte vegetativa, con porcentajes que variaron según tratamiento entre el 82-86% para el Ca y entre 54-67% para el Mg, coincidiendo también con Segura et al. (2009) y Contreras et al. (2013) para cultivo de tomate y pimiento respectivamente, desarrollado en condiciones de cultivo similares.

Conclusiones

El incremento del volumen de fertirrigación aplicado produce un aumento en la producción comercial. Los tratamientos T2 y T3 fueron los que presentaron mayores eficiencias productivas de uso de agua y nutrientes, sin embargo la eficiencia medioambiental de N, P y K, definida como nutriente absorbido en función del aplicado, no se vio modificada por los tratamientos. Los frutos fueron los mayores sumideros de N, P y K, independientemente del tratamiento.

Aunando criterios productivos y medioambientales, el tratamiento T2 es el que mejor comportamiento presentó, con una eficiencia en el uso del agua y nutrientes muy elevada y una producción de fruto de 15 kg m⁻².

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del “Proyecto de Transferencia de Tecnología al Regadío (PP.TRA.TRA201600.3), siendo cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Rural (FEDER) y la Consejería de Agricultura y Pesca (IFAPA-Junta de Andalucía).

Referencias

- Buttaro, D., Santamaria, P., Signore, A., Cantore, V., Boari, F., Montesano, F.F. and Parente, A. 2015. Irrigation management of greenhouse tomato and cucumber using tensiometer: Effects on yield, quality and water use. *Agric. Sci. Procedia*. 4:440-444.
- Contreras, J. I., López, J. G., Lao, M. T., Eymar, E., and Segura, M.L. 2013. Dry-Matter Allocation and Nutrient Uptake Dynamic in Pepper Plant Irrigated with Recycled Water by Different Nitrogen and Potassium Rate. *Communications in soil science and plant analysis*, 44 (1-4), 758-766.
- Howell, T.A. 2003: Irrigation efficiency. p. 467-472. In: Stewart, B.A., Howell, T.A. (Eds.), *Encyclopedia of Water Science*. Marcel Dekker, New York.
- Jones, H.G. 2004. Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant-based methods. *J. Exp. Bot.* 55, 2427–2436.
- Létourneau, G., Caron, J., Anderson, L. and Cormier, J. 2015. Matric potential-based irrigation management of field-grown strawberry: Effects on yield and water use efficiency. *Agric. Water Manage.* 161:102-113.
- Segura Perez, M. L., Contreras Paris, J. I., Salinas Yasuda, R., and Lao, M. T. 2009. Influence of salinity and fertilization level on the nutrient distribution in tomato

- plants under a polyethylene greenhouse in the Mediterranean area. *Communications in soil science and plant analysis*, 40 (1-6), 498-513.
- Segura, M. L., Contreras París, J. I., Plaza, B. M., and Lao, M. T. 2012. Assessment of the nitrogen and potassium fertilizer in green bean irrigated with disinfected urban wastewater. *Communications in soil science and plant analysis*, 43 (1-2), 426-433.
- Thalheimer, M. 2003: Tensiometer modification for diminishing errors due to the fluctuating inner water column. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:737-739.
- Van Iersel, M.W., Chappell, M. and Lea-Cox, J.D. 2013. Sensors for improved efficiency of irrigation in greenhouse and nursery production. *HortTechnology*, 23: 735-746.
- WWAP. 2009: The 3rd United Nations World Water Development Report: water in a changing world. UNESCO and Earthscan.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Producción comercial, materia seca total y extracción de nutrientes por la parte aérea de la planta.

	Producción Comercial	Materia seca total	N	P	K	Ca	Mg
	kg m ⁻²	g m ⁻²	g m ⁻²				
T1	16,6a	1376a	46,06a	14,95a	73,19a	26,15a	11,37a
T2	14,9b	1179ab	37,99b	12,67a	69,6a	22,67a	10,00a
T3	12,8c	1057b	34,37b	10,80a	51,52b	29,03a	11,54a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con $p \leq 0.05$

Tabla 2- Eficiencia de uso del agua, EUA (expresada en kg de fruto comercial por m³ de agua aplicado), eficiencia productiva de los nutrientes (expresada en kg de fruto comercial por kg de nutriente aplicado) y eficiencia medio ambiental de los nutrientes (expresada en kg de nutriente absorbido por la planta por kg de nutriente aplicado).

	EUA	Eficiencia productiva (EP)					Eficiencia medio ambiental (EMA)				
		N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
	kg m ⁻³	kg kg ⁻¹					kg kg ⁻¹				
T1	43b	253b	915b	167b	236b	1168b	70,2	82	74	37	80
T2	47a	282a	1017a	186a	262a	1298a	71,9	86	87	40	87
T3	47a	280a	1012a	185a	261a	1291a	75,2	85	75	59	116

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con $p \leq 0.05$

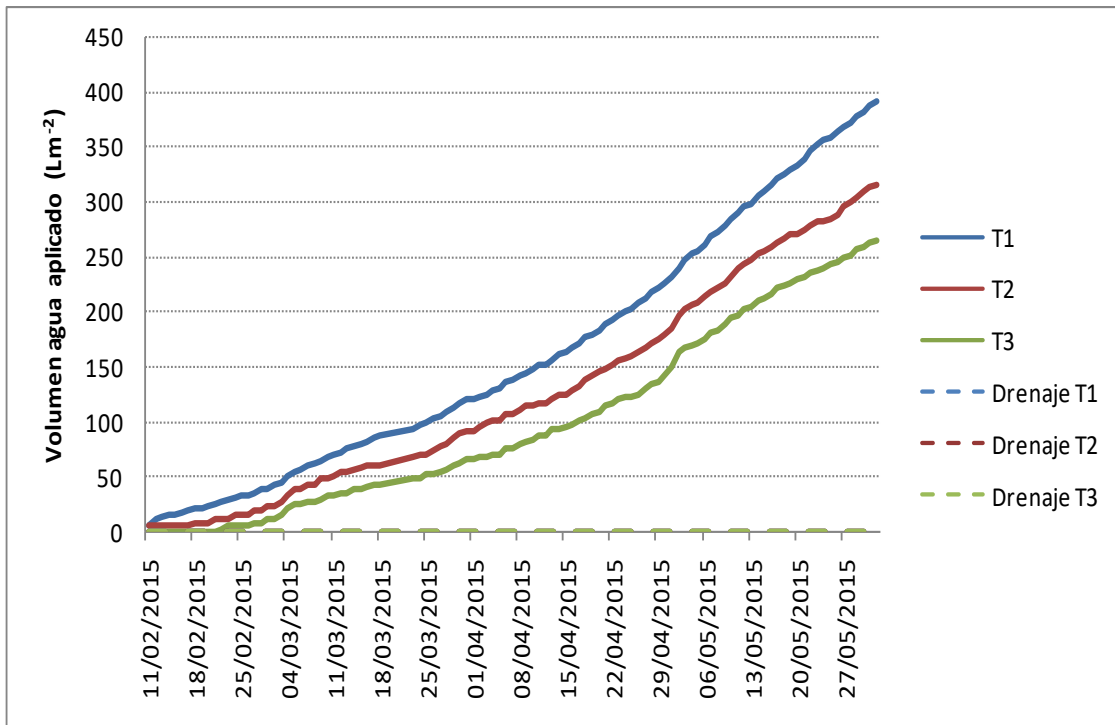


Figura 1- Volumen acumulado de agua aplicado en cada tratamiento y del volumen drenado.

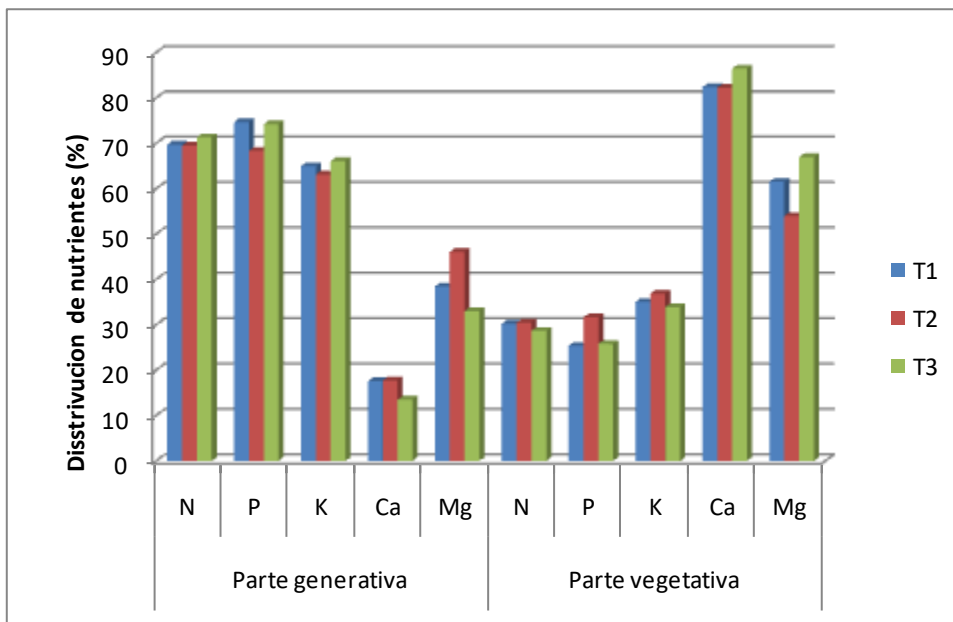


Figura 2- Distribución de nutrientes en la planta: parte generativa (fruto) y parte vegetativa.

Evaluación del comportamiento estructural de la base de un lisímetro de pesada transportable

Juan Antonio Nicolás Cuevas¹, Dolores Parras Burgos², Leandro Ruiz Peñalver³ y José Miguel Molina Martínez⁴

¹ Departamento de Estructuras y Construcción, Universidad Politécnica de Cartagena, C/ Doctor Fleming, s/n, 30202 Cartagena, juan.nicolas@upct.es

² Departamento de Expresión Gráfica, Universidad Politécnica de Cartagena, C/ Doctor Fleming, s/n, 30202 Cartagena, dolores.parras@upct.es

³ Departamento de Tecnología Naval, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 52, 30203 Cartagena, leandro.ruiz@upct.es

⁴ Departamento de Ingeniería de los Alimentos y del Equipamiento Agrícola, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203 Cartagena, josem.molina@upct.es

Resumen

En la actualidad, los lisímetros de pesada más habituales en la agricultura presentan dimensiones importantes debido a que los recipientes de cultivo son de gran tamaño. Para la instalación de estos lisímetros se precisa la construcción de unos elementos de contención que independicen el recipiente lisimétrico del terreno circundante. Además, para realizar la calibración y el mantenimiento de dichos lisímetros es necesario el acceso de una persona a su interior, por lo que terminan configurándose como un contenedor subterráneo. Este contenedor necesita de una cimentación considerable que transmita todas las cargas al terreno. En esta comunicación se estudia la base de un lisímetro de pesada transportable diseñado específicamente para su utilización en plantaciones hortícolas. La base está formada por dos conjuntos de elementos: una estructura a modo cimentación superficial y una caja perforada en la parte inferior. La estructura de cimentación superficial transmite las cargas al terreno y proporciona una superficie de apoyo con la que poder nivelar el contenedor exterior ante los posibles asientos. La caja perforada permite desaguar el agua vertida por el depósito de drenaje y alojar una bomba de succión sumergible. Los componentes de la base se proyectan con el programa informático de diseño SolidWorks y su comportamiento estructural se analiza mediante elementos finitos con las herramientas de SolidWorks Simulation. Se estudian los componentes de la base para conseguir un diseño que disipe las cargas en el terreno de forma aceptable. Los resultados obtenidos permiten verificar la validez del planteamiento propuesto y establecer las restricciones durante su utilización.

Palabras-clave: Lisimetría, agricultura de precisión, elementos finitos, diseño, construcción.

Abstract

Structural behaviour evaluation of a transportable weighting lysimeter base.

Nowadays, the most common lysimeters in agriculture have important dimensions due to the fact that the lysimeter vessels are of large size. For the installation of these lysimeters is necessary the construction of retaining walls that isolate the lysimeter vessel of the surrounding terrain. In addition, to perform the calibration and maintenance of these lysimeters is necessary to access inside, so they end up by configuring an underground container. This container needs a considerable foundation that transmits the loads to the ground. In this communication, we study the base of a transportable weighting lysimeter

designed specifically to be used in horticultural farms. The base consists of two sets of elements: a structure as a superficial foundation and a perforated box at the bottom. The superficial foundation structure transmits the loads to the ground and provides a supporting surface with which to level the outer container to the possible seats. The perforated box allows the outlet of water from the vessel drainage and to accommodate a submersible suction pump. The components of the base are projected with the SolidWorks design software and its structural behaviour is analysed using finite elements with the tools of SolidWorks simulation. The components of the base are studied to obtain a design that transmits the loads on the ground in an acceptable way. The results obtained allows to verify the proposed approach and to establish the restrictions during its use.

Keywords: Lisimetry, precision agriculture, finite elements, design, construction.

Introducción

La gestión eficiente del agua de riego en plantaciones hortícolas permite mejorar la productividad empleando menos recursos hídricos y energéticos. La utilización de lisímetros de pesada permite determinar la evapotranspiración del cultivo (ETc) y cuantificar sus necesidades hídricas (López-Urrea et al., 2006). Estos dispositivos miden el incremento o pérdida de agua del suelo mediante un sistema de pesaje del recipiente lisimétrico en un determinado intervalo de tiempo.

Los lisímetros de pesada más habituales en la agricultura presentan dimensiones importantes debido al gran tamaño de los recipientes de cultivo. La instalación de estos lisímetros en las parcelas precisa la construcción de unos elementos de contención que independicen el recipiente lisimétrico del terreno circundante. Además, para realizar la calibración y el mantenimiento de dichos lisímetros es necesario el acceso de una persona a su interior, por lo que terminan configurándose como un contenedor subterráneo. Este contenedor necesita de una cimentación considerable que transmita todas las cargas al terreno. El desarrollo tecnológico permite realizar lisímetros de pesada de dimensiones más reducidas, disminuyendo los costes de inversión y posibilitando su uso comercial (Meissner et al., 2014; Hertel y von Unold, 2014).

El objetivo del presente trabajo es estudiar la base de un lisímetro de pesada transportable verificando la validez del planteamiento propuesto y la transmisión de las cargas al terreno de forma aceptable.

Material y métodos

La base está formada por dos conjuntos de elementos: una estructura a modo cimentación superficial y una caja perforada en la parte inferior. La base del lisímetro transmite las cargas al terreno y proporciona una superficie de apoyo para poder nivelar el contenedor exterior ante los posibles asientos. La caja perforada permite desaguar el agua vertida por el depósito de drenaje y alojar una bomba de succión sumergible. Los componentes de la base se han diseñado con el programa informático SolidWorks y su comportamiento estructural se analiza mediante elementos finitos con las herramientas de SolidWorks Simulation. En la figura 1 se muestra el diseño analizado.

La estructura de base se ha proyectado en acero inoxidable AISI 304 y está formada por perfiles tubulares cuadrados 50x3,2 y chapas de espesor 2 mm. Las dimensiones en planta de la base son de 1030 mm x 730 mm. Para realizar el modelo de elementos finitos se han utilizado elementos tipo "SOLID" para los perfiles tubulares y las chapas.

El suelo es un material compresible que se deforma por las cargas transmitidas por la cimentación. Se ha considerado que el terreno bajo la cimentación está constituido

por una arcilla semidura, con un coeficiente de balasto $K_{30} = 45 \text{ MN/m}^2$. El comportamiento del suelo se ha simulado mediante apoyos elásticos.

Se estudia el efecto de tres sobrecargas uniformes sobre el terreno circundante cuyos empujes sobre el contenedor exterior son transmitidas a la base en sus extremos. Los estados de carga y sus combinaciones se indican en las tablas 1 y 2.

Resultados y discusión

Los resultados de los análisis realizados se encuentran en la tabla 2. En las figuras 2 y 3 se incluyen dos representaciones gráficas de los resultados para la combinación 3. El mayor desplazamiento vertical es de 0,955 mm y la tensión equivalente de Von Mises es de 32,429 MPa.

Los asientos en los extremos son uniformes siendo los asientos diferenciales los que podrían comprometer el adecuado funcionamiento del sistema de pesaje del lisímetro.

Conclusiones

Para el tipo de suelo considerado y las diferentes cargas consideradas, los extremos de la base experimentan pequeños asientos totales. En ningún caso las tensiones equivalentes de Von Mises de la base diseñada sobrepasan el límite elástico del acero AISI 304. Los asientos diferenciales pueden ser absorbidos por un sistema de nivelación incluido en el cajón exterior.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) para la realización de proyectos de investigación. Referencia: AGL2015-66938-C2-1-R. También se agradece la colaboración de la empresa Telenatura EBT, S.L.

Referencias

- Hertel, Christian, and Georg von Unold. 2014. "Third-Generation Lysimeters: Scientific Engineered Monitoring Systems." In *Novel Measurement and Assessment Tools for Monitoring and Management of Land and Water Resources in Agricultural Landscapes of Central Asia*, edited by Lothar Mueller, Abdulla Saparov, and Gunnar Lischeid, 175–84. Cham: Springer International
- López-Urrea, R, F Martín de Santa Olalla, C Fabeiro, and A Moratalla. 2006. "Testing Evapotranspiration Equations Using Lysimeter Observations in a Semiarid Climate." *Agricultural Water Management* 85 (1–2): 15–26.
- Meissner, Ralph, Holger Rupp, and Manfred Seyfarth. 2014. "Advanced Technologies in Lysimetry." In *Novel Measurement and Assessment Tools for Monitoring and Management of Land and Water Resources in Agricultural Landscapes of Central Asia*, edited by Lothar Mueller, Abdulla Saparov, and Gunnar Lischeid, 159–73. Cham: Springer International

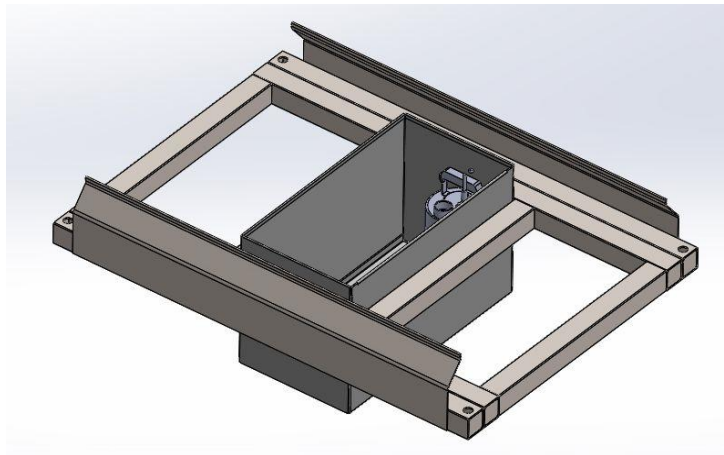
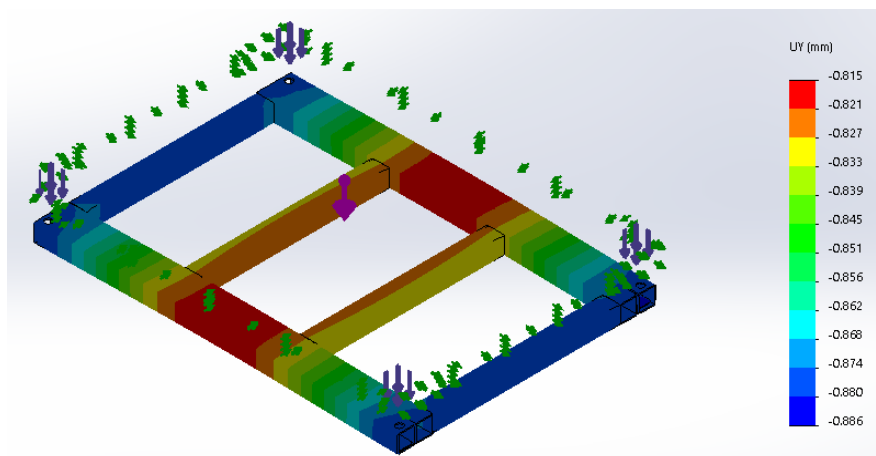
Tablas y Figuras

Tabla 1- Estados de carga y combinaciones consideradas para las cargas en la base.

Estado	Valor de la carga (N)
1. Peso propio	-
2. Sobrecarga A	300
3. Sobrecarga B	600
4. Sobrecarga C	900

Tabla 2- Combinaciones consideradas para las cargas en la base y resultados del análisis.

		UY: Máximo desplazamiento Y (mm)	Máxima tensión equivalente de Von Mises (MPa)
Combinación 1	Estados 1 y 2	0,364	10,803
Combinación 2	Estados 1 y 3	0,659	21,616
Combinación 3	Estados 1 y 4	0,955	32,429

**Figura 1-** Estructura para la transmisión de las cargas al terreno.**Figura 2-** Vista tridimensional de los resultados obtenidos para la combinación 3 de la base de cimentación del lisímetro de pesada transportable. Desplazamientos verticales (mm).

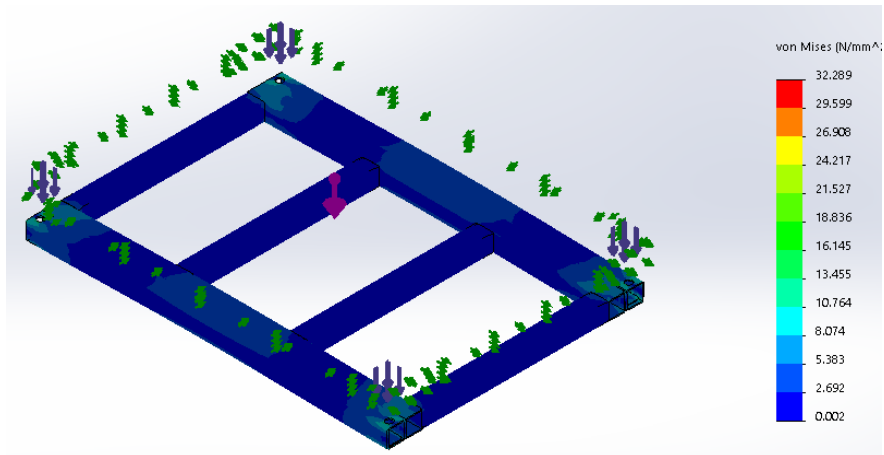


Figura 3- Vista tridimensional de los resultados obtenidos para la combinación 3 de la base del lisímetro de pesada transportable. Tensión equivalente de Von Mises (MPa).

Distribución del volumen emitido por goteros no compensantes instalados en pendiente

J.I. Contreras¹, F. Alonso¹, G. Cánovas¹, D. Lozano¹, P. Gavilán¹ y R. Baeza¹

¹IFAPA Centro La Mojonera. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía. Camino San Nicolás nº1. 04745 La Mojonera (Almería).

Resumen

La pendiente del terreno tiene una gran influencia en el periodo transitorio de vaciado de la tubería portagoteros, influyendo negativamente en la uniformidad de distribución del riego. El objetivo de este trabajo ha sido determinar una función que defina el volumen de descarga emitido por las cintas de riego cuando se trabaja con ramales en pendiente. Se ha evaluado el comportamiento de ocho cintas de riego sin compensación de caudal e instaladas a pendiente del 0% y 5%. El experimento se realizó en el laboratorio de evaluación de materiales de riego localizado del Centro IFAPA de La Mojonera (Almería). El dispositivo experimental instalado consistió en un banco de pruebas de cintas de riego de 40 m de longitud instaladas con pendiente variable entre el 0 y el 5%. Se controló el volumen total emitido por los emisores de riego tras aplicar pulsos de riego de 250 ml y esperar la descarga completa del ramal de riego, repitiendo el procedimiento tres veces a presión de 0,10 MPa para cada una de las pendientes y modelos. Los resultados mostraron influencia de la pendiente en el volumen emitido por los emisores. En pendiente 5%, los emisores situados a menor cota emitieron mayor volumen de riego asociado al periodo de vaciado de la tubería. El comportamiento de los diferentes modelos de emisores fue muy similar, permitiendo definir una función única para todos los modelos evaluados que describe el volumen de descarga en función de la posición relativa de cota del emisor en la cinta de riego.

Palabras clave: Riego localizado, uniformidad de riego, desnivel.

Abstract

The slope of the soil has a great influence in the transitory period of discharge of the drip irrigation tapes, this affects negatively in the uniformity of distribution of the irrigation. The objective of this work was to determine a function that defines the volume of discharge emitted by the drip irrigation tapes when working with pipeline in slope. Eight model of drip irrigation tapes without flow compensation and installed to slopes of 0% and 5% have been evaluated. The experiment was carried out in the laboratory of evaluation of irrigation materials located at the IFAPA Center in La Mojonera (Almería). The basic experimental unit was a tape line of 40 meters for each model of drip irrigation tapes installed with variable slope between 0 and 5%. The total volume emitted by the irrigation emitters was controlled after applying irrigation pulses of 250 ml and waiting for the complete discharge of the pipeline, repeating the procedure three times at a pressure of 0.10 MPa for each of the slopes and models. The results showed influence of the slope in the volume emitted by the emitters. In slope 5%, the emitters located at a lower level emitted a greater volume of irrigation associated to the period of discharge of the pipe after of finish the irrigation time. The behavior of the different models of emitters was very similar, allowing to define a unique function for all models evaluated that describes the volume of discharge as a function of the relative position of elevation of the emitter in the drip irrigation tapes.

Keywords: drip irrigation, distribution uniformity, slope.

Introducción

Las cintas de riego localizado son un material muy extendido en el riego de los cultivos hortícolas. En este grupo se incluyen tanto las cintas propiamente dichas como las tuberías de gotero de pared delgada. Son materiales de menor coste que los emisores convencionales de riego localizado y, por su ligereza, facilitan las labores de instalación y retirada de las parcelas al finalizar la campaña de riego. Se trata, por tanto, de materiales no permanentes en el terreno, ni en el tiempo, cuya vida útil suele ser de una o dos campañas. En Andalucía se ha generalizado su empleo en cultivos como la fresa y la lechuga. En estos cultivos se ha observado un incremento de la productividad del agua de riego cuando se reduce el volumen de agua aplicada y se incrementa la frecuencia de los riegos, ya que esto permite disminuir las pérdidas de agua por filtración profunda (Gavilán et al., 2014). Este sistema de gestión de los riegos se conoce como “riego por pulsos”. La práctica es especialmente adecuada cuando se trabaja en suelos muy arenosos, en los que los bulbos húmedos que se forman con el riego tienden a ser muy estrechos y profundos, alejando parte del agua del entorno radicular, tanto más cuanto mayor sea la duración de los pulsos. Sin embargo, cuando se pretende utilizar el sistema de riego por pulsos es imprescindible conocer la uniformidad del riego, ya que el incremento esperado en la productividad del agua puede verse afectado por la bajada de la uniformidad. Esto ocurre si disminuimos excesivamente el valor del volumen aplicado en sistemas que no están diseñados para soportar pulsos de riego muy cortos al tener periodos de carga y descarga de las tuberías y ramales muy largos (Lozano y et al., 2014). En este sentido hay que destacar que la descarga del ramal de riego está muy influenciada por la pendiente del terreno, por lo que es posible encontrar redes de riego en pendiente con una elevada uniformidad de distribución cuando se evalúa con la instalación en carga y, sin embargo, una muy baja uniformidad cuando se evalúa el pulso completo de riego.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar una función que defina el volumen de descarga emitido por las cintas de riego cuando se trabaja con ramales en pendiente.

Material y métodos

Se ha evaluado el comportamiento de ocho cintas de riego (Tabla 1) sin compensación de caudal e instaladas a pendiente del 0% y 5%. El experimento se realizó en el laboratorio de evaluación de materiales de riego localizado del Centro IFAPA de La Mojonera (Almería). El dispositivo experimental instalado consistió en un banco de pruebas de cintas de riego de 40 m de longitud instaladas con pendiente variable entre el 0 y el 5%. Se controló el volumen total emitido por los emisores de riego tras aplicar pulsos de riego equivalentes a 250 ml por emisor y esperar la descarga completa del ramal de riego, repitiendo el procedimiento tres veces a presión de 0,10 MPa para cada una de las pendientes y modelos.

Antes de realizar las medidas en el banco de pruebas en pendiente se analizaron los ocho modelos de cinta en el banco de ensayo de emisores de riego siguiendo la norma UNE 68-075-86, obteniéndose los parámetros necesarios para definir las curvas de gasto (Ecuación 1) de cada una de ellas que relaciona el caudal con la presión de trabajo, y que se muestran en la tabla 1.

$$\text{Curva de gasto:} \quad Q=K \cdot H^x \quad (1)$$

Donde:

Q es el caudal medido en L h⁻¹

K es la constante del emisor
 H es la presión en bar
 x es el exponente de descarga del emisor.

Se determinó la uniformidad de distribución mediante el coeficiente de uniformidad de caudal (CUC). Para la evaluación de la uniformidad de distribución de riego se empleó el método del cuarto inferior (Keller y Karmeli, 1974) (Ecuación 2). Los valores de uniformidad obtenidos se calificaron según la clasificación propuesta por Merriam y Keller (1978) (Tabla 1). Con los datos obtenidos se realizó un análisis de la varianza y un test de comparación de medias (test de mínima diferencia significativa, LSD; $p > 0,05$) usando el programa informático Statgraphics plus v.5.

$$CUC = \frac{Q_{25\%}}{Q_m} * 100 \quad (2)$$

Donde:

CUC es el coeficiente de uniformidad de caudal en tanto por ciento

$Q_{25\%}$ es el promedio de los caudales del 25% de los emisores de menor caudal

Q_m es el valor promedio del caudal de todos los emisores

Resultados y discusión

Los coeficientes de uniformidad de caudal obtenidos para todos los modelos analizados fueron elevados cuando estaban instalados a pendiente 0% (Tabla 4, Figura 1a), clasificándose como excelente según Merriam y Keller (1978) cinco de los modelos analizados (66.5% del muestreo) ya que presentaban un CUC por encima del 95%. El resto de modelos (37.5% del muestreo) superaron ampliamente el 85% de CUC por lo que se clasificaron como buenos (Merriam y Keller, 1978). El CUC desciende considerablemente en todos los emisores cuando el ramal se instala en pendiente 5% (Tabla 4, Figura 1b). Los CUC cuando la pendiente es del 5% se situaron entre el 76-86% (Tabla 4) clasificándose como buenos en el 12.5% de los modelos de goteros, aceptables en el 37.5% y pobres en el 50% restante. Este descenso tan acentuado estuvo ocasionado por el volumen de agua descargada una vez terminado el tiempo de riego, que tuvo un reparto muy irregular cuando las cintas de riego no estaban colocadas a nivel coincidiendo con lo obtenido en trabajos anteriores (Baeza et al., 2014; Contreras et al., 2015) donde se muestran el reparto desigual de la descarga de la tubería independientemente del grado de la pendiente (del 1 al 5%) o el sentido de la misma (ascendiente o descendiente).

El volumen de agua descargado en el riego completo por cada emisor en función de su posición relativa en la tubería porta emisores, cuando la tubería portagoteros estaba colocada en pendiente del 5%, siguió una tendencia similar en todos los modelos, pudiendo definir una curva única para todos los modelos analizados (Figura 2). El volumen difirió en función de la posición relativa del emisor en la tubería portagoteros, se puede observar como los emisores que están situados a menor cota, independientemente del modelo, duplican el volumen emitido con respecto a los situados a mayor cota, pasando de 220 ml a 440 ml.

La función que define la curva de descarga única para pulsos de riego de 250 ml y emisores no compensantes, es una polinómica de tercer grado con un coeficiente de correlación elevado ($R^2=0,8768$), y definida por:

$$y = -0,0005x^3 + 0,1015x^2 - 7,8873x + 449,7877$$

donde:

y, es el volumen (ml) total descargado por el emisor
x, es la posición relativa del emisor en la tubería portagoteros, variando de 0 (punto más bajo) a 100 (punto más alto).

Conclusiones

La uniformidad de caudal disminuye drásticamente en todos los modelos de cintas cuando se colocan en pendiente.

El comportamiento de los diferentes modelos de emisores fue muy similar, permitiendo definir una función única para todos los modelos evaluados que describe el volumen de descarga en función de la posición relativa de cota del emisor en la cinta de riego.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del “Proyecto de Transferencia de Tecnología al Regadío (PP.TRA.TRA201600.3), siendo cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Rural (FEDER) y la Consejería de Agricultura y Pesca (IFAPA-Junta de Andalucía).

Referencias bibliográficas

- Baeza, R., Gavilán, P., Contreras, J.I. 2014. Influencia de la pendiente del terreno en la uniformidad de distribución de caudal en cintas de riego localizado. XXXII Congreso Nacional de Riegos. Asociación Española de Riegos y Drenajes. Asociación Nacional de Riegos y Drenajes (www.aeryd.es). Madrid (España). Madrid, 10-12 Junio de 2014.
- Contreras, J.I., F. Alonso, G. Cánovas, R. Baeza. 2015. Determinación de la ecuación que define la curva de descarga de una cinta de riego en función del tipo de emisor y la pendiente del terreno. *Actas de Horticultura*, 77:109-113.
- Gavilán, P., Lozano, D., Ruiz, N., Molina, F., 2014. El riego de la fresa en el entorno de Doñana. Evapotranspiración, coeficientes de cultivo y eficiencia del riego. XXXII Congreso Nacional de Riegos. Asociación Española de Riegos y Drenajes. Madrid, 10-12 junio de 2014.
- Keller, J., Karmeli, D. 1974. Trickle irrigation design parameters. *Transactions of the ASAE*.
- Lozano, D., Ruiz, N., Gavilán, P., 2014. Evaluación de la uniformidad de distribución de cintas de riego en condiciones de campo en una producción comercial de fresa en Almonte. XXXII Congreso Nacional de Riegos. Asociación Española de Riegos y Drenajes. Madrid, 10-12 junio de 2014.
- Merriam, J.L. Keller, J. 1978. *Farm irrigation system evaluation: a guide for management*. Utah State University.
- UNE 68-075-86. 1986. Material de riego. Emisores. Requisitos generales y métodos de ensayo. Norma Española.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Características de las tuberías de emisores ensayados

Número de modelo	Nombre modelo	Fabricante	Caudal nominal emisor (L h ⁻¹)	Espesor pared (mil)	Distancia entre emisores (m)	Tipo de emisor *
MODELO 1	Streamline	Netafim S.L	0,72	8	0,2	IT P
MODELO 2	Pathfinder	Chamsa Grupo Chamartin	1,00	8	0,2	IT DP
MODELO 3	T-Tape 508-20-500	John Deere	1,00	8	0,2	IT DP
MODELO 4	Streamline 16080	Netafim S.L.	1,05	8	0,2	IT P
MODELO 5	Lin One	Caudal Struline Sistem SL	1,00	8	0,3	IT P
MODELO 6	Rodrip	Rivulis	1,00	8	0,2	IT P
MODELO 7	P 1	Siplast	1,10	8	0,2	IT P
MODELO 8	Aqua-Traxx	Toro	1,00	8	0,2	IT DP

* IT: integrado turbulento, DP: Doble pared, P: pastilla.

Tabla 2- Clasificación de los valores de uniformidad de distribución propuesta por Merriam y Keller (1978).

CUC	Calificación
>95%	Excelente
85%-95%	Buena
80%-85%	Aceptable
70%-80%	Pobre
<70%	Inaceptable

Tabla 3- Constantes de los emisores, exponentes hidráulicos, los p-valor y la R² de cada uno de los modelos analizados.

MODELO	K	x	p-Valor	R ²
Modelo 1	0,78	0,47	0,00	97,58
Modelo 2	1,24	0,49	0,00	95,26
Modelo 3	1,42	0,51	0,00	90,35
Modelo 4	0,95	0,48	0,00	93,12
Modelo 5	0,85	0,48	0,00	98,57
Modelo 6 *	2,18	0,98	0,00	88,90
Modelo 7	0,95	0,43	0,00	98,06
Modelo 8	1,09	0,31	0,00	83,97

* Para presiones entre 0,6 y 1 bar.

Tabla 4- Coeficientes de uniformidad de caudal (CUC) medios (media de las 3 repeticiones) en pendiente 0% y 5%.

Número de modelo	Nombre modelo	CUC (%)	
		Pendiente 0%	Pendiente 5%
MODELO 1	Streamline	96	86
MODELO 2	Pathfinder	94	79
MODELO 3	T-Tape 508-20-500	96	79
MODELO 4	Streamline 16080	96	80
MODELO 5	Lin One	97	84
MODELO 6	Rodrip	91	81
MODELO 7	P 1	95	77
MODELO 8	Aqua-Traxx	94	76

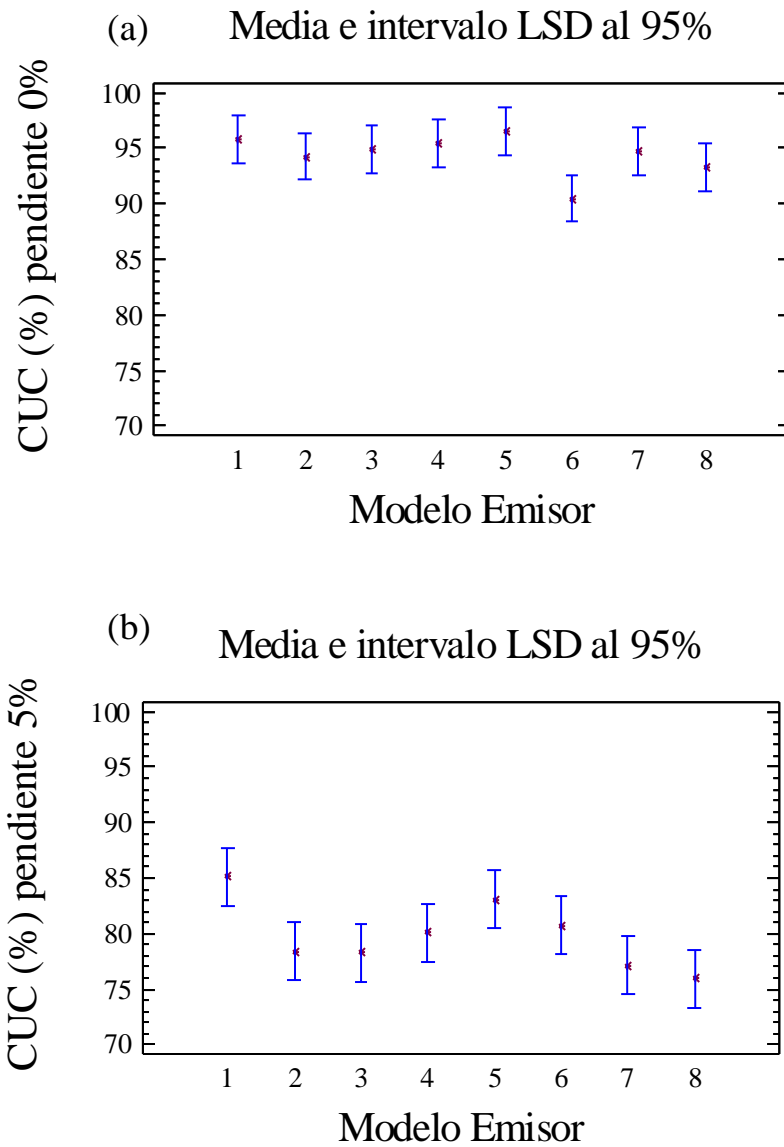


Figura 1- Coeficiente de Uniformidad de Caudal (CUC) en pendiente 0% (a) y 5% (b), expresado en tanto por ciento, de los 8 modelos analizados, con la representación del intervalo de Mínima Diferencia Significativa (LSD) al 95%.

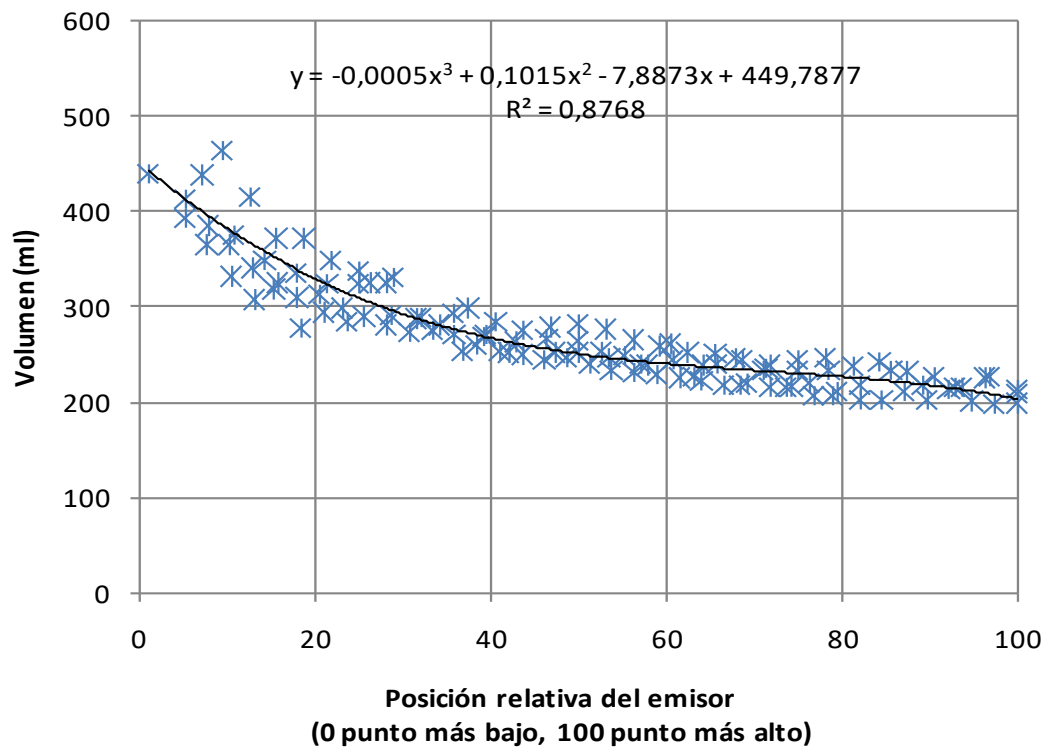


Figura 2- Volumen de agua descargado en el riego completo por cada emisor en función de su posición relativa en la tubería porta emisores, colocada en pendiente del 5%. Media para todos los modelos ensayados

Estudio del efecto de la aplicación de té de compost de residuos de jardinería sobre la producción y calidad de frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.)

Gómez-Sánchez, M.A.¹, Morales-Corts, R.¹, Pérez-Sánchez, R.¹, González-Díez, V.¹

¹Área de Producción Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales. Avda. Filiberto Villalobos, 119. 37007 Salamanca. geles@usal.es

Resumen

Los té de compost se producen incubando una mezcla compost en agua durante un periodo corto de tiempo y filtrando posteriormente para obtener el extracto acuoso. Los té de compost tienen un potencial prometedor para suplementar o reemplazar a otros fertilizantes (Reeve et al., 2010) y como supresores de patógenos (Marín et al., 2014).

El objetivo planteado ha sido estudiar el efecto que tiene el té de compost (1 compost: 5 agua) de residuos de jardinería sobre la producción y calidad del fruto del tomate variedad Margoble y de pimiento variedad Maor. Para ello se establecieron microparcels experimentales, en las que se realizaron aplicaciones de té (proporción 1 té: 5 agua) con los siguientes tratamientos:

- T1: Aplicación al suelo de 1 l por planta.
- T2: Aplicación foliar. Mojado de la superficie foliar aplicando un volumen variable dependiendo del estado de desarrollo del cultivo.
- T3: Aplicación al suelo y foliar. 1 l por planta al suelo y mojado de la superficie foliar.
- T4: Control. 1 l de agua por planta aplicado al suelo.

Las dosis fueron aportadas semanalmente desde el trasplante hasta la recolección. Cada tratamiento se repitió en tres parcelas elementales con 5 plantas por parcela. Para valorar el efecto de los tratamientos los parámetros que se determinaron fueron: nº de frutos producidos, tamaño, peso, rendimiento, color, forma, dureza, azúcares y valor de cata a ciegas. Se realizó un análisis estadístico mediante ANOVA. Los mejores resultados tanto en tomate como en pimiento, se han obtenido con el tratamiento T2. En la cata, la mejor valoración final se obtuvo también con el tratamiento T2 en tomate fresco, mientras que en pimiento asado no existieron diferencias significativas entre los tratamientos.

Palabras Clave: calidad de fruto, productividad, fertilizante orgánico, cultivos hortícolas, compostaje.

Abstrac

Compost teas are produced by incubating a compost mixture in water for a few days and filtering then to obtain an aqueous extract. Compost teas have promising potential to supplement or replace other fertilizers (Reeve et al., 2010) and as pathogen suppressants (Marín et al., 2014).

The objective was to study the effect of compost tea (1compost: 5water) from gardening wastes on the production and quality of fruits of tomato cv. Margoble and pepper cv. Maor. For this purpose, experimental microplots were established, in which tea applications (proportion 1 tea: 5 water) were performed with the following treatments:

- T1: Application to the soil of 1 l per plant.
- T2: Foliar application. Wet the leaf surface applying a variable volume depending on the state of development of the crop.

- T3: Soil and foliar application. 1 l per plant to the soil and wet the leaf surface.

- T4: Control. 1 l of water per plant applied to the soil.

The dosages were given weekly from the beginning of the transplant until the end of the cycle. Each treatment was repeated in three elementary plots with 5 plants per plot. To evaluate the effect of the treatments, different fruit parameters were determined: number of fruits, size, weight, yield, color, shape, hardness, sugars and blind tasting value. Statistical analysis was performed using ANOVA. The best results in tomato and pepper were obtained with T2 treatment. In the tasting process, the best final evaluation was also obtained with T2 treatment in fresh tomatoes, while in roasted pepper there were no significant differences between treatments.

Keywords: fruit quality, productivity, organic fertilizer, horticultural crops, composting.

Introducción

Uno de los problemas que se plantea en las sociedades industrializadas es la cantidad de residuos que se generan anualmente, a los que se debe dar una salida, gestionándolos de la manera más económica, social y ambientalmente posible.

La transformación de la fracción orgánica de los residuos a través de técnicas de compostaje, constituye un adecuado procedimiento de valorización de estos residuos, evitando los riesgos de contaminación que pueden provocar otras alternativas como su depósito en vertederos o la incineración.

La acción de los compost, puede atribuirse también a los extractos obtenidos de ellos como señalan Zmora-Nahum et al. (2008) y Naidu et al. (2013). Estos extractos o té de compost se obtienen realizando una mezcla de compost con agua e incubando dicha mezcla durante un periodo de tiempo definido (Scheuerell y Mahaffee, 2004).

Varios experimentos han indicado que la aplicación de extractos de compost y vermicompost mejora la salud de las plantas, el rendimiento y la calidad nutricional (Al-Dahmani *et al.*, 2003; Elad y Shteinberg, 1994; Scheuerell and Mahaffee, 2004). Los extractos de compost pueden suministrar biomasa microbiana, materia orgánica con granulometría fina y ácidos orgánicos, que pueden actuar como reguladores del crecimiento vegetal y aportar nutrientes minerales solubles, pero se requieren estudios concretos tanto de la composición como de la forma y dosis de aplicación.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto que tiene el té de compost (1 compost: 5 agua) de residuos de jardinería sobre la producción y calidad del fruto del tomate y pimiento variedad.

Materiales y Métodos

Los ensayos de producción se realizaron con tomate (*Solanum lycopersicum L.*), variedad Margoble y del pimiento (*Capsicum annuum L.*), variedad Mahor.

El ensayo de tomate se estableció el 28 de abril de 2016 y se retiró el 24 de octubre de 2016, mientras que el pimiento se estableció el 31 de marzo de 2016 y se retiró el 15 de noviembre de 2016. Se realizó una primera fase de semillero en bandejas de turba, posteriormente, el 17 de junio, se procedió a trasplantar ambas especies a raíz desnuda en el terreno definitivo.

Durante el cultivo se realizó un riego por goteo a demanda, se realizaron escardas manuales, se instalaron tutores y se realizó poda en tomate.

Se establecieron parcelas de ensayo de 1,8 m² de los cultivos objeto de estudio.

Los tratamientos planteados fueron:

- T1: Aplicación al suelo 1:5 (v/v). 1 l por planta y semana.

- T2: Aplicación foliar 1:5 (v/v). Mojado uniforme de la planta hasta goteo, 1 vez por semana.
- T3: Aplicación combinada semanal al suelo y foliar
- T4: Testigo. Aplicación semanal de 1 litro de agua/planta al suelo y aplicación foliar mediante mojado uniforme de la planta con agua.

Cada tratamiento se repitió en tres parcelas elementales, dispuestas en bloques al azar, situando en cada parcela cinco plantas de cada especie estudiada.

El extracto o té de compost utilizado en este estudio fue obtenido con un periodo de agitación de 6 días y cinco horas de agitación diaria.

Para valorar el efecto de la aplicación del té de compost, los parámetros que se determinaron fueron:

- Contenido en clorofila, con medidor SPAD 502 en la primera hoja bien desarrollada de la planta.
- Número de frutos.
- Tamaño: se evaluó midiendo el diámetro del fruto con un calibre STROM.
- Peso de cada fruto recolectado con báscula Silver Crest.
- Color. Se realizó la observación de 10 frutos por planta. Para la caracterización se usaron los descriptores IPGRI para tomate se utilizó el descriptor 7.2.2.11, color exterior del fruto maduro y para pimiento el 7.2.2.6, color del fruto en la madurez.
- Dureza. Se evaluó en 10 frutos por planta. En tomate se utilizó un penetrómetro manual TR, con puntal de 8 mm y en pimiento un durómetro manual Baxlo.
- Contenido en azúcares. Se realizó en 10 frutos por planta mediante un refractómetro Link con escala de 0 a 32 grados Brix.
- Cata de tomate fresco. Se utilizó un panel de cata compuesto por 8 personas. Se les pidió la evaluación en base a distintas escalas del color, tamaño, consistencia, aroma, sabor y valoración final.
- Cata de pimiento asado. Se realizó un proceso de asado en horno de los pimientos y se sometieron a la cata a ciegas de un panel compuesto por 8 personas. Se evaluó color, tamaño, consistencia, aroma, sabor y evaluación final.

Posteriormente se realizó un análisis estadístico de los resultados obtenidos con el programa informático Statgraphics Centurión.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 aparecen recogidos los resultados obtenidos en el ensayo de tomate.

Podemos ver que el tratamiento T1, con aplicación al suelo, presenta un mayor contenido en clorofila que los tratamientos T3 y T4. Estos resultados se encuentran por encima de los obtenidos por Preciado-Rangel *et al.*, (2011). Respecto al número de frutos no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Si analizamos el tamaño de los frutos, evaluado mediante la medida del diámetro, vemos que el tratamiento T2, aplicación foliar, presenta frutos de mayor tamaño que el resto. Además tanto éste, como el T3 tienen frutos con mayor diámetro que el testigo T4. Estos resultados son similares a los obtenidos por Stofella & Kahn (2005).

De forma similar a lo que sucede con el tamaño de los frutos, podemos ver que el tratamiento T2, presenta frutos con un mayor peso medio que el resto de tratamientos.

Lopez (2014) en su estudio observa que los tratamientos con té de vermicompost, presentaron incrementos significativos en relación al testigo, resultado similar al obtenidos en nuestro caso.

Se observa que los mejores valores representativos del color medio de los frutos se han obtenido con los tratamientos T1 y T2, que forman un grupo homogéneo frente a los tratamientos T3 y T4.

La dureza de los frutos es mayor en los tratamientos T1, T3 y T4, siendo menor con el T2.

Los tratamientos T1, T3 y T4 presentan un mayor contenido en azúcares mientras que el T2 presenta unos contenidos menores. No obstante, todos se encuentran dentro de los valores considerados como normales para tomates de consumo fresco (Urrestarazu, 2000).

Por último, en la valoración final de los catadores, se observa que existen dos grupos homogéneos, uno formado por los tratamientos T1, T2 y T3 con mejor calidad y otro, de peor calidad, formado por el tratamiento testigo, T4. Por tanto, los tratamientos realizados con té de compost han conseguido una mayor calidad de fruto final, siendo el T2 (aplicación foliar) el que mejores resultados presenta.

En la tabla 2 aparecen recogidos los resultados obtenidos en el ensayo de pimiento.

Con respecto al contenido en clorofila obtenemos los mejores resultados con el tratamiento T2, aplicación foliar, no encontrándose diferencias significativas entre el resto de los tratamientos.

En cuanto al número de frutos podemos observar que el tratamiento T2, tiene un mayor número de frutos que el T4.

Podemos ver en la tabla 2, que los mejores resultados para el tamaño del fruto se obtienen con los tratamientos T1, T2 y T4, quedando el tratamiento T3, aplicación combinada, con un tamaño medio inferior. Pérez (2016), al estudiar diferentes tratamientos de fertilización inorgánica y orgánica, observa que los mejores resultados se obtienen en los tratamientos realizados con fertilización inorgánica y con una fertilización orgánica a base de té de compost.

Respecto al peso, vemos que el tratamiento T1, aplicación al suelo, tiene un mayor peso que el T3, aplicación combinada. Por tanto, podríamos deducir que la aplicación combinada de té de compost al suelo y foliar resulta excesiva, teniendo un efecto desfavorable sobre el peso del fruto de pimiento.

Si nos fijamos en el color del fruto, podemos ver que en el cultivo de pimiento, sucede lo contrario que en tomate, puesto que los tratamientos que mejor comportamiento han presentado en cuanto al color medio de sus frutos, han sido el T3 y T4 que forman un grupo homogéneo, frente a los tratamientos T1 y T2.

Si analizamos la dureza de los frutos de pimiento vemos que existen tres grupos homogéneos, donde el mejor resultado se obtiene con el T1, seguido del segundo grupo formado por T2 y T3, y por último el testigo T4. Por tanto, los tratamientos realizados con té de compost, van a influir en la dureza media de los frutos. Esto puede ser debido al contenido en calcio que aportan, puesto que este elemento mejora la calidad y conservación de los frutos, dándoles mayor dureza y consistencia (Fernández *et al.*, 2010).

El mayor contenido medio de azúcares, se observa en el tratamiento T3, se obtienen unos contenidos en azúcares menores con los tratamientos T1 y T4 y los resultados más bajos se obtienen con el tratamiento T2.

Por último, podemos ver los resultados de la cata realizada con pimiento asado, en la que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos efectuados.

Conclusiones

Analizando los resultados obtenidos podemos ver que la utilización del té de compost, en general, mejora la calidad de los frutos de los dos cultivos estudiados, con respecto al testigo.

El tratamiento T1, consistente en aplicación al suelo, incide principalmente en la mejora de la calidad estándar de los frutos.

El tratamiento T2, con té en aplicación foliar, produce un aumento en la cantidad de frutos.

El tratamiento T3, que consistió en una aplicación al suelo y foliar, presenta unos resultados inferiores, por lo que no resulta recomendable.

Referencias

- Al-Dahmani, J.H., Abbasi, P.A., Miller, S.A., Hoitink, H.A.J. 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis.* 87: 913-919.
- Elad Y. & Shteinberg D. 1994. Effect of compost wáter extracs on grey mold (*Botrytis cinerea*). *Crop Prot.* 13, 109-114.
- Fernández, R., Yruela, M. C., Milla, M., García, J. P., Avila, R., Gabilán, P., Oyonarte, N.A. 2010. *Manual de Riego para Agricultura*. Módulo 4. Riego Localizado. Sevilla. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. 155 p.
- Marín, F., Diáñez, F., Santos, M., Caretero, F., Gea, F. J., Castañeda, C., Navarro, M. J., Yau, J. A. 2014. Control of *Phytophthora capsici* and phytophthora parasitica on pepper (*Capsicum annuum* L.) with compost teas from different sources, and their effects on plant growth promotion. *Phytopathologia Mediterranea*, 53(2): 216-228.
- Naidu Y., Meon S., Kadir J., Siddiqui Y. 2010. Microbial starter for the enhancement of biological activity of compost tea. *Int. J. Agr. Biol.* 12, 51–56.
- Pérez López S. 2016. Respuesta del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq) a la fertilización orgánica en invernadero. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo en horticultura. Torreón, Coahuila, México. 51 p
- Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., García-Hernández, J. L., Rueda-Puente, E., Esparza-Rivera, J. R., Lara-Herrera, A., Segura-Castruita, M. A., Orozco-Vidal, J. 2011. *Evaluación de soluciones nutritivas orgánicas en la producción de tomate en invernadero*. *Interciencia* 36(9):689-693.
- Reeve, J. R., Carpenter-Boggs, L., Reganold, J. P., York, A. L., Brinton, W. F. 2010. Influence of biodynamic preparations on compost development and resultant compost extracts on wheat seedling growth. *Bioresource technology*, 101(14): 5658-5666.
- Scheuerell S.J., Mahaffee W.F., 2004. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 94 (11): 1156-1163.
- Stoffella, P. J., & Kahn, B. A. 2005. *Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola*. Mundi Prensa Libros SA.
- Urrestarazu, M., Salas, M. C., Rodríguez, R., Elorrieta, M. A., & Moreno, J. 2000. Evaluación agronómica del uso del compost de residuos hortícolas como sustrato alternativo en cultivo sin suelo en tomate. *Actas de Horticultura*, 32, 327-332.
- Zmora-Nahum S., Danon M., Hadar Y., Chen Y. 2008. Chemical properties of compost extracts inhibitory to germination of *Sclerotium rolfsii*. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2523-2529.

Tablas y Figuras

Tabla 1 – Resultados obtenidos en el ensayo de tomate.

	T1	T2	T3	T4
SPAD	63,22 (4,5) a	61,07 (3,8) ab	60,13 (3,3) b	58,37 (8,3) b
Nº de frutos	38,86 (18,3) a	41,80 (19,2) a	39,93 (23,8) a	36,60 (26,7) a
Diámetro (cm)	6,32 (1,51) bc	6,59 (1,5) a	6,36 (1,6) b	6,17 (1,5) c
Peso (g)	99,39 (30,6) b	127,90 (33,1) a	95,38 (42,8) b	85,68 (41,6) b
Color	5,75 (2,0) a	5,92 (2,0) a	5,01 (2,5) b	5,16 (2,4) b
Dureza (Kg)	2,42 (0,9) a	2,11 (0,7) b	2,56 (1,2) a	2,56 (1,2) a
Azúcares (° Brix)	5,18 (1,1) a	4,51 (0,7) b	5,00 (1,4) a	5,32 (2,1) a
Cata fresco	5,87 (1,45) a	7,37 (1,68) a	6,12 (1,55) a	3,87 (1,80) b

Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Desviaciones estándar entre paréntesis.

Tabla 2 - Resultados obtenidos en el ensayo de pimiento.

	T1	T2	T3	T4
SPAD	62,32 (6,3) b	66,79 (7,0) a	61,92 (8,4) b	60,38 (9,2) b
Nº de frutos	14,20 (7,7) ab	17,07 (6,2) a	15,00 (9,1) ab	10,53 (5,6) b
Diámetro (cm)	6,73 (2,2) a	6,62 (1,9) a	6,21 (1,5) b	6,98 (1,8) a
Peso (g)	135,82 (64,3) a	110,47 (37,1) ab	96,11 (35,6) b	128,83 (57,9) ab
Color	1,40 (1,0) b	1,45 (1,1) b	1,83 (1,4) a	1,79 (1,2) a
Dureza (Kg)	79,88 (16,0) a	75,60 (13,7) b	73,43 (16,6) b	66,48 (18,8) c
Azúcares (° Brix)	5,15 (1,2) b	4,69 (1,0) c	5,64 (1,6) a	5,21 (1,5) b
Cata asado	7,88 (1,6) a	7,00 (2,0) a	6,25 (2,2) a	6,00 (2,3) a

Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Desviaciones estándar entre paréntesis.

Relación entre la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de *Cucumis melo* L. bajo diferentes estrategias de fertirrigación

M.L. Segura¹, E. Martín¹, A. Llanderal², M.T. Lao², J.I. Contreras¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA). Centro La Mojonera. Camino San Nicolás nº 1, 04745 La Mojonera (Almería), España.

²Departamento de Agronomía. Escuela Superior de ingeniería. Universidad de Almería. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3. Ctra. Sacramento s/n, La Cañada de San Urbano, 04120 (Almería), España.

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la relación existente entre la cantidad de nutrientes absorbidos y el rendimiento productivo de melón (*Cucumis melo* L. var. cantalupensis Naud 'Alpes') cultivado bajo diferentes estrategias de fertirrigación. Los experimentos se realizaron en invernadero, sobre suelo enarenado y riego por goteo, durante 2 ciclos de cultivo de primavera. El diseño experimental fue factorial 2x3 en bloques completos al azar. Los factores estudiados fueron: calidad de agua de riego (AM con C.E.=0.6 dS m⁻¹ y AE con C.E.=2.2 dS m⁻¹) y nivel de fertilización NK. En el primer ciclo los niveles de fertirrigación fueron F1 (50%), F2 (100%) y F3 (125%). El nivel F2 correspondía a un aporte total de 220 kg N ha⁻¹ y 355 kg K ha⁻¹. En el segundo ciclo los niveles fueron F2 (100%, igual que en el primer ciclo) F4 (125% N y 150% K), y F5 (180% N y 220% K) con las mismas calidades de agua que en el primer ciclo. Se determinó la producción de fruto y la absorción total de N, P, K, Ca y Mg realizada por el cultivo. Los resultados muestran que no existe una relación significativa entre las concentraciones de nutrientes aplicados y las extracciones. Sin embargo, existe una alta relación entre la absorción total de nutrientes y el rendimiento productivo, atendiendo al modelo logarítmico clásico que relaciona ambos factores, con valores para el coeficiente de determinación de 0.85, 0.83-0.85, 0.83, 0.77 y 0.76 para N, P, K, Ca y Mg respectivamente. En el caso del P se ha realizado una regresión independiente para cada ciclo de cultivo, debido a presentar mejores coeficientes de determinación. Se puede concluir de este trabajo que existen pérdidas de rendimiento de hasta el 60%, relacionadas con el manejo del fertirriego asociado a la absorción de nutrientes por la planta.

Palabras clave: Absorción, invernadero, macroelementos, nitrógeno, salinidad.

Abstract

The objective of this work was to determine the relationship between the amount of nutrients uptake and the yield of melon (*Cucumis melo* L. var. Cantalupensis Naud 'Alpes') cultivated under different fertigation strategies. The experiments were carried out in greenhouse, on sanded soil and drip irrigation, during 2 cycles of spring crop. The experimental design was bifactorial 2x3 in complete random blocks. The factors studied were: irrigation water quality (AM with C.E. = 0.6 dS m⁻¹ and AE with C.E. = 2.2 dS m⁻¹) and NK fertilization level. In the first cycle the levels of fertigation were F1 (50%), F2 (100%) and F3 (125%). Level F2 corresponded to a total contribution of 220 kg N ha⁻¹ and 355 kg K ha⁻¹. In the second cycle the levels were F2 (100%, as in the first cycle), F4 (125% N and 150% K), and F5 (180% N and 220% K) with the same water qualities as in the first cycle. Fruit yield and total N, P, K, Ca and Mg uptake by the crop were determined. The results show that there is no significant relationship between the nutrients applied and the plant uptake. However, there is a high relationship between total

nutrient uptake and yield, taking into account the classic logarithmic model that relates both factors, with values for the coefficient of determination of 0.85, 0.83-0.85, 0.83, 0.77 and 0.76 for N, P, K, Ca and Mg respectively. In the case of P, an independent regression was performed for each crop cycle, due to get better determination coefficients. It can be concluded from this work that there are yield losses of up to 60% related to the management of fertigation associated with nutrient uptake by the plant.

Keywords: Greenhouses, macroelements, nitrogen, salinity, uptake.

Introducción

Dentro del sureste de España, el cultivo del melón es el sexto cultivo con mayor superficie, con un total de 3740 ha y un rendimiento medio de 3.6 kg m⁻². Los tipos de melones más cultivados son: Piel de Sapo (40%), Galia (28%), Cantaloup (17%) y Amarillo (12%) (Valera et al., 2016). Además, el cultivo con aguas subterráneas de alta conductividad eléctrica es algo habitual en esta región española (Contreras, 2014). El cultivo de melón, ha sido ampliamente estudiado bajo condiciones salinas (Meiri et al., 1981; Mendlinger & Fossen, 1992). De acuerdo con la clasificación de Mass & Hoffman (1977) se considera un cultivo moderadamente sensible a la salinidad, por lo que puede existir una pérdida de rendimiento con la salinidad (Shannon & Francois, 1978).

A pesar de los amplios estudios realizados sobre las extracciones de los macroelementos en melón (Petsas & Lulakis, 1995; Rodríguez & Pire, 2004), existe poca información sobre la relación existente entre la absorción de los macroelementos y el rendimiento productivo del cultivo. En alguno de estos estudios se han encontrado altos coeficientes de determinación entre el rendimiento y los macroelementos absorbidos en melón, pero solo para el N y K (Contreras, 2014). Sin embargo, hay información limitada acerca de la relación que existe entre las extracciones y el rendimiento del cultivo de melón principalmente para P, Ca y Mg. El objetivo de este trabajo ha sido determinar la relación existente entre la concentración de nutrientes absorbidos y el rendimiento productivo de melón (*Cucumis melo* L.) cultivado bajo diferentes estrategias de fertirrigación con aguas subterráneas de diferente salinidad.

Material y métodos

En el centro IFAPA de La Mojonera (Almería) se realizaron dos experimentos (años 2003 y 2004) sobre cultivo de melón Galia (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis* Naud 'Alpes'), desarrollados en invernadero de 1700 m² con cubierta de polietileno, ventilación pasiva, y suelo enarenado de textura franco-arenosa, con pH alcalino, contenido medio de materia orgánica (1.97%), y niveles iniciales de N, P y K asimilables en suelo de 60, 86 y 168 mg·Kg⁻¹, respectivamente.

La densidad de plantación fue de 1.33 plantas m⁻². El sistema de riego fue por goteo, con redes de distribución independientes para cada uno de los tratamientos establecidos. La dosis de riego se estimó en función de la ETc y medidas de potencial matricial del suelo, a 15 cm de profundidad, mediante tensiómetros manuales manteniendo tensiones próximas a 15 KPa. El volumen de riego total aplicado fue el mismo para todos los tratamientos, siendo 282 L m⁻² en el 1º ciclo de cultivo y 406 L m⁻² para el 2º ciclo de cultivo.

En la primera experiencia el cultivo se trasplantó el 14 de marzo y la duración del ciclo fue de 119 días. En la segunda experiencia el trasplante se realizó el 25 de febrero, y la duración del ciclo fue de 139 días.

Se recolectaron los frutos una vez alcanzado su estado de madurez comercial y se clasificaron según la Normativa Europea de Calidad y Comercialización (Reglamento CE

1093/97, modificado por el Reglamento CE 850/200). Posteriormente y considerando el mayor valor de producción obtenida se calculó el rendimiento relativo según la ecuación 1.

$$RR = P_i/P_{max} \quad \text{Ec 1}$$

Dónde: P_i es el promedio de la producción (g m^{-2}) de la repetición i ; P_{max} es el promedio de la producción de la repetición con mayor producción del ensayo (g m^{-2}).

Diseño experimental y tratamientos

El diseño experimental fue bi-factorial de bloques al azar. Se establecieron 6 tratamientos, 3 en cada ciclo de cultivo, combinación de dos factores: tres niveles de fertirrigación NK y dos calidades de agua de riego, AM (C.E.=0.6 dS m^{-1}) y AE (C.E.=2.3 dS m^{-1}) (Tabla 1). Los niveles de fertirrigación fueron F_1 (50% NK), F_2 (100% NK) y F_3 (125% NK) el primer año, y F_2 (100% NK), F_4 (125% N y 150% K) y F_5 (180% N y 220% K) el segundo año. Las concentraciones de N y K (220 kg ha^{-1} de N y 355 kg ha^{-1} de K) del tratamiento F_2 corresponden a las extracciones del cultivo desarrollado en condiciones de clima mediterráneo con riego localizado.

Determinaciones

Para la determinación de las extracciones realizadas por la planta, se recogieron las plantas enteras, sin las raíces, al final de los experimentos (119 y 139 días en el 1° y 2° ciclo respectivamente). Fueron seleccionadas 2 plantas por repetición (8 plantas por tratamiento) y divididas en diferentes fracciones: Fruto en desarrollo, hoja y tallo. Se recogieron las podas de 8 plantas por repetición (32 plantas por tratamiento) durante todo el ciclo de cultivo. Los frutos maduros también fueron recolectados, tomando 10 frutos por repetición representativos de la producción obtenida en cada recolección (40 frutos por tratamiento). Las muestras se secaron en estufa a 70°C hasta peso constante. El contenido mineral fue determinado en la materia seca de las muestras. El nitrógeno fue determinado mediante el procedimiento de micro-Kjeldahl, el P mediante el método de fosfomolibdato (MAPA, 1986), y el K, Ca y Mg se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica. En este ensayo la absorción total del cultivo y la extracción coinciden, ya que no ha habido restitución de materiales provenientes de la poda de cultivo al suelo.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se han analizado estadísticamente con el programa informático STATGRAPHICS Plus (versión 4.1). Se realizó un análisis de la varianza, de la producción, según un diseño factorial 2x2 de bloques al azar, con cuatro repeticiones y un test de mínimas diferencias significativas (MDS) para $p \leq 0.05$ y un análisis de regresión logarítmica entre el rendimiento relativo (RR) y la extracción de nutrientes por el cultivo (N, P, K, Ca y Mg).

Resultados y Discusión

Rendimientos de fruto

En la tabla 2 se presentan las producciones obtenidas en los distintos tratamientos ensayados. Se puede observar que el tipo de agua empleada no afectó la producción, ni la comercial ni la de destrío, en ninguno de los dos ciclos productivos. Sin embargo, la producción se vio afectada por la fertilización aplicada, siendo significativamente mayor con la mayor fertilización (F_3 y F_5 en el 1° y 2° ciclo, respectivamente). En concordancia con la clasificación de Mass & Hoffman (1977), el cultivo de melón es moderadamente sensible a la salinidad. Mangal et al. (1988) y Shannon & Francois (1978) consideran un

umbral de salinidad de 1 dS m^{-1} y a partir de este valor establecen una pérdida de 8.4% de producción por dS m^{-1} de incremento de la C.E. en cultivos al aire libre. Sin embargo, en nuestro trabajo el umbral está por encima de 2.2 dS m^{-1} , ya que no se muestra este efecto. Esto puede ser debido a la tolerancia varietal y a las condiciones de desarrollo del cultivo, ya que se ha demostrado que con sistema de riego localizado, suelo enarenado e invernadero se incrementa la tolerancia a la salinidad (Maroto, 1990; Segura, 1995).

Relación entre la absorción total de nutrientes y el rendimiento productivo.

En la figura 1 (a,b,c,d,e) se presentan las relaciones logarítmicas encontradas entre el rendimiento relativo (RR) y las extracciones totales del cultivo. Se observan valores del coeficiente de determinación de 0.85, 0.83-0.85, 0.83, 0.77 y 0.76 para N, P, K, Ca y Mg respectivamente. Cabe destacar que, independientemente de las C.E. de las soluciones de fertirriego y de los ciclos de cultivo, todos los parámetros presentan la misma tendencia, excepto el P que presenta distintas tendencias en función del ciclo de cultivo. Esto puede estar relacionado con una baja absorción de P en el 2º ciclo debido a tener temperaturas ambientales más bajas, como propusieron Bravo & Uribe (1981), asociado a fases tempranas de crecimiento, que generan efectos posteriores con la disminución de la producción (Grant et al., 2001).

Medina et al. (2010) encontraron que la aplicación de N, P, K, Ca y Mg eran los factores más importantes en el rendimiento y la calidad en la producción hortícola. Similar a nuestros resultados, Contreras (2014) reportó coeficientes de determinación en un cultivo de melón de 0.89 y 0.93 para N y K respectivamente. Sin embargo, para los demás macronutrientes no se encontró información en la literatura revisada.

La clara relación existente entre la producción y las extracciones de macronutrientes nos puede permitir calcular la absorción de nutriente en función de la producción esperada

Conclusiones

Existe una relación significativa y positiva entre las extracciones de NPK y la producción obtenida. En el rango de datos estudiado no se observa el consumo de lujo de dichos nutrientes existiendo mermas productivas del orden del 60% relacionadas con bajas extracciones, lo que reitera la importancia de un buen manejo de la fertirrigación asociado a la absorción de nutrientes por la planta.

Referencias

- Bravo, F.P. & Uribe, E.G. 1981. Temperature dependence of the concentration kinetics of absorption of phosphate and potassium in corn roots. *Plant Physiology* 67:815-819.
- Contreras, J.I. 2014. Fertirrigación de cultivos hortícolas en invernadero utilizando aguas de baja calidad (agua salina y agua regenerada) en condiciones del litoral de Andalucía. Tesis Doctoral. Universidad de Almería, España.
- Grant, C.A., Flaten, D. N., Tomasiewicz, D. J., & Sheppard S. C. 2001. The importance of early season phosphorus nutrition. *Canadian Journal of Plant Science* 81: 211-224.
- Maas, E.V. & Hoffman, G.J. 1977. Crop salt tolerance—Current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division* 103:115-134.
- Mangal, J.L., Hooda, P.S. & Lal, S. 1988. Salt tolerance of five muskmelon cultivars. *Journal of Agricultural Science* 110:641-643.
- MAPA, 1986. Métodos Oficiales de análisis. Tomo III. Secretaría General Técnica del Ministerios de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.

- Maroto J.V. 1990. Elementos de Horticultura General. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 343 pp.
- Medina, N., Borges, G.J. & Soria, F.L. 2010. Composición nutrimental de biomasa y tejidos conductores en chile habanero (*Capsicum chinense* L.). Tropical and Subtropical Agroecosystems 12:219-228.
- Meiri, A., Plaut, Z. & Pincas, L. 1981. Salt tolerance of glasshouse-grown muskmelon. Soil Science 131:189-193.
- Mendlinger, S. & Pasternak, D. 1992. Effect of time of salinization on flowering, yield, and fruit quality factors in melon, *Cucumis melo* L. Journal of Horticultural Science 67:529-534.
- Petsas, S. & Lulakis, M. 1995. Apportazione di elementi nutritivi nel melon in serra fredda. Colture Protette 10:83-85.
- Rodríguez, Z., & Pire, R. 2004. Extracción de N, P, K, Ca y Mg por plantas de melón (*Cucumis melo* L.) híbrido Packstar bajo condiciones de Tarabana, estado. Lara. Revista de la Facultad de Agronomía 21:141-154.
- Segura M.L. 1995. Fertirrigación de cultivos hortícolas en condiciones salinas con sistema enarenado y sustratos alternativos. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Shannon, M.C. & Francois, L.E. 1978. Salt tolerance of three muskmelon cultivars. Journal of the American Society for Horticultural Science 103:127-130.
- Valera D.M, Belmonte, L., Molina, F.D. & López, A. 2016. Greenhouse agriculture in Almería A comprehensive techno-economic analysis. Cajamar Caja Rural, España.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Caracterización de las aguas de riego empleadas. C.E. (dS m^{-1}) y la concentración de sales (meq L^{-1}).

Tipo de agua	C.E.	Cl^-	SO_4^{2-}	NO_3^-	Na^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	K^+	R.A.S	Clasificación USDA
AM	0.62	2.13	1.10	0.59	1.52	3.29	2.42	0.11	0.90	C_2S_1
AE	2.20	15.5	2.46	2.53	12.3	8.37	3.94	0.23	4.95	C_3S_3

Tabla 2- Producción comercial y destrío (g m^{-2}) de los 2 ciclos de cultivo.

Tratamientos	1º ciclo		2º ciclo	
	P. comercial	Destrio	P. comercial	Destrio
Niveles NK	*	ns	*	ns
F ₁	2835 c	20.80		
F ₂	4280 b	27.08	4175 c	241.1
F ₃	5059 a	51.56		
F ₄			5434 b	154.2
F ₅			6095 a	186.8
C.E.	ns	ns	ns	ns
AM	4068	33.24	5246	212.2
AE	4048	33.06	5223	175.8
Interacción	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo. * Significativo. Diferentes letras indican diferencias significativas entre grupos en cada columna.

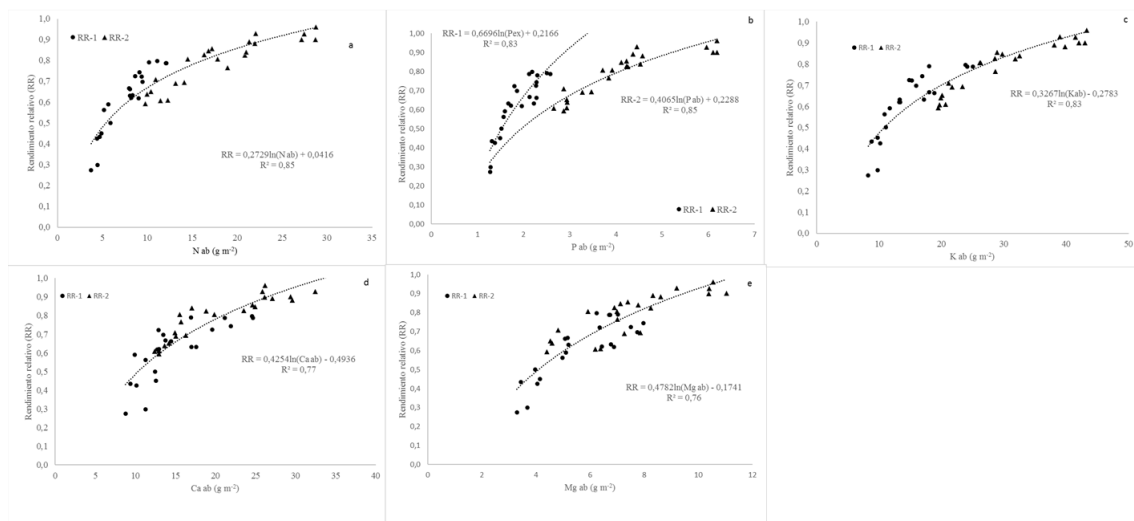


Figura 1- Correlación entre el rendimiento relativo (RR) y las extracciones totales del cultivo ($g\ m^{-2}$) en los dos ciclos de cultivo para: nitrógeno (N) (a), fósforo (P) (b), potasio (K) (c), calcio (Ca) (d) y magnesio (Mg) (e).

Relación entre la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de *Capsicum annuum* bajo diferentes estrategias de fertirrigación

J.I. Contreras¹, E. Martín¹, A. Llanderal², M.T. Lao², M.L. Segura¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA). Centro La Mojonera. Camino San Nicolás nº 1, 04745 La Mojonera (Almería), España. ²Departamento de Agronomía. Escuela Superior de Ingeniería. Universidad de Almería. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3. Ctra. Sacramento s/n, La Cañada de San Urbano, 04120 (Almería), España.

Resumen

El conocimiento de la absorción de nutrientes del cultivo es la base para poder realizar una fertilización óptima. El objetivo de este trabajo ha sido determinar la relación existente entre la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de pimiento (*Capsicum annuum* L. cv. Aifos) cultivado bajo diferentes estrategias de fertirrigación. La experiencia se realizó en invernadero, sobre suelo enarenado y riego por goteo, en ciclo de verano-otoño. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con siete tratamientos, 2 con agua subterránea (AS) y 5 con agua regenerada de origen urbano (AR). Con AS se ensayaron 2 niveles de fertilización (N_0K_0 y N_1K_1) y con AR se ensayaron los siguientes niveles: N_0K_0 , N_1K_1 , $N_1K_{1.5}$, $N_{1.5}K_1$ y $N_{1.5}K_{1.5}$. El nivel N_1K_1 correspondía a un aporte total 125 kg N ha^{-1} y 193 kg K ha^{-1} . Se determinó la producción de fruto y la absorción total de N, P, K, Ca y Mg realizada por el cultivo, calculando la relación entre la producción y la absorción de los nutrientes. Los resultados muestran que existe una alta relación entre la absorción total de nutrientes y el rendimiento productivo, principalmente para N, P y K, atendiendo al modelo logarítmico clásico que relaciona ambos factores, con valores del coeficiente de determinación de 0.79, 0.88, 0.80, 0.56 y 0.60 para N, P, K, Ca y Mg respectivamente. Se puede concluir que, en este trabajo, existen pérdidas de rendimiento de hasta el 40%, relacionadas con el manejo del fertirriego y asociadas al descenso en la absorción de nutrientes por la planta.

Palabras clave: Agua regenerada, invernadero, macroelementos, nitrógeno, potasio.

Abstract

The knowledge of the crop nutrient absorption is the basis for optimal fertilization. The objective of this work was to determine the relationship between nutrient uptake and yield of pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Aifos) cultivated under different fertigation strategies. The experiment was carried out in greenhouse, on sanded soil and drip irrigation, in summer-autumn cycle. The experimental design was complete randomized blocks with seven treatments, 2 with groundwater (AS) and 5 with regenerated urban water (AR). Two levels of fertilization (N_0K_0 and N_1K_1) were tested with AS and with RA the following levels were tested: N_0K_0 , N_1K_1 , $N_1K_{1.5}$, $N_{1.5}K_1$ and $N_{1.5}K_{1.5}$. The N_1K_1 level corresponded to a total contribution of 125 kg N ha^{-1} and 193 kg K ha^{-1} . Fruit production and total N, P, K, Ca and Mg uptake by crop were determined. The relationship between production and nutrient uptake were calculated. The results show that there is a high relation between total nutrient uptake and yield, Mainly for N, P and K, considering the classic logarithmic model that relates both factors, with values of the coefficient of determination of 0.79, 0.88, 0.80, 0.56 and 0.60 for N, P, K, Ca and Mg respectively. It can be concluded that, in this work, there are yield losses of up to 40%,

related to the management of fertigation and associated to the decrease of the nutrient uptake by the plant.

Keywords: Greenhouses, macroelements, nitrogen, potassium, wastewater.

Introducción

La reutilización del agua constituye un aspecto importante de las políticas integradas de gestión de los recursos hídricos y del medio ambiente, garantizando mayores volúmenes fiables, reduciendo la contaminación ambiental y logrando un desarrollo más sostenible (Lazarova et al., 2001). De los 17 Hm³ de agua regenerada utilizada en los regadíos Andaluces, el 50 % se utiliza para el riego de 2500 ha de cultivo bajo invernadero en la Comarca del Bajo Andarax en Almería (Agencia Andaluza del Agua, 2009).

La calidad de las aguas residuales urbanas está estrechamente relacionada con el tratamiento a que hayan sido sometidas (Hussain & Al-Saati, 1999). Además, el agua residual sufre cambios en su calidad de forma estacional y diaria debido a modificaciones en las costumbres de la población (Martínez, 2005). Nuestras aguas regeneradas se caracterizan por su moderada concentración de sales y su alto contenido en nutrientes, especialmente N, P y K, elementos esenciales para la nutrición de las plantas (Segura et al., 2004).

Dentro del sureste de España, el pimiento es el segundo cultivo con mayor superficie, con un total de 7388 ha y un rendimiento medio de 6.9 kg m⁻². Los tipos de pimiento más cultivados son: California (63%), Lamuyo (17%), Italiano (9%) y otros (11%) (Valera et al., 2016).

Las investigaciones relacionadas con la reutilización de las aguas residuales para riego de cultivos hortícolas son muy limitadas, con disparidad en los resultados obtenidos. En relación a los efectos sobre la producción de pimiento, Brito et al. (1996) no obtuvieron diferencias significativas. Respecto, a la fertilización de N y K en pimiento con aguas residuales la información es muy limitada. Sin embargo, se encuentran recomendaciones para el cultivo de pimiento dulce en invernadero en Almería con agua convencional de 10-15 NO₃⁻, 0.5 NH₄⁺ y 4-6 K⁺ mmol L⁻¹ (RecheMarmol, 2010).

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la relación existente entre la absorción total de nutrientes y el rendimiento productivo de pimiento (*Capsicum annuum* L. cv. Aifos) cultivado bajo diferentes estrategias de fertirrigación con aguas subterráneas y regeneradas.

Material y métodos

Diseño experimental y tratamientos

El ensayo se realizó en cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L. cv. Aifos) en invernadero de 800 m² con cubierta de polietileno, localizado en el Centro IFAPA La Mojonera-Almería (IFAPA. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía). El cultivo se trasplantó el 21 de agosto, finalizando la experiencia el 23 de enero, con una duración de 155 días. La densidad de plantación fue de 2 plantas m⁻². El sistema de cultivo fue suelo enarenado de textura franco-arcillo-arenoso, pH de 8.60 (extracto saturado), 0.9 % de materia orgánica, 2, 53 y 337 mg Kg⁻¹ de N, P y K asimilable. El sistema de riego fue localizado, con redes de distribución independientes para cada uno de los tratamientos. La dosis de riego se estimaron en función de la ETc (Fernández et al., 2000) y la frecuencia mediante medidas de potencial matricial del suelo, obtenidas con tensiómetros manuales (Tensiómetros Irrrometer, Irrrometer, EE.UU)

colocados a 15 cm de profundidad, manteniendo tensiones próximas a 15 KPa. El volumen de riego total aplicado fue el mismo para todos los tratamientos (91 L m⁻²).

Se recolectaron los frutos una vez alcanzado su estado de madurez comercial (verde o rojo) desde el 8 de noviembre hasta el 11 de enero, y se clasificaron según la Normativa Europea de Calidad y Comercialización (Reglamento CE 1455/1999, modificado por el Reglamento CE 46/2003). Posteriormente y considerando el mayor valor de producción obtenida se calculó el rendimiento relativo según la ecuación 1.

$$RR = Pi/Pmax \quad Ec 1$$

Dónde: P_i es el promedio de la producción (g m⁻²) de la repetición i ; P_{max} es el promedio de la producción de la repetición con mayor producción del ensayo (g m⁻²).

El diseño experimental fue bi-factorial: tipo de agua de riego (AR: agua regenerada y AS: agua subterránea) y niveles de fertilización NK. Debido al amplio conocimiento en el manejo de AS se ensayaron solamente 2 niveles de fertilización (N₀K₀, N₁K₁) y con agua regenerada se ensayaron los siguientes tratamientos: N₀K₀, N₁K₁, N₁K_{1.5}, N_{1.5}K₁ y N_{1.5}K_{1.5} respecto a las extracciones estandarizadas (125 kg N ha⁻¹ y 193 kg K ha⁻¹ (N₁K₁)). El agua regenerada procedía de la EDAR de Almería tratada con hipoclorito sódico y ozono y el agua subterránea procedía de un acuífero de la comarca del Bajo Andarax y desalinizada en una planta de ósmosis inversa situada en la finca.

Las características de las aguas de riego y la composición media de las disoluciones nutritivas aplicadas a los tratamientos se muestran en la tabla 1.

Determinaciones

Para la determinación de las extracciones realizadas por la planta, se recogieron las plantas enteras, sin las raíces, al final del experimento (155 días). Fueron seleccionadas 2 plantas por repetición (8 plantas por tratamiento) y divididas en diferentes fracciones: Fruto en desarrollo, hoja y tallo. Se recogieron las podas de 8 plantas por repetición (32 plantas por tratamiento) durante todo el ciclo de cultivo. Los frutos maduros también fueron recolectados, tomando 10 frutos por repetición representativos de la producción obtenida en cada recolección (40 frutos por tratamiento). Las muestras se secaron en estufa a 70°C hasta peso constante. El contenido mineral fue determinado en la materia seca de las muestras. El nitrógeno fue determinado mediante el procedimiento de micro-Kjeldahl, el P mediante el método de fosfomolibdato (MAPA, 1986), y el K, Ca y Mg se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica. En este ensayo la absorción total del cultivo y la extracción coinciden, ya que no ha habido restitución de materiales provenientes de la poda de cultivo al suelo.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se han analizado estadísticamente con el programa informático STATGRAPHICS Plus (versión 4.1). Se realizó un análisis de la varianza, de la producción, según un diseño factorial 2x2 de bloques al azar, con cuatro repeticiones y un test de mínimas diferencias significativas (MDS) para $p \leq 0.05$ y un análisis de regresión logarítmica entre el rendimiento relativo (RR) y la extracción de nutrientes por el cultivo (N, P, K, Ca y Mg).

Resultados y discusión

Rendimientos de fruto

En la tabla 2 se presentan las producciones obtenidas en los distintos tratamientos ensayados. Los tratamientos control AS N₀K₀ y AR N₀K₀ no mostraron diferencias

significativas entre ellos. Sin embargo, comparando los tratamientos AS (N_0K_0 y N_1K_1) y AR (N_0K_0 y N_1K_1) con los tratamientos con AR ($N_1K_{1.5}$, $N_{1.5}K_1$ y $N_{1.5}K_{1.5}$), las producciones fueron significativamente menores. Esto puede estar relacionado con el mayor aporte de nutrientes en la solución nutritiva (Tabla 1) (Salazar-Jara & Juárez-López, 2013). Los rendimientos obtenidos en los tratamientos control AS N_0K_0 y AR N_0K_0 fueron menores a los obtenidos por Contreras et al. (2006) en el mismo cultivo en condiciones de desarrollo semejantes, pero similares al tratamiento AR N_1K_1 . Del mismo modo, los tratamientos AR ($N_1K_{1.5}$, $N_{1.5}K_1$ y $N_{1.5}K_{1.5}$) fueron inferiores a las producciones normales obtenidas en la zona productora (6.9 kg. m^{-2}) (Valera et al., 2016), debido probablemente a que el ciclo de cultivo fue más corto.

Relación entre la extracción total de nutrientes y el rendimiento productivo.

En la figura 1 (a,b,c,d,e) se presentan las relaciones logarítmicas encontradas entre el rendimiento relativo (RR) y las extracciones totales del cultivo. Se observan valores del coeficiente de determinación de 0.79, 0.88, 0.80, 0.56 y 0.60 para N, P, K, Ca y Mg respectivamente. Medina et al. (2010) encontró que la aplicación de N, P, K, Ca y Mg eran los factores más importantes en el rendimiento y la calidad en la producción hortícola. Similares resultados a los obtenidos en el ensayo fueron encontrados por Ferreyra et al. (1987) en un cultivo de pimiento con coeficiente de determinación para N, P y K de 0.87, 0.89 y 0.88, respectivamente.

Conclusiones

Existe una relación significativa y positiva entre las extracciones de NPK y la producción obtenida. En el rango de datos estudiado no se observa el consumo de lujo de dichos nutrientes, existiendo mermas productivas del orden del 40% relacionadas con bajas extracciones, lo que reitera la importancia de un buen manejo de la fertirrigación asociado a la absorción de nutrientes por la planta.

Agradecimientos

El trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (INIA. Proyecto INIA RTA2006-00032-00-00) y el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA). Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural (Junta de Andalucía).

Referencias

- Agencia andaluza del agua (AAA). 2009. Posibilidad de reutilizar las aguas residuales regeneradas. <http://www.juntadeandalucia.es/agenciadelagua/>
- Brito, J.C., Santos, N., Guerrero, C., Faleiro, L., Veliça, A., & Beltrao, J. 1996. Reuse of municipal sewage sludges and industrial wastes as organic fertilizers in pepper. International Workshop on "Sewage Treatment and Reuse for Small Communities: Mediterranean and European Experience". Agadir, Marokko. p. 455-463.
- Contreras, J.I., Galindo, P., Catala, J.J. & Segura, M.L. 2006. Response of greenhouse pepper crop to fertilizer levels and different qualities of irrigation water. *Acta Horticulturae* 700:203-206.
- Ferreyra, R., Van, G.S. & González, M. 1987. Efecto de diferentes alturas de agua sobre el cultivo del pimiento. *Relaciones hídricas del cultivo y absorción de N, P y K. Agricultura Técnica (Santiago de Chile)* 47:304-307.
- Hussain, G., & Al-Saati, A.J. 1999. Wastewater quality and its reuse in agriculture in Saudi Arabia. *Desalination* 123:241-251.

- Lazarova, V., Levine, B., Sack, J., Cirelli, G., Jeffrey, P., Muntau, H. & Brissaud, F. 2001. Role of water reuse for enhancing integrated water management in Europe and Mediterranean countries. *WaterScience and Technology* 43:25-33.
- MAPA, 1986. Métodos Oficiales de análisis. Tomo III. Secretaría General Técnica del Ministerios de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Martínez, S. 2005. Utilización de aguas residuales depuradas para riego de cultivos hortícolas bajo invernadero. Tesis Doctoral. Universidad de Almeria, Spain.
- Medina, N., Borges, G.J. & Soria, F.L. 2010. Composición nutrimental de biomasa y tejidos conductores en chile habanero (*Capsicumchinense* L.). *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12:219-228.
- RecheMarmol, J. 2010. Cultivo del pimiento dulce en invernadero. Estudios e informes técnicos. Consejería de Agricultura y pesca. Sevilla.
- Salazar-Jara, F.I. & Juárez-López, P. 2013. Requerimiento macronutrimental en plantas de chile (*Capsicumannuum*L.). *Revista Bio Ciencias* 2:27-34.
- Segura, M.L., Granados, M.R., Moreno, J. & Urrestarazu, M. 2004. Response of greenhouse melon and tomato crops to wastewater fertirrigation. *Acta Horticulturae*633:391-396.
- Valera, D.M., Belmonte, L., Molina, F.D. & López, A. 2016. Greenhouse agriculture in Almería: A comprehensive techno-economic analysis. *Cajamar Caja Rural, España*.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Composición media de las soluciones nutritivas aplicadas.

Tratamiento	pH	C.E	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	N-NO ₃ ⁻	P	N-NH ₄ ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺
AS N ₀ K ₀ *	7.09	1.21	0.00	1.25	4.65	4.63	0.95	0.00	0.00	2.89	3.13	5.07	0.14
		3.00	0.00	1.25	4.65	11.48	5.43	0.56	4.38	2.89	3.13	5.07	5.44
AR N ₀ K ₀ *	8.30	2.11	0.00	6.60	8.93	5.25	0.34	0.37	3.27	4.82	4.24	11.09	0.64
		3.19	0.00	6.60	8.93	11.45	3.48	0.63	6.33	4.82	4.24	11.09	5.44
		3.46	0.00	6.60	8.93	14.97	3.48	0.63	6.33	4.82	4.24	11.09	8.15
		3.43	0.00	6.60	8.93	11.45	5.96	0.63	8.76	4.82	4.24	11.09	5.44
		3.71	0.00	6.60	8.93	14.97	5.96	0.63	8.76	4.82	4.24	11.09	8.15

* Agua sin fertilizantes

Tabla 2- Producciones medias obtenidas por tratamiento

Agua	Tratamiento	(g m ⁻²)		
		Comercial	No comercial	Total
AS	N ₀ K ₀	3623 c	8.9 a	3632 c
	N ₁ K ₁	4517 b	4.5 a	4521 b
AR	N ₀ K ₀	4003 bc	14.1 a	4017 bc
	N ₁ K ₁	4468 b	3.6 a	4472 b
	N ₁ K _{1.5}	5357 a	8.8 a	5366 a
	N _{1.5} K ₁	5375 a	15.3 a	5390 a
	N _{1.5} K _{1.5}	5585 a	2.8 a	5588 a

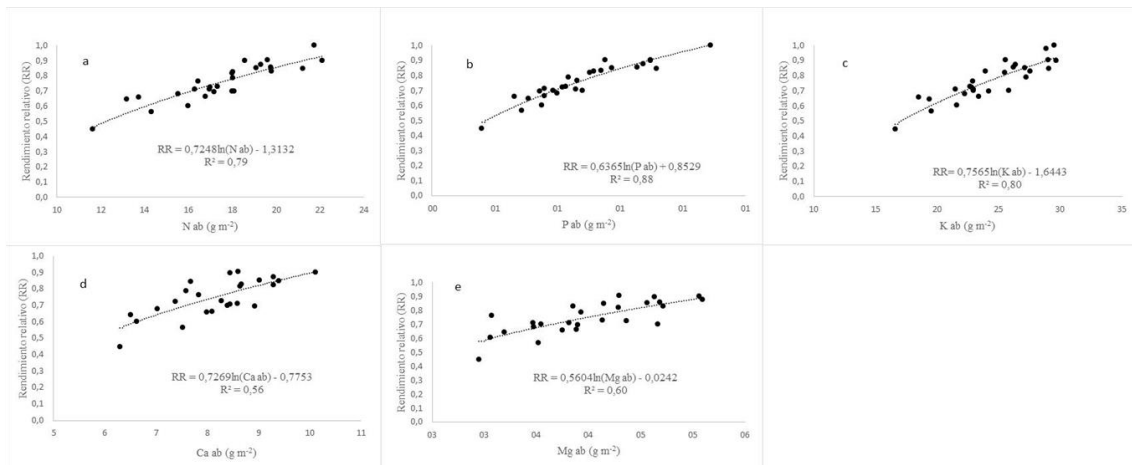


Figura 1- Correlación entre el rendimiento relativo (RR) y las absorciones totales del cultivo (g m⁻²) para: nitrógeno (N) (a), fósforo (P) (b), potasio (K) (c), calcio (Ca) (d) y magnesio (Mg) (e).

Empleo del agua de lavado de aceitunas verdes estilo español como fertilizante para el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*)

Concepción Romero¹, Berta de los Santos², Alejandra Expósito¹, Ana Aguado² y Manuel Brenes¹

¹ Instituto de la Grasa (IG-CSIC), Campus Universitario Pablo de Olavide-Edificio 46, Ctra. Utrera, km 1, 41013 – Sevilla, c.romero@csic.es, crb@cica.es

² Centro IFAPA Las Torres-Tomejil (CAP – JA). Apartado de Correos Oficial. 41200-Alcalá del Río, Sevilla

Resumen

La elaboración de aceitunas de mesa ha generado en España un sector industrial de gran interés económico aunque con un gran problema de gestión de sus aguas residuales. Estudios previos han demostrado que soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas verdes estilo español pueden tener un efecto promotor del crecimiento en plantas de tomates. El objetivo de este trabajo fue confirmar con nuevas experiencias en diferentes campañas los resultados observados inicialmente. En un primer ensayo (campaña 2015) se emplearon dos aguas de lavado de variedades de aceitunas diferentes ('Manzanilla' y 'Hojiblanca'), que fueron aplicadas por riego en dos dosis (20 y 50%). Los resultados indicaron que la aplicación de estas soluciones no tenía efecto fitotóxico y la evaluación de los parámetros asociados al vigor de la planta, la producción y la calidad de los frutos mostraron que la solución más efectiva fue el agua procedente de la elaboración de aceitunas 'Hojiblanca' aplicada a dosis alta. En un segundo ensayo (campaña 2016) se empleó una nueva solución de la variedad 'Hojiblanca' que fue concentrada diez veces y se aplicó recién preparada o una vez transcurrido seis meses de almacenamiento. Además, en esta ocasión, sólo se realizó riego a dosis alta (50%) y se ensayaron con variedades diferentes de tomate ('Optima' y 'Carmello'). La evaluación de los mismos parámetros que en la campaña anterior nos indicaron que el efecto fortificante de estas soluciones fue independiente de la variedad de tomate y del tiempo de almacenamiento de la solución concentrada. En conclusión, la utilización de estas soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas de mesa como fertilizante natural puede ser una alternativa para la agricultura ecológica y, además, podría reducir el volumen de vertidos en ese sector industrial.

Palabras-claves: Aceituna de mesa, hortícolas, fortificación, residuos agroindustriales.

Abstract

The elaboration of table olives has generated in Spain an industrial sector of high economic interest although with a big problem of management of its wastewaters. Previous studies have shown that solutions from the processing of Spanish-style green olives may have a growth-promoting effect on tomato plants. The objective of this work was to confirm these results with new experiences on different seasons. In the first trial (season 2015), two washing waters of different olive cultivars ('Manzanilla' and 'Hojiblanca') were used, and they were applied by irrigation in two doses (20 and 50%). The results indicated that the application of these solutions did not have a phytotoxic effect on plants and the evaluation of the parameters associated to plant vigor such as fruit production and quality showed that the most effective solution was the water from the 'Hojiblanca' cultivar applied at high doses. In a second trial (season 2016), a new solution

of the 'Hojiblanca' cultivar was used but it was concentrated 10 fold and applied freshly prepared or after six months of storage. On this occasion, only high dose irrigation (50%) was tested and two tomato cultivars were employed ('Optima' and 'Carmello'). The results of this second assay indicated that the fortifying effect of these solutions was independent of the cultivar of tomato and the time of storage of the concentrated solution. In conclusion, the use of these solutions from the elaboration of table olives as natural fertilizer can be an alternative for organic farming and it could also reduce the volume of waste water in this industrial sector.

Keywords: Table olives, horticultural, fertilization, agroindustrial waste.

Introducción

España es el principal productor y exportador de aceitunas de mesa, correspondiendo a Andalucía alrededor del 80%. Los actuales procesos de elaboración de aceitunas generan un volumen elevado de aguas residuales de difícil y costosa depuración, y la gestión de sus vertidos sigue siendo uno de los retos actuales de investigación. Durante años se ha trabajado en la reutilización de líquidos del aderezo tales como soluciones de hidróxido sódico y salmueras de fermentación de aceitunas verdes (Brenes et al., 1990) y en la fermentación de aguas de lavado de aceitunas verdes con vistas a la extracción de antioxidantes naturales (De Castro y Brenes, 2001; Brenes et al., 2004). Por otra parte, es creciente el número de empresas, productos, e investigaciones sobre biofortificantes y bioestimulantes, así como su empleo en agricultura tanto convencional como orgánica (Russo, 2001; Khan et al., 2009). Así, por ejemplo, se ha comprobado que la aplicación foliar de algunos alcoholes, en particular metanol y etanol, puede estimular el crecimiento de plantas de tomate (Rowe et al., 1994). Estudios previos han demostrado que soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas verdes estilo español pueden ser aplicadas por riego y se mejora los parámetros implicados en el desarrollo vegetativo de las plantas de tomates, así como su precocidad (De los Santos et al., 2015). El objetivo de este trabajo fue confirmar con nuevas experiencias en diferentes campañas los resultados observados anteriormente, ver cómo influye el tiempo de conservación de las soluciones a aplicar y la variedad de tomate a emplear.

Materiales y métodos

Los ensayos se realizaron durante dos campañas consecutivas empleándose plántulas de tomate de la variedad 'Optima' (abril 2015) y de las variedades 'Optima' y 'Carmello' (abril 2016), las cuales fueron trasplantadas a macetas de 16 cm de diámetro (1 planta por maceta) conteniendo turba esterilizada (Klasmann-Deilmann, Geeste, Alemania) con la siguiente composición: materia seca 25%, materia orgánica 20%, salinidad $< 1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, nitrógeno total $130\text{-}220 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, fósforo total $160\text{-}260 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, potasio total $170\text{-}290 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, magnesio total $80\text{-}150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y pH 5,5-6,5 unidades, con un volumen de turba de 2,5L por maceta. Las experiencias se desarrollaron en invernadero, donde se dispusieron seis plantas por tratamiento, en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones de dos plantas cada una. Las condiciones del invernadero fueron: 25-30°C de temperatura máxima, 10-15°C de temperatura mínima y una humedad relativa de 50-80%. Las soluciones se aplicaron en tres ocasiones cada 15 días a partir de la fecha de trasplante de las plántulas a las macetas. En una primera experiencia los tratamientos aplicados fueron los concentrados obtenidos a partir de aguas de lavado de aceitunas verdes estilo español procedente de aceituna de la variedad 'Hojiblanca' y de 'Manzanilla', restituidos a su volumen inicial y ajustado el pH a 5-6 unidades con KOH (Tabla 1). La aplicación de los concentrados se realizó en concentraciones del 20% y 50%,

mediante riego hasta capacidad de campo. Las plantas control se trataron de la misma manera con abono (KNO_3) o simplemente agua. En una segunda experiencia los tratamientos aplicados fueron los concentrados obtenidos a partir de aguas de lavado de aceitunas verdes estilo español procedente de aceituna de la variedad 'Hojiblanca' recién preparado o después de conservarse a temperatura ambiente y concentrado durante 6 meses. Al igual que en la campaña anterior, los concentrados fueron restituidos a su volumen inicial y ajustado el pH a 5-6 unidades con KOH. La aplicación de los concentrados se realizó a dosis alta (50%), mediante riego hasta capacidad de campo, en tres ocasiones, la primera aplicación a los 15 días después del trasplante. Las plantas control se trataron de la misma manera con abono (KNO_3) o simplemente agua.

La determinación de la fitotoxicidad y su influencia sobre el desarrollo vegetativo de las plantas se evaluó semanalmente. Se estudiaron parámetros asociados al vigor de la planta (altura media de la planta, cm); caracteres asociados a la producción (número medio de frutos por planta; calibre medio de los frutos (cm), peso medio de los frutos (g) y peso total acumulado, ($\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$)). También, se determinó la calidad de los frutos al final de cada ensayo: pH, dureza, contenido medio de azúcares ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulable e índice de madurez ($^{\circ}\text{Brix}\cdot\text{acidez titulable}^{-1}$). Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza (Statistix 8.0), realizándose la separación de las medias, según test de mínima diferencia significativa (MDS) a $P < 0,05$.

Resultados y discusión

No se observaron efectos fitotóxicos en plantas de tomate en ninguno de los ensayos realizados, lo que corrobora los resultados obtenidos con anterioridad (De los Santos et al., 2015). En un primer ensayo, realizado en abril de 2015, se emplearon dos aguas de lavado diferentes a dos dosis y los principales resultados están reflejados en la Tabla 2. Para determinar el vigor de la planta se realizaron medidas de altura semanales. Se observó que la altura acumulada de la planta después de 4 meses de la plantación es superior en aquellas plántulas que han sido tratadas con cualquiera de las dos aguas de lavado ensayadas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa respecto al utilizar como control agua o abono, en cualquiera de las dos dosis aplicadas, observándose una cierta tendencia a aumentar este parámetro cuando se aplica una dosis alta (50%) independientemente del agua de lavado utilizada, 'Manzanilla' u 'Hojiblanca'.

Por otra parte, todos los tratamientos producen un número de frutos por planta significativamente superior al Control Agua, destacando el tratamiento MDA, HDB y HDA que no difieren del abono a dosis alta. Además, el peso medio acumulado ($\text{gramos}\cdot\text{planta}^{-1}$) es muy elevado en los tratamientos a dosis alta, tanto con las dos aguas de lavado empleadas como con la solución abono, incluso al usar el agua de lavado de 'Hojiblanca' a dosis baja no hay diferencia estadística significativa con los tratamientos anteriores. Habría que destacar que los calibres de fruto obtenidos en esta ocasión son todos similares, independientemente del tratamiento realizado.

En esta experiencia también se han evaluado diferentes parámetros de interés desde el punto de vista de la calidad del producto final. Así, por ejemplo, no existe diferencia significativa en la firmeza de los frutos, aunque se observa una ligera tendencia a obtener frutos con una mayor dureza cuando el tratamiento se ha realizado a dosis alta. Por tanto, el empleo de estas soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas de mesa no produce un efecto negativo en este parámetro sensorial, tan significativo de la calidad del producto. Todos los tomates evaluados presentan un valor de pH similar, independientemente del tratamiento aplicado, y los valores medios se encuentran alrededor del óptimo para el procesado de puré (4,3 unidades de pH). Sin embargo, sí se detectó una diferencia significativa en el grado de acidez, presentado valores superiores

los tomates procedentes de tratamientos a dosis alta, aunque únicamente con el abono a esta alta se obtiene un valor medio de acidez superior a 0,32 unidades, valor indicativo de tomates de alta calidad.

Otro parámetro de calidad evaluado ha sido el contenido en azúcares, a medida que ha ido avanzando el periodo de cosecha, este valor ha disminuido en todos los tratamientos, aunque en todos los muestreos realizados se ha comprobado que todos tienen un valor medio de °Brix superior al valor óptimo (4,8 °Brix) y, por tanto, todos los tomates obtenidos, independientemente del tratamiento aplicado, son comercializables. En general se ha observado una tendencia a obtener un mayor contenido en azúcares cuando los tomates se han tratado con dosis alta, y se diferencian significativamente el abono y el agua de lavado de la variedad 'Manzanilla' (CKNDA y MDA).

Finalmente, la relación °Brix / Acidez nos indica la combinación azúcar/ácido y valores superiores a 10 unidades de este parámetro indican un buen sabor. En general, todos los tratamientos tienen un índice de madurez adecuado, y existe una diferencia estadística significativa entre los distintos tratamientos, siendo los más destacables cuando se ha realizado la aplicación de la solución a dosis baja (MDB y HDB), no diferenciándose de los tomates obtenidos con el Control Agua.

En un segundo ensayo, realizado en abril del 2016, se evaluó la aplicación de un solo tipo de agua de lavado a una única dosis. La novedad de este segundo ensayo fue que la solución empleada se aplicó recién preparada, como en la experiencia anterior, o se mantuvo preparada y almacenada durante seis meses. Además, también se evaluó la influencia de la variedad de tomate a tratar. Los parámetros estudiados se relacionan con el desarrollo vegetativo de la planta (Tabla 3).

Los valores obtenidos de altura de la planta nos indican que la aplicación del agua de lavado, bien fresca o almacenada durante 6 meses, desarrollan una planta más elevada, diferenciándose significativamente de aquellas plantas mantenidas con un abono tradicional o simplemente con agua. Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos al analizar el nº medio de frutos por planta. Los mejores resultados se obtuvieron cuando se realizó la aplicación de la solución concentrada y almacenada durante 6 meses (6HDA), triplicándose en valor respecto al obtenido para las plantas tratadas con agua o casi duplicando el valor cuando se emplea el abono tradicional. Los resultados más significativos se han obtenido al medir los gramos por planta, encontrándose un valor muy superior en aquellas plantas tratadas con el agua de lavado recién preparada, seguida de aquellas en las que se empleó el agua conservada durante 6 meses. De nuevo, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos respecto al calibre medio de los frutos. Los resultados encontrados son similares para las dos variedades de tomate ensayadas ('Optima' y 'Carmello').

Conclusiones

El estudio realizado en dos campañas consecutivas nos permite indicar que la aplicación de soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas de mesa no tiene un efecto fitotóxico sobre las plantas de tomates, independientemente de la variedad ensayada ('Optima' y 'Carmello'). Además, según todos los parámetros evaluados, asociados al vigor de la planta, la producción y la calidad de los frutos, la aplicación de estas soluciones, bien recién preparadas, o incluso almacenadas durante 6 meses, permite obtener un producto de calidad similar o superior al obtenido con un tratamiento de abonado tradicional. Si la aplicación de estas soluciones se realiza a dosis altas los efectos son más beneficiosos. En conclusión, estamos ante un nuevo tipo de fertilizante natural que puede ser de gran interés para la agricultura ecológica y, además, reduciría el volumen

de aguas de vertidos en el sector elaborador de aceitunas de mesa, conciliando este tipo de industria con un medioambiente más sostenible.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Innovación y Ciencia–Junta de Andalucía a través del Proyecto de Excelencia P12-AGR-1123 y por la Unión Europea, fondos FEDER.

Referencias

- Brenes, M., Montaña, A. y Garrido, A. 1990. Ultrafiltration of green table olive brines: influence of some parameters and effect on polyphenol composition. *J. Food Sci.* 55: 214-217.
- Brenes, M., Romero, C. y de Castro, A. 2004. Combined fermentation and evaporation processes for treatment of wash waters from Spanish green olives. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79: 253-259.
- De Castro, A. y Brenes, M. 2001. Fermentation of washing waters of Spanish-style green olive processing. *Process Biochem.* 36: 797-802.
- De los Santos, B., Chamorro, M., Romero, C., Expósito, A., Brenes, M. y Romero, F. 2015. Uso potencial de soluciones del aderezo de aceitunas de mesa en agricultura: aplicación como promotor del crecimiento en plantas de tomate. *Actas de Horticultura* 60: 867-871.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J. y Prithiviraj, B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28: 386-399.
- Rowe, R. N., Farr, D. J. y Richards, B. A. J. 1994. Effects of foliar and rood applications of methanol or ethanol on the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill). *New Zealand J. Crop Hort. Sci.* 22: 335-337.
- Russo, R. O. 2001. Organic foliar fertilizer prepared from fermented fruits on growth of *Vochysia guatemalensis* in the Costa Rican humid tropics. *J. Sustain. Agric.* 18: 161-166.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Identificación de los líquidos empleados en las diferentes experiencias.

Solución	Dosis (%)	Clave
<i>Experiencia 1: campaña 2015</i>		
Agua de lavado de 'Manzanilla'	20	MDB
Agua de lavado de 'Manzanilla'	50	MDA
Agua de lavado de 'Hojiblanca'	20	HDB
Agua de lavado de 'Hojiblanca'	50	HDA
Control Abono KNO ₃	20	CKNDB
Control Abono KNO ₃	50	CKNDA
Control Agua		CA
<i>Experiencia 2: campaña 2016</i>		
Agua de lavado de 'Hojiblanca', recién preparada	50	0HDA
Agua de lavado de 'Hojiblanca', conservada 6 meses	50	6HDA
Control Abono KNO ₃	50	CKNDA
Control Agua		CA

Tabla 2- Efecto de la aplicación mediante riego de soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas de mesa sobre diferentes parámetros implicados en el desarrollo vegetativo de la planta de tomate de la variedad 'Optima' (abril 2015) y en la calidad del fruto final. Aplicación a dos dosis (20% y 50%). Distintas letras en una fila indican diferencia significativa, test MDS $P < 0,05$. Ver Tabla 1 para identificación de las claves de los tratamientos aplicados.

	MDB	MDA	HDB	HDA	CKNDB	CKNDA	CA
<i>Parámetros asociados al vigor y a la producción</i>							
Δaltura (cm)	105bc	120a	114ab	115ab	97c	102c	98d
Fruto·planta ⁻¹ (n°)	9,7b	13,8a	11,2ab	11,5ab	9,7b	14,3a	5,5c
Peso·planta ⁻¹ (g)	519,7bc	704,6ab	643ab	693,4ab	668,5ab	827,8a	333,4c
<i>Parámetros asociados a la calidad del fruto final</i>							
Firmeza (shore)	50,51	55,82	54,55	57,43	52,93	58,70	54,71
pH	4,41	4,39	4,39	4,36	4,39	4,35	4,38
Acidez	0,24c	0,29b	0,24c	0,28b	0,26bc	0,34a	0,24c
°Brix	5,51d	5,74b	5,39cd	5,63bcd	5,39cd	6,27a	5,66bc
°Brix / Acidez	23,7ab	20,3cd	23,1ab	20cd	21,8bc	19,1d	23,9a

Tabla 3- Efecto de la aplicación mediante riego de soluciones procedentes de la elaboración de aceitunas de mesa sobre diferentes parámetros implicados en el desarrollo vegetativo de la planta de tomate de las variedades 'Optima' y 'Carmello' (abril 2016). Distintas letras en una fila indican diferencia significativa, test MDS $P < 0,05$. Ver Tabla 1 para identificación de las claves de los tratamientos aplicados.

	0HDA	6HDA	CKNDA	CA
<i>Variedad 'Optima'</i>				
Δaltura (cm)	60,92a	61,85a	54,81bc	51,58c
Fruto·planta ⁻¹ (n°)	2,33b	3,17a	2,70ab	1,33c
Peso·planta ⁻¹ (g)	224,50a	224,56a	155,28b	88,63c
<i>Variedad 'Carmello'</i>				
Δaltura (cm)	61,50b	64,90a	61,98b	59,95c
Fruto·planta ⁻¹ (n°)	3,71a	4,06a	2,73b	1,32c
Peso·planta ⁻¹ (g)	220,50a	198,24b	149,70c	98,93d

Utilização de compostados de acácia em substratos para crescimento de plantas

Luis Miguel Brito¹, Isabel Mourão¹, Luisa Moura¹, João Coutinho²

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima. E-mail: miguelbrito@esa.ipvc.pt

² C Química, DeBA, EC Vida e Ambiente, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, ap 1013, 5001-911 Vila Real. E-mail: j_coutin@utad.pt

Resumo

A turfa e a casca de pinheiro têm sido tradicionalmente utilizadas na formulação de substratos hortícolas. No entanto, existe uma procura crescente de materiais alternativos para este fim. Com o objetivo de determinar o potencial de compostados de acácia, produzidos com maior e menor número de revolvimentos durante o processo de compostagem, como alternativos ao compostado de casca de pinheiro na produção de substratos para o crescimento de plantas em vaso, com e sem adubação mineral suplementar, avaliou-se o efeito da aplicação de doses crescentes de compostados de acácia, em substituição do compostado de casca de pinheiro, na formulação de substratos comerciais, no crescimento de alface e de couve lombarda.

O crescimento da alface foi superior com a dose máxima dos compostados de acácia, o que poderá estar relacionado com a menor razão C/N, e a maior disponibilidade de N nos compostados de acácia, em comparação com o compostado de casca de pinheiro. O mesmo poderá explicar o maior crescimento da couve lombarda em vasos, que se verificou com o compostado de acácia nos substratos sem adubação mineral. O compostado de acácia que foi produzido com um maior número de revolvimentos durante a compostagem aumentou a produção de alface e da couve em comparação com o compostado produzido com menos revolvimentos.

Recomenda-se a utilização dos compostados de acácia em misturas para formulação de substratos, mas com turfa ou outros constituintes que contribuam para diminuir o pH e a condutividade elétrica do substrato final, em função das características dos recipientes de propagação e das culturas específicas a utilizar.

Palavras-chave: Compostagem; condutividade elétrica; espécies invasoras; pH; substratos hortícolas.

Abstract

Peat and pine bark have traditionally been used in the formulation of horticultural substrates. However, there is a growing demand for alternative materials for this purpose. In order to determine the potential of acacia composts produced with greater and lesser number of turns, and with and without additional mineral fertilization, in substitution of pine bark composts for the formulation of commercial substrates for potted plants, was investigated for the growth of lettuce and savoy cabbage.

Lettuce growth was higher with the maximum rate of acacia composts, which may be related to the lower C / N ratio, and the higher N availability in the acacia composts compared to the pine bark compost. The same could explain the increased growth of savoy cabbage in pots, which was verified with acacia composting on substrates without mineral fertilizer. The compost of acacia that was produced with a greater number of turns

during composting increased the production of lettuce and cabbage in comparison to the compost produced with less turning.

It is recommended to use acacia composts in mixtures for the formulation of substrates, but with peat or other constituents that contribute to lowering the pH and electrical conductivity of the final substrate, depending on the characteristics of the propagation containers and the specific crops to be used.

Keywords: Composting; electrical conductivity; horticultural substrates; invasive species; pH.

Introdução

A turfa e a casca de pinheiro têm sido tradicionalmente utilizadas nos substratos de germinação, propagação e crescimento de plantas em vaso. No entanto, o custo da turfa tende a aumentar porque é um recurso não renovável (Herrera et al., 2008), para além de existir uma crescente pressão ambiental contra a exploração da turfa para produção de substratos (Jayasinghe et al., 2010b). Apesar dos compostados de casca de pinheiro serem considerados uma boa alternativa à turfa, o seu custo também tem aumentado. Por estas razões, existe uma procura crescente de materiais alternativos para a produção de substratos hortícolas (Medina et al., 2009).

A utilização de compostados de resíduos orgânicos de diferentes origens tem sido referida na literatura, incluindo resíduos sólidos urbanos (Moldes et al., 2007; Herrera, et al., 2008), lamas de depuração (Perez-Murcia, et al., 2006; Ostos et al., 2008), estrume bovino (Jayasinghe et al., 2010a), resíduos verdes e de podas (Spiers et al., 2000; Benito et al., 2005), resíduos da indústria alimentar (Reis et al., 2001; Garcia-Gomez et al., 2002; Bustamante et al., 2008), resíduos da cultura de cogumelos (Medina et al., 2009), vermicompostado (Atiyeh et al., 2001; Zaller et al., 2007) e compostados de resíduos hortícolas (Mazueta et al., 2009). Estes compostados poderão ser utilizados na produção de substratos, com elevada qualidade e baixo custo, mas em proporções limitadas e dependentes das características dos compostados e das culturas a que se destinam.

Os compostados podem ter determinadas propriedades físicas e químicas similares à turfa que os torna adequados como substitutos da turfa (Jayasinghe et al., 2010b), ou até para melhorar a composição do substrato de forma sinérgica já que a turfa contribui para uma maior capacidade de arejamento e de retenção de água enquanto os compostados poderão contribuir para melhorar a fertilidade do substrato em nutrientes disponíveis para as plantas (Jayasinghe et al., 2010b). No entanto, a utilização de compostados tende a aumentar a condutividade elétrica e o valor de pH do substrato final (Garcia-Gomez et al., 2002; Bustamante et al., 2008; Ostos et al., 2008), e pode prejudicar a capacidade de retenção de água dos substratos, e estas características limitam o uso potencial dos compostados para a propagação e crescimento das plantas (Medina et al., 2009).

O efeito nefasto ou fitotóxico dos compostados pode dever-se à salinidade do compostado, mas também à presença de elevados teores de amónia, imobilização de azoto, ou presença de ácidos orgânicos incompletamente oxidados (Brito et al., 2001; Wong et al., 1999). Outras limitações ao uso de compostados como componente de substratos incluem a grande variação nas características físicas e químicas destes materiais e a possível presença de contaminantes, como metais pesados, particularmente quando se utilizam resíduos urbanos (Medina et al., 2009; Smith, 2009).

As espécies de acácia como *Acacia longifolia* (Andrews) Willd. e *Acacia melanoxylon* R. Br. pertencem à família das *Fabaceae*. São invasoras muito competitivas e uma séria ameaça para a biodiversidade local e para os habitats naturais em países como

Portugal e Espanha. Considerando a elevada disponibilidade de biomassa acácias, os compostados de resíduos da limpeza destas espécies não só poderiam ser considerados como componentes de substratos de baixo custo, mas também, uma forma adequada para conservar os recursos naturais, como a turfa, ou para substituir a casca de pinheiro na composição de substratos. Portanto, a compostagem pode ser uma alternativa para a valorização destas espécies invasoras, para produzir corretivos orgânicos do solo e substratos hortícolas. Este trabalho teve como objetivo avaliar as propriedades físicas e químicas dos compostados de acácia e os efeitos da substituição de casca de pinheiro, por compostados de acácia num substrato comercial, no crescimento de alface e da couve lombarda, utilizadas como plantas teste, e determinar o potencial de utilização destes compostados como uma alternativa ao compostado de casca de pinheiro em substratos para crescimento de plantas.

Materiais e Métodos

Para avaliar o efeito da substituição parcial e total do compostado de casca de pinheiro por compostado de acácia, com 420 dias de compostagem, na formulação do substrato Siro Plant, no crescimento de plantas de alface e couve em vasos, prepararam-se dezasseis novas misturas com base no substrato SiroPlant preparado com e sem adubo mineral. As misturas de Siro-Plant (sem adubo (S) ou com adubo (C)) com compostados de acácia produzidos com maior (A) e menor número de revolvimentos durante o processo de compostagem (B), em substituição do compostado de casca de pinheiro (v/v) incluíram doses crescentes do compostado de acácia, que substituíram o compostado de casca de pinheiro em 30%, 60% e 100% (v/v). Resultando os seguintes doze tratamentos: A30S, A60S, A100S, A30C, A60C, A100C, B30S, B60S, B100S, B30C, B60C, B100C. O total de tratamentos (17) inclui ainda SiroPlant com adubo e sem adubo, substratos apenas com o compostado de acácia A ou B, e solo sem substrato ou compostado. Os valores referentes à percentagem de substituição de compostado de casca de pinheiro por compostado de acácia de 30%, 60% e 100% em volume, corresponderam a valores de 21, 42 e 70% de compostado no substrato, considerando que todos os substratos possuíam 30% de turfa. O processo de compostagem destas pilhas foi anteriormente descrito (Brito et al., 2013).

Realizou-se uma experiência de blocos casualizados (4 blocos) com alface (*Lactuca sativa* var. *crispa*) cv. Amboise frisada, em vasos com um diâmetro de 30 cm e uma capacidade de 7,75 L, utilizando os 17 tratamentos referidos no parágrafo anterior. Os vasos foram colocados numa bancada de uma estufa sem climatização e regados por nebulização durante toda a experiência de forma a manter os substratos próximos da capacidade de campo. A plantação ocorreu no dia 2 de outubro de 2012 e a colheita no dia 8 novembro 2012. As plantas foram colhidas separando a parte aérea das raízes, e procedendo imediatamente à análise do peso fresco. O peso seco das plantas foi determinado após secagem (65 °C) até as plantas atingirem um peso constante. Para avaliar o efeito da substituição do compostado de casca de pinheiro por compostado de acácia no crescimento da couve, realizou-se uma experiência semelhante, com os 17 tratamentos mencionados e 4 repetições. Neste caso utilizando couve lombarda (*Brassica oleracea sabauda* L.), cv. Melissa 216. A couve foi plantada no dia 10 de dezembro de 2012 e a colheita realizou-se no dia 30 de janeiro de 2013.

Os substratos foram analisados nos termos descritos anteriormente para os compostados (Brito et al, 2013; Brito et al., 2014). A MO do solo foi determinada com base na quantidade de dicromato de sódio gasto na oxidação do C orgânico. O N mineral, dos solos e dos substratos foi determinado após extração com KCl 2 M (1:5), por espectrofotometria de absorção molecular. A concentração de N nos solos, nos

compostados e nas folhas da alface foi determinada pelo método de Kjeldahl modificado (EN 13654). As concentrações de P nos solos, nos substratos e nas folhas da alface foram determinadas por espectrofotometria de absorção molecular após digestão das amostras em ácido sulfúrico enquanto o K foi determinado por fotometria de emissão de chama, e o Ca, Mg e Fe por espectrofotometria de absorção atômica, em ambos os casos, após digestão nitroperclórica. A comparação entre os tratamentos realizou-se através da análise de variância e do cálculo da menor diferença significativa ($P < 0,05$) entre médias de resultados, recorrendo-se ao programa SPSS v. 23.0.

Resultados e discussão

As principais características do solo e dos substratos utilizados nesta experiência com alface encontram-se no Quadro 1. Verifica-se que o substrato SiroPlant possuía um teor mais elevado de MO e uma razão C/N superior em comparação com os compostados de acácia. Os compostados de acácia possuíam valores de pH e CE superiores e teores de N e Ca também mais elevados em comparação com o substrato SiroPlant. Consequentemente estas diferenças de características refletiram-se nas misturas com o aumento da substituição do compostado de casca de pinheiro por compostado de acácia. Os teores de N-NH_4^+ eram muito inferiores aos de N-NO_3^- revelando que os compostados e os substratos estavam bem maturados. A adição do adubo diminuiu o valor de pH, aumentou a salinidade, e aumentou o teor de N nas respetivas misturas dos substratos. O teor de N nítrico foi muito superior nos compostados de acácia em comparação com o substrato SiroPlant não adubado.

A fertilidade de um substrato depende da quantidade e da disponibilidade de nutrientes e de outras características químicas, tais como o pH e a capacidade de troca catiónica (CTC). O valor de pH, por exemplo, é crucial uma vez que afeta a biodisponibilidade de micronutrientes (Bailey et al., 2000). Isto, apesar das propriedades físicas, como a capacidade de arejamento e de retenção de água serem ainda mais importantes, uma vez que os nutrientes podem ser adicionados por fertilização (Verdonck, 1983). O pH dos compostados de acácia era pouco ácido e ligeiramente superior aos valores recomendados por Abad et al. (2001) para os substratos (5,3 – 6,5). No entanto, o valor de pH dos compostados de acácia foi inferior ao de outros compostados recomendados para misturar com turfa na produção de substratos, como os compostados de estrume bovino (Jayasinghe et al., 2010a) ou de resíduos municipais (Herrera et al., 2008).

Os valores da CE dos tratamentos foram superiores aos valores recomendados por Abad et al. (2001) para os substratos ($0,5 \text{ dS m}^{-1}$), exceto no substrato Siro Plant sem adubo. No entanto, os compostados de acácia revelaram uma CE ($1,5 - 1,6 \text{ dS m}^{-1}$) muito inferior a outros compostados também recomendados para misturas com turfa, como os de estrumes de bovinos (Jayasinghe et al., 2010a) ou de resíduos de agroindústrias (Garcia-Gomez et al., 2002) com valores de $2,3 \text{ dS m}^{-1}$ e $3,7 - 4,3 \text{ dS m}^{-1}$, respetivamente. Por isso, é possível que os compostados de acácia possam não prejudicar significativamente o crescimento das raízes das plantas em misturas com turfa e/ou casca de pinheiro já que a CE destes últimos é muito baixa.

O solo, o Siro Plant sem adubo, e o compostado B, quando utilizados como componentes únicos nos substratos, prejudicaram fortemente o crescimento da alface (Quadro 2) em comparação com os restantes tratamentos. A produtividade da alface com o compostado de acácia com maior revolvimento foi muito superior à verificada com o substrato Siro Plant quando este foi formulado sem adubo e semelhante à registada para o substrato Siro Plant com adubo. A produtividade também aumentou em misturas com o compostado B em comparação com o substrato sem compostado. O facto do

compostado A ser tão eficaz como o Siro Plant com adubo poderá ser explicado porque os compostados de acácia forneceram N mineral em quantidade semelhante à fornecida pelo adubo. O crescimento da alface com 60% de substituição do compostado de casca de pinheiro pelo compostado de acácia no substrato (42% de compostado de acácia no substrato) foi superior ao crescimento com qualquer outro tratamento. A acumulação de nutrientes pela alface refletiu o aumento de peso seco, porque as diferenças nos teores de nutrientes, com exceção para o P, não foram geralmente significativas ou consistentes. Concluiu-se que o compostado de acácia poderá substituir total ou parcialmente a necessidade de adubo nos substratos SiroPlant e que pode substituir totalmente o compostado de casca de pinheiro em misturas com turfa.

O compostado A apresentou melhores características que o compostado B (quando utilizados sem adição de substrato Siro), para efeito do crescimento da couve (Quadro 3) e da alface (Quadro 2), possivelmente porque a pilha A foi mais revolvida do que a B. Quer o compostado A quer o B comportaram-se melhor que o substrato SiroPlant sem adubo, provavelmente por estes compostados possuírem um teor mais elevado de N que o substrato SiroPlant quando não adubado. O compostado A comportou-se melhor que o B quando utilizado para substituir completamente a casca de pinheiro no substrato com adubo.

A menor acumulação de nutrientes nas couves produzidas no solo ou com o substrato SiroPlant sem adubo justifica-se pela baixa disponibilidade de N e outros nutrientes nestes tratamentos. Este ensaio, tal como o anterior, demonstrou que a substituição do compostado de casca de pinheiro por compostado de acácia na formulação de substratos de plantas para vasos não tem qualquer inconveniente podendo, pelo contrário, ser vantajoso para a composição de substratos que não tenham sido fertilizados com adubos minerais.

Conclusões

Concluiu-se que o compostado de acácia em substituição do compostado de casca de pinheiro nos substratos foi benéfico para o crescimento das plantas, o que poderá estar relacionado com a menor razão C/N, e a maior disponibilidade de N nos compostados de acácia em comparação com o compostado de casca de pinheiro. O mesmo poderá explicar o maior crescimento da couve que se verificou com o tratamento que incorporou a maior dose do compostado de acácia produzido com o maior número de revolvimentos durante a compostagem. Recomenda-se a utilização de compostados de acácia quer como corretivos orgânicos do solo, quer como substituto parcial da casca de pinheiro na formulação de substratos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) e ao FEDER no âmbito do programa PT2020 pelo apoio financeiro ao CIMO (UID/AGR/00690/2013)

Referências

- Abad, M., Noguera, P. & Bures, S. 2001. National inventory of organic wastes for use as Growing media for ornamental potted plant production: case study in Spain. *Bioresource Technology* 77: 197-200.
- Atiyeh, R.M., Edwards, C.A., Subler, S. & Metzger, J.D. 2001. Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: Effects on physiochemical properties and plant growth. *Bioresource Technology* 78: 11-20.

- Bailey, D.A., Nelson, P.V. & Fonteno, W.C. 2000. Substrates pH and water quality. USA: North Carolina State University, Raleigh.
- Benito, M., Masaguer, A., De Antonio, R. & Moliner, A. 2005. Use of pruning waste compost as a component in soil-less growing media. *Bioresource Technology* 96: 597-603.
- Brito, L. M. 2001. Lettuce (*Lactuca sativa* L) and cabbage (*Brassica oleracea* var *Capitata*) growth in soil mixed with municipal solid waste compost and paper mill sludge composted with bark. *Acta Horticulturae* 563: 131-137
- Brito, L.M., Mourão, I., Coutinho, J. 2014. Compostagem de biomassa de acácia com casca de pinheiro. *Revista de Ciências Agrárias*, 37: 59-68.
- Brito, L.M., Mourão, I., Coutinho, J., Smith, S.R. 2013. Composting for management and resource recovery of invasive Acacia species. *Waste Management and Research*, 31: 1125-1132.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Agulló, E.M, Pérez-Murcia, D & Abad, M. 2008. Composts from distillery wastes as peat substitutes for transplant production. *Resource Conservation and Recycling* 52: 792-799.
- Garcia-Gomez, A., Bernal, M.P. & Roig A. 2002. Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes. *Bioresource Technology* 83: 81-87.
- Herrera, F., Castillo, J.E., Chica, AF & Bellido, L.L. 2008. Use of municipal solid waste compost (MSWC) as a growing medium in the nursery production of tomato plants. *Bioresource Technology* 99: 287-296.
- Jayasinghe, G.Y., Liyanarachchi, I.D. & Tokashiki, Y. 2010a. Evaluation of containerized substrates developed from cattle manure compost and synthetic aggregates for ornamental plant production as a peat alternative. *Resources Conservation and Recycling* 54: 1412-1418.
- Jayasinghe, G. Y., Tokashiki, Y., Arachchi, I. D. & Arakaki, M. 2010b. Sewage sludge sugarcane trash based compost and synthetic aggregates as peat substitutes in containerized media for crop production. *Journal of Hazardous Materials* 174: 700-706
- Mazuela, P., Urrestarazu, P. 2009. The effect of amendment of vegetable waste compost used as substrate in soilless culture on yield and quality of melon crops. *Compost Science & Utilization* 17:103-107.
- Medina, E., Paredes, C., Pérez-Murcia, M.D., Bustamante, M.A. & Moral, R. 2009. Spent mushroom substrates as component of growing media for germination and growth of horticultural plants. *Bioresource Technology* 100: 4227-4232
- Moldes A., Cendon, Y. & Barral, M.T. 2007. Evaluation of municipal solid waste compost as a plant growing media component, by applying mixture design, *Bioresource Technology* 98: 3069-3075.
- Ostos, J.C., López-Garrido, R., Murillo, J.M. & López, R. 2008. Substitution of peat for municipal solid waste-and sewage sludge-based composts in nursery growing media: Effects on growth and nutrition of the native shrub *Pistacia lentiscus* L. *Bioresource Technology* 99: 1793-1800
- Perez-Murcia, M.D., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Espinosa, A. & Paredes, C. 2006. Use of composted sewage sludge in growth media for broccoli. *Bioresource Technology* 97: 123-130
- Reis, M., Inácio, H., Rosa, A., Caço, J. & Monteiro, A. 2001. Grape marc compost as an alternative growing media for greenhouse tomato. *Acta Horticulturae* 554: 75-82.
- Smith, S.R. 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared with sewage sludge. *Environment International* 35: 142-156.

- Spiers T.M. & Fietje, G. 2000. Green waste compost as a component in soil less growing media. *Compost Science & Utilization* 8: 19-23.
- Verdonck, O. 1983. Reviewing and evaluation of new materials used as substrates. *Acta Horticulturae* 150, 467-473.
- Wong, J.W.C., Ma, K.K., Fang, K.M. & Cheung, C. 1999. Utilization of a manure compost for organic farming in Hong Kong. *Bioresource Technology* 67:43-46
- Zaller, J.G. 2007. Vermicompost as a substitute for peat in potting media: effects on germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. *Scientia Horticulturae* 112:191-199.

Quadros e Figuras

Quadro 1. Características do solo, dos compostados de acácia com maior (A) e menor (B) revolvimento durante a compostagem, dos substratos sem (Siro-S) e com (Siro-C) adição de adubo, e nestes substratos com substituição do compostado de casca de pinheiro (30%, 60% e 100% v/v) por compostado de acácia.

	MS %	pH	CE dS m ⁻¹	MO g kg ⁻¹	C/N	N-NH ₄ ⁺ --- mg kg ⁻¹ ---	N-NO ₃ ⁻ ----- g kg ⁻¹ -----	N	P	K	Ca	Mg	Fe
Solo	94,9	6,0	0,2	44	12	5	18	2,0	1,7	8,3	3,8	6,8	14,3
A100	48,2	6,5	1,6	431	20	12	1236	12,0	0,8	5,1	24,6	1,8	3,6
B100	52,4	6,9	1,5	420	17	11	936	13,8	0,7	5,4	28,9	2,2	3,8
SIRO-S	41,8	6,1	0,3	842	64	12	150	7,4	0,8	4,2	11,8	1,0	2,6
A30-S	45,3	5,1	1,1	723	42	15	891	9,5	0,9	4,3	17,7	1,4	2,8
A60-S	46,2	5,6	1,2	652	33	11	810	11,0	0,9	4,3	17,6	1,4	2,9
A100-S	48,5	6,2	1,0	519	23	31	323	12,4	0,8	4,1	23,4	2,1	3,4
B30-S	47,4	5,6	0,8	711	41	10	400	9,6	0,7	4,1	14,8	1,7	2,7
B60-S	48,8	5,7	1,1	616	32	10	705	10,7	0,7	3,9	19,6	1,9	2,7
B100-S	49,0	6,3	1,1	530	24	12	597	12,4	0,7	4,0	22,7	2,0	3,2
SIRO-C	41,9	5,0	1,1	850	48	27	1130	9,8	1,2	4,6	11,7	1,0	2,2
A30-C	43,0	4,8	1,5	708	34	29	1418	11,7	1,3	4,9	12,9	1,2	2,6
A60-C	47,5	5,3	1,7	643	29	29	1472	12,4	1,3	4,2	18,4	1,8	2,9
A100-C	44,6	5,7	1,3	538	24	48	871	12,5	1,1	5,2	21,5	2,3	3,1
B30-C	47,8	4,8	1,5	731	32	23	1267	12,6	1,1	4,7	13,9	1,4	2,3
B60-C	56,9	5,1	2,0	596	21	47	1399	16,1	1,1	4,4	20,0	1,8	3,0
B100-C	50,4	5,5	1,9	506	17	16	1567	17,0	1,1	5,0	23,1	2,0	3,7
MDS	5,1	0,3	0,2	37	6,5	21	361	1,7	0,2	1,7	2,8	0,4	0,8

MDS = Menor diferença significativa (p <0,05)

A matéria orgânica (MO) e os teores dos nutrientes encontram-se expressos em relação à matéria seca.

Quadro 2. Peso fresco (PF), peso seco (PS), teor de matéria seca (MS) e teor de nutrientes na MS da alface produzida no solo, nos compostados de acácia com maior (A) e menor (B) revolvimento durante a compostagem, nos substratos sem (SIROS-S) e com (SIRO-C) adição de adubo, e nos substratos com substituição do compostado de casca de pinheiro (30%, 60% e 100% v/v) por compostado de acácia.

Tratamento	PF (g)	PS (g)	MS (%)	N (g kg ⁻¹)	P (g kg ⁻¹)	K (g kg ⁻¹)	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	Fe (g kg ⁻¹)
Solo	9	2	21	37	3,4	37	9,5	3,9	0,54
A100	128	15	12	36	4,6	26	7,5	3,3	0,43
B100	23	2	9	47	8,3	36	9,9	4,2	0,45
SIRO-S	14	3	20	33	8,5	32	8,4	3,4	0,37
A30-S	142	13	10	39	8,4	33	7,8	3,7	0,47
A60-S	204	17	8	39	7,3	27	6,1	3,0	0,45
A100-S	100	9	10	28	5,3	30	6,5	2,9	0,33
B30-S	138	13	10	28	7,4	25	6,0	2,6	0,33
B60-S	220	21	10	34	6,7	28	6,4	3,0	0,44
B100-S	113	14	14	37	5,9	25	7,4	3,1	0,44
SIRO-C	141	13	9	39	7,7	30	7,5	3,6	0,46
A30-C	132	14	12	42	8,4	30	8,3	4,2	0,40
A60-C	137	15	11	41	8,3	29	7,3	3,8	0,41
A100-C	143	16	12	40	7,8	28	7,5	3,6	0,42
B30-C	179	17	9	40	8,0	29	7,9	4,0	0,42
B60-C	88	10	11	40	8,1	35	7,4	4,0	0,43
B100-C	114	12	11	37	7,5	29	7,7	3,7	0,48
MDS	59	5,7	7,2	6,4	2,0	7,5	2,0	0,9	0,09

MDS = Menor diferença significativa (p <0,05)

Quadro 3. Peso fresco (PF), peso seco (PS), teor de matéria seca (MS) e teor de nutrientes na MS da couve produzida no solo, nos compostados de acácia com maior (A) e menor (B) revolvimento durante a compostagem, nos substratos sem (SIROS-S) e com (SIRO-C) adição de adubo, e nos substratos com substituição do compostado de casca de pinheiro (30%, 60% e 100% v/v) por compostado de acácia.

Tratamento	PF (g)	PS (g)	MS (%)	N (g kg ⁻¹)	P (g kg ⁻¹)	K (g kg ⁻¹)	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	Fe (g kg ⁻¹)
Solo	39	4	10,8	30	4,8	24	27	4,3	0,19
A100	102	9	9,1	44	5,2	28	28	5,0	0,15
B100	66	6	9,5	40	5,8	28	26	4,7	0,16
SIRO-S	30	3	10,6	33	7,8	30	22	4,3	0,15
A30-S	110	10	9,4	37	5,9	23	25	4,8	0,16
A60-S	137	11	8,1	47	6,3	26	30	5,4	0,16
A100-S	117	11	9,1	39	4,8	34	27	5,1	0,17
B30-S	60	5	8,9	42	7,6	23	27	5,4	0,26
B60-S	118	11	9,4	43	6,2	32	28	5,5	0,18
B100-S	126	11	8,4	44	5,5	30	30	5,5	0,15
SIRO-C	132	11	8,0	43	6,0	30	30	5,0	0,18
A30-C	135	11	8,2	42	6,0	26	30	5,4	0,17
A60-C	128	10	8,1	39	7,0	40	28	4,9	0,15
A100-C	145	12	8,3	34	7,1	33	27	4,6	0,19
B30-C	100	8	8,0	45	6,0	29	30	5,4	0,13
B60-C	120	10	8,6	36	6,7	24	28	5,0	0,15
B100-C	66	6	8,3	45	5,3	25	31	5,4	0,14
MDS	33	2,9	0,7	7,1	2,3	12	5,7	0,8	0,08

MDS = Menor diferença significativa (p <0,05)

Sessão Temática VII: Pós-colheita e Segurança
Alimentar

Blueberry fruit composition during development: characterization of a genotype with enhanced functional properties

Alfredo Aires¹, Rosa Carvalho², Ana Paula Silva^{1,2}, Manuela Matos^{1,3}, Valdemar Carnide^{1,3} & Berta Gonçalves^{1,4}

¹Centre for the Research and Technology for Agro-Environment and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal, alfredo@utad.pt

²Agronomy Department, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal.

³Department of Genetic and Biotechnology, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal.

⁴Department of Biology and Environment, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

Resumo

Foram avaliadas as variações na composição nutricional de quatro cultivares de mirtilos (*Vaccinium corymbosum* L.), nomeadamente "Bluecrop", "Duke", "Goldtraube" e "Ozarkblue", produzidas na região Centro de Portugal, colhidas em três estádios de maturação distintos (verde, rosa e violeta escuro=frutos completamente maduros). Foram analisadas as variações nos teores em açúcares, ácidos orgânicos, polifenóis totais e antocianinas. Métodos espectrofotométricos e cromatográficos foram utilizados na quantificação desses atributos. De acordo com nossos resultados, os principais açúcares foram glucose (51,2% em média de açúcares totais identificados) seguida da frutose (40,5%), aumentando ambos com a maturação do fruto. O ácido cítrico, em todas as cultivares estudadas, foi o ácido orgânico identificado em maior quantidade, representando 71% da média do total dos ácidos orgânicos em Bluecrop, 70% em Goldtraube, 60% em Duke e 63% em Ozarkblue. Os ácidos orgânicos totais, bem como o teor de polifenóis totais, diminuem durante a maturação do fruto, enquanto as antocianinas surgiram em maior quantidade no estádio de maturação violeta escuro, isto é, frutos totalmente maduros. As principais antocianinas presentes nas quatro cultivares foram delfinidina-3-*O*-galactósido (36% em média de antocianinas totais identificadas), malvidin-3-*O*-rutinoside (15%), delfinidina-3-*O*-glucósido (14%), delfinidina-3-*O*-arabinósido (10%), malvidina-3-*O*-arabinósido (9%) e malvidina-3-*O*-galactósido (5%). A análise Two-way ANOVA revelou que ambos os fatores, cultivar e estádio de maturação, influenciaram significativamente ($P < 0,001$) os teores médios de cada um dos parâmetros estudados, influenciando assim significativamente as mudanças nos estádios de amadurecimento. De acordo com nossos resultados, durante a maturação ocorre assim uma mudança nos mecanismos bioquímicos e com isto a qualidade composicional dos mirtilos. Vários fatores são determinantes para a variação dos compostos bioquímicos dos mirtilos e o conhecimento sobre o impacto destes na evolução da sua maturação, fornece pistas para uma gestão adequada da produção com vista para uma melhor qualidade composicional. Estes resultados podem também fornecer informações adicionais sobre a composição fitoquímica dos mirtilos aos produtores e consumidores de mirtilos frescos colhidos em estádios verdes, rosa e totalmente maduros.

Palavras-chave: maturação, nutrientes, fitoquímicos, cadeias de produção, optimização.

Abstract

Compositional changes in four blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars Bluecrop”, “Duke”, “Goldtraube” and “Ozarkblue” produced in Centre of Portugal, were determined at 3 different maturation stages (green, pink, fully dark blue colored=fully ripe) by analyzing sugars, organic acids, total polyphenols and anthocyanins. Spectrophotometric and chromatographic conditions were used to access and quantify those attributes. According to our results the primary sugars were glucose (51.2% in average of total sugars identified) followed by fructose (40.5%), which increased with fruit ripening. Citric acid was the major organic present in all cultivars studied, representing 71% in average of total in Bluecrop, 70% in Goldtraube, 60% in Duke, and 63% in Ozarkblue. Total organic acids as well as the content of total polyphenols decrease during fruit ripening, whilst anthocyanins were greatest in fully blue fruits stage. The major anthocyanins present in the four cultivars were delphinidin-3-O-galactoside (36% in average of total anthocyanins identified), malvidin-3-O-rutinoside (15%), delphinidin-3-O-glucoside (14%), delphinidin-3-O-arabinoside (10%), malvidin-3-O-arabinoside (9%) and malvidin-3-O-galactoside (5%). The two-way ANOVA analysis showed that both factors cultivar and ripening stage have influenced significantly ($P < 0.001$) the content of each parameter studied, and thus influencing significantly the changes among ripening stages. According to our results, during the maturation a shift in biochemical mechanisms occurs affecting the compositional quality of blueberry fruits. Various factors are determinant for the variation of biochemical compounds of blueberries, and the knowledge on the impact of fruit maturity provides a useful guide for adequate fruit development towards a better fruit quality. These findings may provide additional phytochemical-related information to blueberries growers and consumers as fresh fruits harvested at green, pink and fully ripe stages.

Keywords: Ripeness, nutrients, phytochemicals, agro-chain optimization.

Introduction

Different studies have reported that highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) are an excellent source of bioactive health-related compounds (Sun et al., 2012; Zoratti et al., 2015) due to their anti-inflammatory, anti-carcinogenic and neuroprotective effects (Flores et al., 2014; Subash et al., 2014). The majority of the studies conducted until with blueberries focused mainly in their phytochemical characterization or on their protective health effects, but only few have been dedicated to the study of ripening factors in the variation of their chemical attributes (Cardeñosa et al., 2016). Recently, Yang and Hinner (2015), found that maturation conditions are critical for phytochemicals variations, and others (Zoratti et al., 2015; Correia et al., 2016), shown that geographical locations, altitude and climatic conditions may be critical in the maturation of fruits and thus can affect significantly the nutritional quality and phytochemical composition of highbush blueberry fruits. Still, little information is available about the genotype and maturity effects on chemical composition of highbush blueberry grown in Portugal. Therefore, the aim of the current research is to study the changes in the content of free-sugars, organic acids, total polyphenols and anthocyanins of blueberries with genotype and maturity stages. With this information, we aim to understand and clarify the biochemical and antioxidants composition changes that take place over fruit maturity and also testing if those compounds can be used as ripening markers of blueberries.

Material and methods

In order to perform the study fresh fruits from four different highbush blueberry cultivars, namely “Bluecrop”, “Duke”, “Goldtraube” and “Ozarkblue”, were collected open field plantations in Sever do Vouga region, Centre of Portugal (40° 44′ 0″ N, 8° 22′ 9″ W), during the year 2016 at 3 different ripening stages: green, pink and fully ripe. Then, 100 g fresh fruits of each cultivar were freeze-dried and reduced to a fine powder using a commercial blender. The samples were then stored at 4° C until analytical procedures. Data on weather conditions were recorded and provided by the National Information System for Hydric Resources (SNIRH) and Portuguese Institute of the Sea and the Atmosphere (IPMA). Briefly, the climate is characterized as a transition from Csb to Csa (mesothermic climate with a partially dry summer) of Köpen (Correia et al., 2016).

The content of organic acids and free-soluble sugars were determined by HPLC-DAD-UV/VIS system, according the procedure adopted by Correia et al. (2016) and Daniel et al. (1981), respectively. The organic acids were separated using a HPLC system equipped with a reverse phase of column (C18 Spherisorb ODS2, 250mm × 4.6 mm) and a mobile composed by potassium dihydrogen phosphate (6.8 g L⁻¹) with 85% orthophosphoric acid (pH 2.1), isocratic conditions, flow rate of 0.8 mL min⁻¹ and injection volume of 20 µL. The chromatograms were recorded at 210 nm. For the free-soluble sugars a derivatization with benzoyl prior to injection was firstly prepared and then the samples were injected in a HPLC system equipped with a reverse phase of column (C18 Spherisorb ODS2, 250mm × 4.6 mm), a mobile phase composed by water with 1% of trifluoroacetic acid (TFA) (solvent A) and acetonitrile with 1% TFA (solvent B) and elution performed at a flow rate of solvent of 1 mL min⁻¹, with a gradient starting with 0% B, and an injection volume of 20 µL. The chromatograms were recorded at 270 nm. For both type of compounds the identification was made comparing with commercial pure external standards (Sigma-Aldrich, Tauferkichen, Germany) and based on their retention time and UV spectra. The results were expressed as mg. g⁻¹ dry weight (dw). The sum of individual sugars was considered total sugars and the sum of individual organic acids was considered total organic acids.

The analysis of total polyphenols were performed using the classical colorimetric method (Singleton & Rossi, 1965) with small modifications and conducted in a 96-microplate wells, and the results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) g⁻¹ dw.

The identification and quantification of anthocyanins in all samples were based in the method of Chen et al. (2014) with small modifications, in a HPLC-DAD-UV/VIS equipped with a C18 column (250 x 46 mm, 5 µm), an eluent composed by water with 1% of trifluoroacetic acid (TFA) (solvent A) and acetonitrile with 1% TFA (solvent B), a flow rate of solvent of 1 mL min⁻¹, a gradient starting with 100% of water, and an injection volume of 10 µL. Chromatograms were recorded at 520 nm and the identification of anthocyanins, were made using peak retention time, UV spectra and UV max absorbance bands and trough comparison with external commercial standards (Extrasynthese, Cedex, France). The external standards were freshly prepared in 70% methanol (methanol:water) at concentration of 1.0 mg mL⁻¹ and running in HPLC-DAD-UV/VIS before the samples. The results were expressed as mg.100g⁻¹ dw. The sum of individual anthocyanins was considered total anthocyanin content.

All determinations were made in triplicate and the results expressed as mean ± standard deviation (SD) of three replicates. The Two-Way ANOVA analytical test followed by Duncan multiple range test, based on confidence level equal or higher than

95% ($P < 0.05$) were applied. Software SPSS V.17 (SPSS-IBM, Orchard Road-Armonk, New York, NY, USA) was used to carry out these analyses.

Results and discussion

The changes in each analytical parameter are illustrated in Tables 1 and Figure 1. The four genotypes assayed showed a similar profile of compounds. The main free-sugar was the glucose followed by fructose and the citric acid was the main organic acid identified in all four type of genotypes. The main anthocyanins found were delphinidin-3-*O*-galactoside, delphinidin-3-*O*-glucoside, delphinidin-3-*O*-arabinoside, malvidin-3-*O*-galactoside, malvidin-3-*O*-rutinoside and malvidin-3-*O*-arabinoside. These results seems to confirm the previous results of Česonienė et al. (2015) who found similar profile in sugars, organic acids and anthocyanins in blueberries and other small red and black fruits.

The ANOVA analysis showed that genotype and ripening stage have influenced significantly ($0.001 < P < 0.05$) the content of each parameter studied (Table 1 and Table 2). It was possible to observe that each cultivar presented different average content of each compound determined, but similar variation trend in their content. The content of total polyphenols, organic acids decreased during the maturation period, whilst the content of sugars, organic acids and anthocyanins increased across the same period, as presented in Table 1. Based in our results, during maturation several physiological and biochemical transformation seems to occur, affecting the accumulation of nutrients and secondary metabolites and thus affecting influencing their compositional quality. The concentration of glucose and fructose in the berries growing higher as they matured, which is in agreement with the literature. During maturation a translocation of sugars via photosynthesis occurs from leaves towards berries, which results in sucrose production (Davies and Robinson, 1996), then sucrose is transported via phloem to the stem-berry interface and hydrolyzed into glucose and fructose by the soluble and insoluble acid invertase in the berries cell structures. As consequence, the content of these two sugars increased strongly (5 folds in Bluecrop, 4 folds in Duke and Goldtraube and only 2 folds in Ozarkblue). Simultaneously, the content of organic acids, and in particular the content of citric acid (Table 1) decreased within the same period (2 folds in Bluecrop and Goldtraube, 3 folds in Ozarkblue and 4 folds in Duke), suggesting an opposite trend between sugars and organic acids. The reducing levels of organic acids during berry maturation is generally attributed to an increment of cells membrane permeability (Yang & Hinner (2015), allowing more translocation of small molecules like acids towards cell vacuoles, resulting in the increment of cells respiration rate which increases the transformation of acids into sugars (Ruan et al., 2010). At same time, the increment of seasonal temperatures during maturation and their use as energy source in the berry maturation may induces the oxidation of non-used organic acids; therefore, their levels decrease even faster as we observed in the current study.

Different trend was observed for total polyphenols (Table 1) and anthocyanins (Figure 1). During maturation the total content of polyphenols decreased while the content of anthocyanins increased. This variation, seems to be in agreement with previous findings of Gibson et al. (2013) who observed shift in the high content of phenolic acids (hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids) and flavonoids and low content of anthocyanins in the initial stages of maturation to high content of anthocyanins in final stages of maturation. The high temperatures combined with water deficit, and high UV radiation, and high enzymes metabolism induces and proteins and gene expression (Castellarin et al., 2007) and thus incrementing the levels of anthocyanins. Recently,

Zoratti et al. (2014), showed that anthocyanin starts to accumulate on the berry skin at early stages of maturation in a going rate until it maximizes at physiological maturity, which is consistent with our findings, where the green-purple skin color differences were observed progressively in different stages of berry development.

Conclusions

Our results suggest that various factors are critical for the variation of biochemical compounds of blueberries. Optimization of harvesting time is then possible with methods that combine measurements of free-sugars, organic acids, vitamin C and anthocyanins. These findings may provide additional phytochemical-related information to blueberries growers and consumers as fresh fruits harvested at green, pink and fully stages.

Acknowledgments

This research was funded by the INTERACT project-“Integrative Research in Environment, Agro-Chains and Technology”, no. NORTE-01-0145-FEDER-000017, in its line of research entitled ISAC, co-financed by the European Regional Development Fund (ERDF) through NORTE 2020 (North Regional Operational Program 2014/2020). The author Alfredo Aires also acknowledge the financial support of BPD/UTAD/INTERACT/ISAC/189/2016 scholarship, under the same project.

References

- Cardeñosa, V., Girones-Vilaplana, A., Muriel, J. L., Moreno, D. A. & Moreno-Rojas, J. M. 2016. Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry* 202:276-283.
- Castellarin, S. D., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Petelunger, E., & Di Gaspero, G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment* 30: 1381-1399.
- Česonienė, L., Daubaras, R., Jasutienė, I., Miliauskienė, I., & Zych, M. 2015. Investigations of anthocyanins, organic acids, and sugars show great variability in nutritional and medicinal value of European cranberry (*Vaccinium oxycoccos*) fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 88:295–299.
- Chen, X., Parker, J., Krueger, C.G., Shanmuganayagam, D. & Reed, J.D. 2014. Validation of HPLC assay for the identification and quantification of anthocyanins in black currants. *Analytical Methods* 6:8141-8147.
- Correia, S., Gonçalves, B., Aires, A., Silva, A., Ferreira, L., Carvalho, R., Fernandes, H., Freitas, C., Carnide, V. & Silva, A. P. 2016. Effect of harvest, year and altitude on nutritional and biometric characteristics of blueberry cultivars. *Journal of Chemistry*, 2016, Article ID 8648609, 12 pages.
- Daniel, P.F., De Feudis, D.F, Lott, I.T. & McCluer, R.H. 1981. Quantitative microanalysis of oligosaccharides by high performance liquid chromatography. *Carbohydrate Research* 97:161-180.
- Davies, C. & Robinson, S.P. 1996. Sugar accumulation in grape berries. *Plant Physiology* 111:275-283.
- Dere, S., Gü, T. & Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of Chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany* 22:13-17.

- Gibson, L., Rupasinghe, H.P.V., Forney, C.F. & Eaton, L. 2013. Characterization of changes in polyphenols, antioxidant capacity and physico-chemical parameters during lowbush blueberry fruit ripening. *Antioxidants* 2:216–229.
- Li, D., Meng, X. & Li, B. 2016. Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 47:1-7.
- Ruan, Y.-L., Jin Y., Yang, Y.-J., Li G.-J. & Boyer, J.S. 2010. Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: roles in development, yield potential, and response to drought and heat. *Molecular Plant* 3:942-955.
- Subash, S., Essa, M.M., Al-Adawi, S., Memon, M.A., Manivasagam, T. & Akbar, M. 2014. Neuroprotective effects of berry fruits on neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research* 9:1557-1566.
- Sun, L., Ding, X., Qi, J., Yu, H., He, S., Zhang, J., Ge, H., & Yu, B. 2012. Antioxidant anthocyanins screening through high-performance spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC-DAD analysis on nine cultivars introduced rabbiteye blueberry in China. *Food Chemistry* 132:759-765.
- Yang, N. J. & Hinner, M.J. 2015. Getting across the cell membrane: an overview for small molecules, peptides, and proteins. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) 1266:29-53.
- Zoratti, L., Jaakola, L., Häggman, H. & Giongo, L. 2015. Anthocyanin profile in berries of wild and cultivated *Vaccinium* spp. along altitudinal gradients in the Alps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63:8641-8650.
- Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo Escobar, A., Häggman, H. & Jaakola, L. 2014. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. *Frontiers in Plant Science* 5:534.

Tables and Figures

Table 1- Average levels of free-soluble sugars, organic acids and total polyphenols expressed as mg g⁻¹ dry weight. †

Genotype	Harvest Stage	Free-soluble sugars			Organic acids				Total polyphenols	
		Glucose	Fructose	Sucrose	Quinic acid	Malic acid	Shikimic acid	Citric acid		
Bluecrop	Green	44.8 ± 6.2	38.9 ± 7.0	10.3 ± 0.9	46.1 ± 1.9	29.0 ± 1.0	2.4 ± 0.1	138.5 ± 4.7	52.6 ± 0.5	
	Pink	182.4 ± 8.0	142.2 ± 6.9	27.8 ± 2.5	25.4 ± 0.0	6.6 ± 0.1	2.0 ± 0.0	99.8 ± 1.2	39.9 ± 0.8	
	Fully ripe	253.9 ± 15.4	209.4 ± 19.5	51.5 ± 5.1	8.7 ± 0.9	3.3 ± 0.3	1.1 ± 0.0	63.0 ± 0.9	25.8 ± 1.9	
Duke	Green	67.3 ± 8.7	57.4 ± 9.3	12.2 ± 1.0	70.4 ± 4.2	32.9 ± 1.5	2.5 ± 0.2	130.1 ± 6.0	41.1 ± 0.6	
	Pink	209.4 ± 9.1	156.6 ± 7.0	29.9 ± 2.8	39.9 ± 2.6	5.6 ± 1.1	2.0 ± 0.4	84.7 ± 13.4	28.0 ± 1.7	
	Fully ripe	275.4 ± 27.1	248.9 ± 8.4	56.0 ± 4.8	10.2 ± 0.7	2.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2	31.7 ± 0.6	23.7 ± 0.8	
Goldtraube	Green	49.8 ± 5.2	51.8 ± 3.5	8.1 ± 0.0	40.8 ± 1.3	37.7 ± 3.0	2.2 ± 0.4	128.7 ± 13.7	35.7 ± 0.1	
	Pink	205.9 ± 1.3	155.8 ± 2.8	35.6 ± 2.3	22.4 ± 1.6	6.7 ± 0.7	1.5 ± 0.1	96.2 ± 3.8	24.4 ± 0.3	
	Fully ripe	238.2 ± 30.7	183.0 ± 33.1	44.4 ± 5.8	8.7 ± 0.4	2.8 ± 0.5	1.5 ± 0.2	63.1 ± 5.4	26.4 ± 0.3	
Ozarkblue	Green	113.1 ± 8.6	85.9 ± 4.8	11.1 ± 1.5	40.9 ± 3.9	31.6 ± 4.7	3.2 ± 0.3	102.9 ± 11.4	35.7 ± 1.3	
	Pink	181.7 ± 39.4	124.0 ± 36.9	17.4 ± 4.9	23.4 ± 6.7	15.4 ± 3.4	1.9 ± 0.4	76.5 ± 15.3	24.3 ± 0.8	
	Fully ripe	249.9 ± 0.3	186.2 ± 5.2	28.4 ± 1.3	6.8 ± 1.4	2.8 ± 0.5	1.1 ± 0.2	36.6 ± 5.4	25.2 ± 0.2	
		Source of variation								
Genotype (G)		**	**	**	***	***	*	**	***	
Harvest Stage (S)		***	***	***	***	***	***	***	***	
G x S		***	***	***	***	***	***	*	***	

† Values are expressed as mean ± SD of three replicates. The symbols means: NS, *, **, ***: not significant or significant at $P < 0.05, 0.01, 0.001$ by ANOVA, respectively.

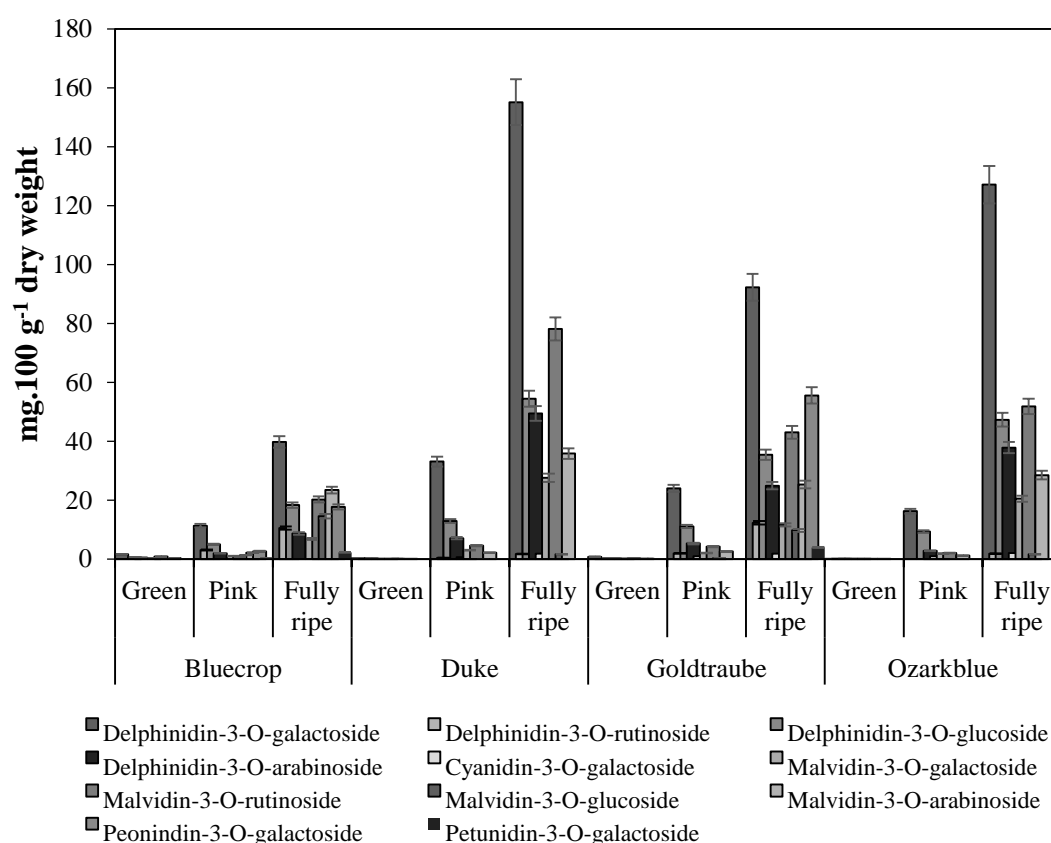


Figure 1- Average levels of anthocyanins (mean \pm standard deviation (SD)) of three replicates, identified in the four highbush blueberry cultivars studied at different ripening stages.

Table 2- Two-Way ANOVA Results. ¹

Analytical parameters	Source of Variation		
	Genotype (G)	Harvest stage (S)	G x S
Delphinidin-3- <i>O</i> -galactoside	***	***	***
Delphinidin-3- <i>O</i> -rutinoside	***	***	***
Delphinidin-3- <i>O</i> -glucoside	***	***	***
Delphinidin-3- <i>O</i> -arabinoside	***	***	***
Cyanidin-3- <i>O</i> -galactoside	***	***	***
Malvidin-3- <i>O</i> -galactoside	***	***	***
Malvidin-3- <i>O</i> -rutinoside	***	***	***
Malvidin-3- <i>O</i> -glucoside	***	***	***
Malvidin-3- <i>O</i> -arabinoside	***	***	***
Peonindin-3- <i>O</i> -galactoside	***	***	***
Petunidin-3- <i>O</i> -galactoside	***	***	***

¹ The symbols means: NS, *, **, ***: not significant or significant at $P < 0.05$, 0.01 , 0.001 by ANOVA, respectively.

Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste de Portugal

Domingos P.F. Almeida

Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, dalmeida@isa.ulisboa.pt

Resumo

A introdução do 1-metilciclopropeno em 2011, as mudanças regulatórias impostas em 2013 sobre a difenilamina e a etoxiquina, a rápida evolução nas tecnologias de controlo da atmosfera das câmaras de armazenamento e o grande aumento da área de produção vieram alterar significativamente as condições de armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’. Os fornecedores de atmosfera controlada presentes no mercado português não emitiram ainda recomendações sobre a forma ótima de conservar pera ‘Rocha’ nos seus sistemas, ao contrário do que se faz nas principais regiões produtoras mundiais. Apresentam-se aqui as recomendações para assegurar o armazenamento de pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste por períodos de 8 a 10 meses, com base em 24 ensaios realizados em 2015/16 e 2016/17. Associadas a uma boa sanidade do pomar e da central, os fungicidas para aplicação pós-colheita controlam eficazmente os problemas patológicos. Assim, o fator determinante da duração prática de armazenamento são os acidentes fisiológicos escaldão superficial e acidentes internos. Os melhores resultados obtêm-se quando se adotam as seguintes práticas: segregação de lotes em função do estado de maturação à colheita e do potencial de conservação determinado pelas condições pré-colheita, nomeadamente edáficas; enchimento da câmara num período inferior a 5 dias; arrefecimento dos frutos para uma temperatura de polpa de 0 °C em menos de 5 dias; colocação da atmosfera controlada em regime logo após os frutos atingirem a temperatura de polpa recomendada; redução da pressão parcial de O₂ para <3 kPa em 24 horas e para 0,5 kPa em 5 dias. As condições de armazenamento recomendadas são: temperatura entre -1 a 0 °C, humidade relativa 93 a 95%, pressão parcial de O₂ ≤0,5 kPa e pressão parcial de CO₂ ≤0,6 kPa. Alternativamente, os frutos podem ser tratados com 1-metilciclopropeno e armazenados entre -1 a 1 °C com pressão parcial de O₂ de 3,5 a 6,0 kPa e pressão parcial de CO₂ ≤0,6 kPa.

Palavras-chave: acidentes fisiológicos internos, atmosfera controlada, conservação, *Pyrus communis*, tecnologia pós-colheita.

Abstract

The introduction of 1-methylcyclopropene in 2011, the regulatory ban on diphenylamine in 2013, the rapid technological evolution in the control of atmosphere composition on storage room and the increase in production area and volume are changing the technical and market conditions for long-term storage of ‘Rocha’ pear. The suppliers of controlled atmosphere storage operating in the Portuguese market have not yet issued recommendations about optimal storage protocols for ‘Rocha’ pear, in contrast with the main pear growing regions worldwide. Storage recommendations are presented ‘Rocha’ pear grown in the Oeste Region of Portugal for up to 10 months, based on 24 trials performed in 2015/16 e 2016/17. Together with adequate orchard sanitation, postharvest fungicide treatments are effective in preventing decay. The determinant factor of practical storage duration in pear becomes the storage physiological disorders superficial scald and

internal browning disorders. The best storage results are obtained with the following practices: segregation of batches based on maturity stage at harvest and the storage potential determined by preharvest conditions, namely soil texture; loading the cold room in less than 5 days (ideally 3 days); cooling the fruit to a flesh temperature of 0 °C in less than 5 days after the beginning of the load; establishment of the controlled atmosphere regime immediately after the fruit are cooled; pull down the partial pressure of O₂ to <3 kPa in 24 h and to 0.5 kPa in 5 days. Recommended storage conditions are: temperature of -1 to 0 °C, 93 to 95% relative humidity, O₂ partial pressure ≤0.5 kPa and CO₂ partial pressure ≤0.6 kPa. Alternatively, the fruit can be treated with 1-methylcyclopropene and stored at -1 to 1 °C with O₂ partial pressure of 3.5 to 6.0 kPa and CO₂ ≤0.6 kPa.

Keywords: controlled atmosphere, fruit storage, physiological disorders postharvest technology, *Pyrus communis*.

Introdução

Portugal é atualmente o quinto maior produtor europeu de pera *ex aequo* com a França, após a Itália, Espanha, Holanda e Bélgica, (FAO, 2017). A ‘Rocha’ é a quarta cultivar com maior volume produzido na União Europeia após a ‘Conference’, ‘Abate Fetel’ e ‘Williams’ (WAPA, 2016). A produção de pera em Portugal duplicou em três décadas, passando de uma média de 92 700 t no triénio 1986-1988 (CE, 2013) para 184 559 t no triénio 2013-2015 (INE, 2016). Estimamos que os atuais 12 046 ha (triénio 2013-2015, INE, 2016) tenham um potencial produtivo agrícola de 300 000 t pelo que a produção real declarada tem sido cerca de 60% deste potencial.

Este crescimento na produção nacional de pera foi acompanhado por alterações significativas na geografia da produção, na fitotecnia dos pomares, no manuseamento pós-colheita e nos sistemas de armazenamento. No início da década de 1990 a cultivar ‘Rocha’ representava cerca de 70% da produção nacional de pera (Avelar et al., 1994); atualmente representa mais de 95% e apenas uma pequena proporção da produção é polinizada. No início da década de 1990 a pera armazenava-se a cerca de 0 °C em atmosfera normal por um período máximo de 5 meses (Avelar et al., 1994). Aperfeiçoou-se o domínio dos tratamentos pós-colheita com difenilamina e com fungicidas, duas tecnologias-base do sector (Almeida, 2017). Até 2013 a pera Rocha foi tratada após a colheita com difenilamina, uma substância homologada para o controlo do escaldão superficial que também reduz os acidentes internos, os danos pelo CO₂ e os acastanhamentos epidérmicos devidos a abrasões. Para além dos tratamentos destinados a prevenir o escaldão superficial, a pera Rocha é tratada pré-colheita ou pós-colheita com fungicida destinado a prevenir podridões dos frutos. Atualmente encontram-se homologadas para aplicações pós-colheita as substâncias ativas fludioxonil, imazalil e tiabendazol. Em 2011 foi homologado em Portugal para aplicação em pera ‘Rocha’ o 1-meticiclopropeno (1-MCP), um inibidor da ação do etileno que previne o escaldão superficial e retarda o amadurecimento (Almeida et al., 2016). O 1-MCP encontra-se homologado para aplicação em frio normal e em atmosfera controlada, com os ensaios de eficácia efetuados com 3 kPa O₂ (Almeida et al., 2016).

A temperatura adequada ao armazenamento prolongado de pera está bem estabelecida: entre -1 e 0 °C (Porritt, 1964; Knee, 1987). A -1 °C o período de armazenamento de peras (‘Anjou’ e ‘Bartlett’) é 35 a 40 % superior do que a 0 °C (Porritt, 1964). Ensaios de armazenamento a 2 °C de frutos tratados com 1-MCP revelaram-se arriscados e incompatíveis com armazenamento prolongado (D. Almeida, dados não publicados), mas com uma boa sanidade é possível usar uma temperatura não superior a

1 °C em frutos tratados com 1-MCP a 300 nL L⁻¹. Note-se que com um teor em sólidos solúveis de 11% o ponto de congelação da pera é de -1,9 °C, mas esse valor eleva-se para cerca de -1,3 °C quando as peras têm apenas 8% de sólidos solúveis. A humidade relativa deve situar-se entre 92 e 95% para manter as perdas de peso em níveis eficientes; valores mais elevados de humidade relativa (> 95%) favorecem o desenvolvimento de podridões e alguns acidentes fisiológicos. A humidade relativa numa câmara de conservação não pode ser desligada do dimensionamento do sistema de refrigeração mecânica; a humidade relativa da câmara é determinada pela área de permuta do evaporador, pelo diferencial de temperatura entre o ar e o fluido frigorígeno e pelas taxas de renovação de ar.

Em pera, a atmosfera controlada é um complemento útil à refrigeração e ao controlo da humidade relativa, permitindo prolongar substancialmente o período de armazenamento. Datam do início dos anos 90 as primeiras experiências laboratoriais e comerciais com o armazenamento de pera ‘Rocha’ em atmosfera controlada (Avelar et al., 1994). As recomendações sobre a conservação de pera em atmosfera controlada são específicas, não só da cultivar, mas também da região de produção, variando em intervalos amplos de 0,5 e 4 kPa O₂ e 0,1 a 5 kPa CO₂ (Richardson e Gerasopoulos, 1994). Para a pera ‘Rocha’ os valores indicados na literatura científica ou técnica têm variado. Os primeiros estudos de armazenamento de pera Rocha em atmosfera controlada foram efetuados após a colheita de 1993 (Avelar et al., 1994). As condições ensaiadas foram 4,1 kPa O₂ + 3,5 kPa CO₂ e 4.4 kPa O₂ + 1.3 kPa CO₂ a 0°C (Avelar et al., 1994). Já antes Herrero e Guardia (1992) recomendavam 3 kPa de O₂ e 2,5 a 3 kPa de CO₂ a uma temperatura de -0,5 a 0 °C e 90 a 92% de humidade relativa. Estes autores notam que a pera Rocha é sensível ao CO₂ e aconselham a não ultrapassar os 3 kPa. Amaro (2000) recomenda valores de 2,5 a 4 kPa de O₂ e 0,7 a 1 kPa de CO₂ a -0,5 a 0 °C e 90 a 95% de humidade relativa. Rodrigues (2005), baseando-se em diversos estudos, recomenda 2,0 a 2,5 kPa O₂ e 0,5 a 0,7 kPa CO₂. As atuais normas técnicas para a Produção Integrada indicam valores de 2 kPa de O₂ e 2 kPa de CO₂ a temperatura entre -1 e 0 °C, embora notem que existem «outras tecnologias de conservação com valores mais baixos de oxigénio» (Cavaco, 2012). Deuchande et al. (2015) referem recomendações para a pera ‘Rocha’ de 3 kPa O₂ e 0,5 kPa CO₂.

Desde 2003 foram introduzidos no mercado mundial novos protocolos de pilotagem da atmosfera controlada com base em respostas fisiológicas dos frutos. Estes baseiam-se em resposta da fluorescência de clorofilas, deteção de etanol nos frutos ou na atmosfera e nas alterações do quociente respiratório. Os sistemas comerciais têm distintas designações registadas como Dynamic Controlled Atmosphere (DCA), Dynamic Control System (DCS) e HarvestWatch, e aplicam os princípios com base em variantes nos sistemas de monitorização e controlo da resposta do frutos e da composição gasosa da atmosfera. A melhoria nos sistemas de monitorização e controlo da composição gasosa, a eliminação da difenilamina e a introdução do 1-MCP nos sistemas de armazenamento, bem como o aumento dos volumes de pera produzidos e as necessidades de exportação obrigam a rever as recomendações para o armazenamento da pera ‘Rocha’ em condições ideais.

Este artigo resume a experimentação aplicada efetuada em dois anos consecutivos (2015/16 e 2016/17) para desenvolver recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ no atual contexto dos sistemas de produção e de manuseamento pós-colheita. Os resultados destas experiências, combinados com estudos complementares anteriores e concomitantes e com observações empíricas nas centrais fruteiras e nas cadeias de distribuição suportam as recomendações que aqui se divulgam.

Material e métodos

Frutos

Durante duas campanhas consecutivas (2014/15 e 2015/16) foram conduzidos ensaios de armazenamento de pera (*Pyrus communis* L.) 'Rocha'. Frutos de calibre 65 a 75 mm foram colhidos no estado maduro verde num pomar plantado em 1990 com uma densidade de 1667 plantas por hectare enxertadas em marmeleiro BA 29, localizado na Sobrena, Cadaval. As características dos frutos utilizados em 2015 foram: tonalidade da casca de 106,4°; firmeza da polpa 5,2 kgf, índice de regressão do amido (escala de 1 a 10) de 8,2, teor em sólidos solúveis de 11,2% e 0,2% de acidez titulável expressa em equivalentes de ácido málico. Em 2016, os frutos tinham uma tonalidade da casca de 110,1°, 6,2 kgf de firmeza de polpa, índice de regressão do amido (escala de 1 a 10) de 6,9, 11,9 % de sólidos solúveis e 0,20% de acidez titulável. Os frutos foram colhidos para caixas de 60 × 40 cm, tratados no dia da colheita com Scholar (s.a. fludioxonil) na dose de 3 L p.c. por 1000 L água, arrefecidos e mantidos a 0 - 5 °C até ao início dos ensaios.

Condições de armazenamento

Os frutos foram armazenados em cabines experimentais com 0,52 m³ a uma densidade de armazenamento de 200 kg m⁻³. A temperatura foi geralmente mantida entre -0,8 e -0,2 °C e a humidade relativa entre 92 e 95%. Todas as modalidades estiveram sujeitas a flutuações de temperatura semelhante.

Em 2015/16 os frutos foram armazenados nas seguintes condições experimentais: ar, frutos tratados com 1-MCP a 300 ou 150 nL L⁻¹ em ar, frutos tratados com 1-MCP a 150 nL L⁻¹ e armazenados a pressão parcial de O₂ (*p*O₂) de 3 kPa e *p*CO₂ de 0,5 kPa em atmosfera controlada diferida de 32 ou 60 dias, frutos tratados com 1-MCP a 150 nL L⁻¹ e armazenados a 0,5 kPa O₂ e 0,5 kPa CO₂ em atmosfera controlada diferida de 32 dias; 3 kPa O₂ combinado com 0,5 kPa CO₂ e atraso na colocação em regime de 6 ou 46 dias; 0,5 kPa O₂ combinado com 0,5 kPa CO₂ e atraso na colocação em regime de 6 ou 46 dias; 1 kPa O₂ e 0,5 kPa CO₂; 3 kPa O₂ combinados com 0,5 kPa CO₂ e redução da *p*O₂ em 20 dias.

Em 2016/17 foram estudadas as seguintes condições de armazenamento: ar, frutos tratados com 1-MCP a 300 nL L⁻¹ em ar, 3 kPa O₂ e 0,5 kPa CO₂ com redução da *p*O₂ em 1 ou 20 dias, 0,5 kPa O₂ combinado com 0,5 kPa CO₂ e redução da *p*O₂ em 1 ou 20 dias, 0,5 kPa O₂ combinado com 0,1 e 1,0 kPa CO₂, frutos tratados com 1-MCP a 300 nL L⁻¹ e mantidos 3,5 kPa O₂ e 0,5 kPa CO₂ e um atraso de 56 dias na colocação em regime; 0,1 kPa O₂ e 0,1 kPa CO₂ com redução da *p*O₂ em 1 ou 30 dias e 0,5 kPa O₂ e 8 kPa CO₂ com redução da *p*O₂ rápida.

Determinações

A incidência e severidade de escaldão superficial e de acidentes fisiológicos internos foi avaliada visualmente (Saquet e Almeida, 2017). Complementarmente, para fundamentar as recomendações, foi medida a firmeza, a cor dos frutos, o teor em sólidos solúveis e a acidez titulável.

Resultados e discussão

Escaldão superficial e sua prevenção

Em 2015/16 não se observou escaldão superficial nos ensaios. Em 2016/17 foi observado escaldão superficial nos frutos armazenados em ar e com 3 kPa O₂. A incidência de escaldão após 7 dias em prateleira a seguir ao armazenamento durante 191 dias foi de 57% no ar, 13% nos frutos armazenados com 3 kPa O₂ reduzida em 20 dias e 2% nos frutos armazenados nas mesmas condições mas com redução da *p*O₂ em 1 dia.

Está bem estabelecido que o 1-MCP é eficaz na prevenção do escaldão superficial em pera 'Rocha' (Isidoro e Almeida, 2006; Almeida et al., 2016). A atmosfera controlada com redução rápida da pO_2 para < 3 kPa também reduz o escaldão que é prevenido a 0,5 kPa O_2 .

Acidentes fisiológicos internos e sua prevenção

A incidência de acidentes fisiológicos internos associados à atmosfera controlada (Saquet e Almeida, 2017) em 2015/16, após 8 meses de armazenamento seguidos de 7 dias a 20 °C, foi superior a 50% em frutos armazenados com 3 kPa O_2 , de 20% a 1 kPa O_2 e não ocorreram a 0,5 kPa O_2 . A atmosfera controlada diferida em 46 dias reduziu a incidência de acidentes internos em frutos armazenados a 3 kPa O_2 mas agravou-a nos frutos a 0,5 kPa O_2 . Este efeito da atmosfera controlada diferida na pera 'Rocha' encontra-se discutido em Saquet et al. (2017).

Em 2016/17, ao fim de 191 dias de armazenamento seguidos de 7 dias em prateleira a 20 °C não ocorreram acidentes fisiológicos internos em frutos mantidos nas seguintes condições: 0,5 kPa O_2 , 0,5 kPa CO_2 com redução da pO_2 em 1 dia; 0,1 kPa O_2 , 0,1 kPa CO_2 com redução da pO_2 em 1 dia. A incidência ultrapassou os 50% de frutos afetados nas seguintes condições: 3,0 kPa O_2 , 0,5 kPa CO_2 com redução da pO_2 em 1 ou em 20 dias.

Em pera 'Rocha' sem tratamentos pós-colheita com difenilamina, etoxiquina ou 1-metilciclopropeno, o risco de acidentes fisiológicos internos aumenta quando (1) existe um atraso na colocação em regime superior a 7 dias, (2) a redução da pO_2 entre 20,8 kPa e 0,5 kPa é lenta; o risco agrava-se se período de redução da pO_2 for superior a 2 semanas, (3) a pressão parcial de O_2 se situa entre 1 e 3 kPa (zona de risco); (4) os frutos são colhidos com estado de maturação avançada (firmeza < 6 kgf) e (5) em frutos de calibre superior a 75 mm.

Efeito da pressão parcial do O_2

Frutos armazenados em ar (20,8 kPa O_2) conservaram-se por um período máximo de 5 meses em condições de segurança. A redução da pO_2 para 3 kPa não foi suficiente para conservar a pera Rocha sem acidentes fisiológicos internos (Figura 1). A redução da pO_2 até 1 kPa não foi suficiente para conservar a pera Rocha até 9 meses devido a amolecimento e acidentes fisiológicos internos. A redução da pO_2 para 0,5 kPa possibilitou a conservação da pera até 9 meses sem acidentes internos (Figura 1), com manutenção da firmeza da polpa, tonalidade verde da casca e ausência de acidentes fisiológicos de conservação.

Efeito da pressão parcial de CO_2

Comparou-se o efeito da pCO_2 a uma pO_2 constante de 0,5 kPa. Após 191 dias de armazenamento, 100% dos frutos armazenados com 8 kPa CO_2 apresentavam severos danos (necrose seca) externos e internos (Figura). A incidência de acastanhamentos internos a pCO_2 de 0,1; 0,5 e 1,0 kPa foi reduzida (0 a 4%). No entanto, observou-se uma tendência: ausência de acidentes sob 0,5 kPa, 1 a 2% dos frutos afetados a 0,1 kPa e 3 a 4% a 1,0 kPa CO_2 (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**). Esta observação, no intervalo de pCO_2 entre 0,1 e 1 kPa, pode ser espúria e a correspondência a um efeito consistente carece de verificação. Neste contexto, é necessário não ignorar que observações efetuadas entre a década de 1930 e 1970 nos Estados Unidos e em França – embora em condições experimentais muito distintas da atuais – notaram efeitos benéficos da elevação da pO_2 , em tratamentos de choque ou intermitentes, na redução dos acidentes internos.

Efeito da velocidade de redução da pressão parcial de O₂

A redução da pO_2 de 20,8 kPa para 3 kPa ou para 0,5 kPa foi efetuada de forma linear em 1 ou 20 dias. A 3 kPa a incidência de acidentes internos após 191 dias de armazenamento seguidos de 7 dias a 20 °C foi superior a 50%, independentemente na taxa de redução da pO_2 , embora se observasse uma menor incidência na taxa lenta (Figura 4). Em contraste, uma taxa lenta induziu acidentes internos em frutos armazenados a 0,5 kPa O₂ o que não ocorreu quando a redução da pO_2 foi rápida (Figura 4).

Efeito da atmosfera controlada diferida

O atraso na colocação do regime da atmosfera controlada em 60 dias com 3 kPa de O₂ e 150 nL L⁻¹ de 1-MCP apresentou elevada incidência de acastanhamentos internos. O atraso na colocação do regime em 46 dias, com 3 kPa de O₂ aumentou a incidência de acidentes fisiológicos internos e acelerou o amolecimento e amarelecimento dos frutos em relação à colocação imediata em regime. O atraso na colocação do regime em 46 dias, com 0,5 kPa de O₂, causou perda de frutos por acastanhamentos internos, menor firmeza de polpa e tonalidade mais amarela. O atraso de 32 dias na colocação em regime em frutos armazenado em 3 e 0,5 kPa de O₂ com tratamento de 1-MCP a 150 nL L⁻¹ não mitigou a incidência de acidentes a 3 kPa O₂ e agravou-a a 0,5 kPa O₂.

Embora o efeito da atmosfera controlada diferida seja diferente em função da pO_2 (ligeiro benefício a 3 kPa e agravamento a 0,5 kPa, Saquet et al. 2017), conclui-se que esta prática não é benéfica para a pera ‘Rocha’ da região Oeste. Estas observações suportam relatos anteriores (Silva et al., 2009; Almeida et al., 2016).

Boa prática para o armazenamento da pera Rocha em atmosfera controlada

A gestão de operações de receção, carregamento das câmaras e colocação em funcionamento deve considerar: (1) a segregação de lotes; (2) enchimento da câmara; (3) a taxa de arrefecimento; (4) a colocação em regime da atmosfera controlada e (5) a velocidade de redução da pO_2 .

A segregação de lotes e sua repartição pelas câmaras tem de ser efetuada com base nos seguintes critérios: (1) estado de maturação à colheita e (2) potencial de conservação, com base na fitotecnia do pomar, no histórico do pomar e na textura do solo; frutos provenientes de solos de textura ligeira apresentam potencial de conservação inferior aos produzidos em solos francos.

O enchimento das câmaras destinadas a armazenamento prolongado deve ser efetuado de preferência até 3 dias e num período superior a 5 dias. A temperatura de polpa recomendada deve ser atingida em menos de 5 dias após a primeira carga.

Em frutos não tratados com 1-MCP, a atmosfera controlada deve ser colocada em regime imediatamente após atingir a temperatura de polpa recomendada (sem *delay*). A redução da pO_2 (*pull down*) deve ser rápida; sugere-se uma redução para <3 kPa O₂ em 24 horas e para 0,5 kPa O₂ em 5 dias.

Condições ideais para o armazenamento prolongado da pera Rocha em atmosfera controlada

A temperatura de armazenamento deve situar-se entre -1 e 0 °C com um gradiente no interior da câmara inferior a 0,5 °C. A humidade relativa deve situar-se entre os 93 e 95%, o que requer sistemas de expansão indireta. Para minimizar os acidentes fisiológicos internos e o escaldão superficial, os níveis recomendados de O₂ são de 0,2 a 0,5 kPa e os níveis de CO₂ < 0,7 kPa. As condições de atmosfera controlada para a pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste encontram-se no Quadro 1. O Quadro 2 sumaria as estratégias de armazenamento para a conservação por diferentes períodos da campanha. O 1-MCP requer ajustamentos significativos nas condições de atmosfera controlada aqui indicadas.

Referências

- Almeida, D.P.F. 2017. Tools for strategic management of postharvest technology: An application to the Portuguese pear industry. *Acta Horticulturae* (in press).
- Amaro, P. (Ed.). 2000. A produção integrada de pêra Rocha. ISA Press, Lisboa.
- Avelar, M.L., Rizzolo, A., Lombardi, P. and Eccher Zerbini, P. 1994. Physiological and quality responses of "Rocha" pears to controlled atmosphere storage. E. J. Woltering, L. G. Gorris, W. M. F. Jongen, B. McKenna, E. Höhn, P. Bertolini, M. L. Woolfe, A. de Jager, R. Ahvenainen, F. Artes Calero (Eds.). *The PostHarvest Treatment of Fruit and Vegetables Current Status and Future Prospects, Proceedings of the Sixth International Symposium of the European Concerted Action Program COST 94, 19-22 October 1994, Oosterbeek, The Netherlands*, pp 15-22.
- Cavaco, M. (Coord.) 2012. Normas técnicas para a produção integrada de pomóideas. Volume II. Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território, Lisboa.
- CE. 2013. Document de travail. Groupe de travail prévisions poires. AGRIC.2 / POIR24 / 13, Commission européenne.
- Deuchande, T., Carvalho, S.M.P., Larrigaudière, C. & Vasconcelos, M.W. 2015. Advances in refrigerated and controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. In Gaspar, P.D. & Silva, P.D. (Eds). *Handbook of Research on Advances and Applications in Refrigeration Systems and Technologies*. IGI Global, Hershey PA, USA, pp.457-489.
- FAO. 2017. FAOSTAT Statistics Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Herrero, A. & Guardia, J. 1992. Conservación de frutos. Manual técnico. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- INE. 2016. Estatísticas Agrícolas – 2015. Instituto Nacional de Estatística, Lisboa.
- Porritt, S.W. (1964). The effect of temperature on postharvest physiology and storage life of pears. *Canadian Journal of Plant Science*, 44, 568-579.
- Richardson, D.G. & Gerasopoulos, D. 1994. Controlled atmosphere recommendations for pear fruits and storage chilling satisfaction requirements for ripening winter pears. *Acta Horticulturae* 367: 452-454.
- Rodrigues, A.C. 2005. Pêra Rocha. Colheita e conservação. Associação para a Valorização Agrícola em Produção Integrada, Alcobaça, 28 p.
- Saquet, A.A. & Almeida, D.P.F. 2017. Internal disorders of 'Rocha' pear affected by oxygen partial pressure and inhibition of ethylene action. *Postharvest Biology and Technology* 128: 54–62.
- Saquet, A.A., Streif, J. & Almeida, D.P.F. 2017. Responses of 'Rocha' pear to delayed controlled atmosphere storage depend on oxygen partial pressure. *Scientia Horticulturae* 222: 17–21.
- Silva, F.J.P., Gomes, M.H., Fidalgo, F. & Almeida, D.P.F. 2009. Influência da atmosfera controlada diferida na actividade antioxidante e acastanhamentos internos da pêra 'Rocha'. *Actas Portuguesas de Horticultura* 11: 189-196.
- WAPA. 2016. European apple and pear forecast. World Apple and Pear Association, Brussels – Belgium.

Quadros e Figuras

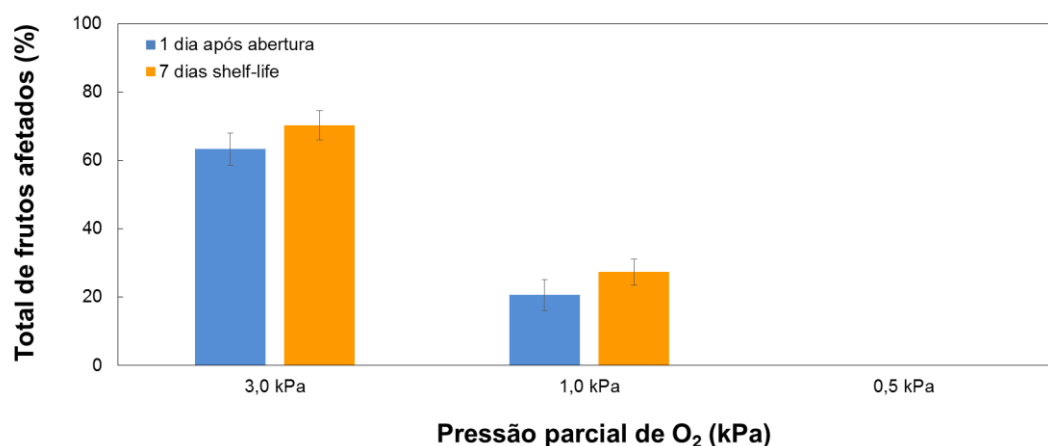


Figura 1- Efeito da pressão parcial do O₂ na incidência de acidentes fisiológicos internos após 254 dias de armazenamento a -0,5 °C sob pressão parcial de 0,5 kPa O₂ e subsequente período de 7 dias em prateleira a 20 °C no ar.



Figura 2- Aspeto dos frutos armazenados em 8 kPa CO₂ após 60 e 191 dias de armazenamento a -0,5 °C sob pressão parcial de 0,5 kPa O₂.

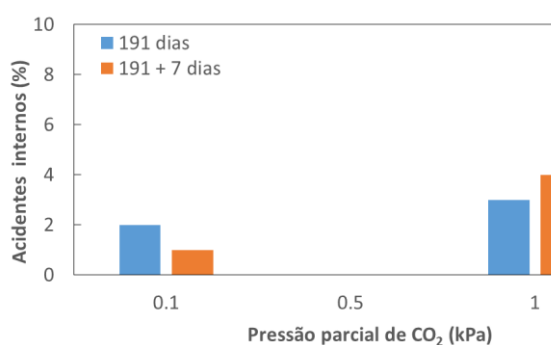


Figura 3- Efeito da pressão parcial do CO₂ na incidência de acidentes fisiológicos internos após 191 dias de armazenamento a -0,5 °C sob pressão parcial de 0,5 kPa O₂ e subsequente período de 7 dias em prateleira a 20 °C no ar. Os acidentes foram avaliados em 100 frutos em cada amostragem.

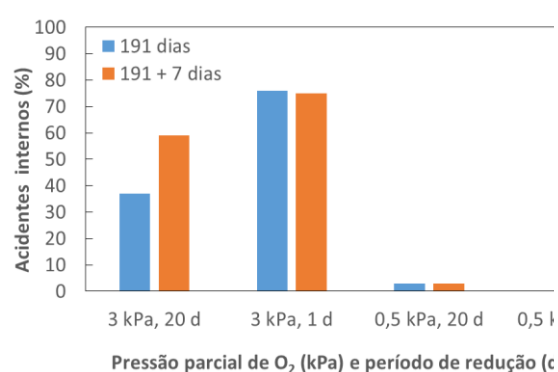


Figura 4- Efeito da velocidade de redução na pressão parcial do O₂ para 3 e para 0,5 kPa na incidência de acidentes fisiológicos internos após 191 dias de armazenamento a -0,5 °C sob pressão parcial de 0,5 kPa CO₂ e subsequente período de 7 dias em prateleira a 20 °C no ar. Os acidentes foram avaliados em 100 frutos em cada amostragem.

Quadro 1- Condições de atmosfera controlada para a pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste armazenada à temperatura de -1 a 0 °C.

Critério	Oxigénio	Dióxido de carbono
Intervalo	0,2 a 3,0 kPa	≤ 0,7 kPa
Ótimo técnico	0,2 a 0,5 kPa	0,5 kPa
Benefícios	Redução da taxa de respiração, produção de etileno, alteração de cor, manutenção de firmeza	Retenção da cor e firmeza.
Potencial de benefício	Elevado	Ligeiro
Níveis indutores de danos	<0,1 kPa	≥1 kPa
Sintomas de danos	Flavores de fermentação,	Flavores de fermentação; acidentes fisiológicos internos
Potencial de danos	Moderado	Elevado

Quadro 2- Recomendações para o armazenamento de pera Rocha produzida na região Oeste de Portugal em função da duração prevista.

Estado maturação	Período de armazenamento			
	Ago-Nov	Dez-Jan	Fev-Abr	Mai-Jun
7,0 – 6,0 kgf	-	-	0,5 kPa O ₂ + 0,5 kPa CO ₂	0,5 kPa O ₂ + 0,5 kPa CO ₂
5,5 – 6,0 kgf	Frio normal	Frio normal (risco moderado de escaldão superficial)	0,5 kPa O ₂ + 0,5 kPa CO ₂	0,5 kPa O ₂ + 0,5 kPa CO ₂
5,0 – 5,5 kgf	Frio normal	Frio normal + 1-MCP	Frio normal + 1-MCP	-

Processamento de vegetais para polpas congeladas

Maria Beatriz Sousa¹, Ana Cristina Ramos¹, Armando Ferreira¹, Maria Margarida Sapata¹, Carmo Serrano¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP/UTI
Av. da República, Quinta do Marquês, Nova Oeiras, 2780-157 Oeiras

Resumo

O processamento de vegetais para sopas constitui uma boa alternativa para o aproveitamento de produtos não valorizados comercialmente. A tecnologia de processamento permite a obtenção de polpas de hortícolas congeladas de elevada bioatividade, sem aditivos nem conservantes, estáveis a nível microbiológico, físico-químico e sensorial, com tempo de vida útil alargado, contribuindo para a diversificação de produtos economicamente interessantes e de valor acrescentado. São produtos ricos em compostos bioativos e de fácil/imediata utilização, de forma a preencher uma lacuna no mercado de produtos de conveniência, promovendo a competitividade do setor.

O objetivo deste trabalho foi a obtenção de polpas de hortícolas congeladas, embaladas em diferentes proporções que constituíram matrizes para a reconstituição de várias bases para sopas. A avaliação da estabilidade durante 12 meses de conservação foi efetuada recorrendo aos parâmetros cor (L, a*, b*), teor em sólidos solúveis totais (°Brix), pH, acidez titulável, compostos carotenoides e fenólicos, capacidade antioxidante, análise microbiológica e análise sensorial.

As matrizes estudadas batata (cv Monalisa), cenoura (cv Nantes), brócolos (cv Naxus), cebola (cv Benito) tomate (cv Bigram), alho francês (cv Zermatt) e beterraba (cv Cruenta Rubra) foram seleccionadas tendo em conta a disponibilidade para laboração e o consumo tradicional na dieta portuguesa.

Os resultados mostraram que o teor de carotenóides, determinados por espectrofotometria de UV/Vis cai entre 0,3 e 8,3 mg. g⁻¹ e os valores médios para a cenoura, brócolos, tomate e batata foram 8,3; 4,4; 3,3 e 0,3 mg.g⁻¹, respectivamente. O teor de compostos fenólicos variou de 0,8 a 3,1 mg. g⁻¹ e os valores médios para a cebola, brócolos e batata foram 3,1; 2,5 e 0,8 mg.g⁻¹, respetivamente.

O processamento tecnológico e o tempo de conservação altera o teor de carotenoides, de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, encontrando-se os resultados discutidos.

A análise sensorial permitiu concluir que as bases de sopas apresentaram uma textura homogénea, cremosa, consistente, com aroma, sabor característicos e cor apelativa.

Através da avaliação global as sopas foram classificadas de Boa a Excelente com intenção de compra, caso se encontrassem disponíveis no mercado.

Palavras-chave: hortícolas, congelação, vida útil, análise sensorial, carotenoides, compostos fenólicos

Abstract

The processing vegetables for soups is a good alternative for the use of not valued commercially products. The processing technology allows the frozen vegetable pulps production high bioactivity, without additives or preservatives, microbiologically, physical-chemically and sensorial level stable, with increased shelf-life, that contribute

to the diversification of products with economically interesting and added value. These products are rich in bioactive compounds and easy to use, in order to fill a gap in the convenience products market, promoting the sector competitiveness.

The aim of this work was to obtain pulps of frozen vegetables, packed in different proportions and storage that constituted matrices for the reconstitution of several bases for soups. The stability during 12 months was performed using color parameters (L, a *, b *), total soluble solids content (°Brix), pH, titratable acidity, carotenoid and phenolic compounds, antioxidant capacity, microbiological and sensory analysis.

The studied matrices were potato (cv Monalisa), carrot (cv Nantes), broccoli (cv Naxus), onion (cv Benito) tomato (cv Bigram), leek (cv Zermatt) and beet (cv Cruenta Rubra), taking into account the availability for labor and traditional consumption in the Portuguese diet.

The results showed that the carotenoid content determined by UV / Vis spectrophotometer ranges from 0.3 to 8.3 mg. g⁻¹ and the mean values for carrot, broccoli, tomato and potato were 8.3; 4.4; 3.3 and 0.3 mg.g⁻¹, respectively. The phenolic compounds content ranged from 0.8 to 3.1 mg. g⁻¹ and the mean values for onion, broccoli and potato were 3.1; 2.5 and 0.8 mg.g⁻¹, respectively.

The technological processing and shelf life changes the content of carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity, and the results are discussed.

The sensorial analysis allowed to conclude that the soup bases presented a homogeneous, creamy, consistent texture with characteristic aroma, flavor and appealing color.

Through the global evaluation the soups were classified as Good to Excellent with intention to buy, if they were available in the market.

Keywords: Vegetables, freezing, shelf life, sensory analysis, carotenoids, phenolic compounds

Introdução

Com a alteração significativa dos estilos de vida e dada a sazonalidade e perecibilidade dos produtos hortícolas, tem vindo a verificar-se uma crescente procura de alimentos de conveniência.

Atualmente, e de acordo com os padrões da dieta mediterrânica, a sopa é uma forma saudável e saborosa de confeccionar hortícolas, estando indicada para todas as idades. Neste processo criativo devemos considerar os hortícolas e as especiarias, como ingredientes de riqueza alimentar, para conferirem cor, sabor, aroma, valor nutricional e baixo valor calórico. Independentemente da região do País onde for confeccionada/consumida, a sua composição integra uma considerável quantidade de água, fibras e sais minerais, devendo fazer parte de uma refeição completa, equilibrada e saudável.

No início da refeição, a ingestão de sopa, com baixo potencial energético, traz benefícios para a saúde, pois contribui para que não se verifique um excesso na ingestão de alimentos no prato principal e favorece o aumento de consumo de hortícolas.

Com este estudo pretendeu-se dar um contributo para a valorização de produtos hortícolas, com fraco valor comercial em fresco, dando origem, através de processamento adequado, a misturas de polpas congeladas para sopas, elaboradas e /ou enriquecidas, que repõem o valor nutricional à dieta alimentar, seguida da avaliação da estabilidade durante o período de conservação. Trata-se de produtos ricos em compostos bioativos e de

fácil/imediata utilização, de forma a preencher uma lacuna no mercado de produtos de conveniência.

Metodologia

Matéria-prima: Foram selecionadas e caracterizadas variedades de batata, cenoura, brócolos, cebola, alho francês, beterraba e tomate (Quadro 1), quanto às características físicas-químicas (cor, °Brix, pH, compostos fenólicos e capacidade antioxidante) e microbiológicas.

Processamento de polpas: Para cada processo de fabrico de polpas a sequenciação das operações unitárias foi efetuada de acordo com diagrama da Fig. 1. Os hortícolas foram submetidos a dois métodos de cozedura (vapor e ebulição) durante vários tempos de cozedura, tendo em atenção a textura obtida (Quadro 2), posteriormente triturados, reduzidos a polpas, congelados e armazenados a -18°C.

Estabilidade das polpas: Efetuaram-se estudos de *shelf-life* das polpas congeladas, cuja estabilidade foi avaliada através da evolução de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, de 3 em 3 meses (T0 a T4), ao longo de 12 meses de conservação.

Avaliação das polpas e sopas: A qualidade da matéria-prima, polpas congeladas e sopas foram avaliadas recorrendo a metodologia referenciada (Quadro 2).

Formulações de Sopas: Com base na dose de polpas de vegetais congeladas foram elaboradas diferentes formulações de sopas (Quadro 3).

Para a obtenção de 1000mL de sopa, correspondente a 4/5 doses individuais, as polpas (\pm 500g) foram imersas em 600 mL de água em ebulição, durante 10 min. Para cada matriz de sopa foi adicionado 2,5 g de sal e 10mL de azeite.

A qualidade da matéria-prima, polpas congeladas e sopas foram avaliadas recorrendo à metodologia referenciada no Quadro 4.

Resultados

Avaliação dos vegetais para polpas

Os hortícolas foram caracterizados quanto às características físicas-químicas (cor, °Brix, pH, compostos fenólicos e capacidade antioxidante) e microbiológicas.

No Quadro 5, são apresentados os resultados da cor, °Brix e pH dos produtos laborados, não tendo sido evidenciadas diferenças na luminosidade para os dois tipos de cozedura, com exceção da batata e da cebola, que apresentaram um ligeiro escurecimento no processo de ebulição (menores valores de L*). A saturação da cor manteve-se praticamente constante, entre os métodos de cozedura, com exceção da cebola, que em ebulição apresentou menor valor, indicando uma diminuição da cor característica.

O pH não sofreu alteração, apresentando valores muito próximos entre os dois métodos de cozedura.

No que se refere ao Brix, o processo de ebulição originou uma diminuição nos brócolos, devido à incorporação de água no produto, detetado pelo aumento dos valores do rendimento e simultaneamente, lixiviação dos sólidos.

Na generalidade, o processamento tecnológico reduziu o teor de carotenoides totais de todos os vegetais (Quadro 6). A cozedura por ebulição contribuiu para a redução do teor destes compostos no tomate, enquanto na cozedura a vapor esta redução foi mais evidente nos brócolos e na cenoura. Na batata apenas foi detetado vestígios de carotenoides.

Os resultados do Quadro 7 mostram que, para os vegetais em natureza, os teores mais elevados de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, foram detetados na cebola, seguido dos brócolos e batata. Nos vegetais cozidos a vapor, os teores dos compostos fenólicos foram superiores na batata, seguido dos brócolos e da cebola, contudo a

capacidade antioxidante dos brócolos foi superior à da batata e da cebola. No cozimento por ebulição, verificou-se que o teor de compostos fenólicos foi superior na cebola, seguido da batata e dos brócolos. A capacidade antioxidante foi maior nos brócolos, seguido da cebola e batata. Assim, verificou-se que na batata o processamento provocou um aumento dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante, mais evidente na cozedura a vapor.

Pelo perfil microbiológico das polpas pode verificar-se que, independentemente do tipo de processamento térmico (ebulição/vapor), foram obtidos resultados positivos para aeróbios mesófilos totais ($1,7 - 2,6 \log \text{UFC.g}^{-1}$), bolores e leveduras ($<1,0 - 1,6 \log \text{UFC.g}^{-1}$) e ausência de coliformes totais, *E. coli* e *Staphilococcus aureus* coagulase positiva, para todas as amostras, o que evidenciou um bom controlo higiénico e sanitário durante o processamento, operações de limpeza e na seleção das matérias-primas.

Vida útil de polpas

Relativamente à estabilidade das polpas, pode concluir-se que a conservação não afetou os parâmetros da cor, pH e Brix das polpas dos vegetais congeladas. Em todas as polpas foi detetada uma ligeira acidez, a partir do 9º mês de conservação (T3), muito mais acentuada nas polpas de tomate.

Do ponto de vista microbiológico, as polpas congeladas, apresentaram baixa população microbiana ao longo do período de conservação. No que se refere ao crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos totais, todas as polpas processadas por ebulição apresentaram contagens ligeiramente superiores, relativamente às de vapor, praticamente entre 2 a 3 ciclos logarítmicos, no início, com tendência para diminuir até ao final do tempo de conservação. No que se refere ao crescimento de fungos/leveduras, independentemente do processo utilizado, as polpas apresentaram-se, na generalidade, com 1 a 2 ciclos logarítmicos, no início da conservação, sendo que, no final do tempo de conservação, apresentaram contagens inferiores. Como o número de microrganismos aeróbios mesófilos totais e de bolores/leveduras são indicadores de qualidade, de higiene, desinfeção, pode verificar-se que todas as polpas se encontravam em boas condições.

Os resultados da determinação da capacidade antioxidante, obtidos através do método de captação de radicais livres (DPPH), apresentam-se expressos em relação aos valores de EC_{50} (mg.mL^{-1}) e indicam os valores de concentração do extrato que reduzem em 50% a quantidade inicial do radical DPPH. Os valores de EC_{50} (mg.mL^{-1}), correspondentes a dois períodos dos ensaios de shelf-life T1 e T3 dos extratos das polpas de hortícolas, variaram entre 0,63 e 17,02 mg.mL^{-1} DPPH para o tempo T1, e entre 0,50 e 24,70 mg DPPH.ml^{-1} para o tempo T3.

Verificou-se que as polpas nos tempos T1 e T3 apresentaram a mesma tendência para a capacidade antioxidante, tendo os brócolos (ebulição) apresentado os menores valores de concentração do extrato para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical DPPH, seguida da beterraba, batata, tomate e alho francês. Os extratos das polpas de hortícolas que apresentaram menor valor de EC_{50} podem ser considerados os melhores para incorporação em polpas, uma vez que apresentaram uma maior capacidade antioxidante. Ordenando a atividade antioxidante dos produtos hortícolas obtém-se: brócolos > batata > beterraba > tomate > cebola > alho francês > cenoura.

Nos extratos das polpas de hortícolas verificou, que, em geral, as polpas correspondentes ao tempo de conservação T3 apresentaram menor capacidade antioxidante do que a observada no T1, mantendo-se esta tendência. Ordenando os resultados, obteve-se: brócolos > beterraba > batata > tomate > cebola > alho francês > cenoura. A conservação teve influência na composição química das polpas, visto que o

tempo T3 apresentou valores inferiores para a atividade antioxidante para as polpas de tomate e cenoura, brócolos, batata e cebola tendo-se registado o inverso para a beterraba. As polpas de alho francês não apresentaram diferenças significativas entre os dois tempos de conservação.

Durante o período de conservação, para os dois processos de cozedura, verificou-se uma diminuição da atividade antioxidante total das polpas de tomate, cenoura, brócolos, beterraba, cebola e batata, sendo superior apenas na polpa de beterraba, onde se verificou que as polpas no T3, apresentaram capacidade antioxidante inferior ao das restantes polpas no T1.

Avaliação de sopas

A avaliação do comportamento da estabilidade das sopas, segundo as matrizes pré estabelecidas, foi realizada através da evolução de parâmetros de qualidade físico-químicos e sensoriais, nos tempos T0 a T4, para os dois tipos de cozedura.

Relativamente aos parâmetros objetivos instrumentais da cor (L^* , a^* , b^*), durante os 12 meses de conservação (T0 a T4), não se registaram oscilações, em todas as sopas, independentemente do processo tecnológico utilizado.

Atendendo à análise sensorial, e de acordo com a avaliação do painel de provadores, não se registaram grandes alterações, relativamente aos parâmetros da cor, textura e sabor, com exceção da sopa de tomate, na qual se verificou uma diminuição do sabor característico, ao longo do tempo de conservação. De salientar, que os provadores nunca classificaram esta sopa como tendo cor característica, uma vez que à partida a matéria-prima já não apresentava a cor vermelha característica de tomate.

A sopa de legumes, relativamente à cor, apresentou uma menor classificação, devido ao facto de conter beterraba, na sua composição, o que lhe conferiu uma cor não característica de uma sopa de legumes tradicional

De realçar que, a maioria das sopas foram bem classificadas por se apresentarem aveludadas, consistentes, homogéneas, de cor típica e sabor característico, independentemente do processo tecnológico não foi diferenciador.

Relativamente à avaliação global, não se verificaram alterações, exceto na sopa de tomate, na qual se verificou uma diminuição do sabor característico, refletindo-se na avaliação global, que passou de boa a medíocre e, conseqüentemente, sem intenção de compra.

Conclusão

Com este estudo pretendeu dar-se um contributo para a valorização de produtos vegetais de fraca qualidade comercial, os quais, através de tecnologia de processamento, originando doses de polpa de hortícolas congeladas, embaladas em diferentes proporções, constituem matrizes para a reconstituição de diferentes sopas.

Ao longo de doze meses de conservação pode concluir-se através dos parâmetros de qualidade, que as polpas congeladas apenas sofreram ligeira alteração na acidez, a partir do nono mês, na polpa de tomate. A partir do terceiro mês verificou-se uma diminuição da atividade antioxidante em todas as polpas. A nível microbiológico mantiveram-se estáveis sem alteração da flora microbiana.

Uma vez que os consumidores não só pontuaram bases de sopas, de excelentes e muito boas, como afirmaram que as comprariam, caso se encontrassem disponíveis no mercado. A integração destes produtos, ao longo da fileira de produção, vêm contribuir para a sustentabilidade de uma nova gama de produtos congelados de elevada qualidade, conveniência e valor acrescentado, promovendo a competitividade do sector.

O processamento de vegetais para sopas constitui uma boa alternativa para a valorização de novos produtos de forma sustentada, aumentando a sua presença no mercado nacional e com projeção nos mercados internacionais.

Referencias

- Allende, A.; Tomás-Barberán, F.A.; Gil, M.I. 2006. Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology* 17: 513-519.
- Benzie, I. F., Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76
- Caldas, Z.; Araújo, F., Machado, A., Alves, F. 2010. Investigação de qualidade das polpas de frutas congeladas comercializadas nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. *Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)* v.5, n.4, p. 156 -163.
- Hertog M. G. L., Hollman P. C. H.e Kahn M. B. 1992. Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in The Netherlands. *Journal of Agriculture. Food Chemistry*. Vol 40, pp. 2379-2383.
- Lako J., Trenerry V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Southeeswaran S Premier R. , 2007 Phytochemical flavonoils, carotenoids and antioxidant proprerties of selection of Fijaian fruit, vegetables and other reality available foods. *Food Chemistry*; 101 (4): 1727-1741.
- Lavelli, V.; Pagliarini, E.; Ambrosoli, R.; Minati, J.L.; Zanoni, B. 2006. Physicochemical, microbial, and sensory parameters as indices to evaluate the quality of minimally-processed carrots. *Postharvest Biology & Technology* 40:34-40.
- Ravelo-Pérez, L. M., Hernández-Borges, J., Rodríguez-Delgado, M. Á., Borges-Miquel, T. 2008. Spectrophotometric Analysis of Lycopene in Tomatoes and Watermelons: A Practical Class. *The Chemical Educator*. Vol. 13 (1), pp.11-13. DOI 10.1333/s00897082104a
- Scherer, R. e Godoy, H. T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* Vol. 112, pp. 654–658.
- Slinkard K., Singleton V.L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology Viticulture* 28:49-55.
- Sousa, MB; Ferreira A; Sapata, MM; Ramos AC; Serrano, MC. (2014) – Sopas de polpas de vegetais congeladas. Monografia ISBN 978-972-579-040-3, edição INIAV, pp 34.

Quadros e Figuras

Quadro 1– Identificação dos vegetais

Nome comum	Nome científico	Cultivar
Alho francês	<i>Allium porrum</i> L.	cv. Zermatt
Batata	<i>Solanum tuberosum</i> L.	cv. Mona Lisa
Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> L.	cv. Cruenta Rubra
Brócolos	<i>Brassica oleracea</i> L.	cv. Naxus
Cebola	<i>Allium cepa</i> L.	cv. Reca
Cenoura	<i>Daucus carota</i> L.	cv. Nantes
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	cv. Bigram

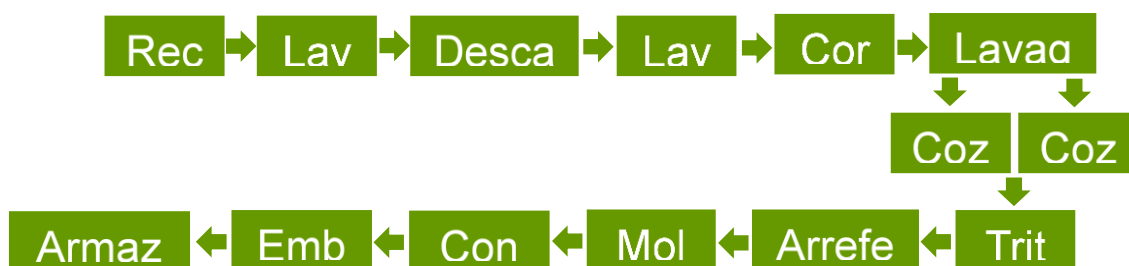


Figura 1 – Sequenciação das operações unitárias para o fabrico de polpas de vegetais

Quadro 2 – Tempos de cozedura (vapor e ebulição) e relação água:produto (ebulição)

Espécie	Preparação	Cozedura vapor tempo (min)	Cozedura ebulição tempo (min)	água:produto
Alho francês	Cortado em troços, lavado	25	20	2:1
Batata	Descascada, lavada, cortada aos cubos	25	8	1:2
Beterraba	Descascada, lavada, cortada aos cubos	30	20	2:1
Brócolos	Lavados, cortados e separados em floretes	15	8	1:1
Cebola	Descascada, lavada, cortada aos cubos	20	12	1:2
Cenoura	Descascada, lavada, cortada aos cubos	30	15	1:2
Tomate	Lavado, cortado	12	5	1:7

Quadro 3 – Formulações de sopas (número de porções congeladas)

Sopa	Batata	Cebola	Cenoura	Brócolos	Alho francês	Beterraba	Tomate
Básica	4	2					
Cenoura	2	1	3				
Tomate	2	1					5
Brócolos	2	1		3			
Alho Francês	3				3		
Beterraba	1	1	1			3	
Legumes (1)	2	1	1	1			1
Legumes (2)	2	1	1		1	1	

Quadro 4 – Métodos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais

	Métodos
Físico-química	<p>Cor – colorímetro de refletância (L*, a*, b*); teor em sólidos solúveis totais (°Brix) - refratômetro Atago;</p> <p>pH – potenciômetro;</p> <p>Acidez titulável - titulação por potenciometria, expresso em ácido cítrico;</p> <p>Capacidade antioxidante - método de redução do íon ferro-FRAP (Benzie e Strain, 1996) e método de captação de radicais livres (DPPH) (Scherer e Godoy, 2009);</p> <p>Compostos fenólicos totais - método de Folin-Ciocalteu (Slinkard e Singleton, 1977);</p> <p>Carotenóides totais (Ravelo-Pérez <i>et al.</i>, 2008);</p> <p>Licopeno, β-caroteno e luteína - identificação e quantificação - Cromatografia Líquida de alta resolução com detecção por fotodíodos (HPLC-PDA) (Lako <i>et al.</i>, 2007);</p> <p>Marcadores fenólicos (quercetina, canferol, ácido vanílico) - identificação e/ou quantificação - HPLC-PDA (Hertog <i>et al.</i>, 1992).</p>
Microbiologia	Flora aeróbia mesófila total – Plate Count Agar, 30°C, 48h; Bolores e leveduras - Rose Bengal com Chloramphenicol, 25°C, 5 dias; Coliformes totais – Violet Red Bile Glucose Agar, 30°C, 48h; <i>E. coli</i> – Violet Red Bile Glucose Agar, 43°C, 48h; <i>Staphylococcus aureus</i> - coagulase positiva - Baird Parker Agar, 37°C, 48h.
Sensorial	Painel de 8 provadores treinados

Quadro 5- Avaliação da cor (L*, a*, b*), °Brix e pH dos produtos laborados

Produtos	Tipo cozedura	L*	a*	b*	saturação	coloração (°)	° Brix	pH
Brócolos	ebulição 8"	46,0	-11,7	23,3	26,1	116,7	5,9	6,4
	vapor 15"	44,9	-11,3	23,2	25,8	116,0	7,5	6,3
Cenoura	ebulição 15"	45,7	19,0	37,6	42,1	63,1	6,8	6,1
	vapor 30"	45,2	18,7	39,5	43,7	64,6	7,5	5,8
Tomate	ebulição 5"	35,3	8,0	18,5	20,2	66,5	3,5	4,3
	vapor 12"	36,0	5,5	20,8	21,6	75,1	3,7	4,1
Batata	ebulição 12"	59,91	-6,38	19,50	20,52	108,13	17,50	6,02
	vapor 30"	65,73	-5,87	20,92	21,73	105,73	16,43	5,88
Cebola	ebulição 20"	38,25	-0,98	0,10	0,98	174,69	5,88	5,36
	vapor 30"	41,61	-2,01	0,42	2,07	167,15	6,23	5,32
Alho francês	ebulição 20"	54,05	-7,39	30,42	31,31	103,66	6,58	5,75
	vapor 25"	54,37	-7,88	29,30	30,34	105,06	5,70	5,80
Beterraba	ebulição 20"	16,78	18,79	3,93	19,19	11,80	6,23	5,88
	vapor 30"	16,55	18,41	4,02	18,84	12,31	5,63	5,53

Quadro 6 - Teor de carotenóides totais e atividade antioxidante (FRAP) em tomate, cenoura, brócolos e batata em fresco e após processamento em polpas

	Matéria prima		Cozedura a vapor		Cozedura em ebulição	
	Carotenóides totais (mg/g)	FRAP (μmol/g)	Carotenóides totais (mg/g)	FRAP (μmol/g)	Carotenóides totais (mg/g)	FRAP (μmol/g)
Tomate (Licopeno)	3,25±0,013	0,08±0,035	3,31±0,004	0,49±0,006	1,62±0,029	0,75±0,114
Cenoura (β-caroteno)	8,28±0,004	19,33±0,01	5,13±0,007	8,95±0,02	7,01±0,002	9,03±0,01
Brócolos (β-caroteno)	4,41±0,004	4,88±0,01	2,90±0,011	12,41±0,01	3,08±0,006	11,10±0,01
Batata (β-caroteno)	0,28±0,029	0,19±0,002	0,13±0,010	0,37±0,088	0,19±0,026	0,35±0,027

Nota: a capacidade antioxidante foi determinada no extrato obtido com n-hexano

Quadro 7 - Teor de compostos fenólicos (CF) e atividade antioxidante (FRAP) em batata, brócolos e cebola em fresco e após processamento em polpas

	Matéria prima		Cozedura a vapor		Cozedura em ebulição	
	CF (mg/g)	FRAP ($\mu\text{mol/g}$)	CF (mg/g)	FRAP ($\mu\text{mol/g}$)	CF (mg/g) ($\mu\text{mol/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol/g}$)
Batata	0,80 \pm 0,004	1,34 \pm 0,006	4,34 \pm 0,012	2,30 \pm 0,047	2,25 \pm 0,009	1,69 \pm 0,005
Brócolos	2,45 \pm 0,007	2,99 \pm 0,033	2,35 \pm 0,007	4,74 \pm 0,041	1,52 \pm 0,004	3,06 \pm 0,016
Cebola	3,11 \pm 0,007	3,36 \pm 0,005	2,31 \pm 0,004	2,28 \pm 0,007	2,54 \pm 0,010	2,31 \pm 0,005

Nota: a capacidade antioxidante foi determinada no extrato obtido por hidrólise em meio ácido

Capacidade de hidratação de três variedades Portuguesas de grão-de-bico: Elvar, Elixir e Eldorado

Ana Cristina Ramos¹, Armando Ferreira¹, Maria Beatriz Sousa¹, Maria João Trigo¹, Isabel Duarte², Paula Esteves¹

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade de Tecnologia e Inovação; Quinta do Marquês, 2784-505 Oeiras, PORTUGAL

² Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos, Apt. 6, 7350-901 Elvas, PORTUGAL

Resumo

A produção nacional de grão-de-bico é deficitária, embora esta espécie se adapte bem com exceção das zonas húmidas do norte e zonas costeiras, ao clima e solo do País, estando previsto um aumento da área de cultivo.

Das sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) desenvolvidas no INIAV-Elvas, já inscritas no Catálogo Nacional de Variedades (CNV), estão incluídas três variedades, com sementes de tegumento claro, do tipo Kabuli (Elvar, Elixir e Eldorado) destinadas à alimentação humana.

A variedade Elvar, a primeira das três a ser inscrita no Catálogo Nacional de Variedades (1992) apresenta calibre médio a grande, no entanto, condicionalismos associados ao regadio e às alterações ambientais origina a produção de sementes de calibre pequeno, limitando o seu aproveitamento na indústria das conservas. O mesmo se passa com as variedades Eldorado e Elixir que apresentam calibres inferiores a 9mm.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar três variedades portuguesas de grão-de-bico - Elvar, Elixir e Eldorado, quanto ao comportamento tecnológico, nomeadamente à operação de demolha (operação comum à utilização culinária e industrial, com exceção da produção de farinhas), de modo a demonstrar que o calibre não é a característica mais importante no que respeita ao valor comercial.

O comportamento das sementes de grão-de-bico à operação de demolha foi avaliado pelas alterações da semente, nomeadamente dimensões, massa, parâmetros da cor, e firmeza. São apresentados os resultados da capacidade de hidratação (HC) para diferentes tempos de hidratação das variedades em estudo.

Palavras-chave: *Cicer arietinum*, Biometria, Firmeza, Valor comercial.

Abstract

National production of chickpeas is deficient, although this species is well adapted except for the northern wetlands and coastal areas, the climate and soil of the country, and an increase in the area under cultivation is foreseen.

From the seed of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown in INIAV-Elvas, already registered in the National Variety Catalog (CNV), three varieties are included, with seeds of clear tement type Kabuli (Elvar, Elixir and Eldorado) intended for human consumption.

The Elvar variety, the first of the three to be registered in the National Catalog of Varieties (1992) presents medium to large size, however, constraints associated with irrigation and environmental changes lead to the harvesting of small caliber seeds, limiting their use in Canning industry. The same happens with the varieties Eldorado and Elixir that have calibres inferior to 9mm.

The objective of this work was to characterize the three Portuguese varieties of chickpeas - Elvar, Elixir and Eldorado, in terms of their technological behaviour, particularly in relation to demolishing operations (a common operation for culinary and industrial use, with the exception of flour production) in order to demonstrate that size is not the most important feature in terms of commercial value.

The behaviour of the chickpea seeds to the demolishing operation was evaluated by the changes of the seed, namely dimensions, mass, colour parameters, and firmness. Results of hydration capacity (HC), for different hydration times of the studied varieties, are presented.

Key words: *Cicer arietinum*, Biometrics, Firmness, Commercial value.

Introdução

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa de grão, bem adaptada ao clima mediterrânico, com grandes vantagens agronómicas, devendo ser incluída numa rotação de culturas, principalmente devido à sua capacidade para a fixação biológica de azoto.

As sementes de grão-de-bico contêm cerca de 20% de proteína, 5% de gordura e 55% de hidratos de carbono totais. Apesar do elevado teor proteico, de um modo geral é referido que as leguminosas de grão (GL) possuem baixa digestibilidade de proteínas e contêm compostos não nutricionais tais como taninos, ácido fítico e saponinas. Os processos de hidratação e cozedura são, portanto, necessários quer para melhorar as propriedades nutricionais, como para reduzir a quantidade desses compostos (Alajaji e El-Adawy, 2006).

As características do grão-de-bico para consumo humano estão fortemente associadas às suas propriedades tecnológicas, incluindo a capacidade de absorver água durante a demolha e cozedura, promovendo a gelatinização do amido. A rápida hidratação com o conseqüente ganho de peso e/ou volume máximo aliado à minimização da lixiviação e / ou perda de nutrientes ou problemas microbianos, é o desejável para os grãos que se destinam à indústria de conservas (Wood e Harden, 2006). A cinética da adsorção de água e da cozedura de grão-de-bico tem sido extensivamente estudada por diferentes autores (Ibarz *et al.*, 2004; Wood e Harden, 2006).

Da experimentação realizada no Instituto Nacional Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) em Elvas, sobre o comportamento e adaptação de GL concluiu-se que a grande maioria se adapta muito bem ao solo e clima de Portugal continental.

Três cultivares - Elvar, Eldorado e Elixir - com elevada adaptação a situações extremas de água e stress térmico foram desenvolvidas no INIAV e encontram-se registadas no Catálogo Nacional e Variedades (CNV). Apresentam diferenças agronómicas, contudo o conhecimento sobre as características tecnológicas dos grãos é escasso.

O objetivo deste trabalho foi estudar as características tecnológicas das sementes das cultivares Elvar, Eldorado e Elixir colhidas há um ano, nomeadamente no que respeita à capacidade de hidratação avaliando as características físico - químicas - massa, cor, hidratação e firmeza.

De referir que Portugal, neste momento apresenta défice na produção de grão-de-bico (cerca de 80% do grão-de-bico consumido é importado) muito embora reúna as condições para aumentar a produção em todo o País, exceto nas regiões húmidas do Norte de Portugal.

Material e métodos

Foram estudadas três cultivares de grão-de-bico (Elvar, Eldorado e Elixir) desenvolvidas no INIAV - Elvas e inscritas no Catálogo Nacional de Variedades. Depois de colhidas, as sementes foram armazenadas em sacos de papel opaco à temperatura ambiente. Os testes de avaliação foram conduzidos em paralelo para as 3 variedades.

Foram constituídas amostras de 100 sementes inteiras e limpas, as quais depois dos processos de demolha foram avaliadas quanto às dimensões (largura e altura (mm)), massa (g), cor CIELab, textura (firmeza) e capacidade de hidratação (CH).

Processo de demolha: O processo de demolha foi realizado a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, conforme descrito por Wood & Harden (2006). As amostras foram submetidas à demolha durante 3, 6, 9, 12 e 24 horas, tendo os ensaios sido realizados em triplicado.

Dimensões (largura e altura (mm)): Avaliada em 10 sementes selecionadas aleatoriamente com uma craveira digital.

Massa: O ganho de massa (MGt) foi expresso como a massa de água adsorvida por cada amostra de 100 sementes, de acordo com a expressão $MGt = (Mt - M0) / M0$, onde Mt é a massa registada no tempo t e M0 é a massa inicial (Wood & Harden, 2006, (AACC 2012a)). O aumento de massa em função do tempo de demolha reflete o comportamento na hidratação, sendo que a Capacidade de Hidratação (HC), expressa como percentagem da massa inicial, não depende das dimensões iniciais das sementes e o valor de HCmax

Cor: A avaliação da cor das sementes, durante a demolha foi determinada com um colorímetro CR 300 Minolta (Osaka, Japan), abertura de 8 mm e usando o iluminante C. As leituras (n=15) foram registadas nas coordenadas CIE ($L^*a^*b^*$). As coordenadas a^* e b^* foram transformadas em coordenadas polares para o cálculo da coloração/tonalidade (h°) e da saturação/cromaticidade.

Textura: A firmeza das sementes foi determinada utilizando um analisador de textura TA-HDi com uma célula de corte Mini Kramer. O teste foi realizado com amostras de $7,5 \pm 0,5$ g (n=6) determinando-se a força máxima à velocidade de teste de 1,5 mm/s. Os resultados da firmeza média foram expressos em N/g de acordo com AACC (2012).

Capacidade de hidratação: A capacidade de hidratação das sementes secas foi avaliada pelo ganho de massa e aumento das dimensões, após vários tempos de demolha.

Análise estatística: O tratamento estatístico foi efetuado com recurso ao software, StatisticaTM v8.0. Para a separação de médias utilizou-se o teste Scheffé com um nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

As características dimensionais das sementes secas, das variedades em estudo, encontram-se expressas na Tabela 1.

Os resultados permitem ordenar, por ordem crescente as sementes, relativamente à massa: Elvar < Elixir < Eldorado.

O comportamento das sementes de grão-de-bico à operação de demolha foi avaliado pelas alterações nas dimensões da semente (Tabela 2) e variação da massa (g/100g de sementes (Tabela 3)).

Sob o ponto de vista teórico, durante a demolha o grão-de-bico adsorve água até ao ponto de saturação ou até alcançar um equilíbrio, ponto a partir do qual deixa de se verificar retenção de água adicional.

As variações da massa (Tabela 3) de grão-de-bico em função do tempo de demolha expressam o comportamento de hidratação do grão, ou seja a Capacidade de Hidratação (HC).

O comportamento na demolha apresentou o tipo de evolução esperado para todas as variedades estudadas. Assim, verificou-se, para a variedade Eldorado, acréscimos de dimensões significativos com 3 h de demolha, a partir do qual as variações subsequentes deixaram de ser significativas ($p > 0,05$). Para as variedades Elvar e Elixir as diferenças deixaram de ser significativas a partir de 6h de demolha.

A capacidade de hidratação do grão-de-bico, em função do tempo de demolha, para as variedades (Elvar, Elixir, Eldorado) é representada na Figura 1 (expressa em % p/p).

Apesar de se ter verificado uma capacidade de hidratação (HC) da variedade Elvar tendencialmente superior à das variedades Elixir e Eldorado, as diferenças entre elas, não foram significativas, para todos os períodos testados.

A duplicação da massa ocorreu em todas as variedades durante o período de demolha estudado, sendo a variedade Eldorado a que demorou mais tempo a duplicar a massa. As variações de cor (coloração e saturação) do grão-de-bico, em função do tempo de demolha, para as diferentes variedades são apresentadas nas Figuras 2 e 3, respetivamente. Para todas as variedades, observou-se uma alteração significativa ($p < 0,05$) da tonalidade (cerca de 3 a 8 graus) nas primeiras 3 h de demolha, variação que expressa a alteração de amarelo para amarelo esverdeado. Para os seguintes tempos de demolha não se verificaram, de uma forma geral, variações significativas entre a tonalidade das diferentes variedades.

As variações da textura, expressas pelas alterações na firmeza do grão-de-bico em função do tempo de demolha, para as diferentes cultivares, estão representadas na Figura 4. A firmeza das sementes diminuiu de forma significativa ($p < 0,05$) ao fim de 6 horas de demolha (20°C), sendo as diferenças entre variedades para todos os restantes períodos sem significado e com valores de cerca de 66 N/g.

Conclusão

As variedades de grão-de-bico estudadas apresentaram comportamentos semelhantes à operação de demolha a 20°C. Para um tempo de demolha de 6h, a variedade Eldorado hidratou menos ($HC_{max} = 88\%$), do que as variedades Elixir e Elvar, que obtiveram valores de $HC_{max} = 95\%$. Considera-se que o calibre não é a característica mais importante sob ponto de vista tecnológico, pelo que se evidencia a necessidade de estudo da cinética de hidratação quando se avalia a aptidão tecnológica de variedades desenvolvidas para melhorias agrónomicas.

Referências

- Alajaji, Saleh A., & Tarek, A. El-Adawy (2006). Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 806–812.
- AACC International (2012a) Approved methods of analysis, 11th Ed. Method 56-35.01. Method for Determining Water Hydration Capacity and Percentage of Unhydrated Seeds of Pulses, 2012. AACC International, St. Paul, MN, USA.
- AACC International (2012b) Approved methods of analysis, 11th Ed. Method 56-36.01. Firmness of cooked pulses. Approved August, 2012. AACC International, St. Paul, MN, USA.
- Ibarz, A., González, C., Barbosa-Cánovas, G.V. (2004) Kinetic models for water adsorption and cooking time in chickpea soaked and treated by high pressure. *Journal of Food Engineering* 63, 467–472.

Wood, J. A. & S. Harden (2006). A Method to Estimate the Hydration and Swelling Properties of Chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Food Science*, Vol. 71, Nr.4, 190-195

Tabelas e Figuras

Tabela 1 - Características dimensionais (média \pm DP) das sementes de grão-de-bico estudadas.

Variedade	Massa (g)	Altura (mm)	Largura (mm)
Elvar	33,74 ^c \pm 0,53	9,1 ^a \pm 0,5	7,3 ^a \pm 0,4
Elixir	36,91 ^b \pm 0,50	9,4 ^{ab} \pm 0,4	8,3 ^b \pm 0,4
Eldorado	42,71 ^a \pm 0,55	9,9 ^b \pm 0,4	8,1 ^b \pm 0,4

Nota: (1) A dimensão da amostra é de 100 grãos.

(2) Valores médios com letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas a $p=0,05$ (Teste de Scheffé).

Tabela 2 - Variação das dimensões das sementes (mm) de grão-de-bico estudadas em função do tempo de demolha (médias \pm desvio padrão).

Tempo (h)	Elvar		Elixir		Eldorado	
	Altura	Largura	Altura	Largura	Altura	Largura
0	9,08 ^b \pm 0,48	7,31 ^c \pm 0,37	9,36 ^c \pm 0,43	8,30 ^b \pm 0,39	9,82 ^b \pm 0,44	8,11 ^b \pm 0,40
3	11,91 ^a \pm 0,55	9,49 ^b \pm 0,50	11,78 ^b \pm 0,51	10,06 ^a \pm 0,39	12,63 ^a \pm 0,72	10,35 ^a \pm 0,63
6	12,21 ^a \pm 0,50	9,92 ^{ab} \pm 0,43	12,25 ^a \pm 0,61	10,22 ^a \pm 0,44	12,93 ^a \pm 0,48	10,51 ^a \pm 0,51
9	12,34 ^a \pm 0,47	10,07 ^{ab} \pm 0,47	12,47 ^a \pm 0,54	10,44 ^a \pm 0,40	13,09 ^a \pm 0,58	10,50 ^a \pm 0,45
12	12,42 ^a \pm 0,61	10,83 ^a \pm 0,58	12,44 ^a \pm 0,44	10,29 ^a \pm 0,41	13,16 ^a \pm 0,33	10,56 ^a \pm 0,40
24	12,31 ^a \pm 0,70	10,14 ^{ab} \pm 0,53	12,37 ^a \pm 0,58	10,29 ^a \pm 0,41	13,10 ^a \pm 0,58	10,50 ^a \pm 0,50

Tabela 3 - Variação da massa (g) das variedades de grão-de-bico estudadas em função do tempo de demolha (médias \pm desvio padrão).

Tempo (h)	Elvar	Elixir	Eldorado
0	33,74 ^d \pm 0,53	36,91 ^d \pm 0,50	42,71 ^d \pm 0,55
3	55,18 ^c \pm 0,97	61,82 ^c \pm 1,04	71,96 ^c \pm 0,78
6	66,06 ^b \pm 0,48	72,03 ^b \pm 0,46	80,08 ^b \pm 0,71
9	68,71 ^a \pm 0,61	74,43 ^a \pm 1,09	84,12 ^a \pm 1,53
12	70,71 ^a \pm 0,44	75,22 ^a \pm 1,22	86,23 ^a \pm 1,54
24	71,03 ^a \pm 1,72	75,45 ^c \pm 0,38	85,74 ^c \pm 1,47

Nota: A dimensão da amostra é de 100 grãos.

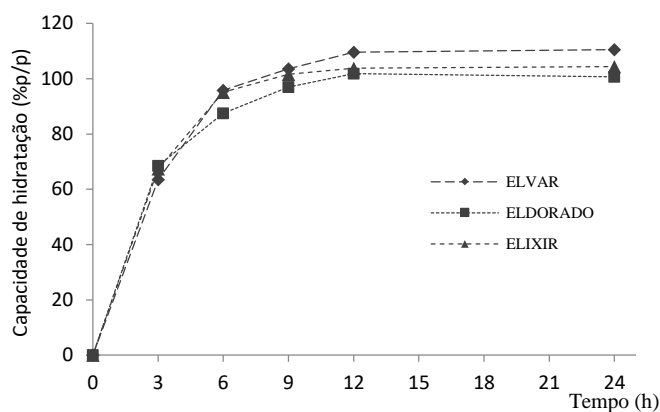


Figura 1 – Capacidade de hidratação dos grãos-de-bico (% p/p) das variedades: Elvar, Elixir, Eldorado, submetidos à operação de demolha (3, 6, 8, 12 e 24h).

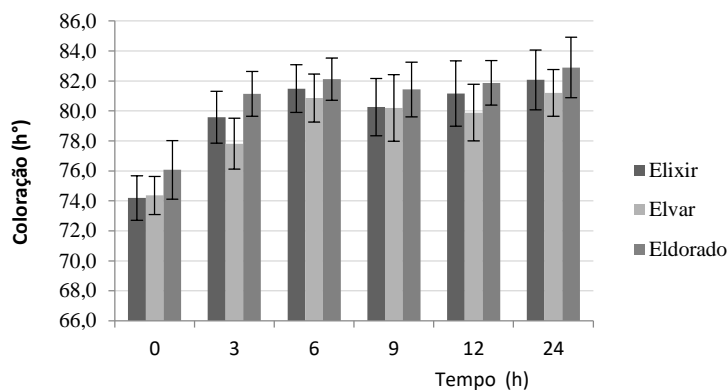


Figura 2 – Variação da tonalidade (h°) dos grãos-de-bico em função do tempo de demolha e da variedade (Elvar, Elixir, Eldorado).

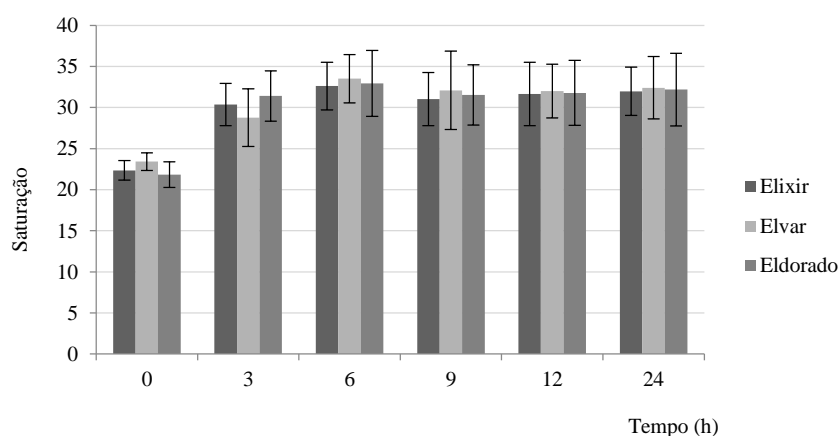


Figura 3 – Variação da saturação das sementes de grão-de-bico em função do tempo de demolha e da variedade (Elvar, Elixir, Eldorado).

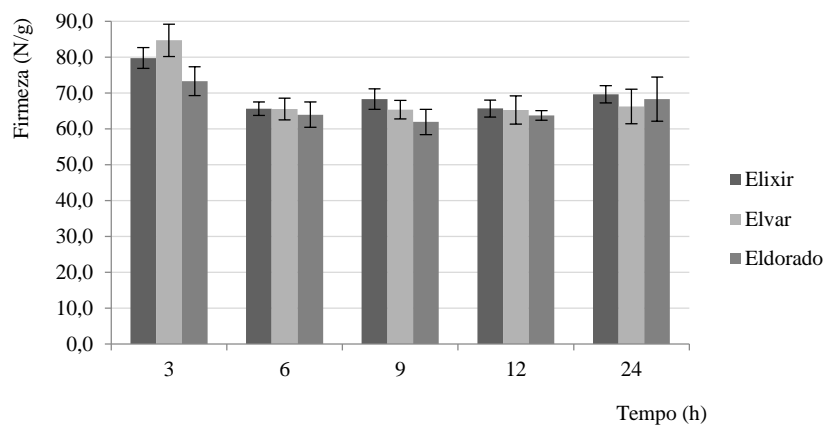


Figura 4 – Variação da firmeza (N/g) dos grãos-de-bico, em função do tempo de demolha e da variedade (Elvar, Elixir, Eldorado).

Efeito da desidratação osmótica nas características físico-químicas de amores-perfeitos e alface

Luana Fernandes^{1,2,3}, Susana Casal², José A. Pereira¹, Paula Baptista¹, Jorge Saraiva³ & Elsa Ramalhosa¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal, luana.f.1987@gmail.com, jpereira@ipb.pt, pbaptista@ipb.pt; elsa@ipb.pt

²LAQV@REQUIMTE/Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, sucasal@ff.up.pt

³Química Orgânica, Produtos Naturais e Agroalimentares (QOPNA) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal, jorgesaraiva@ua.pt

Resumo

As flores comestíveis, como os amores-perfeitos (*Viola×wittrockiana*), são altamente perecíveis, com um curto tempo de vida útil, o que dificulta a sua comercialização. Para além disso, as tecnologias de conservação mais utilizadas (ex. secagem com ar quente) têm um impacto negativo na qualidade e na aparência visual das flores.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como principal objectivo estudar novas tecnologias ou pré-tratamentos capazes de aumentar o tempo de vida útil dos amores-perfeitos e que afectem ao mínimo as suas propriedades. Nesse sentido, investigou-se o efeito da desidratação osmótica nos amores-perfeitos, utilizando diferentes soluções hipertónicas (sacarose e cloreto de sódio), tendo-se avaliado diversas características físico-químicas, tais como: aparência visual, variação de massa, actividade da água (a_w), cor, carotenóides totais e antocianinas monoméricas. Os mesmos tratamentos e análises foram aplicados à alface para comparar o comportamento dos amores-perfeitos e relação a outro vegetal.

Verificou-se que a desidratação osmótica de amores-perfeitos não originou a expectável perda de massa, a a_w manteve valores elevados ($> 0,94$) e as antocianinas monoméricas foram preservadas. Este fenómeno deve-se à existência na superfície dos amores-perfeitos de estruturas superhidrofóbicas, papilas, que aumentam a resistência às trocas com soluções hipertónicas. Ao aplicar condições mais drásticas, como imersão em cloreto de sódio durante mais de 1 hora, verificaram-se alterações indesejáveis na textura e cor. Na alface, todos os tratamentos ocasionaram a expectável perda de massa e redução da a_w , bem como uma redução nos carotenóides totais, tendo a imersão em cloreto de sódio provocado mais danos na aparência visual do que em sacarose.

Em conclusão, a desidratação osmótica pode ser aplicada como tratamento ou pré-tratamento à alface, no entanto nos amores-perfeitos não se verificou o efeito desejado devido à estrutura morfológica da sua epiderme.

Palavras-chave: *Viola×wittrockiana*; *Lactuca sativa*; soluções osmóticas; carotenóides totais; antocianinas monoméricas.

Abstract

Edible flowers, such as pansies (*Viola × wittrockiana*), are highly perishable, have limited shelf-life, which makes their commercialization difficult. The most commonly used processes to preserve these flowers (ex. hot air drying) can have negative impact on their quality and visual appearance.

The main objective of the present study was to find new technologies or pre-treatments capable of increasing pansies shelf-life and affecting their properties to a minimum. In this sense, the effect of osmotic dehydration on several physico-chemical characteristics, such as visual appearance, mass variation, water activity (a_w), color, total carotenoids and monomeric anthocyanins, were investigated after applying different hypertonic solutions (sucrose and sodium chloride). The same treatments and analyzes were applied to lettuce to compare the behavior of pansies with other vegetables.

It was found that osmotic dehydration of pansies did not cause the expected weight loss, a_w remained high (> 0.94) and monomeric anthocyanins were preserved. This is due to the existence of super-hydrophobic structures at pansies' surface, called papillae, which increase the resistance of mass exchanges with hypertonic solutions. When applying more drastic conditions, as sodium chloride for more than 1 hour, undesirable textural and color changes were observed, indicative of some solute interaction. For lettuce, all treatments caused a considerable weight loss and a reduction on a_w and total carotenoids; however, sodium chloride caused more damages in visual appearance than sucrose.

In conclusion, osmotic dehydration can be applied as treatment or pre-treatment to lettuce, while in pansies the desired effect was not observed, due to the morphological structure of their epidermis.

Keywords: *Viola × wittrockiana*; *Lactuca sativa*; osmotic solutions; total carotenoids; monomeric anthocyanins.

Introdução

Os amores-perfeitos são flores comestíveis, geralmente adicionadas a saladas ou usadas para enfeitar sobremesas (bolos e gelados) e bebidas. No entanto, as suas flores têm um tempo de vida curto, resultado da perda de massa, descoloração, senescência, desidratação e escurecimento das pétalas após colheita. O mercado de flores comestíveis utiliza actualmente a refrigeração e a secagem com ar quente como técnicas de conservação. Contudo, também têm sido conservadas em açúcar ou transformadas em destilados, de modo a preservá-las durante mais tempo. No entanto, estes processos podem ter um impacto negativo na qualidade nutricional e sensorial. Para que haja crescimento do mercado de flores comestíveis, é necessário encontrar novas tecnologias ou pré-tratamentos capazes de prolongar o seu tempo de vida, tentando-se preservar ao máximo as suas propriedades.

A imersão em soluções osmóticas é uma tecnologia comum na desidratação de alimentos, através da qual se pretende diminuir a actividade da água, sem danificar o aspecto visual dos produtos. Actualmente, foram feitos ainda poucos estudos sobre o efeito da desidratação osmótica em flores comestíveis, incidindo apenas em brócolos (Xin et al., 2013) e couve-flor (Vijayanand et al., 1995, Jayaraman et al., 1990), flores menos reconhecidas como tal pelos consumidores.

Nesse sentido, o principal objectivo do presente trabalho foi investigar o efeito da desidratação osmótica em amores-perfeitos, utilizando diferentes soluções hipertónicas (sacarose e cloreto de sódio), pela avaliação de diversas características físico-químicas,

tais como: aparência visual, variação de massa, actividade da água (a_w), cor, carotenóides totais e antocianinas monoméricas. Os mesmos tratamentos e análises foram aplicados à alface para comparar o comportamento dos amores-perfeitos com outros vegetais.

Material e Métodos

Amostragem e desidratação osmótica

Amores-perfeitos (produzidos em produção biológica, com a parte central roxa e parte externa branca) foram colhidos na estufa da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (Bragança, Portugal), tendo sido imediatamente transportados para o laboratório sob refrigeração. A alface fresca (lisa) foi comprada num mercado local na cidade de Bragança.

As soluções osmóticas de sacarose a 60 e 80% (m/v) e de cloreto de sódio a 15, 20 e 25%, foram preparadas dissolvendo as quantidades necessárias de sacarose ou cloreto de sódio em água destilada. Os amores-perfeitos e as folhas de alface foram submersos nas diferentes soluções de cloreto de sódio/sacarose (15, 30 min, 1 e 2 h para cloreto de sódio; 1 e 2 h para sacarose). Posteriormente as amostras foram escurridas, suavemente secas com papel adsorvente e pesadas.

Caracterização físico-química

A cor dos amores-perfeitos (partes branca e roxa separadamente) e alface foi avaliada em três amostras de cada tratamento, com um colorímetro Minolta CR-400 (Osaka, Japão), utilizando o modo CIELab (coordenadas L^* , a^* e b^*). De forma a avaliar a existência de alterações de cor face à amostra fresca, determinaram-se os valores de ΔE^* através da seguinte equação: $\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta a^*)^2}$. A actividade da água (a_w) foi determinada em três amostras antes do tratamento (controlo) e após a imersão nas soluções osmóticas, num medidor de actividade de água portátil (Novasina, LabSwift-aw, Lachen, Suíça). A massa foi medida numa balança digital (Kern ACJ/ACS, Balingen, Alemanha), tendo a variação de massa sido determinada em relação à massa inicial e expressa em percentagem (variação de massa = $(M-M_0)/M_0 \times 100$, onde M_0 = massa de amostra inicial e M = massa de amostra após tratamento).

O teor de carotenóides totais foi determinado de acordo com o método descrito por Aquino-Bolaños et al. (2013).

Para determinar as antocianinas monoméricas totais realizou-se previamente uma extracção, segundo o método descrito por Li et al. (2014), tendo o extracto obtido sido redissolvido em metanol até uma concentração de 50 mg de extracto/ml. Os teores de antocianinas monoméricas totais foram posteriormente estimados pelo método do diferencial de pH, seguindo as metodologias descritas por Bchir et al. (2012) e Rajasekar et al. (2012).

Resultados e Discussão

Aparência visual

Na Figura 1 pode-se observar a aparência visual dos amores-perfeitos e alface após terem sido sujeitos aos vários tratamentos osmóticos. Os amores-perfeitos e as folhas de alface submetidos aos tratamentos com sacarose e com a menor concentração de NaCl (15%, durante 15 ou 30 min) apresentaram uma aparência semelhante às amostras frescas. Contudo, quando foram aplicadas concentrações maiores de NaCl (20 e 25%) e tempos de imersão mais longos (1 e 2 h), observaram-se danos estruturais, bem como alterações da cor: tanto os amores-perfeitos como a alface ficaram mais frágeis, e as folhas de alface escureceram.

Cor, variação de massa e a_w

As maiores variações de cor, traduzidas nos maiores valores de ΔE^* e desvios-padrão, foram observadas tanto nos amores-perfeitos como na alface tratadas com cloreto de sódio (Quadro 1). Considerando que valores de ΔE^* superiores a 3 indicam que há diferenças de cor detectáveis pelo olho humano (Trivellini et al., 2014), quase todos os tratamentos com sacarose e NaCl induziram diferenças de cor detectáveis pelos consumidores. Nos amores-perfeitos verificaram-se valores diferentes de ΔE^* entre as partes branca e roxa. Em geral, na parte branca observaram-se valores de ΔE^* mais baixos do que na roxa, não se detectando diferenças significativas entre os tratamentos na parte branca, com exceção do tratamento com NaCl a 15% durante 1h. Pelo contrário, a parte roxa mostrou ser mais sensível, observando-se alterações significativas nos seguintes tratamentos: 80% sacarose/2h, 15% NaCl/15 min, 15% NaCl/30 min e 15% NaCl/2h. Na alface verificaram-se valores constantes de ΔE^* , sem diferenças significativas detectadas entre tratamentos, com exceção de 60% sacarose/2h.

Os maiores valores de atividade da água (a_w) foram detectados nas amostras frescas. Nos amores-perfeitos observou-se uma diminuição dos valores de a_w após todos os tratamentos, excepto com NaCl 15%/30 min. Contudo, quando se utilizou sacarose, não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos. A imersão em NaCl durante tempos mais longos (ex: 1 e 2 h a 15%) ou o uso de maiores concentrações de sal (20 e 25%) causaram uma maior diminuição nos valores de a_w . Na alface, à medida que os tempos de imersão e as concentrações do soluto aumentaram, os valores de a_w foram menores. No entanto, esta diminuição foi mais pronunciada quando se utilizou cloreto de sódio como solução osmótica.

Em geral, nos amores-perfeitos a massa não diminuiu em todos os tratamentos, provavelmente como resultado de existirem em ambos os lados da epiderme das pétalas uma estrutura chamada papilas (células epidérmicas cónicas) (Weryszko-Chmielewska & Sulborska, 2012) que são referidas como sendo superhidrofóbicas (Schulte et al., 2011), o que dificulta as trocas com a solução osmótica. Para além disso, o aumento de massa observado pode ser resultado da acumulação de alguma sacarose ou cloreto de sódio no exterior das flores. No entanto, quando os amores-perfeitos foram imersos em cloreto de sódio nas diferentes concentrações (15, 20, 25%) durante 1 hora, observou-se perda de massa, provavelmente porque ocorreu alguma ruptura celular, contribuindo para uma aparência insatisfatória (Quadro 1). Em relação à alface, todos os tratamentos induziram perda de massa, ocorrendo desidratação osmótica efetiva. Assim, verificou-se que os amores-perfeitos e a alface têm comportamentos distintos face à desidratação osmótica.

Carotenóides totais e antocianinas monoméricas

Os maiores valores de carotenóides totais foram observados nas amostras frescas (Quadro 2), tanto nos amores-perfeitos como na alface (75,4 e 72,8 μg β -caroteno/g de matéria fresca, respectivamente). Em geral, observou-se uma diminuição no teor de carotenóides com os tratamentos osmóticos. Esta diminuição pode ser devida à lixiviação parcial desses pigmentos à medida que o stress osmótico aumenta, como resultado da quebra das estruturas celulares (Tadesse et al., 2015), ou pelo facto dos carotenóides serem susceptíveis à oxidação, isomerização e outras alterações químicas. Amostras imersas em sacarose apresentaram menor conteúdo de carotenóides do que em cloreto de sódio. Nos amores-perfeitos, o tratamento que reteve a maior quantidade de carotenóides foi o de NaCl 15%/30 min de imersão e para a alface 15% NaCl/15 min.

Os teores de antocianinas monoméricas totais só foram reportados para os amores-perfeitos, uma vez que na alface os valores detectados estavam abaixo do limite de detecção (Quadro 2). Em geral, os amores-perfeitos tratados com sacarose não apresentaram diferenças significativas com as amostras frescas (indicando a não existência de degradação ou lixiviação destes compostos), excepto na imersão em sacarose a 60% durante 1 h que induziu a um ligeiro aumento significativo das antocianinas monoméricas totais em comparação com amostras frescas. Relativamente à imersão em NaCl, apenas no tratamento com 15% NaCl/2h se verificou uma diminuição no teor de antocianinas monoméricas quando comparado com a amostra fresca. Este resultado pode dever-se ao aumento da pressão osmótica com o aumento do tempo de imersão das flores na solução de NaCl, originando uma maior perda de antocianinas (pigmentos solúveis em água) ou ter ocorrido incorporação de sal à superfície dos amores-perfeitos, aumentando o peso fresco e diminuindo a concentração relativa de antocianinas.

Conclusões

Em conclusão, a desidratação osmótica de amores-perfeitos é dificultada pela presença de estruturas superhidrofóbicas à superfície destas flores, designadas papilas (células epidérmicas cónicas), que dificultam a transferência de massa entre as soluções de sacarose ou cloreto de sódio e os amores-perfeitos. Em geral, quando os amores-perfeitos são imersos em soluções osmóticas observa-se um ganho de massa, valores altos de a_w e de antocianinas monoméricas. Pelo contrário, altas concentrações de NaCl (>20%) provocaram danos estruturais e alterações de cor apesar de terem sido um pouco mais eficientes na redução de massa. Por outro lado, na alface todos os tratamentos osmóticos causaram perda de massa e redução dos valores de a_w . Em suma, a desidratação osmótica não pode ser aplicada com sucesso a amores-perfeitos, ao contrário da alface.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal) pelo apoio financeiro prestado à bolsa de investigação SFRH/BD/ 95853/2013 e FCT/MEC pelo apoio financeiro à Unidade de Investigação QOPNA (FCT UID/QUI/00062/2013), através de fundos nacionais e, quando aplicável co-financiado pelo FEDER, no âmbito do Acordo de Parceria PT2020. O REQUIMTE também agradece à FCT através do Projeto UID/QUI/50006/2013. Os autores também agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT, Portugal) e ao FEDER no âmbito do programa PT2020 pelo apoio financeiro ao CIMO (UID/AGR/00690/2013).

Referências

- Aquino-Bolaños, E. N., Urrutia-Hernández, T. A., Del Castillo-Lozano, M. L., Chavéz-Servia, J. L. & Verdalet-Guzmán, I. 2013. Physicochemical parameters and antioxidant compounds in edible squash (*Cucurbita pepo*) flower stored under controlled atmospheres. *Journal of Food Quality* 36:302–308.
- Bchir, B., Besbes, S., Karoui, R., Attia, H., Paquot, M. & Blecker, C. 2012. Effect of air-drying conditions on physico-chemical properties of osmotically pre-treated pomegranate seeds. *Food and Bioprocess Technology* 5:1840-1852.
- Jayaraman, K. S., Das Gupta, D. K. & Rao, N. B. 1990. Effect of pretreatment with salt and sucrose on the quality and stability of dehydrated cauliflower. *International Journal of Food Science & Technology* 25:47–60.

- Li, A. -N., Li, S., Li, H. -B., Xu, D. -P., Xu, X. -R. & Chen, F. 2014. Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods* 6:319-330.
- Rajasekar, D, Akoh, C. C., Martino, K. G. & MacLean, D. D. 2012. Physico-chemical characteristics of juice extracted by blender and mechanical press from pomegranate cultivars grown in Georgia. *Food Chemistry* 133:1383-1393.
- Schulte, A. J., Droste, D. M., Koch, K. & Barth, W. 2011. Hierarchically structured superhydrophobic flowers with low hysteresis of the wild pansy (*Viola tricolor*) – new design principles for biomimetic materials. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 2:228–236.
- Tadesse, T. F., Abera, S. & Worku, S. 2015. Nutritional and sensory properties of solar-dried carrot slices as affected by blanching and osmotic pre-treatments. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 5:24-32.
- Trivellini, A., Gordillo, B., Rodríguez-Pulido, F. J., Borghesi, E., Ferrante, A., Vernieri, P., Quijada-Morín, N., González-Miret, M. L. & Heredia, F. J. 2014. Effect of salt stress in the regulation of anthocyanins and color of *Hibiscus* flowers by digital image analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:6966–6974.
- Vijayanand, P., Chand, N. & Eipeson, W. E. 1995. Optimization of osmotic dehydration of cauliflower. *Journal of Food Processing and Preservation* 19:229-242.
- Weryszko-Chmielewska, E. & Sulborska, A. 2012. Diversity in the structure of the petal epidermis emitting odorous compounds in *Viola×wittrockiana* Gams. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 11:155-167.
- Xin, Y., Zhang, M. & Adhikari, B. 2013. Effect of trehalose and ultrasound-assisted osmotic dehydration on the state of water and glass transition temperature of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.). *Journal of Food Engineering* 119:640–647.

Tabelas e Figuras

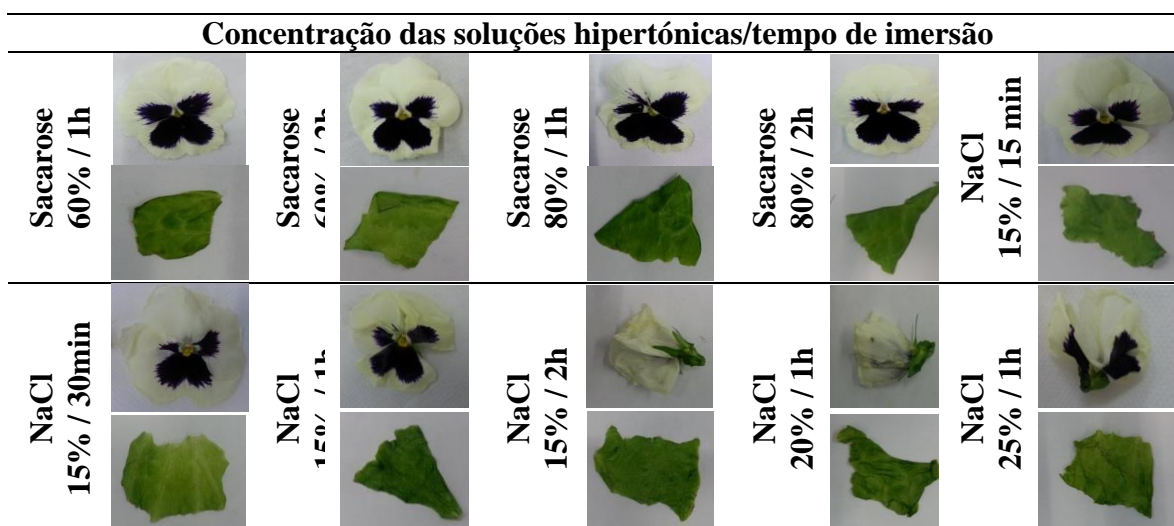


Figura 1 – Aparência dos amores-perfeitos e alface após aplicação dos diferentes tratamentos osmóticos.

Quadro 1 - ΔE^* , a_w , variação de massa (%) em amores-perfeitos e alface antes e após tratamentos com soluções hipertônicas

Condições	ΔE^*			a_w		Variação de massa (%)		
	Amores-perfeitos		Alface	Amores-perfeitos	Alface	Amores-perfeitos	Alface	
Fresco	Parte branca	Parte roxa	---	0,98±0,01 ^{b/c*}	0,99±0,01 ^{b/g*}	---	---	
Sacarose	60%/1h	3,34±0,38 ^a	3,56±3,32 ^{ab}	6,81±1,24 ^{ba}	0,96±0,01 ^a	0,97±0,01 ^c	2,2±1,3 ^a	-13,9±7,6 ^a
	60%/2h	4,51±2,12 ^a	3,72±0,60 ^a	8,51±2,99 ^a	0,96±0,01 ^a	0,97±0,01 ^a	3,2±0,6 ^{ab}	-24,4±3,1 ^a
	80%/1h	2,54±0,53 ^a	6,74±4,34 ^{ab}	5,32±2,59 ^b	0,96±0,01 ^a	0,96±0,01 ^a	6,8±2,4 ^b	-9,3±4,4 ^a
	80%/2h	4,73±1,93 ^a	10,93±4,00 ^b	5,19±1,67 ^b	0,96±0,01 ^a	0,95±0,01 ^a	2,5±1,2 ^a	-15,7±2,8 ^b
NaCl	15%/15min	3,38±1,62 ^a	18,48±11,96 ^{bc}	7,42±3,30 ^a	0,96±0,01 ^{c,d}	0,97±0,01 ^f	1,1±5,3 ^b	-15,4±3,4 ^b
	15%/30min	5,21±3,40 ^a	26,63±17,16 ^c	6,95±1,66 ^a	0,98±0,01 ^e	0,95±0,01 ^e	1,5±1,2 ^b	-16,0±6,2 ^b
	15%/1h	13,05±1,51 ^b	4,45±1,76 ^a	8,35±1,45 ^a	0,94±0,01 ^{ab}	0,94±0,01 ^d	-19,9±7,7 ^a	-30,3±2,2 ^{ab}
	15%/2h	6,75±4,43 ^a	18,10±6,48 ^{bc}	6,10±1,22 ^a	0,94±0,01 ^a	0,89±0,01 ^b	1,3±4,5 ^b	-26,1±0,4 ^{ab}
	20%/1h	5,80±4,01 ^a	5,99±4,74 ^{ab}	7,12±4,11 ^a	0,97±0,01 ^d	0,88±0,01 ^a	-0,9±0,3 ^b	-30,1±7,1 ^a
	25%/1h	3,71±0,87 ^a	3,64±2,96 ^a	6,65±1,15 ^a	0,95±0,01 ^{bc}	0,90±0,01 ^c	-23,0±2,5 ^a	-21,1±2,3 ^{ab}

Os valores são expressos em média±desvio padrão. Valores com a mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p>0.05$). *A primeira letra compara os valores da a_w da amostra fresca com os valores obtidos para as amostras desidratadas com sacarose e a segunda letra compara os valores da a_w da amostra fresca com os valores obtidos para as amostras desidratadas com cloreto de sódio.

Quadro 2 – Carotenóides totais e antocianinas monoméricas em amores-perfeitos e alface antes e após tratamento com soluções hipertônicas.

Condições	Carotenóides totais (mg β -caroteno/100 g matéria fresca)		Antocianinas monoméricas (mg Cy-3glu/100 g matéria fresca)	
	Amores-perfeitos	Alface	Amores-perfeitos	
Fresco	754±36 ^{b/c*}	73±5 ^{d/f}	13,4±1,2 ^{a/a,b}	
Sacarose	60%/1h	322±28 ^a	74±2 ^b	19,6±1,7 ^b
	60%/2h	319±21 ^a	94±18 ^c	15,6±3,0 ^a
	80%/1h	313±3 ^a	9,6±07 ^c	15,3±0,5 ^a
	80%/2h	386±13 ^a	52±1 ^c	14,0±1,4 ^a
NaCl	15%/15min	571±20 ^b	58±2 ^c	12,8±1,5 ^{a,b,c}
	15%/30min	770±57 ^c	42±27 ^d	15,6±2,0 ^{a,b,c}
	15%/1h	561±60 ^b	6±6 ^a	17,0±1,9 ^{b,c}
	15%/2h	357±51 ^a	21±4 ^c	11,5±1,7 ^c
	20%/1h	347±19 ^a	17±10 ^b	10,5±2,8 ^a
	25%/1h	292±11 ^a	16±2 ^b	12,7±1,2 ^a

Os valores são expressos em média±desvio padrão. Valores com a mesma letra na mesma coluna não são significativamente diferentes ($p>0.05$). *A primeira letra compara os valores da a_w da amostra fresca com os valores obtidos para as amostras desidratadas com sacarose e a segunda letra compara os valores da a_w da amostra fresca com os valores obtidos para as amostras desidratadas com cloreto de sódio.

Actividad antioxidante y fenoles totales en tápenas (*Capparis spinosa* L.)

Mar Grimalt¹, María Soledad Almansa², Asunción Amorós², Santiago García Martínez², Francisca Hernández¹ & Pilar Legua¹

¹Plant Sciences and Microbiology Department, Miguel Hernández University, Research Group in Plant Production and Technology, Ctra. de Beniel km 3,2 E-03312 Orihuela, Alicante, Spain p.legua@umh.es

²Applied Biology Department, Miguel Hernández University, Ctra. de Beniel Km 3,2 E-03312 Orihuela, Alicante, Spain

Resumen

Las tapeneras han sido usadas desde la antigüedad en la etnomedicina india. Se han utilizado con fines antimicrobianos, para aliviar la tos y la gripe, como antídoto contra venenos, así como prevención de enfermedades cardíacas y hepáticas, entre otras. En España se utilizan para alimentación los botones florales, frutos y brotes tiernos encurtidos.

En España, aunque esta especie se cultiva desde antiguo, se hace de forma minoritaria, por lo que las variedades no han sido investigadas en profundidad. En este trabajo se han estudiado dos cultivares, uno recolectado en Orihuela (Alicante) y otro en Serón (Almería). Dado que los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante son los parámetros que más contribuyen a las propiedades funcionales de los alimentos, en este trabajo se ha cuantificado la actividad antioxidante total (AAT), los fenoles totales, flavonoides y flavonoles de tápenas en 6 estados de desarrollo (nonpareilles, surfines, capucines, capotes, fines y gruesas). La AAT de los extractos se ha cuantificado por los métodos de ABTS, FRAP y DPPH. Además, se ha determinado mediante el método del ABTS la AAT de las fracciones hidrosolubles (AAT-H) y liposolubles (AAT-L). La AAT-H ha sido 10 veces mayor que la AAT-L en ambas variedades, siendo mayor la AAT-H en “Serón 2” que en “Orihuela 4”; mientras que la AAT-L ha sido mayor en “Orihuela 4” que en “Serón 2”. La tendencia de la AAT ha sido disminuir ligeramente al incrementar el tamaño de las tápenas, aunque la AAT-L incrementa en “Serón 2”. Los fenoles totales también tienden a disminuir con el incremento del tamaño del botón floral y son ligeramente mayores en “Serón 2” que en “Orihuela 4”. Las tápenas presentan una cantidad muy elevada de rutina (flavonol), por lo que los contenidos en flavonoles totales son muy altos y bastante parecidos a las concentraciones de flavonoides y polifenoles.

Palabras clave: ABTS, FRAP, DPPH, fenoles, flavonoides, flavonoles.

Abstract

Capers have been used since antiquity in Indian ethnomedicine. They have been used for anti-microbial purposes, to relieve cough and flu, as an antidote against poisons, as well as prevention of heart and liver diseases, among others. In Spain they are used for feeding the floral buds, fruits and buds tender pickles.

In Spain, although this species has been cultivated since ancient times, it is made in a minority form, so the varieties have not been investigated in depth. In this work two cultivars have been studied, one harvested in Orihuela (Alicante) and another in Serón (Almería). As phenolic compounds and antioxidant activity are the parameters that contribute the most to the functional properties of food, in this work the total antioxidant activity (AAT), total phenols, flavonoids and flavonols of capers have been quantified in

6 stages of development (nonpareilles, surfines, capucines, capotes, fines y gruesas). The AAT of the extracts has been quantified by the ABTS, FRAP and DPPH methods. In addition, the AAT of the water-soluble (AAT-H) and liposoluble (AAT-L) fractions has been determined by the ABTS method. The AAT-H has been 10 times greater than the AAT-L in both varieties, with AAT-H being higher in "Serón 2" than in "Orihuela 4"; While the AAT-L has been higher in "Orihuela 4" than in "Serón 2". The tendency of the AAT has been to slightly decrease with increasing the size of the caper, although the AAT-L increases in "Serón 2". Total phenols also tend to decrease with increasing floral bud size and are slightly higher in "Serón2" than in "Orihuela4". Capers present a very high amount of routine (flavonol), reason why the contents in total flavonols are very high and quite similar to the concentrations of flavonoids and polyphenols.

Keywords: ABTS, FRAP, DPPH, phenols, flavonoids, flavonols.

Introducción

La tapenera, alcaparra o alcaparro (*Capparis spinosa* L.) pertenece a la familia Capparaceae. Es un pequeño arbusto ampliamente distribuido por el área mediterránea muy resistente a sequía. Sus propiedades curativas y medicinales son conocidas desde la antigüedad y van unidas a la presencia de compuestos bioactivos de naturaleza antioxidante (flavonoides, flavonoles), azúcares, alcaloides vitaminas, etc. (Gull et al., 2015; Tlili et al., 2011). En la actualidad, el interés por consumir alimentos con beneficios para la salud va en aumento (Wu et al., 2004). La parte de mayor valor comercial de la tapenera son los botones florales (tápenas) encurtidos en vinagre o conservados en salmuera, demandados, sobre todo, en la Comunidad Valenciana, Región de Murcia y en la Comunidad Autónoma de Andalucía (Mascarós, 2010), siendo España y Marruecos los principales países productores. El objetivo principal de este trabajo ha sido evaluar algunos compuestos antioxidantes (flavonoides y flavonoles), así como la capacidad antioxidante total, hidro y liposoluble de los botones florales de tápenas en 6 estados de desarrollo de los cultivares, "Serón 2" y "Orihuela 4", recolectados en Serón (Almería) y en Orihuela (Alicante), respectivamente.

Material y Métodos

El **material vegetal** empleado han sido botones florales de tapenera de los cultivares: "Orihuela 4" obtenidos de la finca experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Alicante) (38° 5' 8" N, 0° 56' 49" O, a 23,6 m sobre el nivel del mar), y "Serón 2" obtenidos de una finca particular localizada en Serón (Almería) (37° 21' 07" N, 2° 32' 22" O, a 822 msnm). Ambos cultivares estaban cultivados en secano y fueron recolectados en mayo y julio de 2016. Las tápenas se recolectaron a mano e inmediatamente fueron llevadas al laboratorio, donde se clasificaron en 6 estados de desarrollo atendiendo a las Normas de Calidad para el comercio exterior de alcaparras (BOE 100 de 1984). La clasificación de las tápenas fue la siguiente: nonpareilles, diámetro inferior a 7 mm; surfines, entre 7-8 mm; capucines, entre 8-9 mm, capotes; entre 9-11 mm; fines, entre 11-13 mm y gruesas, superior a 13 mm. Las tápenas de cada estado y cultivar se separaron en tres lotes y se congelaron a -80°C para los análisis posteriores.

Para la determinación de la **actividad antioxidante**, se preparó un extracto metanólico. Para cada muestra se tomaron 0,1 g de material liofilizado que se mezclaron con 10 mL de metanol al 80% (v/v; + 1% HCl). Tras ser sonicado durante 15 minutos se dejó reposar a 4°C durante 24h. Después se centrifugó a 15,000 g. La actividad antioxidante total fue evaluada por tres métodos: (1) **DPPH** (radical 2,2-difenil-1-

picrilhidrazil) según Brand-Williams et al. (1995), con ligeras modificaciones en el tiempo de reacción. Se midió la disminución en la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Uvikon XS r (Bio-Tek Instruments, Saint Quentin Yvelines, Francia); (2) **ABTS** [ácido 2,2-azinobis-(3-ethylbenzotiazoline- 6-sulfónico)] y (3) **FRAP** (poder antioxidante reductor férrico) de acuerdo a la metodología propuesta por Re et al. (1999) y Benzie & Strain (1996), respectivamente. Se midió la absorbancia a 734 nm y 593 nm, respectivamente. Los resultados fueron expresados como mM de Trolox en peso seco.

Para la extracción de la **AAT-H** y **AAT-L** se homogenizaron 0,5 g muestra con 5 mL de tampón fosfato 50 mM y 5 mL de etil acetato. Las dos fracciones obtenidas se congelaron por separado a -80°C para su posterior análisis. La determinación de la actividad antioxidante de ambas fracciones se llevó a cabo según el método de Cano et al. (1998).

El contenido en **fenoles totales** fue determinado de acuerdo a la metodología propuesta por Singleton et al. (1999). La absorbancia se midió en un espectrofotómetro UV-Vis (Termospectromic Helios Gamma UVG 1002 E, Cambridge, UK). La curva patrón se preparó con ácido gálico y los resultados se expresaron en mg eq ácido gálico/100 g peso seco.

Para la extracción y cuantificación de **flavonoides y flavonoles** totales se realizó una extracción metanólica siguiendo el método de Argentieri et al. (2012), con ligeras modificaciones. La cuantificación de los **flavonoides** totales se realizó por espectrofotometría siguiendo el método de Chang et al. (2002). Se midió la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro Unicam Heλios α. Los resultados se expresaron en μg equivalentes de rutina/100 g de peso fresco. El análisis de los **flavonoles** totales se realizó por espectrofotometría siguiendo el método de Kumaran et al. (2007) ligeramente modificado. Se midió la absorbancia a 440 nm en un espectrofotómetro Unicam Heλios α. Los resultados se expresaron en μg equivalentes de rutina/100 g peso fresco.

Resultados y Discusión

La cuantificación de la actividad antioxidante en muestras biológicas depende en gran medida del método empleado para su determinación. La AAT de los extractos de tápenas se ha cuantificado por los métodos de ABTS, FRAP y DPPH, no encontrándose diferencias significativas entre variedades para un mismo método (Tabla 1). La **actividad antioxidante** por el método **ABTS** ha oscilado entre 3.27 y 5.73 mmol trolox/kg peso seco para la variedad “Orihuela 4” que no mostró diferencias con “Serón 2”. Los valores para el método **FRAP** han estado comprendidos entre 1.93 y 5.51 mmol trolox/kg peso seco sin diferencias entre variedades. Los valores obtenidos por el método **DPPH** han sido superiores (17.22-30.12 mmol trolox/kg peso seco) a los alcanzados por los métodos anteriores. No se ha observado una tendencia clara entre los distintos estados de desarrollo. Tlili et al. (2015) determinaron la capacidad antioxidante de extractos y semillas de *Capparis spinosa* en diferentes localidades tunecinas por el método DPPH y ABTS, y en algunos casos fue mucho menor (3.5 y 2.6 μg/mL, respectivamente) que la determinada por los métodos BHT y Trolox (17.3 y 3.5 μg/mL, respectivamente). En extractos metabólicos de tápenas argelinas Bouriche et al. (2011) encontraron una elevada actividad antioxidante por el método DPPH (53 μg/mL), mientras que frutos de *Capparis* de Baréin mostraron un valor medio de 9.06, 6.13 y 8.13 mmol TEAC/kg por el método FRAP, DPPH y ABTS, respectivamente.

En relación a la actividad antioxidante de la **fracción hidrosoluble (AAT-H)** y **liposoluble (AAT-L)** los resultados obtenidos han sido superiores en la fracción

hidrosoluble para ambas variedades (Tabla 2). Asimismo, la variedad “Serón 2” ha duplicado los valores de AAT-H sobre la variedad “Orihuela 4”; mientras que la AAT-L ha sido mayor en “Orihuela 4” que en “Serón 2”, aunque esa tendencia no se ha mantenido con las tápenas de mayor tamaño. La tendencia de la AAT ha sido disminuir ligeramente al incrementar el tamaño de las tápenas, aunque la AAT-L se incrementa en las tápenas finas y gruesas en “Serón 2”.

El contenido en **fenoles totales** osciló desde los 700-750 mg/100 g ps (nonpareilles) hasta los 490 mg/100 g ps (gruesas), por lo que el contenido en fenoles disminuyó a medida que las tápenas se desarrollaron. Este es el primer estudio que existe, que determina el contenido en fenoles totales, flavonoides y flavonoles a lo largo del desarrollo de la tápena. Tlili et al. (2010) determinaron los niveles de fenoles totales en tápenas y hojas de *C. spinosa* de diferentes localidades tunecinas, siendo estos muy superiores a los máximos encontrados en este trabajo, ya que sus valores medios oscilaron de $3.643,2 \pm 403,6$ a $2.621 \pm 643,62$ mg eq rutina/100 g pf en hojas y botones florales, respectivamente. Al parecer, las concentraciones de compuestos fenólicos y flavonoides varían dependiendo del método de extracción, de factores genéticos y de las condiciones climáticas y de crecimiento (Gull, et al., 2015). Estos valores presentaron una gran variabilidad en función de la localidad, sin embargo, en nuestro trabajo la variabilidad fue mucho menor, ya que los valores fueron muy parecidos en las tápenas de los dos cultivares, aunque los valores medios fueron mayores para “Serón 2”. Analizando las diferencias entre los cultivares “Orihuela 4” y “Serón 2” (Tabla 3) se observa que el contenido en fenoles totales solo mostró diferencias significativas en los estados capucines (\varnothing entre 8-9 mm) y capotes (\varnothing entre 9-11 mm), que fueron mayores en “Serón 2”. Sin embargo, el contenido en flavonoides fue significativamente mayor en “Serón 2” en todos los estados de desarrollo, excepto para nonpareilles ($\varnothing < 7$ mm); por otro lado, los flavonoles totales solo mostraron diferencias significativas a partir del estado capotes (\varnothing entre 9-11 mm), manteniéndose más altos hasta el final del desarrollo (gruesas: $\varnothing > 13$ mm) en “Serón 2”. Inocencio et al. (2000) estudiaron los niveles de flavonoides totales de tápenas de diferentes especies silvestres de *Capparis* de distintas localidades españolas, identificando como principales flavonoides: quercetin 3-rutinósido (rutina), kaempferol 3-ramnosil-rutinósido, y kaempferol 3-rutinósido. Los flavonoides totales mostraron un valor medio de $6,5 \pm 3,5$ mg/g pf, similar a los obtenidos para nuestros cultivares, que además fueron muy similares a los niveles de flavonoles encontrados (Tabla 3). Según Inocencio et al. (2000), la rutina representó el 68.4% y un 49.5% en muestras de *Capparis spinosa* obtenidas en Mallorca y Alicante, respectivamente. Estos datos son relevantes, ya que comparados con el contenido de flavonoles de partes comestibles de cebolla (39-42 mg/100 g pf), uno de los alimentos con mayor nivel de quercetin glicósidos (Hendler y Rorvik, 2008), las tápenas son una mayor fuente de flavonoides. Así, por ejemplo, tomar unos 10 g (unas 20 unidades) de tápenas en ensalada nos podría aportar unos 45-50 mg de flavonoles, superando a los 100 g de cebolla.

Conclusiones

La actividad antioxidante de la fracción hidrosoluble fue superior a la liposoluble en ambas variedades. La variedad “Serón 2” duplica los valores de AAT-H respecto a “Orihuela 4”, mientras que la AAT-L ha sido significativamente mayor en “Orihuela 4”. No se han encontrado diferencias significativas en la AAT cuantificada por los métodos: ABTS, FRAP y DPPH entre variedades para un mismo método. El contenido en fenoles totales disminuyó a medida que la tápena se desarrolló, y se observa que solo mostró diferencias significativas en los estados *capucines* y *capotes*, que fueron mayores en

“Serón 2”. Sin embargo, el contenido en flavonoides fue significativamente mayor en “Serón 2” en todos los estados de desarrollo excepto, en el estado de nonpareilles, por otro lado, los flavonoles totales solo mostraron diferencias significativas a partir del estado capotes, manteniéndose más altos hasta el final del desarrollo en “Serón 2”.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Consellería de Educación, Investigación, Cultura y Deportes de la Generalitat Valenciana la financiación para poder realizar esta investigación (AICO-2016/015).

Referencias

- Allaith, A.A.A. 2016. Assessment of the antioxidant properties of the caper fruit (*Capparis spinosa* L.) from Bahrain. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* 19:1-7.
- Argentieri, M., Macchia, F., Papadia, P., Fanizzi, F.P. y Avato, P. 2012. Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. *rupestris*. *Industrial Crops and Products* 36:65-69.
- Arnao, M.B., Cano, A. y Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73:239-244.
- Benzie, I.F.F. y Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76.
- Bouriche, H., Karnouf, N., Belhadj, H., Dahamna, S., Harzalah, D. y Senator, A. 2011. Free radical, metal-chelating and antibacterial activities of methonolic extract of *Capparis spinosa* buds. *Advances in Environmental Biology* 5: 281–287.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28:25-30.
- Cano, A., Hernández-Ruíz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. y Arnao, M. B. 1998. An End-point Method for Estimation of the Total Antioxidant Activity in Plant Material. *Phytochemical Analysis* 9:196–202.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., y Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3):178-182.
- Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Cervantes, M.A. y Nouman, W. 2015. *Capparis* species: A potencial source of bioactives and high-value components: A review. *Industrial Crops and Products* 67:81-96.
- Hendler, S.S. y Rorvik, D.R. eds. 2008. *PDR for Nutritional Supplements*. 2nd ed. Montvale: Thomson Reuters.
- Inocencio, C., Rivera, D., Alcaraz, F. Y Tomas-Barber, F.A. 2000. Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in Mediterranean countries. *European Food Research and Technology* 212:70-74.
- Kumaran, S.P., Kutty, B.C., Chatterji, A., Subrayan, P.P. y Mishra, K.P. 2007. Radioprotection against DNA damage by an extract of Indian green mussel *Perna viridis* (L). *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 26:263-272.
- Mascarós, S. 2010. Experimentos para la mejora de la propagación sexual de la alcaparra (*Capparis spinosa* L.) ETSIA-UPV. Valencia.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology* 299:152-178.
- Tlili, N., Khaldi, A., Triki, S. y Munné-Bosch, S. 2010. Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*). *Plant Foods for Human Nutrition* 65:260-265.
- Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A. y Nasri, N. 2015. Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different wild habitats. *Industrial Crops and Products* 76:930–935.
- Tlili, N., Nasri, N., Khaldi, A., Triki, S. y Munné-Bosch, S. 2011. Phenolic compounds, tocopherols, carotenoids and vitamin C of commercial caper. *Journal of Food Biochemistry* 35: 472-483.
- Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G. y Prior, R.L. 2004. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis* 17:407-422.

Tablas y Figuras

Tabla 1. Actividad antioxidante de los distintos estados de desarrollo de la tápena en las variedades "Orihuela 4" y "Serón 2". Letras diferentes indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0,05$).

	AAT-H		AAT-L	
	ORIHUELA4	SERÓN2	ORIHUELA4	SERÓN2
Nonpareilles	119.95±5.89 a	265.80±5.33 b	15.13±1.67 a	9.54±2.05 b
Surfines	136.30±2.31 a	251.88±22.20 b	13.39±1.17 a	8.67±2.71 b
Capucines	89.83±6.68 a	230.66±5.74 b	12.03±0.54 a	7.70±1.19 b
Capotes	107.60±4.71 a	214.22±11.18 b	30.53±1.36 a	10.15±2.04 b
Fines	98.56±6.18 a	256.53±6.20 b	3.81±0.48 a	12.17±4.11 b
Gruesas	81.12±10.19 a	240.36±5.51 b	4.98±1.03 a	12.12±2.69 b

Tabla 2. AAT-H y AAT-L de los distintos estados de desarrollo de la tápena en las variedades "Orihuela 4" y "Serón 2". Letras diferentes indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0,05$).

	ABTS		FRAP		DPPH	
	ORIHUELA4	SERÓN2	ORIHUELA4	SERÓN2	ORIHUELA4	SERÓN2
Nonpareilles	5.73±0.76 a	3.32±0.12 a	5.51±0.73 a	4.30±0.33 a	27.40±0.15 a	28.29±1.52 a
Surfines	3.47±0.22 a	3.41±0.07 a	2.17±0.23 a	3.11±0.05 a	25.29±0.08 a	25.91±2.21 a
Capucines	3.45±0.62 a	3.64±0.13 a	1.93±0.34 a	4.17±0.43 a	30.12±3.31 a	24.37±1.74 a
Capotes	3.64±0.14 a	3.80±0.53 a	3.95±0.33 a	4.91±0.77 a	19.16±0.12 a	20.86±0.59 a
Fines	5.14±1.15 a	4.55±0.67 a	5.64±1.44 a	4.84±1.50 a	21.54±2.21 a	27.33±2.22 a
Gruesas	3.27±0.23 a	3.60±0.60 a	3.47±1.09 a	5.17±0.21 a	17.22±0.30 a	20.27±1.61 a

Tabla 3. Fenoles, flavonoides y flavonoles totales de los distintos estados de desarrollo de la tápena en las variedades "Orihuela 4" y "Serón 2". Letras diferentes indican diferencias significativas entre variedades ($p < 0,05$).

	FENOLES		FLAVONOIDES		FLAVONOLES	
	ORIHUELA 4	SERÓN 2	ORIHUELA 4	SERÓN 2	ORIHUELA 4	SERÓN 2
Nonpareilles	751.25±76.10 a	704.84±4.23 a	530.59±21.90 a	466.31±2.27 a	450.71±60.77 a	550.77±5.60 a
Surfines	532.49±31.32 a	664.33±17.53 a	480.74±2.92 a	568.30±27.77 b	458.11±12.19 a	514.09±20.70 a
Capucines	471.39±2.67 a	711.77±23.04 b	471.38±2.67 a	582.26±4.35 b	453.82±6.03 a	500.03±10.92 a
Capotes	509.28±9.45 a	631.11±24.82 b	459.16±5.44 a	590.34±19.72 b	445.51±14.19 a	490.46±6.71 b
Fines	611.47±56.14 a	705.27±47.01 a	400.42±9.65 a	556.30±15.04 b	374.62±15.58 a	490.14±16.87 b
Gruesas	497.86±48.62 a	493.90±119.06 a	352.44±21.14 a	556.54±36.86 b	297.01±30.92 a	480.56±8.96 b

Caracterización de variedades tradicionales de tomate de acuerdo con su contenido en compuestos bioactivos

Pilar Flores^{1*}, Elena Sánchez¹, Juana Cava¹, Inmaculada Garrido¹, Josefa Gomariz¹, M. Virtudes Molina¹, Nuria López¹, Inmaculada González¹, José Fenoll¹ & Pilar Hellín¹

¹Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). c/ Mayor s/n, La Alberca, 30150 Murcia (Spain). *mpilar.flores@carm.es

Resumen

El tomate se considera un alimento de gran interés debido a su alto contenido en compuestos beneficiosos para la salud. Su efecto protector es atribuido a su contenido en carotenoides, principales compuestos bioactivos del fruto. Además, el tomate es rico en compuestos fenólicos, cuya ingesta se ha correlacionado con la disminución del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y cáncer. En la búsqueda de nuevos productos que satisfagan la demanda de los consumidores, las variedades tradicionales constituyen una amplia fuente de variación genética que puede ser usada *per se* o para la obtención de nuevos cultivares con alto valor funcional y que sean atractivos para el consumidor. Este trabajo se centra en el perfil de 53 variedades tradicionales de tomate, prestando especial atención en compuestos con reconocidas propiedades beneficiosas para la salud. El estudio incluye frutos con diferentes formas (achatados, ligeramente achatados, redondeados, cordiformes, cilíndricos y piriformes), colores (amarillo, rosa y rojo) y tamaños (desde muy pequeño hasta muy grande). Además, se incluyen frutos con coloración negra y color base amarillo, rosa o rojo. La mayor concentración de licopeno, β -caroteno, fitoeno y fitoflueno se encontró en frutos rosas y rojos, mientras que la mayor concentración de luteína, violaxantina, neoxantina y clorofila se encontró en frutos con coloración oscura, independientemente de su color base. Respecto a los compuestos fenólicos, los frutos clasificados por su tamaño como muy pequeños, presentaron el mayor contenido de ácido clorogénico, kaempferol-3-*O*-rutinosido y rutina

Palabras clave: antioxidants, fitoquímicos, isoprenoides green-flesh, BAGERIM.

Abstract

Tomato is considered as a food of great interest because its high content of health-related compounds. This protective effect has mainly been attributed to carotenoids, which are one of the major bioactive compounds in this fruit. In addition, tomato fruits are rich in phenolic compounds whose intake have been relate to a lower risk of cardiovascular diseases and development of cancers. In the search for new products that meet current consumer demand, traditional varieties constitute a wide source of genetic variation that can be used *per se* or to obtain new cultivars with high functional value and consumer appeal. This work focuses on the bioactive profile and content of 53 traditional tomato cultivars, paying particular attention in compounds with recognized health-promoting properties. The study includes fruits with different shapes (oblate, slightly flattened, rounded, heart-shaped, long oblong and pyriform), colours (yellow, pink and red) and sizes (very small to very large). In addition, black coloured tomato fruits with yellow, pink or red background colour were studied. The highest concentrations of lycopene, β -carotene, phytoene and phytofluene were found in pink and red tomatoes, while the highest concentrations of lutein, violaxanthin, neoxanthin and chlorophylls were found in fruits with a dark coloration, regardless of their background coloration. As

regards phenolic compounds, fruits being classified as very small presented the highest content of chlorogenic, kaempferol-3-*O*-rutinoside, and rutin.

Keywords: antioxidants, phytochemical, isoprenoids, green-flesh, BAGERIM.

Introducción

Frutas y hortalizas son la fuente principal de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante que protegen frente a los radicales libres causantes de los procesos de envejecimiento y de numerosas enfermedades (Espin et al., 2007). Los principales constituyentes antioxidantes son, entre otros, diversos grupos de polifenoles (Tapas et al., 2008; Castaneda-Ovando et al., 2009), carotenoides (Kiokias & Gordon, 2004) y clorofila (Ferruzzi & Blakeslee, 2007). Desafortunadamente, en las últimas décadas, la industria agroalimentaria ha priorizado variedades con alto rendimiento, buena calidad externa, resistencia a enfermedades y larga vida útil, descuidando la calidad nutricional y organoléptica (Bruhn et al., 1991), provocando así la insatisfacción de los consumidores. Debido a esto, algunos programas de mejora se están reorientando hacia la obtención de productos de alta calidad sensorial y nutricional. La variabilidad presente en las variedades tradicionales puede ser muy útil para este fin. A pesar de que los materiales tradicionales pueden ser menos competitivos en productividad, homogeneidad visual y manejo poscosecha, a menudo poseen una calidad organoléptica y nutricional muy superior a las variedades comerciales, como se ha observado en tomate y pimiento (Ruiz et al., 2005; Rodríguez-Burruezo et al., 2013). Además, las variedades tradicionales presentan otras ventajas como una adaptación específica a condiciones agroclimáticas locales, distintas a las de producción intensiva propias de variedades modernas, evitándose el empobrecimiento del terreno y ajustándose a las consignas de una agricultura sostenible. Además, promover el uso de estas variedades favorece la conservación *in situ* de los recursos fitogenéticos. En este trabajo se evaluó el contenido de carotenoides, clorofila y compuestos fenólicos de interés en variedades tradicionales de tomate y su correlación con las propiedades morfológicas del fruto (color, tamaño) y presencia de clorofila en frutos maduros, con el fin de recuperar su empleo, directamente en el campo o como fuente de variabilidad en programas de mejora, poniendo en valor sus propiedades beneficiosas para la salud.

Material y Métodos

En este estudio se incluyeron cincuenta y tres genotipos tradicionales de tomate, procedentes del banco de germoplasma del IMIDA (BAGERIM). Las plantas se cultivaron bajo malla, en la finca experimental Torreblanca, situada en Torre-Pacheco (Murcia, España). La determinación de carotenoides en fruto se realizó según la metodología descrita por Flores et al. (2015), utilizando un cromatógrafo de líquido Agilent Serie 1200 (Santa Clara, CA, EEUU) equipado con un detectores diodos array (DAD), una columna Prontosil C₃₀, 250 x 4,6 mm, 3 µm (Bischoff, Leonberg, Alemania) y metanol (A) y metil tert-butil éter (B) como fase móvil, en condiciones iniciales de un 15% de B durante 10 min, seguido de un aumento lineal hasta 90% de B durante 20 min. La detección se realizó a 287 nm para fitoeno, 347 nm para fitoflueno y 444 nm para luteína, violaxantina, β -caroteno, licopeno y β -apo-8'-carotenal (estándar interno). La determinación de compuestos fenólicos se realizó según la metodología descrita por Flores et al. (2015) utilizando un cromatógrafo líquido Agilent serie 1200 (Santa Clara, CA, EEUU) equipado con un detector de espectrometría de masas triple cuádruplo (MS/MS) y un sistema de ionización por electrospray (ESI) operando en modo negativo.

La separación se realizó en una columna C₁₈ Licrosphere, 250 x 4 mm de 5 µm de tamaño de partícula (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) utilizando como fase móvil ácido fórmico 5% (v/v) (A) y acetonitrilo (B). El contenido de los frutos en carotenoides y compuestos fenólicos se correlación con las características morfológicas de los frutos mediante la prueba de chi-cuadrado de asociación e independencia, utilizando el programa estadístico IBM SPSS Statistic 21.

Resultados y Discusión

Según su color, los frutos se clasificaron como amarillos, rosas, rojos, y frutos con coloración negra y color de fondo amarillo (amarillo-negros), rosa (rosa-negros) o rojo (rojo-negros) (Tabla 1). Según el peso, los frutos fueron clasificados como: muy pequeños (<15 g), pequeños (≥15 y <70 g), intermedios (≥70 y <130 g), grandes (≥130 y <260 g) y muy grandes (≥270 g). Según su forma, los frutos se clasificaron como achatados, ligeramente achatados, redondeados, cordiformes, cilíndricos y piriformes.

Entre los compuestos bioactivos que contiene el fruto de tomate destacan, por su concentración y propiedades beneficiosas para la salud, carotenoides y compuestos fenólicos. Dentro de la primera familia, los principales compuestos detectados fueron: licopeno (0-141 µg g⁻¹ PF), responsable del característico color rojo del fruto y con reconocida capacidad protectora frente a diferentes enfermedades (Tan et al., 2010); luteína (0,09-1,03 µg g⁻¹ PF), compuesto que reduce el riesgo de degeneración macular (Abdel-Aal et al., 2013); y violaxantina y neoxantina (0-0,24 y 0-0,15 µg g⁻¹ PF, respectivamente). Además, en algunos frutos se detectaron concentraciones relativamente altas de los precursores de la síntesis de carotenoides fitoeno y fitoflueno (0,17-5,9 y 0-1,87 µg g⁻¹ PF, respectivamente), de los que también existen indicios de su actividad funcional, habiéndoseles atribuido un papel inhibitorio de la progresión de la arterioesclerosis (Lindqvist et al., 2005). Por último, en este estudio se incluyeron variedades de las denominadas “tomates negros” portadores de la mutación *green-flesh* que provoca la inhibición de la degradación de la clorofila durante el proceso de maduración (Luo et al., 2013). Estos frutos mantienen concentraciones más o menos elevadas de clorofila que, junto con el color amarillo-naranja, rosa o rojo de los carotenoides, resulta es una coloración oscura característica. La clorofila y sus derivados que se encuentra en estos frutos en estado maduro también se puede considerar un compuestos bioactivos debido a su capacidad de reducir radicales libres (Ferruzzi et al., 2002). Respecto a los compuestos fenólicos, los principales detectados fueron ácido cafeico-*O*-hexósido (1,4-13,0 µg g⁻¹ PF), ácido clorogénico (0,02-2,0 µg g⁻¹ PF), ácido coumaroilquínico (0,03-4,4 µg g⁻¹ PF), rutina (0,06-60,8 µg g⁻¹ PF) y kaempferol-3-*O*-rutinósido (0,23-307 µg g⁻¹ PF). El valor funcional de estos compuestos radica en su capacidad su capacidad antioxidante y su papel en la prevención de enfermedades (Fernández-Panchon et al., 2008).

La categorización de los valores de concentración de los diferentes carotenoides y compuestos fenólicos detectados en las variedades estudiadas, permitieron establecer una correlación entre el contenido de dichos compuestos en fruto y los diferentes atributos morfológicos evaluados (color, tamaño y forma). De acuerdo con la prueba de chi-cuadrado, se observó una correlación significativa de dichos compuestos con el color, la presencia de coloración oscura y el tamaño de los frutos (Tabla 2). Los frutos rosas y rojos presentaron la mayor concentración de licopeno (Figura 1A), β-caroteno (Figura 1B), fitoeno (Figura 1C) y fitoflueno (Figura 1D) y los frutos con coloración oscura, presentaron la mayor concentración de luteína (Figura 1E), violaxantina (Figura 1F) y neoxantina (Figura 1G), además de clorofila (Figura 1H). Por otro lado, el tamaño de los

frutos estuvo significativamente correlacionado con el contenido de compuestos fenólicos (Tabla 3), en particular de ácido clorogénico (Figura 2A), kaempferol-3-*O*-rutinósido (Figura 2B) y rutina (Figura 2C), siendo los frutos de tamaño muy pequeño los que presentaron mayores concentración de estos compuestos. Por último, los frutos de tamaño pequeño fueron los que presentaron mayores valores de luteína (Figura 2E), violaxantina (Figura 2F) y neoxantina (Figura 2G).

Conclusiones

Los resultados muestran una gran variabilidad dentro de las variedades tradicionales de tomate estudiadas en cuanto a su morfología y a su contenido de metabolitos relacionados con las propiedades funcionales del fruto, en particular carotenoides, clorofila y compuestos fenólicos. El contenido de estos metabolitos en fruto se ha podido correlacionar con parámetros morfológicos del mismo (color y tamaño).

Agradecimientos

Los autores agradecen a INIA la financiación de este trabajo, a través del proyecto de investigación RTA2014-00041-C02.

Referencias

- Flores, P., Hernandez, V., Hellin, P., Fenoll, J., Cava, J., Mestre, T., & Martínez, V. 2016. Metabolite profile of the tomato dwarf cultivar Micro-Tom and comparative response to saline and nutritional stresses with regard to a commercial cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96:1562-70.
- Tan, H.L., Thomas-Ahner, J.M., Grainger, E.M., Wan, L., Francis, D.M., Schwartz, S.J., Erdman, J.W. & Clinton, S.K. 2010. Tomato-based food products for prostate cancer prevention: what have we learned? *Cancer and Metastasis Review* 29:553-568.
- Abdel-Aal, E.S.M., Akhtar, H., Zaheer, K. & Ali, R. 2013. Dietary sources of lutein and zeaxanthin carotenoids and their role in eye health. *Nutrients* 5:1169-1185.
- Lindqvist, A., He, Y.G. & Andersson, S. 2005. Cell type-specific expression of beta-carotene 9',10'-monooxygenase in human tissues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 53:1403-1412.
- Luo, Z., Zhang, J., Li, J., Yang, C., Wang, T., Ouyang, B., Li, H., Giovannoni, J. & Ye, Z. 2013. A STAY-GREEN protein SISGR1 regulates lycopene and β -carotene accumulation by interacting directly with SIPSY1 during ripening processes in tomato. *New Phytologist* 198:442-452.
- Ferruzzi, M. G., Bohm, V., Courtney, P. D. & Schwartz, S. J. 2002. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. *Journal of Food Science* 67:2589-2595.
- Fernández-Panchon, M.S., Villano, D. & Troncoso, A.M. 2008. Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48:649-671.
- Espin, J.C., García-Conesa, M.T., & Tomas-Barberan, F.A. 2007. Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*, 68:2986-3008.
- Tapas, A.R., Sakarkar, D.M. & Kakde, R.B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7:1089-1099.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M.D. & Paez-Hernández, M.E. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113:859-871.

- Kiokias, S. & Gordon, M.H. 2004. Antioxidant properties of carotenoids *in vitro* and *in vivo*. *Food Reviews International* 20(2): 99-121
- Ferruzzi, M.G. & Blakeslee, J. 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research* 27:1-12.
- Bruhn, C.M., Feldman, N., Garlitz, C., Harwood, J., Ivans, E., Marshall, M., Riley, A., Thurber, D. & Williamson, M. 1991. Consumer perceptions of quality, *Journal of Food Quality* 14:187-195.
- Ruiz, J.J., García-Martínez, S., Picó, B., Gao, M. & Quiros, C.F. 2005. Genetic variability and relationship of closely related Spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers. *Journal of American Society for Horticultural Science* 130:88-94.
- Rodríguez-Burruezo, A., Rodríguez-Ponte, V.A., García-Martínez, M.D., Moreno-Peris, E., Lerma-Lerma, M.D., Esteve-Ciudad, P. & Raigón, M.D. 2013. Effect of the genotype and the ripening stage on the content of bioactive compounds in *Capsicum annuum* peppers. *Current Opinion in Biotechnology* 24.

Tablas y Figuras

Tabla 1 - Características morfológicas de los frutos correspondientes a las 53 variedades estudiadas

Núm.	código	Color	Forma	Tamaño
1	Ly-83	amarillo	piriforme	muy pequeño
2	Ly-80	amarillo	redondeados	muy pequeño
3	Ly-94	amarillo	achatado	grande
4	Ly-101	amarillo	achatado	muy grande
5	Ly-85	amarillo	achatado	muy grande
6	Ly-110	amarillo	achatado	muy grande
7	Ly-72	amarillo	redondeados	pequeño
8	Ly-73	amarillo	redondeados	pequeño
9	Ly-121	amarillo-negro	achatado	grande
10	Ly-104	amarillo-negro	achatado	muy grande
11	Ly-99	amarillo-negro	achatado	grande
12	Ly-91	rosa	redondeados	mediano
13	Ly-89	rosa	ligeramente achatado	grande
14	Ly-90	rosa	achatado	muy grande
15	Ly-79	rosa	cordiformes	grande
16	Ly-131	rosa	achatado	muy grande
17	Ly-132	rosa	achatado	muy grande
18	Ly-130	rosa	achatado	muy grande
19	Ly-120	rosa	achatado	muy grande
20	Ly-141	rosa	achatado	muy grande
21	Ly-155	rosa	achatado	grande
22	Ly-137	rosa-negro	achatado	grande
23	Ly-135	rosa-negro	achatado	grande
24	Ly-92	rojo	ligeramente achatado	grande
25	Ly-93	rojo	achatado	grande
26	Ly-71	rojo	redondeados	muy pequeño
27	Ly-86	rojo	piriforme	pequeño
28	Ly-87	rojo	cilíndrico	mediano
29	Ly-81	rojo	cilíndrico	grande
30	Ly-103	rojo	achatado	grande
31	Ly-140	rojo	ligeramente achatado	grande
32	Ly-134	rojo	piriforme	grande
33	Ly-123	rojo	achatado	grande
34	Ly-98	rojo	ligeramente achatado	muy pequeño
35	Ly-145	rojo	achatado	grande
36	Ly-146	rojo	achatado	grande
37	Ly-111	rojo	cordiformes	grande
38	Ly-118	rojo	redondeados	grande
39	Ly-147	rojo	cilíndrico	grande
40	Ly-112	rojo	cilíndrico	grande
41	Ly-153	rojo	cilíndrico	mediano
42	Ly-126	rojo	ligeramente achatado	grande
43	Ly-148	rojo	redondeados	grande
44	Ly-142	rojo	cilíndrico	mediano
45	Ly-139	rojo	piriforme	mediano
46	Ly-88	rojo-negro	redondeados	pequeño
47	Ly-75	rojo-negro	redondeados	pequeño
48	Ly-96	rojo-negro	achatado	muy grande
49	Ly-122	rojo-negro	cilíndrico	pequeño
50	Ly-113	rojo-negro	achatado	muy grande
51	Ly-74	rojo-negro	redondeados	pequeño
52	Ly-102	rojo-negro	achatado	grande
53	Ly-136	rojo-negro	achatado	muy grande

Tabla 2 - Significancia de la correlación (chi-cuadrado) entre parámetros morfológicos y presencia de la mutación *green flesh*, con el contenido de luteína (Luteín), violaxantina (Viol), neoxantina (Neox), licopeno (Licop), β -caroteno (β -car), fitoeno (Fitoen), fitoflueno (Fitoen) y clorofila (Clorof).

	Luteín n	Viol	Neox	Licop	β -car	Fitoen n	Fitofl	Clorof f
Color	<0,01	<0,00 1	<0,00 1	<0,00 1	<0,00 1	<0,00 1	<0,001	<0,00 1
<i>green flesh</i>	<0,01	<0,00 1	<0,00 1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,00 1
Tamaño	<0,00 1	<0,00 1	<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,05

Tabla 3 - Significancia de la correlación (chi-cuadrado) entre parámetros morfológicos y presencia de la mutación *green flesh*, con el contenido ácido cafeico-*O*-hexósido (C-O-hex), ácido clorogénico (Clorog), ácido coumaroilquínico (Couma), rutina y kaempferol-3-*O*-rutinósido (K-3-O-rut).

	C-O-hex	Clorog	Couma	Rutina	K-3-O-rut
Color	<0,05	n.s.	<0,05	<0,01	<0,001
<i>green flesh</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Tamaño	n.s.	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001

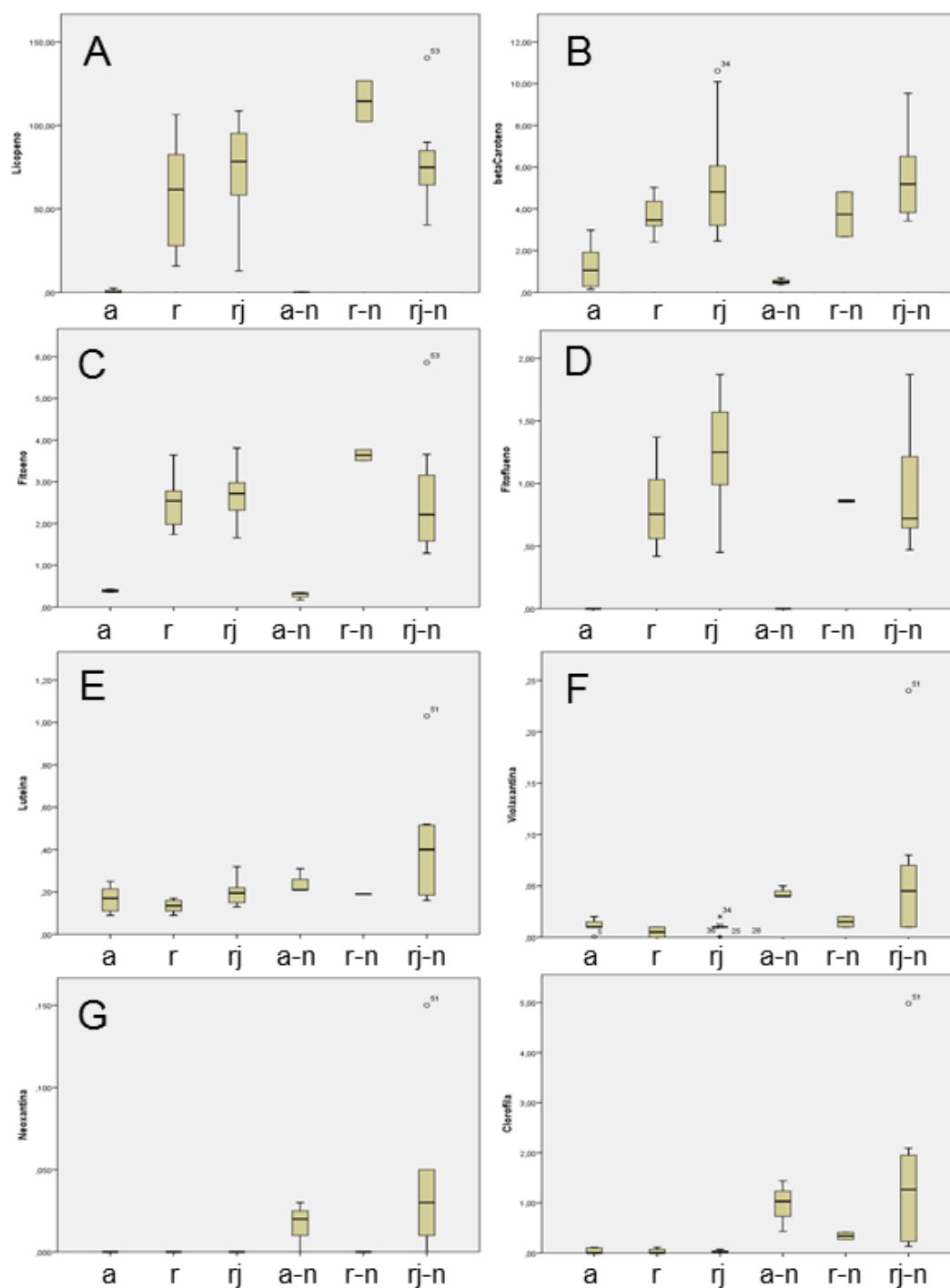


Figura 1 - Distribución de los valores de licopeno (A), β -caroteno (B), fitoeno (C), fitoflueno (D), luteína (E), violaxantina (F), neoxantina (G) y clorofila (H), en frutos de color amarillo, rosa, rojo, amarillo-negro, rosa-negro y rojo-negro (a, r, rj, a-n, r-n y rj-n, respectivamente).

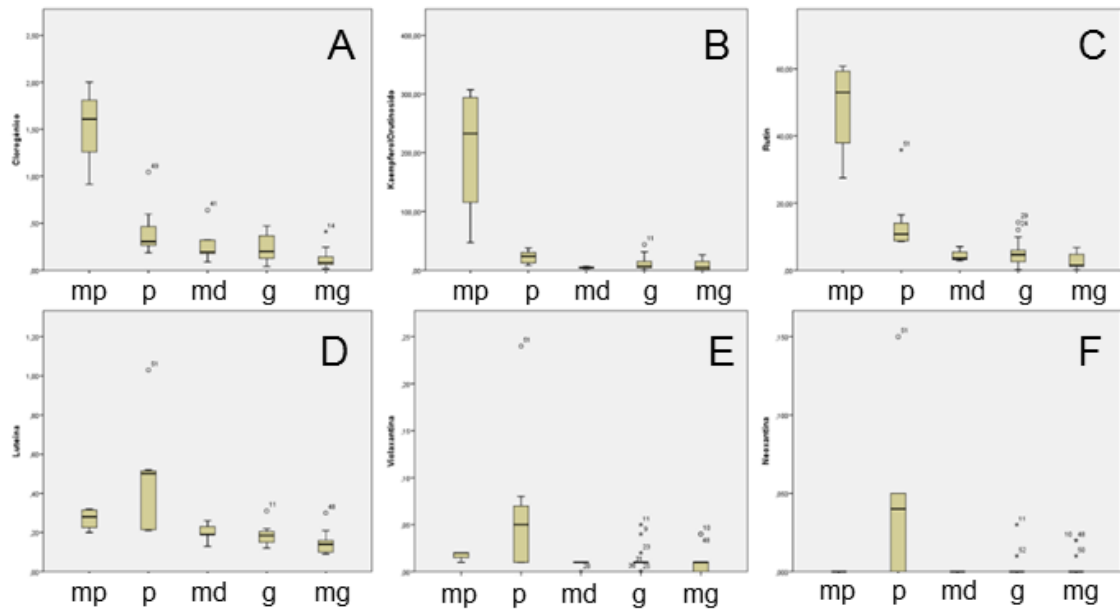


Figura 2 - Distribución de los valores de ácido clorogénico (A), kaempferol-3-*O*-rutinósido (B), rutina (C), luteína (E), violaxantina (F) y neoxantina (G), en frutos de tamaño muy pequeño, pequeño, mediano, grande y muy grande (mp, p, m, g y mg, respectivamente).

Especies vegetales silvestres: una fuente de compuestos promotores de la salud

Pilar Flores¹, Mercedes Dabauza¹, Antonio Robledo², Inmaculada Garrido¹, Pascual Romero¹, María V, Molina¹, Juana Cava¹ & Pilar Hellín¹

¹ Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), Murcia, España, mpilar,flores@carm.es

² Islaya S.L.,- Sto, Ángel, Murcia, España

Resumen

Los productos vegetales son considerados una excelente fuente de compuestos saludables para la salud. En particular, los vegetales de hoja verde constituyen una importante fuente de carotenoides y clorofilas, ambos compuestos con un efecto protector de la salud debido a su capacidad antioxidante. Mientras que en la naturaleza hay una elevada diversidad de hojas comestibles, el suministro actual de hortalizas de hoja es todavía limitado y contrasta con la creciente demanda por parte de los consumidores de nuevos productos y un aumento en el interés sobre la salud y la nutrición. Por lo tanto, la introducción de nuevas especies, que implican nuevos sabores y texturas y también mayores contenidos de compuestos saludables, podría diversificar el mercado hortícola. En España, han sido documentadas más de 450 especies como hortalizas comestibles, y de estas, unas 250 han sido tradicionalmente utilizadas. Sin embargo, su uso ha ido disminuyendo como consecuencia del abandono de tierras y la desconexión de las nuevas generaciones de las costumbres tradicionales. Este estudio examina el contenido de carotenoides y clorofila de 27 especies silvestres comestibles y lo compara con dos especies comerciales de lechuga y canónigo. En el análisis de carotenoides de las especies silvestres se detectaron 8 compuestos principales: *all-trans*-violaxantina, *9-cis*-neoxantina, luteoxantina, lactucaxantina (sólo presente en genotipos del género *Lactuca*), luteína, *all-trans*- β -caroteno, *13-cis*- β -caroteno, y *9-cis*- β -caroteno. La concentración de β -caroteno (carotenoide principal) osciló entre 27 y 86 $\mu\text{g g}^{-1}$ y la mayoría de los genotipos analizados mostraron valores más altos que los encontrados en las especies hortícolas comerciales. Las especies *Erodium malacoides* y *Sanguisorba verrucosa* mostraron concentraciones de β -caroteno superiores al resto (86,6 y 62,1 $\mu\text{g g}^{-1}$). De forma similar a la observada para los carotenoides, las concentraciones de clorofila fueron significativamente mayores en las especies silvestres estudiadas que las observadas en otras especies comerciales.

Palabras clave: bioactivos, IV gama, β -caroteno, antioxidantes, clorofila.

Abstract

Vegetables for human consumption are considered a good source of health-promoting compounds. In particular, leafy green vegetables constitute a major dietary intake source of carotenoids and chlorophylls, both compounds with a relevant health protective effect largely due to their antioxidant capacity. However, the current supply of leafy vegetables is still limited and contrasts with the increasing consumer demand for new products and the awareness about health and nutrition. Thus, the introduction of new species, involving new flavors and textures and also higher contents of healthy compounds could diversify the horticultural market. In Spain, more than 450 species have been documented as edible vegetables, and about 250 have been traditionally used.

However, their use has been declining as a consequence of land abandonment and the disconnection of new generations from the traditional customs. This study examines the carotenoid and chlorophyll content of 27 wild edible species. Carotenoid analysis of the wild species was able to resolve 9 major compounds: *all-trans*-violaxanthin, 9-*cis*-neoxanthin, luteoxanthin, lactucaxanthin (only present in genotypes from the *Lactuca* genus), lutein, *all-trans*- β -carotene, 13-*cis*- β -carotene, and 9-*cis*- β -carotene. The concentration of β -carotene (the major carotenoid) ranged from 27 to 86 $\mu\text{g g}^{-1}$ and most of the analyzed genotypes showed higher values than those usually found in leafy horticultural species. Moreover, *Erodium malacoides* and *Sanguisorba verrucosa* showed higher β -carotene concentrations (86,6 and 62.1 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectively). Similarly to that observed for carotenoids, chlorophyll concentrations were significantly higher in the studied wild species than that observed in other commercial species.

Keywords: bioactive, ready-to-eat salads; β -carotene, antioxidants, chlorophyll.

Introducción

En la última década, ha aumentado la demanda de los consumidores de nuevos productos vegetales, debido en gran parte a una creciente conciencia sobre la salud y la nutrición de las sociedades desarrolladas. Basándose en esto, los mercados están propiciando un nuevo estilo de vida enfocado hacia la salud, mediante la promoción del consumo de frutas y hortalizas apoyándose en una amplia literatura científica, en la cual se describe el papel de muchos compuestos bioactivos presentes en las plantas, señalando además, su función en la prevención de enfermedades y sobre el bienestar físico (Lampe, 1999), en este sentido, es conocido el papel que juegan los antioxidantes que se encuentran en frutas y hortalizas, en la reducción del riesgo de padecer enfermedades crónicas, incluyendo cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Simopoulos, 2004). Entre estos antioxidantes se encuentran los carotenoides, estos compuestos juegan un papel muy importante en las plantas ya que están relacionados con la capacidad fotosintética de las mismas (Gamon & Surfus, 1999; Xue & Yang, 2009). Además, tienen también un papel muy importante en la salud humana ya que su consumo se ha relacionado con la prevención de enfermedades cardiovasculares, la degeneración macular y algunos tipos de cáncer (Ekstrom et al., 2000; Maiani et al., 2009).

Por otra parte, el uso tanto nutricional como medicinal de plantas silvestres ha estado muy extendido en la península ibérica en épocas anteriores, pero esta costumbre había ido desapareciendo debido al desarrollo de la agricultura intensiva y a las grandes cadenas de distribución de alimentos (Tardío, 2006; Tardío, 2010). Sin embargo en la última década numerosos estudios describen que muchas especies silvestres contienen sustancias saludables tales como vitaminas y otros antioxidantes (entre los que se encuentran los carotenoides, las clorofilas y los compuestos fenólicos), minerales y fibra y que estos se suelen encontrar en mayores concentraciones de las que se pueden encontrar habitualmente en muchas de las especies cultivadas que encontramos en el mercado (Flyman & Afolayan, 2006; Grivetti & Ogle, 2000; Simopoulos, 2004), por lo que estas plantas pueden suponer un complemento muy interesante a los productos alimenticios básicos obtenidos de la agricultura y ganadería. En concreto, se han determinado valores elevados de actividad antioxidante y contenido polifenólico en hojas de *Cichorium intybus*, *Sonchus oleraceus* y *Papaver rhoeas* (Schaffer et al., 2005) y altas concentraciones de ácido ascórbico en *Chenopodium album* y *Sonchus oleraceus* (Guil-Guerrero et al., 1998).

En este estudio se examina el contenido de carotenoides y clorofila de 27 especies silvestres comestibles recolectadas en la Región de Murcia y lo compara con dos especies comerciales de lechuga y canónigo, con el fin de aumentar el conocimiento de estas especies y revalorizar su uso, en base a su contenido en compuestos beneficiosos para la salud.

Material y métodos

Como objeto de estudio, se seleccionaron 27 especies silvestres, documentadas de uso tradicional en la Región de Murcia (Rivera y Obon, 1995) y dos variedades comerciales (lechuga y canónigo). La familia, género, especie y nombre común de cada una de las especies estudiadas se muestra en la tabla 1. Las plantas se muestrearon durante los meses de septiembre a noviembre en siete comarcas de la Región de Murcia y en varios puntos de estas comarcas. Las zonas muestreo fueron principalmente zonas rocosas, monte bajo y arbustivo (fig. 1). Los datos mostrados son la media obtenida para cada variedad en el conjunto de los puntos de muestreo.

Los carotenoides y clorofilas se extrajeron de la parte comestible de cada especie según el método descrito por Böhm (2011), y se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución en un cromatógrafo líquido Agilent Serie 1200 (Santa Clara, CA, EEUU) equipado con detectores de diodos array (DAD) y fluorescencia (FLD). La separación se realizó en una columna ProntoSil C30, 250 x 4,6 mm, 3 μm (Bischoff, Leonberg, Alemania) utilizando metanol (A) y metil tert-butil éter (B) como fase móvil y usando N-apo-8'-carotenal como patrón interno. La cuantificación de los compuestos se realizó a 450 nm para β -caroteno, 444 nm para luteína, violaxantina, neoxantina, lactucaxantina, luteoxantina y clorofila b y 478 nm para β -apo-8'-carotenal, clorofila a y clorofila a', usando estándares disponibles de carotenoides (DHI LAB, Hoersholm, Dinamarca) y clorofilas (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania). Los compuestos se cuantificaron como $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco ($\mu\text{g g}^{-1}$ PF). La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención y espectros UV, utilizando estándares o referencias bibliográficas (Kimura & Rodríguez-Amaya, 2003) y se confirmó mediante sus respectivos valores de m/z obtenidos en un cromatógrafo líquido Agilent 1200 (Waldbronn, Alemania), provisto de un detector espectrómetro de masas triple cuádrupolo (MS/MS), utilizando una fuente de ionización química a presión atmosférica (APCI) operando en modo positivo.

Resultados

En los diferentes puntos de muestreo de la Región de Murcia (Fig. 1), se recolectaron quince especies de la familia compositae (la más numerosa), cuatro pertenecientes a cruciferae, dos a geraniaceae y una especie a las familias chenopodiaceae, plantaginaceae, polygonaceae y rosaceae. Las plantas pertenecientes a las especies *Crepis vesicaria* y *Sonchus Tenerrimus* se encontraron ampliamente distribuidas por todas las zonas de muestreo recogiéndose un total de 24 ecotipos, seguida por *Taraxacum officinale*, *Sanguisorba verrucosa* y *Sonchus oleraceus* de las que se recogieron 16, 12, y 10 ecotipos diferentes, respectivamente.

En las plantas estudiadas se han determinado ocho carotenoides principales: *all trans*-violaxantina, 9 *cis* neoxantina, luteoxantina, luteína, 13 *cis* β -caroteno, 9 *cis* β -caroteno y *all trans* β -caroteno y tres tipos de clorofila, clorofila a, a' y b. El principal carotenoide fue el β -caroteno cuyos valores oscilaron entre 27,5 y 86,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ PF (Fig. 2), estos valores correspondieron a *Chondrilla juncea* y *Erodium malacoides*, respectivamente, los valores obtenidos en las plantas silvestres fueron muy superiores a

los obtenidos en las variedades comerciales de lechuga ($15,3 \mu\text{g g}^{-1}$ PF) y canónigo ($13,5 \mu\text{g g}^{-1}$ PF). La actividad provitamina A esta relacionada con el contenido total de β -caroteno, calculado la suma de 13 *cis* β -caroteno, 9 *cis* β -caroteno y *all trans* β -caroteno, ya que 1 μg de retinol equivale a 12 μg de β -caroteno (Mahan & Escott-Stump, 2013). El contenido en provitamina A en las plantas silvestres oscilaría entre 2,6 y 8,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ PF, valores muy superiores a los determinados en otras hortalizas de hoja (López et al., 2014).

Con respecto al contenido en otros carotenoides de interés como xantofilas, (Fig. 3), las plantas silvestres presentaron valores de luteína hasta veinte veces superiores a los de las variedades comerciales estudiadas (lechuga y canónigo). Las especies del genero *Lactuca*, presentaron los valores más bajos (alrededor de $14 \mu\text{g g}^{-1}$ PF) mientras que *Sisymbrium crassifolium* y *Erodium malacoides*, los más elevados ($40,1$ y $38,8 \mu\text{g g}^{-1}$ PF, respectivamente). La luteína, tiene un papel muy importante en la protección de la macula de la retina del ojo y el consumo de alimentos ricos en este compuesto se ha relacionado con la prevención de la degeneración macular (Maiani et al., 2009) y diferentes tipos de cáncer. Por otra parte, Lactucaxantina solo se encontró en especies del genero *Lactuca* (*Lactuca sp.*, *L. serriola* y *L. tenerrima*) y en concentraciones muy superiores a las determinadas en la lechuga comercial, hasta 40 veces más en las especies silvestres. De forma similar, las variedades silvestres estudiadas presentaron un mayor contenido de xantofilas (luteoxantina, neoxantina y violaxantina) que las comerciales tanto las analizadas en este estudio como las descritas en la bibliografía (Lopez et al., 2014). En particular, destacan especies *Sisymbrium crassifolium* y *Erodium malacoides* por lo que se podrían considerar buenas fuentes de estos carotenoides que raramente aparecen en tablas de composición de alimentos y son muy importantes para la salud (Ekstrom et al., 2000)

Como era de esperar la clorofila mayoritaria fue la clorofila a presentando valores de hasta el doble de concentración que la b en la mayoría de las plantas estudiadas (Fig. 4), también se ha detectado clorofila a', pero en concentraciones más bajas que las de las otras dos. Al igual que para el resto de los compuestos analizados, los valores obtenidos fueron muy superiores a los de las variedades comerciales. *Lactuca tenerrima*, *Sisymbrium crassifolium* y *Eruca vesicaria*, presentaron los valores más elevados de clorofila a ($211,6$, $198,8$ y $193,3 \mu\text{g g}^{-1}$ PF, respectivamente) mientras que *Plantago coronopus*, los más bajos ($85,7 \mu\text{g g}^{-1}$ PF).

Conclusión

Las especies silvestres estudiadas presentan un mayor contenido de carotenoides que muchos vegetales convencionales consumidos frecuentemente en el área mediterránea y se pueden considerar una fuente importante de estos compuestos saludables. En particular, destaca por su composición la especie *Erodium malacoides*.

Agradecimiento

Los autores agradecen a la Unión Europea-FEDER 80%, la financiación del Proyecto PO07-050: "Caracterización de plantas silvestres de la Región de Murcia para su utilización en productos de IV gama".

Referencias

Böhm, V. 2011 Analysis of Carotenoids in Fortified Foods with Vitamins: Analytical Concepts to Assure Better and Safer Products. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

- Ekstrom, A.M., Serafini, M., Nyren, O., Hansson, L.E., Ye, W. & Wolk, A. 2000. Dietary antioxidant intake and the risk of cardia cancer and noncardia cancer of the intestinal and diffuse types: a population-based case-control study. Sweden International Journal of Cancer 87: 133-140.
- Flyman M.V. & Afolayan A.J. 2006. The sustainability of wild vegetables for alleviating human dietary deficiencies. South African Journal of Botany 72: 492-497.
- Gamon, J.A. & Surfus, J.S. 1999. Assessing leaf pigment content with a reflectometer. New Phytologist 43: 105-117.
- Grivetti, L.E. & Ogle, B.M. 2000. Value of traditional foods in meeting macro- and micronutrient needs: the wild plant connection. Nutrition Research Reviews 13: 31-46.
- Guil-Guerrero, J.L., Giménez-Giménez, A., Rodríguez-García, I. & Torija-Isasa, M.E. 1998. Nutritional composition of *Sonchus* species (*S-asper* L, *S-oleraceus* L and *S-tenerrimus* L). Journal of the Science of Food and Agriculture 76(4): 628-632.
- Kimura, M. & Rodriguez-Amaya, D.B. 2003. Carotenoid composition of hydroponic leafy vegetables. Journal of Agricultural Food Chemistry 51: 2603-2607.
- Lampe, J.W. 1999. Health effects of vegetables and fruits: assessing the mechanisms of action in human experiments studies. The American Journal of Clinical Nutrition 70:475-490.
- Maiani, G., Periago, M., Catasta, G., Toti, E., Goñi, I., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Volker B., Mayer-Miebach, E., Behsnilian, D. & Schlemmer, U. 2009. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. Molecular Nutrition & Food Research 53, 194-218.
- Rivera, D. & Obón, C. 1995. Ethnopharmacology of Murcia (SE Spain). p. 215-239, In: J. Fleurentin (Ed.), Medicaments et Aliments: L'Approche Ethnopharmacologique. Orstom, Paris.
- Schaffer, S., Schmitt-Schillig, S., Muller, W.E. & Eckert, G.P. 2005. Antioxidant properties of Mediterranean food plants extracts: geographical differences. Journal of Physiology and Pharmacology 56: 115-124.
- Simopoulos, A.P. 2004. Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants. Biological Research 37: 263-277.
- Tardío, J. 2010. Spring is coming: the gathering and consumption of wild vegetables in Spain. p 211-238. In: M. Pardo de Santayana, A. Pieroni and R. Puri (eds.), Ethnobotany in the New Europe: people, health and wild plant resources, Berghahn Books, Oxford-New York.
- Tardío, J., Pardo de Santayana, M. & Morales, R. 2006. Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Botanical Journal of the Linnean Society 152: 27-72.
- Xue, L. & Yang, L. 2009. Deriving leaf chlorophyll content of green-leafy vegetables from hyperspectral reflectance. Journal of Photogrammetry and Remote Sensing, 64: 97-106.

Tabla y Figuras

Tabla 1- Nombre común y científico de las plantas analizadas

	Familia	Género	Especie	Nombre común
1	Asteraceae	Lactuca	Sativa	Lechuga comercial
2	Valerianaceae	Varianella	Locusta	Canónigo comercial
3	Chenopodiaceae	Beta	Maritima	Acelga
4	Compositae	Chondrilla	Juncea	Achicoria dulce
5	Compositae	Cichorium	Intybus	Achicoria común
6	Compositae	Crepis	Vesicaria	Camarroja
7	Compositae	Hedypnois	Cretica	
8	Compositae	Lactuca	sp	
9	Compositae	Lactuca	Serriola	Lechuguilla azul
10	Compositae	Lactuca	Tenerrima	Lechuguilla
11	Compositae	Launaea	Nudicaulis	Picopájaro
12	Compositae	Leontodon	Taraxacoides	Pequeño diente de león
13	Compositae	Reichardia	Picroides	Lechuguilla dulce
14	Compositae	Reichardia	Tingitana	Cerraja borde
15	Compositae	Rhagadiolus	Stellatus	Lechuga dulce
16	Compositae	Scorzonera	Laciniata	Verbaja
17	Compositae	Sonchus	Oleraceus	Cerraja
18	Compositae	Sonchus	Tenerrimus	Lizón
19	Compositae	Taraxacum	Officinale	Diente de león
20	Compositae	Urospermum	Picroides	Barbas de viejo
21	Cruciferae	Capsella	Bursa-pastoris	Pan y queso
22	Cruciferae	Diplotaxis	Erucoides	Rabaniza
23	Cruciferae	Eruca	Vesicaria	Oruga
24	Cruciferae	Sisymbrium	Crassifolium	Tamarilla
25	Geraniaceae	Erodium	Malacoides	Alfileres
26	Geraniaceae	Erodium	Moschatum	Hierba del moro
27	Plantaginaceae	Plantago	Coronopus	Rampete
28	Polygonaceae	Rumex	Acetosella	Acederilla
29	Rosaceae	Sanguisorba	Verrucosa	Fresilla

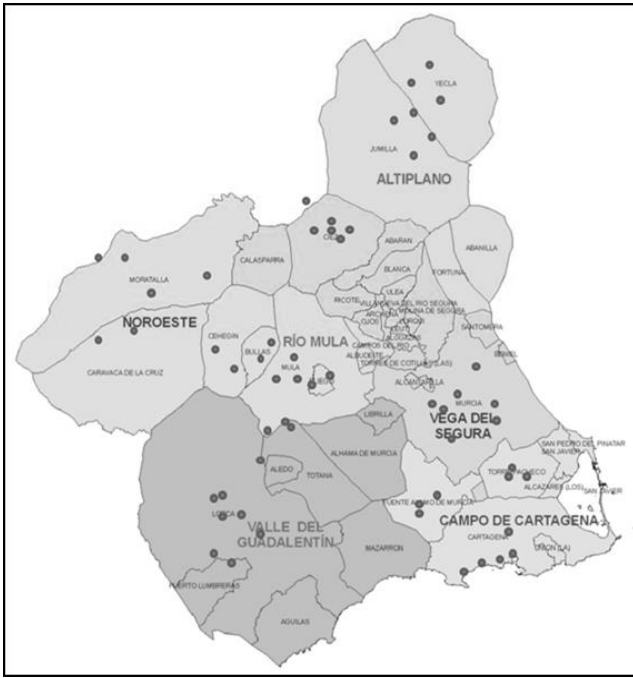


Figura 1- Mapa de situación de las localidades en las que se recolectaron las plantas silvestres.

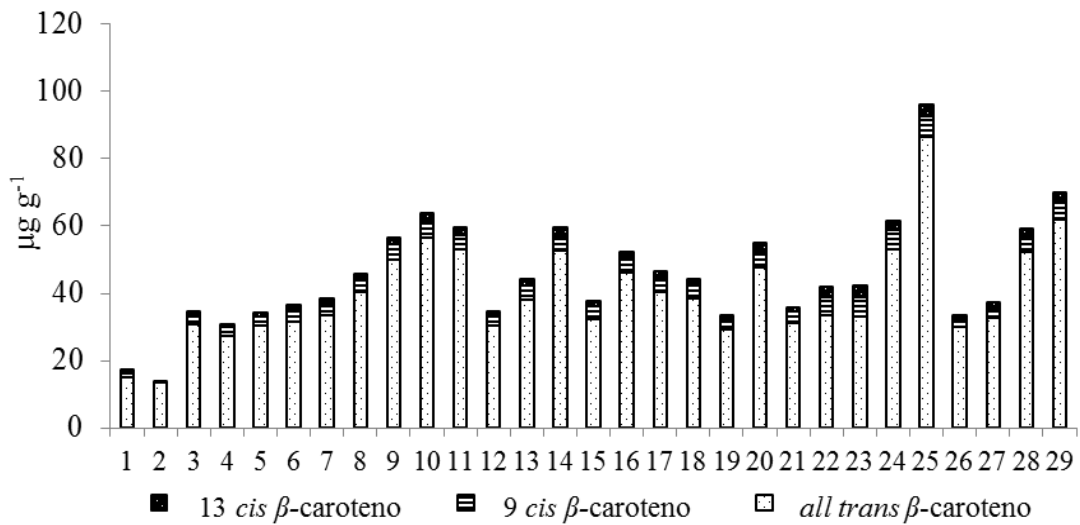


Figura 2- Concentración de 13 *cis* β-caroteno, 9 *cis* β-caroteno y *all trans* β-caroteno en lechuga (1), canónigo (2) y plantas silvestres (3-29).

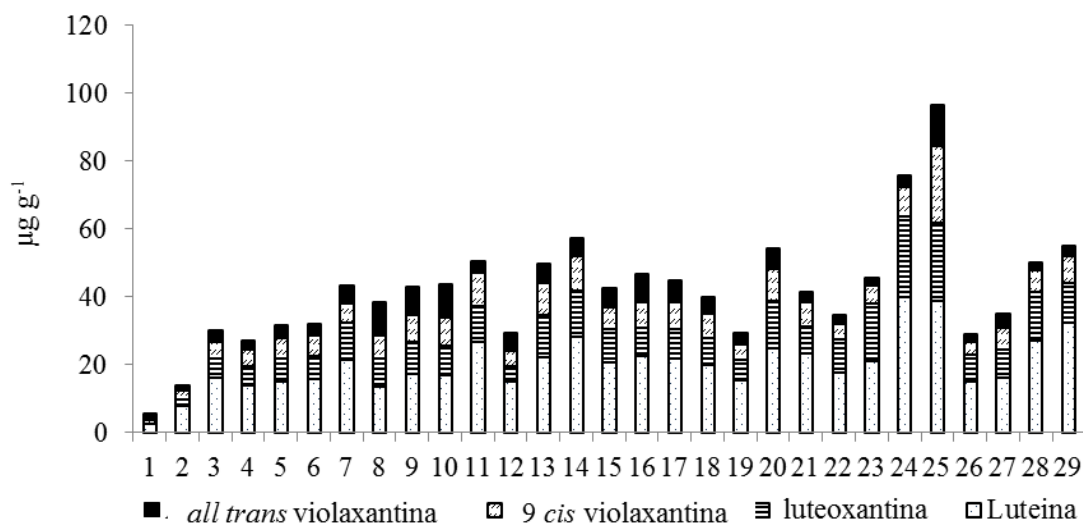


Figura 3- Concentración de luteína, luteoxantina, 9 cis violaxantina y all trans violaxantina en lechuga (1), canónigo (2) y plantas silvestres (3-29).

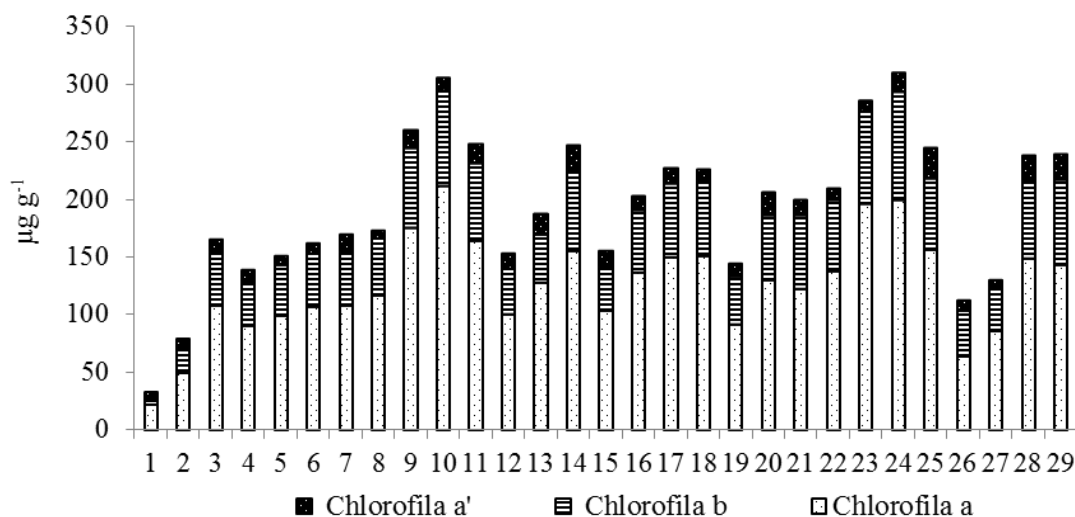


Figura 4- Concentración de clorofila a, clorofila a' y clorofila b en lechuga (1), canónigo (2) y plantas silvestres (3-29).

Composição mineral dos frutos de pera ‘Rocha’ em relação com a ocorrência de acidentes fisiológicos internos

Ricardo D. Mendes¹, Davide Cordeiro¹ & Domingos P.F. Almeida²

¹Frutalvor Central Fruteira C.R.L., Casal Santa Cecília – Apartado 295, 2504-912 Caldas da Rainha, Portugal, davide.cordeiro@frutalvor.pt

²Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, dalmeida@isa.ulisboa.pt

Resumo

Os fatores pré-colheita afetam a suscetibilidade da pera aos fisiológicos internos durante o armazenamento prolongado. Diversos estudos exploraram a relação entre a fertilização e a composição mineral dos frutos e a ocorrência de acidentes internos. Os resultados sugerem por vezes relações do cálcio, do boro e do potássio com os acidentes internos, mas permanecem inconsistentes e inconclusivos. Neste estudo analisou-se a composição mineral de frutos provenientes de 5 pomares localizados nos concelhos de Caldas da Rainha, Rio Maior e Cadaval e os respetivos acidentes internos após 5 meses de armazenamento. No final deste período de armazenamento a incidência de acastanhamento carpelar variou entre 18 e 39%. A incidência de acastanhamento carpelar esteve positivamente correlacionada com teor em ferro no fruto ($r=0,98$, $n=5$). Embora não significativas ao nível $\alpha = 0,05$, observaram-se correlações positivas entre a incidência de acastanhamento carpelar e o teor em boro ($r=0,68$) e de zinco ($r=0,68$). O teor em potássio dos frutos não esteve correlacionado com o acastanhamento carpelar. A razão Ca/Mg foi 25% superior no tecido são do que no tecido lesado. Não houve uma relação direta entre os teores em nutrientes no solo, nas folhas e nos frutos.

Palavras-chave: boro, cálcio, conservação, nutrição, *Pyrus communis*.

Abstract

Pre-harvest factors affect the susceptibility of pears to internal disorders during long periods of storage. Several studies addressed the relationship between fertilization and mineral composition of fruits, and the incidence of internal disorders. Reports on relationships between calcium, boron and potassium content and the incidence of internal disorders remain inconsistent and inconclusive. In this study, the mineral composition of fruits from 5 orchards located in the municipalities of Caldas da Rainha, Rio Maior and Cadaval, Portugal, and their correspondent incidence of internal accidents, after 5 months of storage, were analysed. In the end of this storage period the incidence of core browning varied between 18 and 39% of the fruits. The incidence of core browning was positively correlated with the iron content in the fruit ($r = 0.98$, $n=5$). Although not significant at $\alpha = 0.05$, positively correlations were observed between the incidence of core browning and fruit boron ($r=0.68$) and zinc ($r=0.68$) concentration. The potassium content of fruits was not correlated with core browning. The Ca/Mg ratio was 25% higher in healthy than the injured tissue. There was no direct relationship between the nutrient content in soil, leaves and fruits.

Keywords: boron, calcium, nutrition, *Pyrus communis*, storage.

Introdução

Em Portugal a pera ‘Rocha’ é uma cultura tradicional e economicamente importante, sendo produzida sobretudo na região Oeste. A tecnologia associada à conservação prolongada de pera ‘Rocha’ permite abastecer os mercados nacional e internacionais desde agosto, imediatamente após a colheita, até junho do ano seguinte. Após meses em atmosfera controlada as peras podem desenvolver acidentes fisiológicos internas, com diferentes graus de severidade. A insatisfação dos agentes da cadeia de abastecimento devida aos acidentes fisiológicos internos é agravada pela impossibilidade prática em identificar os sintomas nos lotes afetados (Mendes, 2017).

No armazenamento em atmosfera controlada a atividade metabólica das peras é reduzida pelo controlo das pressões parciais de oxigénio (O₂) e dióxido de carbono (CO₂) adicionada ao efeito da refrigeração. A elevada pressão parcial de CO₂ permite manter a coloração dos frutos, mas agrava alguns dos acidentes internos nos frutos (Franck et al., 2007).

Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ após a proibição da difenilamina foram emitidas (Almeida, 2017) com base em estudos sistemáticos adaptados às tecnologias existentes no mercado (Saquet e Almeida, 2017; Saquet et al., 2017; Almeida et al., 2016). Os frutos podem ser armazenados nas condições até 10 meses (Almeida et al., 2016). No entanto, a suscetibilidade dos frutos aos acidentes fisiológicos que se desenvolvem após a colheita depende de fatores pré-colheita; de facto, existem poucos acidentes fisiológicos pós-colheita completamente independentes de fatores pré-colheita (Ferguson et al. 1999; Franck et al., 2007). Os fatores pré-colheita podem ser divididos em características edafoclimáticas, características do pomar e posição do fruto na árvore. É importante reter que as características intrínsecas de cada pera à colheita refletem a combinação de um conjunto de fatores pré-colheita específicos, e estes determinam a suscetibilidade das peras a este tipo de acidentes fisiológicos (Franck et al., 2007).

O estado nutricional das árvores e dos frutos é um dos mais importantes fatores determinantes da qualidade pós-colheita dos frutos. O objetivo deste estudo foi correlacionar as concentrações nutrientes nos frutos e a incidência de acidentes fisiológicos internos em cinco pomares.

Material e Métodos

Material vegetal e condições de armazenamento

As peras utilizadas foram colhidas em 2015 com uma firmeza 5,5 a 6,5 kgf avaliada com uma sonda de 8 mm de diâmetro em cinco pomares localizados nos concelhos de Caldas da Rainha, Cadaval e Rio Maior. Após a colheita os frutos foram armazenados por cerca de 5 meses nas condições indicadas no Quadro .

Incidência de acidentes fisiológicos internos

Após o período de armazenamento os frutos foram caracterizados e a incidência de acidentes fisiológicos avaliada em 100 frutos por pomar. A incidência de acidentes fisiológicos foi avaliada visualmente após 3 cortes transversais, tendo sido contabilizados todos os frutos que apresentavam sintomas de um dos tipos descritas por Saquet e Almeida (2017).

Teor em nutrientes

Foram retirados cilindros de 10 mm de diâmetro e 10 mm de altura de frutos que apresentavam acidentes fisiológicos internos e de frutos sãos em lotes de cada um dos pomares. Estas amostras foram secas a 90 °C até peso constante e o teor em minerais determinados através dos procedimentos em vigor no Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, nomeadamente o PE-02-LQARS/LAP (Edição nº1, 20-01-2015) para o azoto total e espectrometria de emissão de plasma com detetor ótico PE-03-LQARS/LAP (Edição nº1, 20-01-2015) para fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco, cobre e boro. A concentração de nutrientes minerais foi efetuada em 3 repetições de biológicas.

Análise dos dados

Foi efetuada a análise de correlação entre a incidência de acastanhamentos internos e a concentração de nutrientes nos frutos, através do coeficiente de correlação de Pearson. A análise foi efetuada com a versão 8 do software StatSoft Statistica. A dimensão da amostra foi $n=5$.

Resultados e Discussão

Incidência de acidentes fisiológicos internos

No total foi contabilizada uma incidência máxima de 82% de frutos lesados no pomar 5 e um mínimo de 25% no pomar 1 (Figura 1). Os pomares 5 e 7 apresentaram maior proporção de peras lesadas por necrose carpelar, 39% e 18%, respetivamente (Figura 1). A incidência de cavidades necrosadas foi de 28% e 26% nos pomares 5 e 6, respetivamente, e de 2% nos frutos do pomar 1.

Concentração de nutrientes nos frutos

Todas as amostras apresentaram valores de cálcio e magnésio inferiores a 1 grama por quilograma de matéria seca (Quadro 2). Os valores totais (amostras sãs e lesadas) de potássio foram superiores no pomar 1 e 6, comparativamente aos restantes pomares. Quanto ao azoto, os valores mais baixos verificaram-se para as peras dos pomares 6 e 8. Relativamente aos micronutrientes mediram-se diferenças significativas nas concentrações de ferro, zinco e boro, tanto em fruta lesada como sã (Quadro 2). Os teores de ferro foram superiores nos pomares 5 (22,2 mg kg⁻¹) e 6 (20,7 mg kg⁻¹). Os teores de zinco foram mais elevados no pomar 5 (12,8 mg kg⁻¹). Quanto ao boro, os valores mais elevados foram registados para o pomar 6 (20,0 mg kg⁻¹).

Correlação entre a incidência de acastanhamentos e a composição mineral dos frutos

Observou-se uma correlação positiva significativa entre os teores minerais de ferro nos frutos e a incidência de acastanhamentos internos, mais especificamente de acastanhamento carpelar

Quadro). Verificaram-se ainda correlações positivas, embora não significativas para $\alpha = 0,05$, entre a incidência e o teor de alguns micronutrientes, nomeadamente o zinco e o boro. Noutras variedades de peras, como a ‘Conference’ as aplicações pré-colheita de boro reduziram a incidência de acastanhamentos internos (Xuan et al. 2001). Observou-se uma correlação muito próxima do valor de referência ($r=0,81$ para $n=5$), entre a incidência de cavidades brancas e os teores de cálcio nos frutos. O teor em fósforo e potássio nos frutos não esteve correlacionado com a incidência de acastanhamentos internos, sobretudo necrose carpelar (*core browning*). Soares et al. (2003), no entanto,

defende que os teores de potássio na matéria seca dos frutos poderão influenciar a incidência de acidentes fisiológicos.

Relativamente às relações entre nutrientes, nomeadamente à razão de cálcio com os restantes macronutrientes, foi possível verificar diferenças entre amostras sãs e lesadas (Quadro). A razão Ca/Mg foi 25% superior nas amostras sãs em relação aos frutos lesados do pomar 5, aquele onde se registou maior incidência de acastanhamento carpelar. No pomar 6 a mesma razão é 43% superior nas amostras sãs do que nos frutos lesados tendo tido o segundo maior valor de incidência de acastanhamento carpelar (38%). A problemática dos acidentes internos deve ser encarada simultaneamente e em interação com outros fatores, não devendo ser encarada como um efeito isolado de um parâmetro. Segundo Franck et al. (2007), as características intrínsecas de cada pera à colheita refletem a combinação de um conjunto de fatores pré-colheita específicos, e estes determinam a suscetibilidade da pera a desordens internas.

Conclusões

Foi possível verificar acastanhamentos internos de vários tipos, durante um período de 5 meses, em frutos provenientes de diferentes pomares e armazenados sob condições diferentes. Existiu uma correlação forte e positiva entre os teores de ferro nos frutos e a incidência de acastanhamento carpelar. Não foi possível demonstrar uma correlação significativa entre a incidência de acastanhamentos internos e os teores de boro e cálcio nos frutos, mas verificou-se que a razão Ca/Mg é superior nas amostras sãs que nas amostras lesadas.

Agradecimentos

À Frutalvor Central Fruteira C.R.L. pelo material vegetal e apoio prestado na realização deste trabalho.

Referências

- Almeida, D.P.F. 2017. Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste de Portugal. Atas Portuguesas de Horticultura (in press).
- Almeida, D.P.F., Carvalho, R. & Dupille, E. 2016. Efficacy of 1-methylcyclopropene on the mitigation of storage disorders of ‘Rocha’ pear under normal refrigerated and controlled atmospheres. *Food Science and Technology International* 22: 399–409.
- Ferguson, I., Volz, R., Woolf, A., 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders in fruits. *Postharvest Biology and Technology* 15, 255-262.
- Franck, C., Lammertyn, J., Ho, Q. T., Verboven, P., Verlinden, B., Nicolai, B. M., 2007. Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biology and Technology* 43, 1-1.
- Mendes, R. D. B., 2017. Pools de nutrientes em pomares e sua relação com a incidência de acastanhamentos internos em pera ‘Rocha’. Dissertação para a obtenção de Grau de Mestre em Engenharia Agronómica. 102. Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa. Portugal.
- Saquet, A. A., Almeida, D., 2017. Ripening physiology and biochemistry of ‘Rocha’ pear as affected by ethylene inhibition. *Postharvest Biology and Technology*. 125, 161-167.
- Saquet, A.A. & Almeida, D.P.F. 2017. Internal disorders of ‘Rocha’ pear affected by oxygen partial pressure and inhibition of ethylene action. *Postharvest Biology and Technology* 128: 54–62.

- Saquet, A.A., Streif, J. & Almeida, D.P.F. 2017. Responses of 'Rocha' pear to delayed controlled atmosphere storage depend on oxygen partial pressure. *Scientia Horticulturae* 222: 17–21.
- Soares, J., Silva, A., Marques, H., 2003. Capítulo IV – Nutrição da pereira rocha. O Livro da Pera Rocha – Volume Segundo. Associação Nacional de Produtores de Pera Rocha (eds), Cadaval. 129-171.
- Xuan, H., Streif, J., Pfeffer, H., Dannel, F., Romheld, V., Bangerth, F., 2001. Effect of pre-harvest boron application on the incidence of CA-storage related disorders in Conference pears. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 76, 133-137.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Condições de armazenamento das peras dos respetivos pomares. Legenda: ACD – Atmosfera Controlada Dinâmica; AC + SF – Atmosfera Controlada e SmartFresh®; T – Temperatura; HR – Humidade Relativa.

Código	Localização da Parcela	Área (ha)	Calibre	Tipo Conservação	Abertura Câmara	O ₂ (%)	CO ₂ (%)	T (°C)	HR (%)
Pomar 1	Caldas da Rainha	1,25	60/65	ACD	Fev/Mar	0,7	0,5	-0,5	0,95
Pomar 5	Rio Maior	34,36	55/60	ACD	Dez/Jan	0,7	0,5	-0,5	0,95
Pomar 6	Rio Maior	2,85	60/65	AC + SF	Dez/Jan	3,5	0,5	-0,2	0,95
Pomar 7	Cadaval	17,45	60/65	ACD	Dez/Jan	0,9	0,5	-0,5	0,95
Pomar 8	Cadaval	17,45	60/65	AC + SF	Dez/Jan	3,5	0,5	-0,2	0,95

Quadro 2 – Composição mineral dos frutos de 5 pomares. Valores expressos por quilograma de matéria seca. Legenda: S - Fruta sã; L - Fruta lesada acidentes fisiológicos internos; DP – Desvio padrão

Código	Tipo	Concentração (g kg ⁻¹)					Concentração (mg kg ⁻¹)					
		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B	
Pomar 1	S	Média	3,9	1,4	15,0	0,7	0,6	13,5	3,2	11,2	11,5	10,7
		DP	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,1	0,2	1,4	0,3
	L	Média	3,6	1,6	15,5	0,6	0,7	17,5	3,7	12,3	13,7	11,1
		DP	0,1	0,1	0,5	0,0	0,0	1,5	0,2	0,4	4,1	0,2
Pomar 5	S	Média	3,7	1,0	11,0	0,5	0,5	25,7	3,1	13,9	7,2	11,0
		DP	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	0,4	1,7	1,1	0,1
	L	Média	4,4	1,0	11,0	0,4	0,5	18,7	3,6	11,6	7,4	11,0
		DP	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,2	0,3	0,6	0,3
Pomar 6	S	Média	2,9	1,4	13,3	0,9	0,5	22,3	1,8	8,0	9,5	22,1
		DP	0,1	0,0	0,5	0,0	0,0	6,0	0,8	0,2	1,3	0,3
	L	Média	3,4	1,4	13,7	0,7	0,5	19,0	1,7	9,0	7,7	17,9
		DP	0,1	0,0	0,5	0,0	0,0	0,8	0,0	0,3	1,2	0,2
Pomar 7	S	Média	4,6	1,0	10,3	0,4	0,4	14,3	2,6	10,2	10,2	7,9
		DP	0,3	0,1	0,5	0,0	0,0	3,3	0,3	2,6	6,7	0,4
	L	Média	3,6	1,1	11,7	0,5	0,5	14,3	2,6	10,5	7,2	7,9
		DP	0,1	0,1	0,9	0,0	0,0	2,1	0,3	1,6	1,5	0,6
Pomar 8	S	Média	3,7	1,0	10,3	0,5	0,4	15,0	3,3	8,9	5,1	11,7
		DP	0,2	0,1	0,5	0,0	0,0	2,4	0,4	1,4	2,2	0,2
	L	Média	3,3	1,0	11,0	0,4	0,4	16,3	3,8	8,1	5,1	8,5
		DP	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,4	0,4	2,2	0,2

Quadro 3 - Coeficientes de correlação de Pearson entre a percentagem de acidentes fisiológicos e a quantidade de nutrientes presentes nos frutos amostrados (*correlação significativa a $P=0,05$). Legenda: ID – Internal disorder; CB – Core browning; C1 – Cavidades brancas sem acastanhamentos; C2 – cavidades necrosadas; FB – Flesh browning.

Tipo	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
ID	-0.33	0.00	-0.10	0.29	-0.28	0.98*	-0.34	0.68	-0.33	0.68
CB	-0.33	0.00	-0.10	0.29	-0.28	0.98*	-0.33	0.68	-0.33	0.68
C1	0.56	-0.70	-0.62	-0.80	-0.40	0.28	0.74	-0.55	-0.52	-0.52
C2	-0.21	-0.11	-0.21	0.22	-0.35	0.97*	-0.39	0.66	-0.37	0.61
FB	0.44	-0.38	-0.42	-0.12	-0.29	0.64	-0.33	0.30	-0.19	0.07

Quadro 4 - Razões dos teores minerais de cálcio com os restantes macronutrientes nos frutos sãos e lesados com acidentes fisiológicos internos em cinco pomares.

Pomar e	Ca/N	Ca/P	Ca/K	Ca/Mg
Pomar 1, são	0.18	0.49	0.05	1.11
Pomar 1, lesado	0.17	0.39	0.04	0.92
Pomar 5, são	0.14	0.53	0.05	1.10
Pomar 5, lesado	0.09	0.38	0.04	0.84
Pomar 6, são	0.30	0.62	0.06	1.80
Pomar 6, lesado	0.21	0.50	0.05	1.36
Pomar 7, são	0.10	0.45	0.04	0.98
Pomar 7, lesado	0.14	0.49	0.04	1.03
Pomar 8, são	0.13	0.46	0.04	1.14
Pomar 8, lesado	0.12	0.39	0.03	0.91

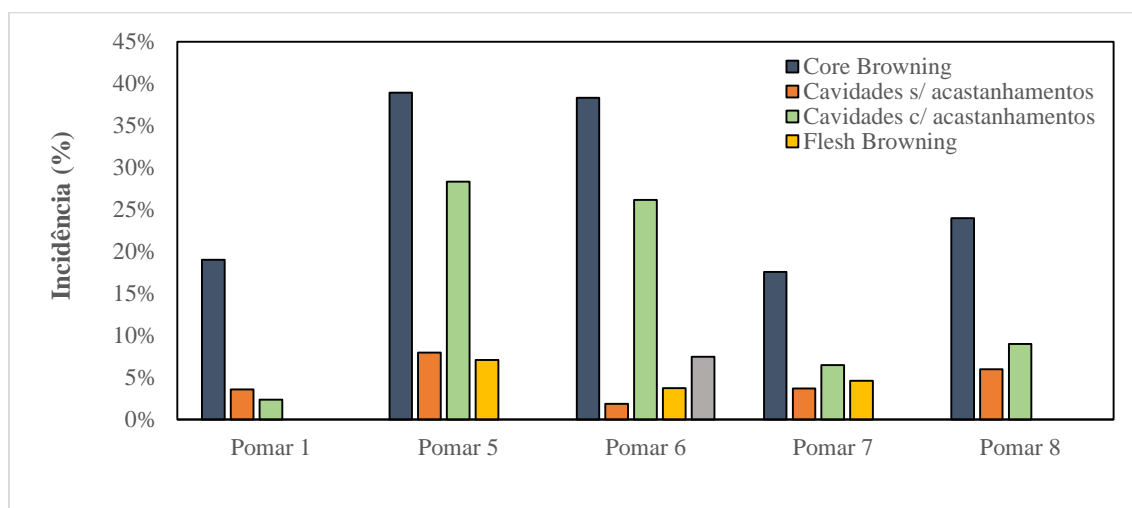


Figura 1 - Incidência de vários tipos de acidentes fisiológicos internos na fruta dos pomares amostrados.

Caracterización químico-pomológica de cuatro cultivares de granada (*Punica granatum* L) en el Este de la Península Ibérica

Gilberto Hernández-Hernández^{1*}, Alba Mondragón-Valero¹, Domingo M. Salazar¹ & Isabel López-Cortés¹

¹Departamento Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera S/N 46022 Valencia. Spain.*gilherhe@upv.es

Resumen

Ante el aumento de la importancia del cultivo del granado en nuestras zonas de producción que responde a una mayor demanda de los frutos del mismo por los consumidores, debido principalmente a las propiedades nutraceuticas que se le atribuyen, se plantea la caracterización de tres de los cultivares mayoritarios y uno de reciente instauración en nuestras zonas de cultivo (este de la Península Ibérica), siendo estos cultivares Acco, Mollar, Valencia y Wonderful.

Después de realizar la caracterización tanto pomológica del fruto como química del zumo se estudia el posible destino preferente para las granadas de cada uno de los cultivares en estudio en función de los valores obtenidos en los parámetros evaluados.

Para hacer este estudio se ha seguido la norma de la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV-CPVO) de la granada, TG 284/1, por la que se marcan las directrices a seguir para caracterizar el material vegetal del granado. Con todo ello, se han realizado mediciones de peso y dimensiones de los frutos, semillas y porción leñosa de las mismas, además se mide el volumen de zumo por fruto, contenido en sólidos solubles y acidez. Por último, se realiza la medición en el zumo obtenido del contenido en polifenoles y antocianos, compuestos que confieren las propiedades antioxidantes al fruto de granada.

Tras realizar los análisis se comprueba que existen diferencias entre los cultivares en estudio para los parámetros analizados.

De este modo, podemos clasificar los cultivares según caracterización química, debiendo ser los cultivares Mollar y Valencia considerados dulces, el cultivar Wonderful agrio y el cultivar Acco agridulce.

En cuanto al posible destino, se entiende como frutos más deseables para su consumo en fresco los de los cultivares Mollar y Valencia, el cultivar Wonderful es más apropiado para la industria del zumo, mientras el cultivar Acco presenta doble aptitud.

Palabras-clave: Granado, Pomología, Antioxidante, Cultivo, Aptitud.

Abstract

Given the increase in the importance of the cultivation of pomegranate in our production areas as a response to a greater demand for the fruits of the same by consumers, due mainly to the nutraceutical properties attributed to it, we propose the characterization of three cultivars Most of them in the Iberian peninsula, with Acco, Mollar, Valencia and Wonderful cultivars.

After the characterization of both the fruit pomological and juice chemistry, the possible preferential destination for the grenades of each of the cultivars under study is studied, depending on the values obtained in the evaluated parameters.

In order to carry out this study, the European Union Act for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV-CPVO) for pomegranate, TG 284/1, has been followed,

marking the guidelines to be followed to characterize the plant material of pomegranate. In spite of all this, measurements of weight and dimensions of the fruits, seeds and woody portion of them have been carried out. In addition, the volume of juice per fruit, soluble solids content and acidity are measured. Finally, the measurement is made in the juice obtained from the content of polyphenols and anthocyanins, compounds that confer the antioxidant properties to the fruit of pomegranate.

After the analysis, it is verified that there are differences between the cultivars under study for the analyzed parameters.

In this way, we can classify the cultivars according to chemical characterization, being the cultivars Mollar and Valencia considered sweet, the cultivar Wonderful sour and the cultivar Acco bittersweet.

Regarding the possible destination, it is understood as the most desirable fruits for its fresh consumption of the cultivars Mollar and Valencia, the cultivar Wonderful is more appropriate for the juice industry, while the cultivar Acco presents double aptitude.

Keywords: Pomegranate Tree- Pomology - Antioxidant - Cultivation – Aptitude.

Introducción

Existe una nueva tendencia en la alimentación que busca no solo alimentarse para saciar el hambre, si no que se busca que los alimentos tengan propiedades que mejoren la salud del que los consume, siendo estos alimentos los denominados nutracéuticos.

Uno de los más importantes en la actualidad es el granado, ya que a sus frutos se le atribuyen propiedades anticancerígenas y antioxidantes principalmente debido a su alto contenido en polifenoles y antocianos.

Todo ello hace que la demanda de esta fruta, tanto para su consumo en fresco como de preparados de zumo o la denominada cuarta gama haya aumentado en los últimos años, aumentando también la superficie de cultivo y las producciones en nuestras zonas de cultivo y en el mundo, donde se expande su producción en multitud de países de clima mediterráneo para alcanzar una superficie en cultivo de 166.000 hectáreas, de las que se obtiene una producción total de 2,15 millones de toneladas según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2013).

La gran variedad de materiales vegetales hace necesaria una caracterización químico-pomológica de los más importantes cultivares de nuestras zonas de cultivo, a fin de una vez conocidas sus características poder elegir un destino preferente para cada uno de los cultivares en estudio.

Material y Métodos

Se ha realizado la caracterización de cuatro cultivares instaurados en el Este de la Península Ibérica, tres de los denominados mayoritarios, el cultivar Mollar, cultivar Valencia y cultivar Wonderful, y uno de reciente instauración, el cultivar Acco.

Para llevar a cabo dicha caracterización se escogieron 100 frutos al azar de cada uno de los cultivares en estudio durante tres campañas, en su óptimo de maduración y se realizaron las mediciones que marca la norma de la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV-CPVO) TG 284/1, que es la correspondiente a la granada.

Además de la caracterización pomológica del fruto, se realizó una caracterización del zumo obtenido por fruto y el contenido en sólidos solubles y acidez de este.

De las muestras de zumo también se mide el contenido en polifenoles y antocianos.

Respecto a las semillas, se cogieron 100 semillas de cada cultivar al azar, a las cuales se les midió longitud y anchura de las mismas y de la parte leñosa, ya que nos interesa que la proporción de parte jugosa sea lo más alta posible.

Para completar la caracterización de los cultivares también se caracterizó las hojas, midiendo la superficie de las mismas.

Resultados y Discusión

Una vez realizada la caracterización UPOV de los frutos se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cultivares estudiados, de este modo los frutos del cultivar Mollar son los que alcanzan unas mayores dimensiones y un mayor peso, mientras que los frutos del cultivar Acco no han alcanzado el calibre esperado si se compara con los resultados obtenidos por otros autores como Olaniyi & Umuezuruike (2013).

En cuanto a la caracterización del zumo, se obtuvieron los valores que cabría esperar, siendo el zumo de mayor acidez el del cultivar Wonderful, mientras que el que menos contenido tiene es el cultivar Mollar, al hacer el cociente entre el contenido en sólidos solubles y la acidez se obtiene el índice de madurez, con el que se puede clasificar los cultivares, de este modo el cultivar Wonderful es un cultivar agrio, el cultivar Acco semidulce y los cultivares Mollar y Valencia dulces.

Por otro lado tras realizar los análisis correspondientes para obtener el contenido en antocianos y polifenoles del zumo, se observa que en el cultivar Acco es donde el contenido de ambos compuestos es máximo, mientras que en el zumo del cultivar Valencia es donde es más bajo el contenido en polifenoles y antocianos.

Respecto a la caracterización de las semillas, las del cultivar Valencia son las que presentan una menor proporción de porción leñosa, mientras que en el cultivar Acco la proporción de porción leñosa es máxima, llegando casi a doblar el valor del cultivar Valencia.

Por último, en la caracterización de las hojas se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cultivares en estudio, las hojas de mayor tamaño son las del cultivar Valencia, mientras que las hojas de menor superficie son las del cultivar Wonderful.

Conclusiones

Tal y como se observa en la figura 1, existe un comportamiento diferenciado entre los cultivares en estudio, de este modo cada uno de ellos presenta unas dimensiones de fruto, hojas y semillas diferente, además de la composición química del fruto.

Tras analizar el conjunto de datos se estima que el destino preferente para los cultivares Mollar y Valencia es el consumo en fresco, dado sus dimensiones, proporción de porción leñosa y estar clasificados como dulces, por otro lado los frutos del cultivar Wonderful son más apropiados para la elaboración de zumos al tratarse de un cultivar agrio con un color muy atractivo para el consumidor, por último el cultivar Acco presenta una doble aptitud ya que se considera que por sus características es igual de apto para su consumo en fresco como para la industria del zumo.

Referencias

Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenberg A., Shomer, I. & Holland, D. 2009. Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Journal of Food Composition and Analysis.*, 22: 189-195.

- Laribi, A. I., Palou, L., Intrigliolo, D. S., Nortes, P. A., Rojas-Argudo, C., Taberner, V., Bartual, J. & Pérez-Gago, M. B. 2013. Effect of sustained and regulated deficit irrigation on fruit quality of pomegranate cv. 'Mollar de Elche' at harvest and during cold storage. *Agricultural Water Management*, 125: 61-70.
- Martínez, J.J., Melgarejo, P., Hernández, F., Salazar, D. M. & Martínez, R. 2006. Seed characterisation of five new pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties. *Scientia Horticulturae*, 110: 241-246.
- Melgarejo, P., Salazar, D.M. & Artés, F. 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Our Food Res Technol.*, 211: 185-190.
- Melgarejo, P. & Salazar, D.M., 2003. Tratado de Fruticultura para zonas áridas y semiáridas, Volumen II. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 421 pp.
- Melgarejo, P. & Valero, D. (coord.). 2012. II International Symposium on the Pomegranate. Editorial CIEAM.Zaragoza. 337 pp.
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J. & Saura, D.; Martí, N. 2011. Phytochemical characterization for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *J Sci Food Agric.*, 91: 1893-1906.
- Olaniyi Amos F. & Umuezuruike Linus, O. 2013. Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia Horticulturae*, 159: 152-161.
- Shwartz, E., Glazer, I., Bar-Ya'akov, I., Matiyahu, I., Bar-Ilan, I., Holland, D. & Amir, R. 2009. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, 115: 965-973.
- Vegara, S., Martí, N., Lorente, J., Streitenberger, S., Valero, M. & Saura, D. 2014. Chemical guide parameters for *Punica granatum* cv. "Mollar" fruit juices processed at industrial scale. *Food Chemistry*. 147: 203-208.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Media de las dimensiones de los frutos de cada uno de los cultivares en estudio.

Cultivar	P (g)	Diámetro (mm)	Lg (mm)	Lt (mm)	Lc (mm)
Acco	223,92	73,14	65,15	76,58	11,45
Mollar	424,78	96,79	82,41	97,29	14,77
Valencia	331,48	89,20	76,76	96,58	20,31
Wonderful	328,64	88,84	77,13	94,85	17,94

Tabla 2- Media de la composición de los zumos por cultivar en estudio.

Cultivar	SS (°Brix)	Acidez (% ac. Cítr.)	IM	Antocianos (mg/L)	Polifenoles (mg/L)
Acco	14,81	0,36	41,50	484,00	5460,16
Mollar	15,72	0,21	74,40	144,00	3667,58
Valencia	14,96	0,22	67,90	81,30	2163,52
Wonderful	17,38	1,91	9,10	317,00	3719,79

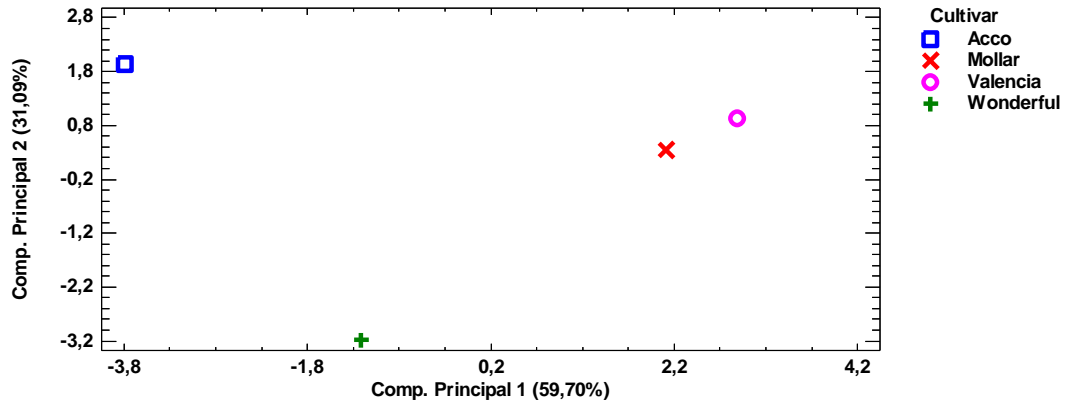


Figura 1- Distribuição do análise de componentes principais sobre cultivares em base a los 16 parámetros medidos para cada uno de ellos.

Caracterización químico-pomológica de cuatro cultivares de granada (*Punica granatum* L) en el Este de la Península Ibérica

Gilberto Hernández-Hernández^{1*}, Alba Mondragón-Valero¹, Domingo M. Salazar¹ & Isabel López-Cortés¹

¹Departamento Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera S/N 46022 Valencia. Spain.*gilherhe@upv.es

Resumen

Ante el aumento de la importancia del cultivo del granado en nuestras zonas de producción que responde a una mayor demanda de los frutos del mismo por los consumidores, debido principalmente a las propiedades nutraceuticas que se le atribuyen, se plantea la caracterización de tres de los cultivares mayoritarios y uno de reciente instauración en nuestras zonas de cultivo (este de la Península Ibérica), siendo estos cultivares Acco, Mollar, Valencia y Wonderful.

Después de realizar la caracterización tanto pomológica del fruto como química del zumo se estudia el posible destino preferente para las granadas de cada uno de los cultivares en estudio en función de los valores obtenidos en los parámetros evaluados.

Para hacer este estudio se ha seguido la norma de la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV-CPVO) de la granada, TG 284/1, por la que se marcan las directrices a seguir para caracterizar el material vegetal del granado. Con todo ello, se han realizado mediciones de peso y dimensiones de los frutos, semillas y porción leñosa de las mismas, además se mide el volumen de zumo por fruto, contenido en sólidos solubles y acidez. Por último, se realiza la medición en el zumo obtenido del contenido en polifenoles y antocianos, compuestos que confieren las propiedades antioxidantes al fruto de granada.

Tras realizar los análisis se comprueba que existen diferencias entre los cultivares en estudio para los parámetros analizados.

De este modo, podemos clasificar los cultivares según caracterización química, debiendo ser los cultivares Mollar y Valencia considerados dulces, el cultivar Wonderful agrio y el cultivar Acco agridulce.

En cuanto al posible destino, se entiende como frutos más deseables para su consumo en fresco los de los cultivares Mollar y Valencia, el cultivar Wonderful es más apropiado para la industria del zumo, mientras el cultivar Acco presenta doble aptitud.

Palabras-clave: Granado, Pomología, Antioxidante, Cultivo, Aptitud.

Abstract

Given the increase in the importance of the cultivation of pomegranate in our production areas as a response to a greater demand for the fruits of the same by consumers, due mainly to the nutraceutical properties attributed to it, we propose the characterization of three cultivars Most of them in the Iberian peninsula, with Acco, Mollar, Valencia and Wonderful cultivars.

After the characterization of both the fruit pomological and juice chemistry, the possible preferential destination for the grenades of each of the cultivars under study is studied, depending on the values obtained in the evaluated parameters.

In order to carry out this study, the European Union Act for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV-CPVO) for pomegranate, TG 284/1, has been followed,

marking the guidelines to be followed to characterize the plant material of pomegranate. In spite of all this, measurements of weight and dimensions of the fruits, seeds and woody portion of them have been carried out. In addition, the volume of juice per fruit, soluble solids content and acidity are measured. Finally, the measurement is made in the juice obtained from the content of polyphenols and anthocyanins, compounds that confer the antioxidant properties to the fruit of pomegranate.

After the analysis, it is verified that there are differences between the cultivars under study for the analyzed parameters.

In this way, we can classify the cultivars according to chemical characterization, being the cultivars Mollar and Valencia considered sweet, the cultivar Wonderful sour and the cultivar Acco bittersweet.

Regarding the possible destination, it is understood as the most desirable fruits for its fresh consumption of the cultivars Mollar and Valencia, the cultivar Wonderful is more appropriate for the juice industry, while the cultivar Acco presents double aptitude.

Keywords: Pomegranate Tree- Pomology - Antioxidant - Cultivation – Aptitude.

Introducción

Existe una nueva tendencia en la alimentación que busca no solo alimentarse para saciar el hambre, si no que se busca que los alimentos tengan propiedades que mejoren la salud del que los consume, siendo estos alimentos los denominados nutracéuticos.

Uno de los más importantes en la actualidad es el granado, ya que a sus frutos se le atribuyen propiedades anticancerígenas y antioxidantes principalmente debido a su alto contenido en polifenoles y antocianos.

Todo ello hace que la demanda de esta fruta, tanto para su consumo en fresco como de preparados de zumo o la denominada cuarta gama haya aumentado en los últimos años, aumentando también la superficie de cultivo y las producciones en nuestras zonas de cultivo y en el mundo, donde se expande su producción en multitud de países de clima mediterráneo para alcanzar una superficie en cultivo de 166.000 hectáreas, de las que se obtiene una producción total de 2,15 millones de toneladas según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO, 2013).

La gran variedad de materiales vegetales hace necesaria una caracterización químico-pomológica de los más importantes cultivares de nuestras zonas de cultivo, a fin de una vez conocidas sus características poder elegir un destino preferente para cada uno de los cultivares en estudio.

Material y Métodos

Se ha realizado la caracterización de cuatro cultivares instaurados en el Este de la Península Ibérica, tres de los denominados mayoritarios, el cultivar Mollar, cultivar Valencia y cultivar Wonderful, y uno de reciente instauración, el cultivar Acco.

Para llevar a cabo dicha caracterización se escogieron 100 frutos al azar de cada uno de los cultivares en estudio durante tres campañas, en su óptimo de maduración y se realizaron las mediciones que marca la norma de la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV-CPVO) TG 284/1, que es la correspondiente a la granada.

Además de la caracterización pomológica del fruto, se realizó una caracterización del zumo obtenido por fruto y el contenido en sólidos solubles y acidez de este.

De las muestras de zumo también se mide el contenido en polifenoles y antocianos.

Respecto a las semillas, se cogieron 100 semillas de cada cultivar al azar, a las cuales se les midió longitud y anchura de las mismas y de la parte leñosa, ya que nos interesa que la proporción de parte jugosa sea lo más alta posible.

Para completar la caracterización de los cultivares también se caracterizó las hojas, midiendo la superficie de las mismas.

Resultados y Discusión

Una vez realizada la caracterización UPOV de los frutos se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cultivares estudiados, de este modo los frutos del cultivar Mollar son los que alcanzan unas mayores dimensiones y un mayor peso, mientras que los frutos del cultivar Acco no han alcanzado el calibre esperado si se compara con los resultados obtenidos por otros autores como Olaniyi & Umuezuruike (2013).

En cuanto a la caracterización del zumo, se obtuvieron los valores que cabría esperar, siendo el zumo de mayor acidez el del cultivar Wonderful, mientras que el que menos contenido tiene es el cultivar Mollar, al hacer el cociente entre el contenido en sólidos solubles y la acidez se obtiene el índice de madurez, con el que se puede clasificar los cultivares, de este modo el cultivar Wonderful es un cultivar agrio, el cultivar Acco semidulce y los cultivares Mollar y Valencia dulces.

Por otro lado tras realizar los análisis correspondientes para obtener el contenido en antocianos y polifenoles del zumo, se observa que en el cultivar Acco es donde el contenido de ambos compuestos es máximo, mientras que en el zumo del cultivar Valencia es donde es más bajo el contenido en polifenoles y antocianos.

Respecto a la caracterización de las semillas, las del cultivar Valencia son las que presentan una menor proporción de porción leñosa, mientras que en el cultivar Acco la proporción de porción leñosa es máxima, llegando casi a doblar el valor del cultivar Valencia.

Por último, en la caracterización de las hojas se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cultivares en estudio, las hojas de mayor tamaño son las del cultivar Valencia, mientras que las hojas de menor superficie son las del cultivar Wonderful.

Conclusiones

Tal y como se observa en la figura 1, existe un comportamiento diferenciado entre los cultivares en estudio, de este modo cada uno de ellos presenta unas dimensiones de fruto, hojas y semillas diferente, además de la composición química del fruto.

Tras analizar el conjunto de datos se estima que el destino preferente para los cultivares Mollar y Valencia es el consumo en fresco, dado sus dimensiones, proporción de porción leñosa y estar clasificados como dulces, por otro lado los frutos del cultivar Wonderful son más apropiados para la elaboración de zumos al tratarse de un cultivar agrio con un color muy atractivo para el consumidor, por último el cultivar Acco presenta una doble aptitud ya que se considera que por sus características es igual de apto para su consumo en fresco como para la industria del zumo.

Referencias

Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenberg A., Shomer, I. & Holland, D. 2009. Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Journal of Food Composition and Analysis.*, 22: 189-195.

- Laribi, A. I., Palou, L., Intrigliolo, D. S., Nortes, P. A., Rojas-Argudo, C., Taberner, V., Bartual, J. & Pérez-Gago, M. B. 2013. Effect of sustained and regulated deficit irrigation on fruit quality of pomegranate cv. 'Mollar de Elche' at harvest and during cold storage. *Agricultural Water Management*, 125: 61-70.
- Martínez, J.J., Melgarejo, P., Hernández, F., Salazar, D. M. & Martínez, R. 2006. Seed characterisation of five new pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties. *Scientia Horticulturae*, 110: 241-246.
- Melgarejo, P., Salazar, D.M. & Artés, F. 2000. Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *Our Food Res Technol.*, 211: 185-190.
- Melgarejo, P. & Salazar, D.M., 2003. Tratado de Fruticultura para zonas áridas y semiáridas, Volumen II. Editorial Mundi-Prensa. Madrid. 421 pp.
- Melgarejo, P. & Valero, D. (coord.). 2012. II International Symposium on the Pomegranate. Editorial CIEAM.Zaragoza. 337 pp.
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J. & Saura, D.; Martí, N. 2011. Phytochemical characterization for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *J Sci Food Agric.*, 91: 1893-1906.
- Olaniyi Amos F. & Umuezuruike Linus, O. 2013. Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. *Scientia Horticulturae*, 159: 152-161.
- Shwartz, E., Glazer, I., Bar-Ya'akov, I., Matiyahu, I., Bar-Ilan, I., Holland, D. & Amir, R. 2009. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. *Food Chemistry*, 115: 965-973.
- Vegara, S., Martí, N., Lorente, J., Streitenberger, S., Valero, M. & Saura, D. 2014. Chemical guide parameters for *Punica granatum* cv. "Mollar" fruit juices processed at industrial scale. *Food Chemistry*. 147: 203-208.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Media de las dimensiones de los frutos de cada uno de los cultivares en estudio.

Cultivar	P (g)	Diámetro (mm)	Lg (mm)	Lt (mm)	Lc (mm)
Acco	223,92	73,14	65,15	76,58	11,45
Mollar	424,78	96,79	82,41	97,29	14,77
Valencia	331,48	89,20	76,76	96,58	20,31
Wonderful	328,64	88,84	77,13	94,85	17,94

Tabla 2- Media de la composición de los zumos por cultivar en estudio.

Cultivar	SS (°Brix)	Acidez (% ac. Cítr.)	IM	Antocianos (mg/L)	Polifenoles (mg/L)
Acco	14,81	0,36	41,50	484,00	5460,16
Mollar	15,72	0,21	74,40	144,00	3667,58
Valencia	14,96	0,22	67,90	81,30	2163,52
Wonderful	17,38	1,91	9,10	317,00	3719,79

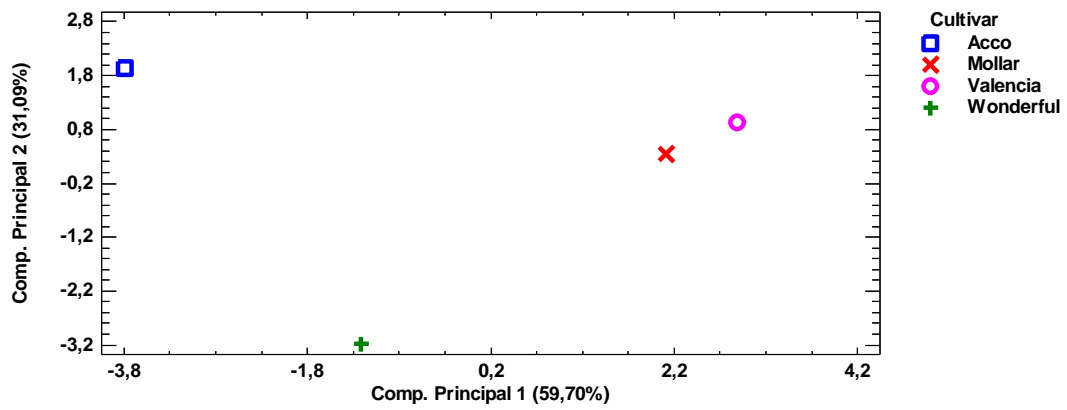


Figura 1- Distribuição del análisis de componentes principales sobre cultivares en base a los 16 parámetros medidos para cada uno de ellos.

Evolución de la calidad de ciruela ‘Jonh W’ y nectarina ‘Big Nectared’ durante su maduración y almacenamiento postcosecha prolongado

Belén Velardo-Micharet¹, Julián E. Fernández-Sánchez¹, María J. Rodríguez-Gómez¹, Manuel J. Serradilla¹

¹CICYTEX-INTAEX, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura. Avd. Adolfo Suárez, s/n. CP. 06007. Badajoz (España), e-mail: belenvelardo@gmail.com

Resumen

Los objetivos de este trabajo fueron I) caracterizar el patrón de maduración y II) estudiar la aptitud al almacenamiento postcosecha de dos cultivares de reciente producción en Extremadura, ciruela ‘Jonh W’ y nectarina ‘Big Nectared’, con el fin de abastecer mercados lejanos de exportación. Ambos cultivares se recolectaron en madurez comercial, manteniéndose a temperatura ambiente (vida útil) en el ensayo de maduración (I) y en refrigeración (1,5 °C y 85% de humedad relativa durante 25 y 45 días, seguido de una vida útil de 4 días) bajo condiciones de atmósfera modificada (AM) y normal (tratamiento control), en el ensayo de almacenamiento postcosecha (II). En cada fecha de análisis se evaluó la producción de etileno, la composición de la atmósfera en el interior de los envases, pérdidas de peso, índice de madurez (IAD), firmeza, color, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), SST/Acidez e incidencia de daños por frío. La madurez de consumo se consiguió a los 4 días en ambos cultivares, estableciéndose una elevada correlación entre el IAD y la producción de etileno y firmeza de los frutos. Otros parámetros, como el color, SST y acidez no evolucionaron significativamente a lo largo de la maduración. El efecto del envasado en AM sobre la maduración y el control de daños por frío en el almacenamiento postcosecha fue mayor en ciruela que en nectarina, debido a que se alcanzó una mayor modificación de la atmósfera en el interior del envase. La AM inhibió la producción de etileno en ciruela y la disminuyó significativamente en nectarina, respecto a las muestras control, además de disminuir las pérdidas de peso y de firmeza. Respecto a los daños por frío, retrasó su aparición en ciruela y redujo la severidad de los mismos en nectarina. En conclusión, ambos cultivares presentaron una maduración lenta y buena aptitud al almacenamiento postcosecha prolongado bajo condiciones de AM.

Palabras clave: refrigeración, vida útil, atmósfera modificada, *Prunus salicina*, *Prunus pérsica*.

Abstract

The aims of this work were I) to characterize the ripening pattern and II) to study the aptitude for postharvest storage of two new cultivars in Extremadura, 'Jonh W' plum and 'Big Nectared' nectarine, in order to reach distant markets from exportation. Both cultivars were harvested at commercial maturity and stored at room temperature (shelf-life) in the ripening test (I) and refrigeration (1.5 °C and 85% relative humidity for 25 and 45 days, followed by a shelf-life of 4 days) under modified atmosphere (AM) and normal conditions (control treatment), in the postharvest storage test (II). At each sampling date, the ethylene production, the composition of the gaseous atmosphere inside the package, weight loss, maturity index (IAD), firmness, color, total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), SST/Acidity and incidence of chilling injury were analyzed. The ripening

was achieved at 4 days in both cultivars, establishing a high correlation between the IAD and the ethylene production and firmness of the fruits. Other parameters, such as color, TSS and acidity, did not evolve significantly during ripening. The effect of AM packaging on ripening and chilling injury in post-harvest storage was higher in plum than in nectarine, due to a greater modification of the atmosphere inside the package. AM inhibited the production of ethylene in plum and decreased it significantly in nectarine, compared to the control treatment, in addition to reducing weight loss and firmness. Regarding the chilling injury, AM delayed its appearance in plum and reduced the severity of the same in nectarine. In conclusion, both cultivars showed a slow maturation and good aptitude to prolonged postharvest storage under AM conditions.

Keywords: refrigeration, shelf-life, modified atmosphere, *Prunus salicina*, *Prunus persica*.

Introducción

La fruticultura es un sector de gran incidencia socioeconómica para Extremadura, ocupando el primer puesto en producción nacional de ciruela (92.700 t en 2016) y el cuarto lugar en nectarina (59.915 t en 2016) en 2016 (MAPAMA, 2016). El gran dinamismo de los viveros y programas de mejora genética ha permitido la obtención de una gran variedad de frutos con características diferentes y amplios rangos de maduración (Iglesias y Casals, 2013). Sin embargo, falta información sobre el comportamiento que estas variedades pueden tener bajo condiciones edafoclimáticas diferentes a las de su país de origen.

El destino principal de la fruta extremeña son los mercados europeos y extracomunitarios, lo cual implica un proceso de distribución y comercialización largo (22-45 días por vía marítima). Para poder abastecer a este tipo de mercados y conseguir que la fruta llegue con unos estándares mínimos de calidad al consumidor, es necesario aplicar tecnologías postcosecha de conservación, adicionales a la refrigeración (Bernalte et al., 2006). El envasado en atmósfera modificada (EAM) es la tecnología comúnmente empleada, por ser la más sencilla, flexible y barata de aplicar en las centrales frutícolas. Entre los efectos favorables del EAM destacan evitar las pérdidas de peso por deshidratación, reducir la tasa respiratoria y de producción de etileno, retrasar la maduración y senescencia de la fruta, reducir la incidencia y severidad de los daños por frío y evitar la contaminación cruzada de unos envases a otros dentro del mismo contenedor. Como contrapartida, la aplicación incorrecta del EAM puede iniciar o agravar alteraciones fisiológicas y/o fúngicas o inducir una maduración anómala o sabor y aromas extraños (Artés, 2006).

Por todo ello, los objetivos de este trabajo fueron I) caracterizar el patrón de maduración y II) estudiar la aptitud al almacenamiento postcosecha prolongado de dos cultivares de reciente producción en Extremadura, ciruela ‘Jonh W’ y nectarina ‘Big Nectared’.

Material y Métodos

Frutos de nectarina (*Prunus persica* (L.) Batsch) ‘Big Nectared’ y ciruela (*Prunus salicina*, L.) ‘Jonh W’ fueron recolectados en madurez comercial a finales de julio y de agosto de 2015, respectivamente. Un total de 84 frutos por cultivar se utilizaron para la caracterización de la fruta de partida y el ensayo de maduración (I), que consistió en mantener los frutos en condiciones ambientales de temperatura y humedad durante 8 y 11 días en nectarina y ciruela, respectivamente, realizándose controles de calidad diarios

hasta la senescencia o sobremaduración de los mismos. Paralelamente se llevó a cabo un almacenamiento postcosecha (II) para el que se emplearon 192 frutos por cultivar, que se dividieron en dos lotes; el tratamiento control bajo condiciones de atmósfera normal (AN) y el tratamiento de atmósfera modificada (AM) mediante el envasado de los frutos en bolsas comerciales Xtend para fruta de hueso. La fruta se mantuvo a 1,5 °C y 85% de humedad relativa durante 25 y 45 días, aplicándose posteriormente una vida útil de 4 días a 20 °C. En cada fecha de análisis se realizaron las siguientes determinaciones:

Composición gaseosa y producción de etileno

La concentración de O₂ y CO₂ (%) fue medida en el interior de las bolsas (n=3) utilizando un analizador de gases *Oxibaby 6* (Witt gasetechnic, Santander, España). El etileno (nL g⁻¹·h⁻¹) emitido por los frutos durante 45 minutos en jarras herméticas de 1,5 L fue inyectado (1 mL) en un cromatógrafo de gases unido a un detector FID (Agilent® Technologies 7890B) y una columna DVB (*polystyrene-divinylbenzene*; Agilent® J&W HP-PLOT Q).

Pérdidas de peso

Las pérdidas de peso (%) fueron determinadas por gravimetría usando una balanza AE-166 (Mettler Toledo, Ohio, Estados Unidos) sobre un total de 24 frutos por cultivar, tratamiento y fecha de análisis.

Calidad físico-química

Todas las determinaciones se realizaron en frutos individuales (n=24), excepto sólidos solubles totales (SST) y acidez, que se realizaron a partir de homogeneizados de fruta (n=3). Los controles de calidad físico-química incluyeron la determinación del índice de madurez (IAD) con un espectrómetro visible portátil *DA-Meter* (TR Turoni, S.r.l., Forlì, Italy), la textura por penetrometría con sonda de 8 mm de diámetro en un texturómetro *Stable Micro Systems Texture Analyzer TA-XT2i* (Anname, Pozuelo, Madrid, España), el color de la piel mediante un espectrofotómetro *CM-3500d* (Konica Minolta, Aquateknica, S.A., Valencia, España) utilizando las coordenadas del espacio de color CIELaB, el contenido de SST (°Brix) en un refractómetro digital portátil *Atago* (Atago CO., LTD, Tokio, Japon. Pocket refractometer pal-1) y la acidez (% ácido málico) en un valorador automático *DL50 Graphix* (Mettler Toledo, S.A.E., Coslada, Madrid, España) según se describe en Velardo et al. (2017).

Daños por frío

La incidencia de daños por frío (%) y su intensidad (escala de 1 ausencia de daño, 2 daño leve y 3 daño moderado-grave) se hizo mediante el recuento de frutos que presentaban pigmentación de la pulpa (reddening), harinosidad (mealiness), pardeamiento (internal browning) y transparencia o gel (gel breakdown).

Análisis estadístico

Los resultados se trataron estadísticamente mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA), test de comparación de medias (Tukey, p<0,05) y correlación de Pearson (p<0,05) con el programa estadístico *SPSS 17.0* (SPSS Inc., Chicago, IL, US).

Resultados y discusión

Caracterización del patrón de maduración

La nectarina maduró a un ritmo mayor que la ciruela, observándose una pérdida importante de la calidad después de 8 días a temperatura ambiente, frente a los 11 días de la ciruela. En ambos cultivares se observó una disminución acusada del peso de los frutos debido a la deshidratación de los mismos, acompañado de una pérdida de firmeza e índice de madurez (IAD) con el transcurso de los días en vida útil (Tabla 1). Los SST y la acidez, se mantuvieron sin diferencias significativas durante todo el periodo, con valores medios

de $12,04 \pm 1,32$ °Brix y $0,47 \pm 0,07\%$ ácido málico en nectarina y de $18,89 \pm 1,81$ °Brix y $1,19 \pm 0,16\%$ ácido málico en ciruela (datos no mostrados).

En la nectarina ‘Big Nectared’ no hubo evolución significativa del color durante la maduración de los frutos, al tratarse de un cultivar que adquiere pronto el color rojo definitivo, siendo ésta una característica de las nuevas variedades de los programas de mejora varietal. La ciruela ‘Jonh W’, en cambio, adquirió tonalidades más oscuras con la maduración de los frutos, con disminuciones significativas de L^* , a^* y b^* desde los 4 días de vida útil (Tabla 1).

Ninguno de los dos cultivares produjo etileno en la fecha inicial, siendo necesarios 4 días de permanencia a temperatura ambiente para su activación. El inicio de la producción de etileno se consideró como el momento en el que los frutos adquirieron madurez de consumo, observándose una elevada correlación con el índice de madurez ($R = -0,775$ y $R = -0,763$ en nectarina y ciruela, respectivamente) y la firmeza de los frutos ($R = -0,721$ y $R = -0,675$ en nectarina y ciruela, respectivamente), como puede observarse en la Figura 1.

Aptitud al almacenamiento postcosecha

Composición gaseosa y producción de etileno

El análisis de la composición gaseosa en el interior de los envases de AM se realizó a diario hasta alcanzarse la atmósfera de equilibrio. En nectarina ‘Big Nectared’ la AM de equilibrio se consiguió a los dos días desde su confección, estableciéndose unos valores medios de $9,6\%$ O_2 y $6,5\%$ CO_2 durante el almacenamiento postcosecha. En ciruela ‘Jonh W’ la AM de equilibrio se alcanzó en pocas horas desde su confección, ya que la concentración de O_2 y de CO_2 de partida (día 0) fueron de $15,6\%$ y $6,9\%$, respectivamente, manteniéndose posteriormente y a lo largo de la conservación en valores medios de 15% O_2 y $8,3\%$ CO_2 (datos no mostrados). Tales diferencias muestran una mayor tasa respiratoria en la ciruela.

Respecto a la producción de etileno, no se detectó en ninguno de los dos cultivares a la salida de refrigeración, siendo necesario el periodo de vida útil para su cuantificación (Figura 2). En la nectarina, la máxima producción de etileno se dió a los 25 ± 4 días, tanto en los frutos control como en los de AM, disminuyendo significativamente a los 45 ± 4 días en ambos tratamientos. En la ciruela, en cambio, sólo se detectó etileno en los frutos control en cantidades crecientes con los días de almacenamiento postcosecha, inhibiéndose su síntesis en los frutos envasados en AM (Figura 2).

Pérdidas de peso

El envasado en AM evitó las pérdidas de peso por deshidratación de los frutos durante el almacenamiento refrigerado (Figura 3) y las redujo significativamente durante la vida útil (datos no mostrados) frente a las muestras control en ambos cultivares. La nectarina presentó mayores pérdidas de peso que la ciruela, resultando más susceptible a la deshidratación, debido, por un lado, a la mayor relación superficie/volumen y, por otro, a la ausencia de la capa de pruina impermeable característica de las ciruelas.

Calidad físico-química

El índice de madurez (IAD) de las nectarinas envasadas en AM se mantuvo sin diferencias significativas respecto a la fruta de partida durante los 45 días de almacenamiento refrigerado, a diferencia del tratamiento control. En vida útil, el IAD de las nectarinas disminuyó significativamente, igualándose entre tratamientos. En las ciruelas, se produjo una disminución significativa del IAD respecto a la fruta de partida,

siendo superior en las muestras control que en las envasadas en AM. A diferencia de las nectarinas, en vida útil las ciruelas del tratamiento AM presentaron un IAD superior que las ciruelas control (datos no mostrados).

La evolución de la firmeza en postcosecha se expresó como la pendiente (N/mm) de la curva fuerza/deformación, debido al falso aumento de fuerza máxima de los frutos ocasionado por la pérdidas de peso, que dan lugar a un aumento de las elasticidad de los tejidos. En general, el envasado en AM redujo las pérdidas de firmeza en ambos cultivares durante el almacenamiento refrigerado. Tras el periodo de vida útil, la firmeza de las nectarinas control y AM se igualan, a diferencia de las ciruelas (Figura 4).

El color de las nectarinas permaneció constante y sin diferencias significativas entre tratamientos durante el almacenamiento postcosecha y vida útil, acorde a los resultados obtenidos en el ensayo de maduración anteriormente comentados. En la ciruela, las diferencias de color entre tratamientos fueron significativas tras el periodo de vida útil, presentando los frutos envasados en AM valores superiores de a^* y b^* que las muestras control (datos no mostrados).

El contenido en SST de las nectarinas control aumentó durante el almacenamiento postcosecha a consecuencia de la deshidratación de los frutos, produciéndose una concentración de sólidos solubles. En ciruela, los SST permanecieron constantes (valor medio de 18,7 °Brix) y sin diferencias significativas entre tratamientos a lo largo de todo el almacenamiento. La acidez disminuyó gradual y significativamente con los días de conservación, presentando la nectarina una disminución más acusada (55,1%) que la ciruela (27,9%) al final del almacenamiento. En general, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (datos no mostrados).

Daños por frío

La evaluación de daños por frío se realizó exclusivamente a la salida de vida útil por ser la temperatura a la que se manifiestan los síntomas. Sólo se observaron daños por frío en nectarina a los 45+4 días, presentando pardeamiento en el 55,5% de las muestras control y el 50% del tratamiento AM. Aunque el porcentaje de daños fue similar entre tratamientos, no lo fue la severidad de los mismos, presentando síntomas más graves las muestras control (Figura 5). La ciruela no manifestó síntomas de daños por frío, presentando por tanto un periodo de inducción a daños por frío superior que la nectarina.

Conclusión

En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que tanto la nectarina 'Big Nectared' como la ciruela 'Jonh W' presentaron un patrón de maduración lento y una aptitud postcosecha suficiente como para llegar a mercados extracomunitarios de 25 días en la nectarina y de 45 días en la ciruela, siempre y cuando se envíen confeccionados en bolsas de AM.

Agradecimientos

Los autores de este trabajo agradecen la financiación del Grupo de Investigación Hortofruenol (AGA002).

Referencias

Artés, F.C. (2006). El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 7(1):41-47.

- Bernalte, M.J., Ayuso, M.C., Lozano, M., Hernández, M.T., Vidal-Aragón, M.C. (2006). Tratamientos postcosecha de fruta para el mantenimiento de su calidad. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 215:65-69.
- Iglesias, I., Casals, E. (2013). Producción, comercialización y consume de melocotón en España. *Vida Rural*, 357:23-30.
- MAPAMA (2016) <http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/default.aspx>
- Belén Velardo-Micharet, Cristina M. Pintado, Eve Dupille, M. Concepción Ayuso-Yuste, Mercedes Lozano, M. Josefa Bernalte-García (2017). Effect of ripening stage, 1-MCP treatment and different temperature regimes on long term storage of ‘Songold’ Japanese plum. *Scientia Horticulturae*, 214:233-241.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Evolución de las pérdidas de peso, firmeza, índice de madurez (IAD) y etileno de nectarina ‘Big Nectared’ y ciruela ‘Jonh W’ durante su maduración en vida útil

Fruta y cultivar	Cosecha + Vida útil (días)	Pérdidas de peso (%)	Firmeza (N)	L*	a*	b*
Nectarina ‘Big Nectared’	Cosecha	0,00e	41,49a	48,16	27,65	28,12
	1	2,00d	42,73a	45,79	28,68	24,52
	2	4,01c	38,79a	49,27	26,59	26,94
	3	7,39b	23,67b	47,11	29,66	25,42
	4	8,97b	14,57c	47,59	28,44	25,23
	7	12,44a	3,09d	45,30	31,19	24,57
	8	12,75a	2,40d	42,91	30,11	22,72
	Ciruela ‘Jonh W’	Cosecha	0,00f	24,47a	37,82a	20,10a
2		2,01e	20,54b	35,47ab	17,07a	7,82b
4		3,52d	18,31b	39,02a	18,81a	8,95b
7		6,22c	6,61c	32,62b	12,65b	2,70c
9		7,79b	3,37de	31,35b	8,93b	0,40c
10		8,43b	2,81de	32,97b	11,58b	2,28c
11		10,05a	2,15e	32,60b	9,26b	0,14c

Por cultivar, valores en la misma fila seguidos de letras distintas difieren estadísticamente a un nivel de significación de 0,05 según el test de Tukey.

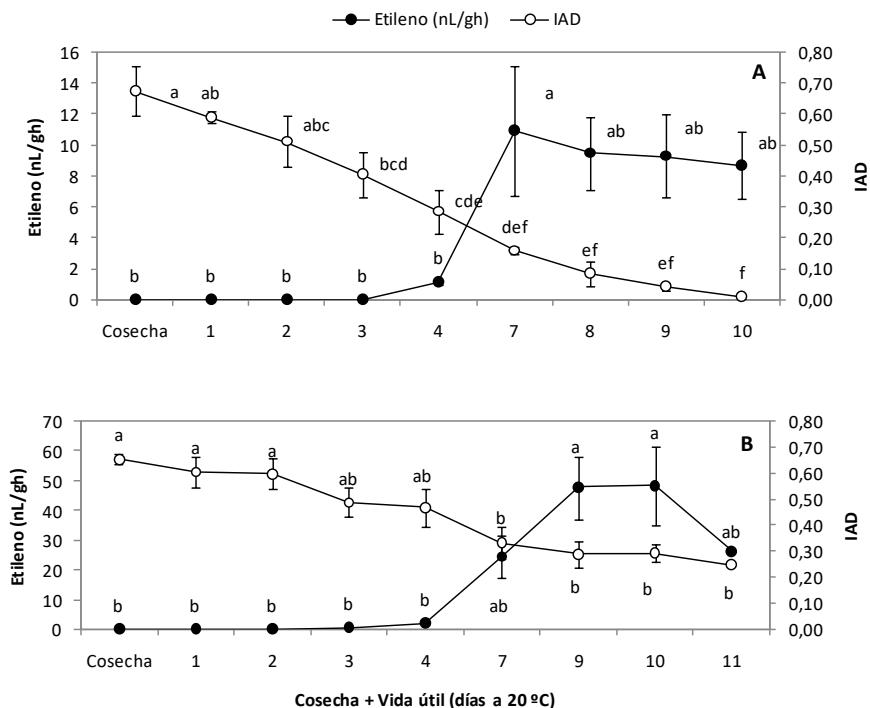


Figura 1- Evolución del índice de madurez con la producción de etileno de A) nectarina ‘Big Nectared’ y B) ciruela ‘Jonh W’ durante la vida útil.

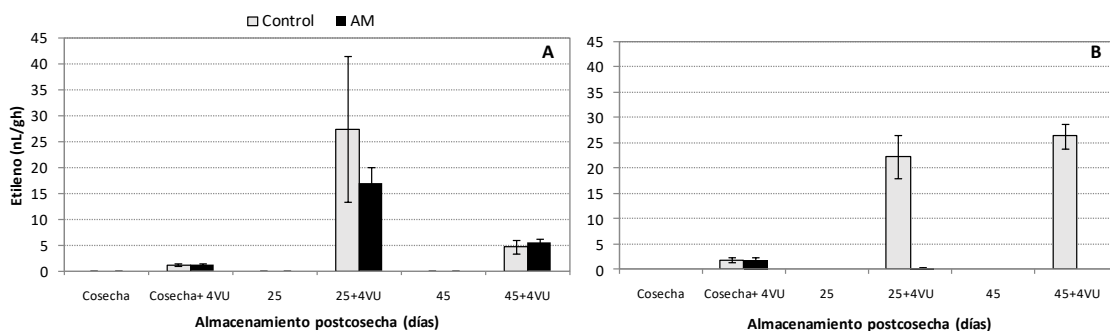


Figura 2- Producción de etileno durante el almacenamiento postcosecha y vida útil de A) nectarina ‘Big Nectared’ y B) ciruela ‘Jonh W’.

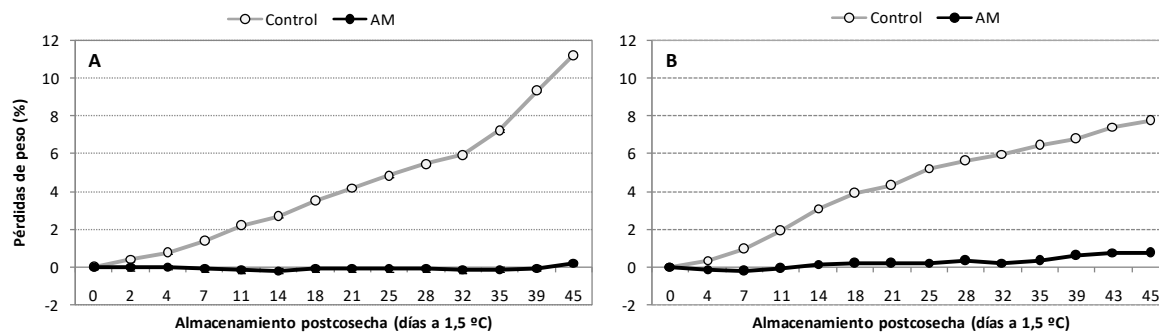


Figura 3- Evolución de las pérdidas de peso (%) durante el almacenamiento postcosecha a 1,5 °C de A) nectarina ‘Big Nectared’ y B) ciruela ‘Jonh W’

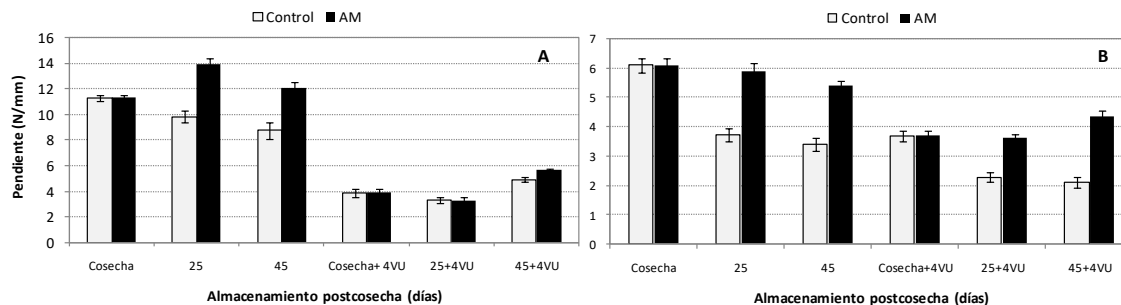


Figura 4- Evolución de la pendiente (N/mm) durante el almacenamiento postcosecha y vida útil de A) nectarina ‘Big Nectared’ y B) ciruela ‘Jonh W’

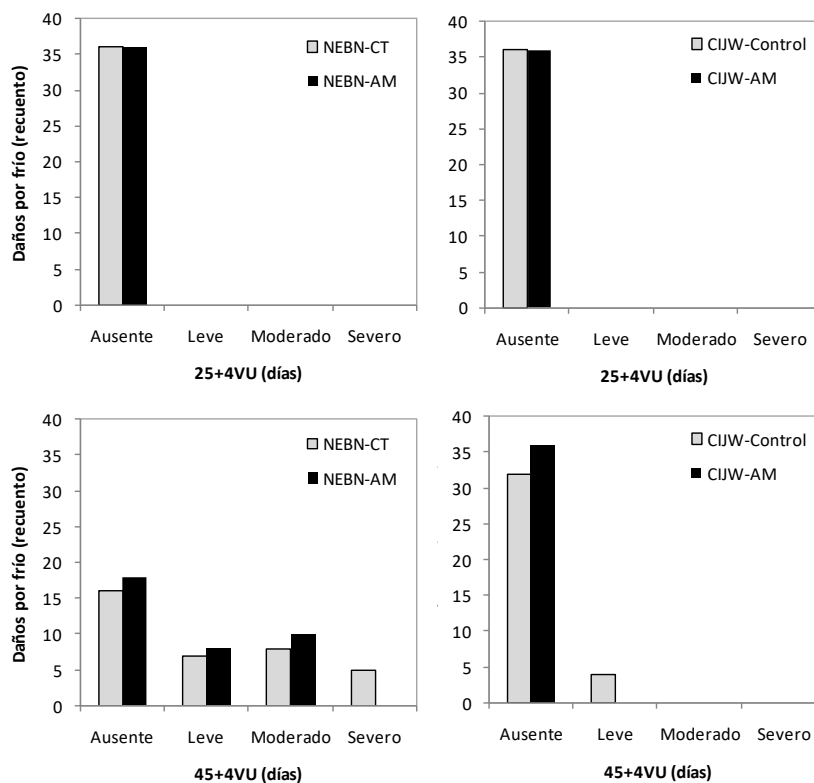


Figura 5- Incidencia y severidad de daños por frío durante el almacenamiento postcosecha y vida útil de nectarina ‘Big Nectared’ (izquierda) y ciruela ‘Jonh W’ (derecha).

Relación entre los parámetros a*, b* y L del espacio de color CIELAB, y el contenido de clorofilas y carotenoides durante la maduración de frutos de limón Fino 49 (*Citrus limon* L. Osbeck)

A. Conesa¹, I. Porras³, J.M. Brotons², J. Manera⁴, I. Simon⁴, A. Gironés-Vilaplana⁵, JJ. Martínez Nicolás¹, A. Calín-Sánchez⁵, J.M. Valverde⁵, F. García-Sánchez⁶

¹Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante. agustin.conesa@goumh.umh.es

²Departamento de Estudios Económicos y Financieros. Universidad Miguel Hernández. Elche, Alicante.

³Departamento de Citricultura. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario (IMIDA). Murcia

⁴Departamento de Física y Arquitectura de Computadores. Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante

⁵Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. Orihuela, Alicante.

⁶Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, Murcia.

Resumen:

Durante la maduración del limón se produce un cambio de color del fruto, virando de tonalidades verdes a amarillas (envero). Durante este periodo se producen cambios en la composición y concentración de pigmentos responsables de estas tonalidades, resultando de interés conocer su evolución y concentración. En este trabajo se han medido las coordenadas colorimétricas (L*, a* y b*), el contenido de clorofilas, carotenos totales, y los carotenoides luteína y β -criptoxantina en la piel de los frutos de limón Fino 49 durante su desarrollo, con el objetivo de conocer la relación que existe entre los cambios de color de la piel de estos frutos y su contenido en pigmentos.

Además, se pretende conocer la importancia relativa de los contenidos de luteína y β -criptoxantina respecto al contenido total de carotenoides. El periodo de estudio fue desde septiembre de 2015 a enero de 2016 en el que se recolectaron frutos cada dos semanas en la parcela experimental del IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario) situada en la Alberca (Murcia, España). Para la medición del color se usó un colorímetro espectrofotómetro CM-700D de Minolta, espacio de color Cielab, Iluminante D65 y ángulo del observador 10°. La cuantificación de clorofilas y carotenos totales se realizó en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1700.

La separación, identificación y cuantificación de la luteína y la β -criptoxantina se realizó mediante HPLC-DAD Hewlett Packard. Los resultados muestran altas correlaciones entre las coordenadas de color y los pigmentos responsables del color en la piel del limón: Las clorofilas se correlacionaron con la coordenada a*, y la β -criptoxantina con la coordenada b*. A lo largo de la maduración del fruto se observa la degradación de las clorofilas, y un aumento de la β -criptoxantina, responsable del color verde y amarillo de los frutos respectivamente. La luteína, que se encuentra en alta concentración, disminuyó con el tiempo pero no influyen el color de los frutos.

Palabras clave: luteína, β -criptoxantina, envero, cítricos, maduración de frutos.

Abstract

During lemon fruit ripening, it occurs a change of the peel fruit color, turning from green to yellow tones. During this period, there are significant changes in the concentration of pigments responsible for these tonalities, resulting in interest to know their evolution and concentration. In this work, the CIELAB colorimetric coordinates (L^* , a^* and b^*) the content of chlorophylls, total carotenes, and the carotenoids lutein and β -cryptoxanthin in the peel of Fino 49 lemon fruits were measured during their development, with the aim of knowing the relationship between the changes in peel color and their pigment contents. In addition, the relative relevance of the lutein and β -cryptoxanthin contents with respect to the total carotenoid content is reported. The study period was from September 2015 to January 2016 collecting fruits every two weeks in the experimental plot of the IMIDA (Murcia Institute for Research and Agrarian Development and Food) located in Alberca (Murcia, Spain). For color measurement, a colorimeter CM-700D of Minolta, color space CIELAB, Illuminant D65 and angle of the observer 10° was used. Quantification of total chlorophylls and carotenes was performed on a Shimadzu UV 1700 spectrophotometer. Separation, identification, and quantification of lutein and β -cryptoxanthin was performed by HPLC-DAD Hewlett Packard. The results showed significant correlations between the color coordinates and the pigments responsible for the color in the lemon peel: chlorophylls were correlated with the a^* value, and the β -cryptoxanthin with the b^* parameter. During the fruit ripening the degradation of chlorophylls was reported, being responsible for the green and yellow color of the fruits, respectively. Lutein, which was present in higher concentration, decreased within the time, but with no contribution to the color of the fruits.

Keywords: lutein, β -criptoxanthin, peel, citrus fruit maturation.

Introducción

Los cítricos son el primer cultivo mundial de árboles frutales en términos de producción con más de 128 TM por año (FAO, <http://faostat.fao.org/>, 2012). Sus frutos son muy demandados en todo el mundo para el consumo en fresco, procesado de zumos, mermeladas, o como aditivo alimentario para platos y bebidas. Los cuatro grupos de cítricos más importantes comercialmente son pomelo, naranjas, mandarinas, y limones. En este último grupo, el color del fruto y calibre son las características principales que indican cuándo se puede recolectar el fruto y el precio de venta en el mercado. El cambio de color se inicia con la bajada de las temperaturas en otoño, produciéndose la degradación de las clorofilas presentes en la corteza de los frutos (color verde), lo que permite la aparición de los diversos pigmentos (carotenoides, flavonoides) responsables del color amarillo del fruto que estaban enmascarados, así como la síntesis de nuevos pigmentos (Casas y Mallent, 1988). Además de la temperatura, el cambio del color puede verse afectado por la humedad, luminosidad, tipo de suelo, y portainjerto (Manera *et al.*, 2012).

Los carotenoides son los pigmentos responsables de la mayoría de los colores amarillos, anaranjados y rojos de frutos y verduras, debido a la presencia en su molécula de un cromóforo consistente total o principalmente en una cadena de dobles enlaces conjugados. Están presentes en todos los tejidos fotosintéticos, junto con las clorofilas, así como en tejidos vegetales no fotosintéticos (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004). La coloración de los cítricos ha sido ampliamente estudiada, determinándose que se debe fundamentalmente a dichos carotenoides, cuya distribución cambia cualitativa y

cuantitativamente entre las diferentes especies y variedades y a lo largo del desarrollo y maduración del fruto (Gross, 1987).

El color externo de los frutos de limón se puede determinar de muchas maneras, desde lo meramente visual hasta el uso de escalas de colores en coordenadas.

Actualmente, para estudiar los cambios de color de los frutos cítricos se utilizan los equipos de reflexión superficial, conocidos como colorímetros triestímulos, que permiten medir el color de forma fácil haciendo medidas rápidas, *in vivo* y no destructivas. A partir de los valores triestímulos de coordenadas, X, Y, y Z, se calculan matemáticamente los valores L, a* y b*, que se corresponden estrechamente con el color observado por el ojo humano. El parámetro L* hace referencia a la luminosidad del fruto, el parámetros a* representa la escala de color del rojo al verde, y el parámetro b* va desde el amarillo al azul.

El cambio de color del verde al amarillo en los frutos de limón se debe a alteraciones en la composición y concentración de los pigmentos, principalmente clorofilas y carotenoides. Cuando la temperatura ambiental cae por debajo de 13°C se inicia la degradación de las clorofilas, acompañada de la síntesis de carotenoides que les darán el color amarillo (Manera *et al.*, 2012). Hay muchos estudios donde se evalúan por separado los cambios de color mediante las coordenadas a*, b* y L* y cómo evolucionan la composición de los pigmentos en el fruto de limón. En este experimento, sin embargo, se realiza un estudio sobre el cambio de color de los frutos de limón de la variedad Fino 49 combinando parámetros físicos de color con parámetros químicos (composición y concentración de pigmentos) con el objetivo de determinar qué relación existen entre estos parámetros.

Material y métodos.

Materiales vegetales y condiciones experimentales

El material vegetal utilizado en este trabajo han sido frutos de la variedad de limonero Fino 49 (*Citrus limon* L. Osbeck) injertado sobre el portainjerto *Citrus macrophylla* Wester, que es el más utilizado en el sureste español (García Lidón *et al.*, 2003). La plantación de la que proceden los frutos se realizó en abril de 1983 en una parcela del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) de La Alberca (Murcia). El marco de plantación es de 6 x 6 m, con sistema de riego por goteo, con 5 goteros por árbol de caudal 4 l h⁻¹. La temperatura media fue de 18,7 °C y la pluviometría media de 321 mm año⁻¹, el suelo es permeable y bastante calizo (17,1% carbonato cálcico total). Todos los árboles están en buen estado sanitario y en plena producción. Desde mediados de septiembre de 2015 a finales de enero de 2016 se cosecharon semanalmente al azar 10 frutos del interior del árbol, 5 en la cara norte y 5 en la cara sur, en cada uno de los cuatro árboles seleccionados para hacer el estudio. A estos frutos se les midió el color y la concentración de clorofilas y carotenoides.

Medida del color

Durante el transcurso del ciclo de cultivo año 2015-2016 se tomaron datos del color externo de los frutos del limón. La medición del color se realizó con un colorímetro espectrofotómetro CM-700d, ángulo de observador de 10°, iluminante D65 y espacio de color CIEL*a*b*. En cada una de las mediciones del color se realizaban tres lecturas sobre corteza de la zona ecuatorial de cada uno de los frutos, obteniendo la media de las tres lecturas (L*, a* y b*). La coordenada colorimétrica a* se corresponde con el eje verde-rojo, donde los valores negativos se relacionan con el verde y los valores positivos con el naranja y rojo (-60 verde, +60 rojo). La coordenada colorimétrica b* se

corresponde con el eje azul-amarillo, donde los valores negativos se relacionan con el azul y los valores positivos con el amarillo (-60 azul, +60 amarillo). El decremento del contenido en clorofila de los frutos se asocia a la coordenada a^* (Manera *et al.*, 2008).

Extracción, identificación y cuantificación de Pigmentos.

Para la determinación de las clorofilas se utilizó el método espectrofotométrico propuesto por Hansmann (1973). La extracción se realizó mediante agua : acetona (1:9).

Se midió la absorbancia a 665, 645 y 630 nm y se aplicaron las ecuaciones propuestas por Parsons y Strickland (1963). Para la determinación de los carotenoides se utilizó el método descrito por Agócs *et al.* (2007). La extracción se realizó mediante hexano : acetona : etanol (2:1:1) + 0,01% BHT. Posteriormente se saponificaron los extractos y se determinó el contenido total de carotenoides mediante espectrofotometría a 450 nm. Luteína y β -criptoxantina fueron identificados y cuantificados mediante HPLC utilizando una columna C30 y agua: metanol (1:9) y metil tert-butil éter como fases móviles.

Análisis estadístico.

Se ha realizado un análisis estadístico descriptivo mediante gráficos, así como regresiones polinómicas de segundo grado entre las coordenadas colorimétricas y la concentración de pigmentos analizados.

Resultados

Pérdida de color verde

Durante la maduración del limón, la coordenada a^* evolucionó desde un valor negativo (en torno a -10; bastante verde) hasta valores cercanos a cero (ausencia de color verde). El mayor incremento de a^* se produjo en los meses de noviembre y diciembre, mientras que en el mes de enero esta coordenada apenas varió (Figura 1A). En el caso de las clorofilas se observa una disminución de la concentración con el tiempo, pasando de 140 mg kg^{-1} a valores en torno a 50 mg kg^{-1} desde octubre a finales de diciembre, y a partir de esta fecha apenas varía. En la figura 1B se observa una alta correlación entre estos dos variables con un R^2 de 0,94. Además se puede apreciar que la concentración de clorofilas deja de estar relacionada con la coordenada a^* cuando ésta tiene valores mayores de -6.

Evolución del color amarillo

En la Figura 1C se muestra como evolucionaron los valores de la coordenada b^* con el tiempo. El valor de b^* empieza en torno a 30 en octubre y alcanza un valor de 50 a finales de noviembre, donde se estabiliza hasta el final de las medidas. En el caso de la β -criptoxantina se observa un aumento de su concentración desde $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ (finales de octubre) hasta $1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ (finales de diciembre) para descender levemente al final de la maduración. La correlación entre la β -criptoxantina y la coordenada b^* también fue muy elevada con un R^2 de 0,85 (Figura 1D).

En la figura 2A se muestra cómo evolucionó la concentración de luteína a lo largo del proceso de maduración del fruto, observándose un descenso progresivo con el tiempo al pasar de una concentración de 5 mg kg^{-1} a mitad de octubre a valores cercanos a cero a finales de Enero. La correlación de la luteína (pigmento anaranjado) con el parámetro b^* fue también alta obteniéndose un R^2 de 0,95.

Como puede apreciarse, los carotenos totales descendieron de forma acusada a lo largo del proceso de maduración (Figura 3), al igual que ocurrió con la luteína, pero la β -

criptoxantina siguió la tendencia contraria, y a pesar de no tener un gran peso porcentual sobre el contenido total de carotenos podría ser la responsable del color amarillo de los frutos.

Interpretación de la luminosidad

La coordenada L^* mide la luminosidad del fruto. Su evolución a lo largo del proceso de desverdización se caracteriza por un aumento progresivo empezando por el valor 30 a mitad de octubre y llegando a 68 a mitad de diciembre, y a partir de esta fecha apenas varía (Figura 4A). La variación de L^* en este intervalo 30-70 está relacionada con los cambios en la β -criptoxantina (Figura 4B) en donde obtuvimos una R^2 de 0,7 en la regresión lineal de estos dos parámetros. Los valores de L también están bien correlacionados con las concentraciones de clorofilas ($R^2 = 0,94$; Figura 4C) y luteína ($R^2 = 0,94$; Figura 4D).

Discusión y Conclusiones

Las clorofilas son pigmentos predominantes en la piel de los frutos de limón cuando están verdes (frutos inmaduros), mientras que el clásico color amarillo que tienen cuando están maduros son debidos principalmente a los carotenoides (Rodrigo *et al.*, 2013). Con los resultados obtenidos se puede concluir que el cambio de color del verde al amarillo (incremento de los valores de a^*) que experimentan los frutos de limón Fino 49 durante su etapa de maduración se produce debido a la degradación de las clorofilas, y al incremento en la concentración del carotenoide β -criptoxantina que se hace visible cuando la clorofila se degrada. Así en la etapa de maduración del fruto se observa una disminución de la concentración de clorofilas que pasa de 150 mg kg^{-1} a 50 mg kg^{-1} y un cambio de a^* durante este descenso de las clorofilas que va desde -9 a -6.

No obstante, la coordenada a^* sigue incrementando su valor una vez que la concentración de clorofilas se ha estabilizado en torno a esos 50 mg kg^{-1} , quizá debido al incremento de la concentración de la β -criptoxantina que llega en estas fechas a tener un valor de $1,2 \text{ mg kg}^{-1}$.

La β -criptoxantina (carotenoide de color amarillo) se encuentra en el fruto a una concentración inicial entre $0,4-0,8 \text{ mg kg}^{-1}$ cuando la concentración de clorofilas todavía es alta, por lo que el color amarillo queda enmascarado por el verde. Pero la degradación de las clorofilas, y el incremento de la concentración de este pigmento que llega a alcanzar los $1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ le da al final de la etapa de maduración el color amarillo típico de los frutos de limón. Los cambios de este pigmento se correlacionaron bien con los cambios de la coordenada b^* a lo largo de todo el periodo de maduración del fruto.

Así para el rango de b^* entre 50-70, los valores de la β -criptoxantina estuvieron en el rango de $0,5-1,7 \text{ mg kg}^{-1}$.

También es interesante indicar que la luteína, otro de los carotenoides que hemos encontrado presentes en la corteza del limón tendría poca influencia en la evolución del color, pese a que están en cantidades superiores a la β -criptoxantina. Este pigmento está presente en los frutos pequeños con una concentración de 5 mg kg^{-1} pero su color podría estar enmascarado por las clorofilas. Sin embargo, cuando éstas se degradan también se produce una disminución de la luteína por lo que apenas contribuye al color de los limones. En un experimento llevado a cabo en Hungría en diferentes especies de cítricos Agócs *et al.* (2007) observaron que el carotenoide principal en los frutos de limón fue la β -criptoxantina (19,9% con respecto al total), seguido de la luteína con un 8,3% (respecto al total de carotenoides). Sin embargo, en el presente ensayo apenas se encuentra luteína cuando los frutos han alcanzado el color amarillo característico.

Las coordenadas de color a^* , b^* y L^* son útiles para estudiar de forma objetiva como se producen los cambios de color en cítricos. En este experimento también se ha puesto de manifiesto que existe una alta correlación entre estas coordenadas y los diferentes pigmentos. Las clorofilas fueron relacionadas con los parámetros a^* y L^* , la β -criptoxantina con b^* , y la luteína con los parámetros b^* y L^* . Por lo que, en un futuro se podría utilizar los parámetros de color para determinar la concentración de los pigmentos en los frutos usando el algoritmo matemático correspondiente, aunque es preciso realizar más ensayos para obtener un volumen de datos suficiente para diseñar y validar estos modelos.

Agradecimientos

En este trabajo queremos agradecer la asistencia técnica en el laboratorio de la Dra. Silvia Simón Grao y D^a Marina Alfosea Simon, ambas pertenecientes al Departamento de Nutrición Vegetal del CEBAS-CSIC.

Referencias

- Agócs A., Nagy V., Szabó Z., Márk L., Ohmacht, R., Deli J. 2007. Comparative study on the carotenoid composition of the peel and the pulp of different citrus species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8 39–394
- Brotons, J.M.; Manera J.; Conesa, A.; Porras, I. 2013. A fuzzy approach to the loss of green colour in lemon (*Citrus lemon* L. Burm. f.) rind during ripening. *Computers and Electronics in Agriculture* 98: 222–232
- Casas, A.; Mallent, D, 1988. El color de los frutos cítricos. I Generalidades. II Factores que influyen en el color. Influencia de la especie, la variedad y la temperatura. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 28: 184-202.
- Gross, J. 1987. Pigments in fruits. *Food Science & Technology Monographs*. Academic Press, Oxford.
- Hansmann, E. 1973. Pigment analysis. In: J.R. Stein (Ed.). *Handbook of phycolgical methods. Culture method and growth measurement*. V.1. Cambridge University Press, U.K. 359-368.
- Manera, J.; Ruiz, G.; Fernández, J.C.; Conesa, A.; Robles, J.M.; Porras, I. 2008. Influencia de la temperatura sobre las coordenadas colorimétricas L, a y b en la evolución del color externo en los frutos de limón. *Levante Agrícola*, 47(1): 65-70.
- Manera, J.; Brotons, J.M.; Conesa, A.; Porras, I. 2012. Relationship between air temperature and degreening of lemon (*Citrus lemon* L. Burm. f.) peel color during maturation. *Australian Journal of Crop Science*, 6(6): 1051-1058.
- Meléndez Martínez, A.J.; Vicario Romero, I.; Heredia Mira, F.J. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2): 149-154
- Parsons, T.R. y Strickland J.D.H. 1963. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments, with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *J. Marine Res.*, 21: 155-163
- Porras, I.; Brotons, J.M.; Conesa, A., Manera, F.J. 2014. Influence of temperature and net radiation on the natural degreening process of grapefruit (*Citrus paradise* Macf.) cultivars Rio Red and Star Ruby. *Scientia Horticulturae*, 173: 45 – 53.
- Rodrigo, M.J.; Alquézar, B.; Alós, E.; Ladoa, J.; Zacarías J. 2013. Biochemical bases and molecular regulation of pigmentation in the peel of citrus fruit. *Scientia Horticulturae*. 163: 46-62.

Tablas y Figuras

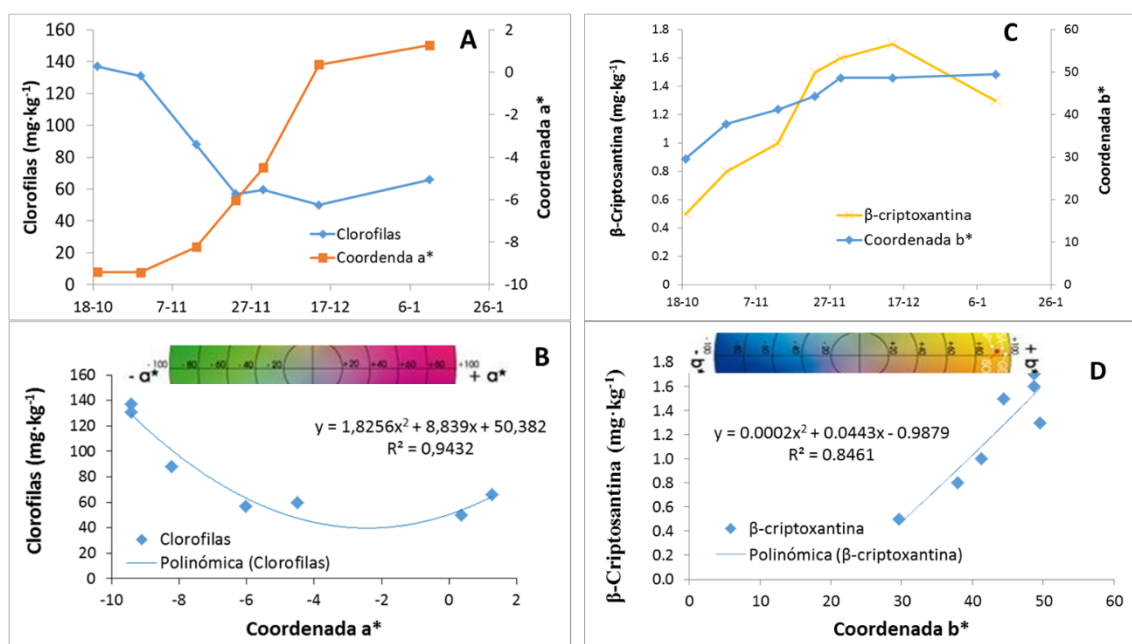


Figura 1- Evolución de la concentración de clorofilas y de la coordenada colorimétrica a* respecto al tiempo de frutos de limón Fino 49 (A), y correlación polinómica entre estos parámetros (B); y evolución de la concentración de β-criptoxantina y de la coordenada colorimétrica b* respecto al tiempo (C), y correlación polinómica entre estos parámetros (D).

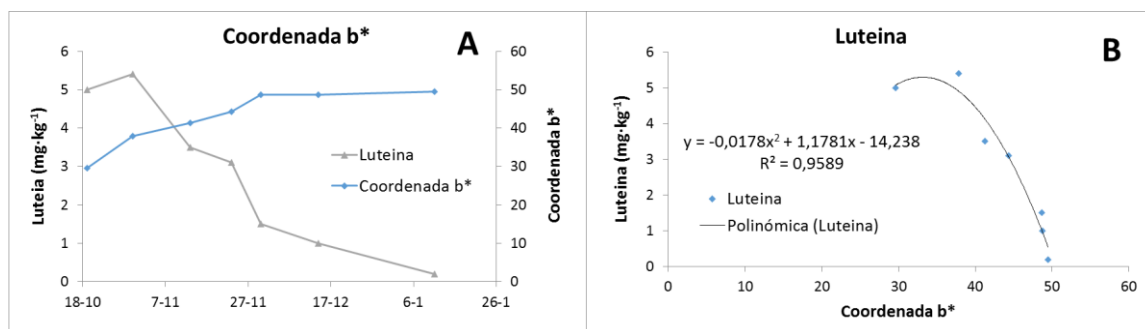


Figura 2- Evolución de la concentración de luteína y de la coordenada colorimétrica b* respecto al tiempo de frutos de limón 'Fino 49' (A), y correlación polinómica entre estos parámetros (B).

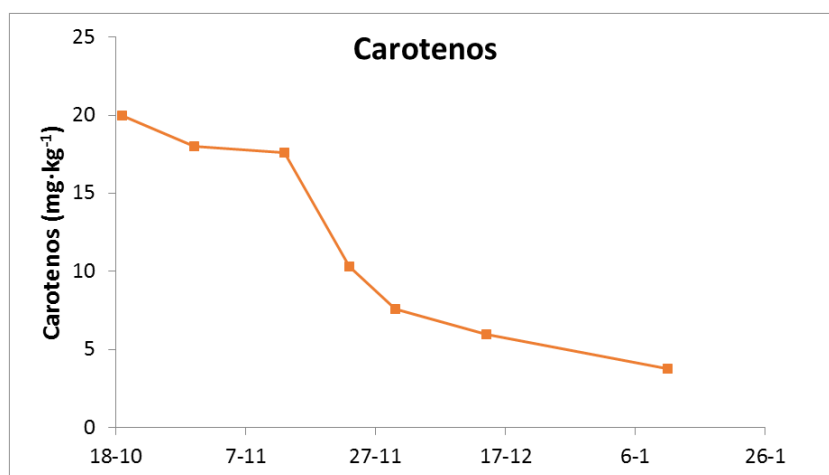


Figura 3- Evolución de la concentración de carotenos totales (mg kg⁻¹) con el tiempo.

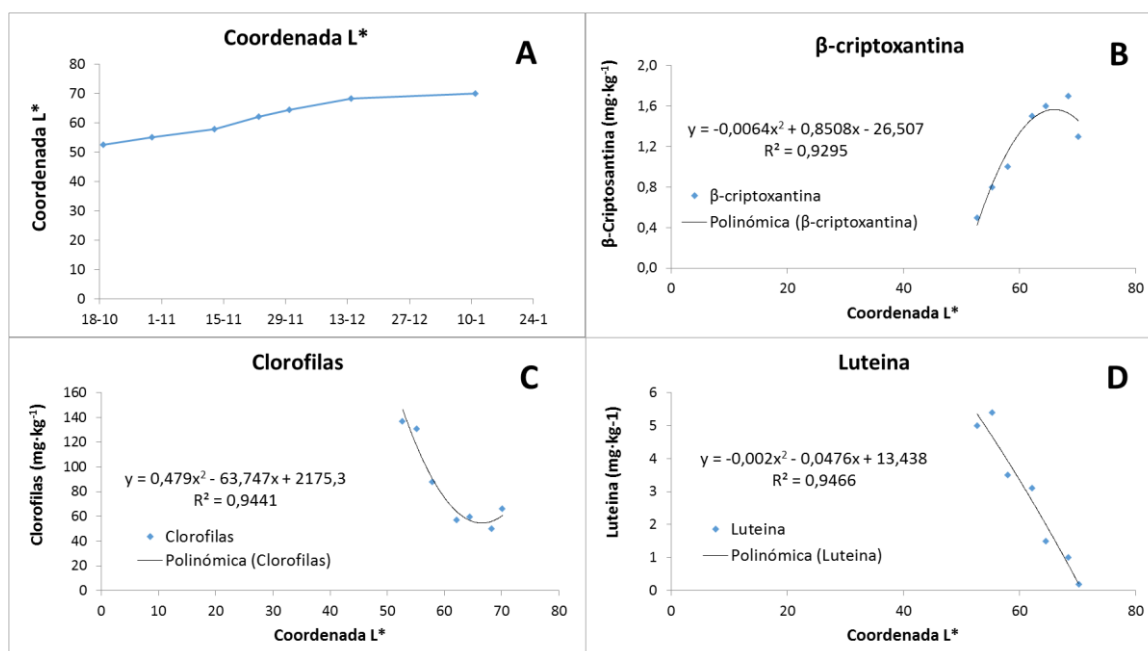


Figura 4- Evolución de la coordenada L* (A), y su regresión polinómica con la β-criptoxantina (B), clorofilas (C), y luteína (D).

Hormonal changes during non-climacteric ripening in highbush blueberry: linking to accumulation of anthocyanins and sugars

Alfredo Aires¹, Rosa Carvalho², Ana Paula Silva^{1,2}, Manuela Matos^{1,3}, Valdemar Carnide^{1,3} & Berta Gonçalves^{1,4}

¹Centre for the Research and Technology for Agro-Environment and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal, alfredo@utad.pt

²Agronomy Department, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal.

³Department of Genetic and Biotechnology, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados 5000-801, Vila Real, Portugal.

⁴Department of Biology and Environment, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

Resumo

Em oposição aos frutos climatéricos, onde o etileno é considerado essencial no processo de regulação hormonal durante a maturação e período pós-colheita, nos frutos não climatéricos, a regulação hormonal ainda não é bem compreendida. No corrente trabalho, procedeu-se ao estudo das variações das hormonas endógenas, ácido indol-3-acético (IAA), ácido abscísico (ABA) e ácido giberélico (GA₃), em 4 genótipos de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.) "Bluecrop" "Duke", "Goldtraube" e "Ozarkblue" em três estádios de maturação diferentes: verde, rosa, violeta escuro=frutos completamente maduros). Métodos espectrofotométricos e cromatográficos foram utilizados para determinar a composição hormonal, níveis de açúcar e teor de antocianinas ao longo do período de maturação. Os resultados revelaram uma concentração elevada de IAA, GA₃ nos primeiros períodos de maturação, comparativamente ao ABA, enquanto este aumentou gradualmente durante o desenvolvimento e maturação. Os resultados foram consistentemente semelhantes nas quatro cultivares ensaiadas. A ABA correlacionou-se positivamente com a acumulação de açúcares e antocianinas, enquanto o IAA e GA₃ apresentaram correlação negativa com os mesmos atributos, mostrando uma alteração hormonal no mecanismo de regulação durante o processo de amadurecimento. É possível concluir que, entre outros fatores (i) as hormonas endógenas participam do processo de amadurecimento e o (ii) equilíbrio entre elas regulam o processo de maturação; assim, (iii) com o controle de hormonas vegetais é possível otimizar o processo de colheita e, consequentemente, planejar operações de processamento adequadas em frutos.

Palavras-chave: *Vaccinium corymbosum*, processo de maturação, qualidade dos frutos.

Abstract

In contrast to climacteric fruits, where ethylene is known to be essential, the regulation in non-climacteric fruits is not well understood yet. Endogenous hormonal changes of indole-3-acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA) and gibberellic acid (GA₃) in non-climacteric highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars "Bluecrop" "Duke", "Goldtraube" and "Ozarkblue" were determined at 3 different maturation stages (green, pink, fully purple colored=fully ripe). Chromatographic methods were used to access the hormonal composition, sugar levels and anthocyanin content throughout the maturation period. Results revealed high concentration of IAA, GA₃ in the first

maturation periods, while ABA was low at beginning and gradually rise through development and maturation. The results were consistently similar in the four cultivars assayed. ABA was positively correlated with accumulation of sugars and anthocyanins levels, while IAA and GA₃ showed a negative correlation with the same attributes, showing a hormonal shift in the regulations mechanism during the ripening process. It is possible to conclude that among other factors (i) the endogenous phytohormones take part in ripening process and the (ii) balance between them regulate the process of maturation; thus, (iii) with the control of plant hormones it is possible to optimize harvest process and by consequence planning adequately processing operations in highbush blueberry fruits.

Keywords: *Vaccinium corymbosum*, maturation process, fruit quality.

Introduction

Plant hormones play an important role as signaling molecules in the regulation of almost all phases of plant development, from embryogenesis to senescence. Many low molecular weight compounds have been identified as plant hormones, including IAA, ABA and GA₃ gibberellins, ethylene, brassinosteroids, jasmonates and salicylic acid (Davies, 2004; Bai and DeMason, 2006). It has been widely described that phytohormones auxins, gibberellins and cytokinins are involved in the ripening process of non-climacteric fruits (Fortes et al., 2015). In addition several studies have suggested that abscisic acid (ABA) play a key-role in the regulation of ripening process in these type of fruits, since it is involved in several metabolites accumulation including anthocyanins (Leng et al. 2014), one key-attribute to consumers choose these fruits.

In Portugal, over the past decades the production highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) have dramatically increased, being now one of the most important small berries produced in Portugal. According the last data available, in 2014 Portugal produced an average of 267 tons against no more than 100 tons in 2004 (FAO, 2017). Although this importance, only few studies have been dedicated to this important crop. Moreover, scientific and consistent information about hormonal endogenous changes during ripening process of highbush blueberries produced in Portugal under Mediterranean climacteric conditions are very scarce. Therefore, with this study we aimed to get some insights about the possible roles of auxins, cytokinins and gibberellins in the growth and ripening of highbush blueberry, focusing in their variation during its developments. In addition we analyzed different attributes often associated to the fruit ripening process and fruit quality, such as sugar levels and anthocyanin content.

Material and methods

Fresh fruits from four different highbush blueberry cultivars, namely “Bluecrop”, “Duke”, “Goldtraube” and “Ozarkblue”, were collected open field plantations in Sever do Vouga region, Centre of Portugal (40° 44' 0'' N, 8° 22' 9'' W), during the year 2016 at 3 different ripening stages: green, pink and fully ripe. After, 100 g fresh fruits of each cultivar were freeze-dried and reduced to a fine powder using a commercial blender. The samples were then stored at 4° C until analytical determinations.

The content of endogenous hormones IAA, ABA and GA₃, was measured according the procedure of Ergün et al. (2002), in which 100 mg of dry weight (dw) of each plant sample was taken and combined with 5 ml of methanol:chloroform:2N ammonium hydroxide (12:5:3 v/v/v). Each combined extract was kept in a bottle at -20° C in deep freeze for further analysis. The combined extract was then treated with 4 mL mL of distilled water. The chloroform phase was discarded. The water-methanol phase was evaporated. The water phase was adjusted to pH value of 2.5 for IAA, GA₃ and ABA

extraction with 1 N HCl. After that, 3 ml ethyl acetate was added and extracted three times to isolate free-form of IAA, GA₃ and ABA. The results were expressed as $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight using a calibration standard curve of IAA, GA₃ and ABA, submitted to the same conditions as the plant samples.

The content of sugars were determined after a derivatization with benzoyl (Daniel et al., 1981) in a HPLC system equipped with a reverse phase of column (C18 Spherisorb ODS2, 250mm \times 4.6 mm), a mobile phase composed by water with 1% of trifluoroacetic acid (TFA) (solvent A) and acetonitrile with 1% TFA (solvent B) and elution performed at a flow rate of solvent of 1 mL min^{-1} , with a gradient starting with 0% B, and an injection volume of 20 μL . The chromatograms were recorded at 270 nm. The identification present in samples, was made by comparing with commercial pure external standards (Sigma-Aldrich, Tauferkichen, Germany) and respective retention times and UV spectra. The results were expressed as mg. g^{-1} dry weight (dw). The anthocyanins were quantified Chen et al. (2014) method with small modifications, in a HPLC-DAD-UV/VIS equipped with a C18 column (250 x 46 mm, 5 μm), an eluent composed by water with 1% of trifluoroacetic acid (TFA) (solvent A) and acetonitrile with 1% TFA (solvent B), a flow rate of solvent of 1 mL min^{-1} , a gradient starting with 100% of water, and an injection volume of 10 μL . Chromatograms were recorded at 520 nm. The anthocyanins were identified using the peak retention time, UV spectra and UV max absorbance bands of each compound comparing with pure commercial standards (Extrasynthese, Cedex, France). The results were expressed as mg.100g^{-1} dw.

All determinations were made in triplicate and the results expressed as mean \pm standard deviation (SD). The Two-Way ANOVA analytical test followed by Duncan multiple range test, based on confidence level equal or higher than 95% ($p < 0.05$) were applied. Also a Pearson correlation test between all variables were performed. Software SPSS V.17 (SPSS-IBM, Orchard Road-Armonk, New York, NY, USA) was used to carry out these analyses.

Results and discussion

The current study focused on how endogenous hormones changed during highbush blueberry fruit ripening. The content of endogenous indole-acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA) and gibberellic acid (GA₃) as well the content of free-soluble sugars and anthocyanins are presented in the Figure 1 and Table 1, respectively. According to our results, the content of IAA and GA₃ decreased during ripening, while the content of ABA oscillated between ripening stages (Figure 1). Simultaneously, the free-soluble sugars and anthocyanins increased throughout maturation, as shown by Figure 1 and Table 1. The ANOVA analysis showed that genotype and ripening stage have influenced significantly ($0.001 < P < 0.05$) the content of each parameter studied (Table 2). It was possible to observe that each cultivar presented different average content of each compound determined, but similar variation trend in their content.

The content of sugars and in particular glucose and fructose during berry maturation increased as they grown. During berry maturation a translocation of sugars via photosynthesis occurs resulting in sucrose which is then hydrolyzed in the stem-berry interface into glucose and fructose via soluble and insoluble acid invertase (Davies and Robinson, 1996) and by consequence the content of these three sugars increase. Similar tendency was observed for anthocyanin content (Table 1). During berry maturation, the content of individual of anthocyanins increased. This variation, seems to be in agreement with previous findings of Gibson et al. (2013) who found successive increments in the concentration of anthocyanins as the berry matured. Zoratti et al. (2014), showed that

anthocyanin starts to accumulate in the berry skin at early stages of maturation in a growing rate until it maximizes at physiological maturity. Moreover, the high temperatures combined with water deficit, high UV radiation, and high enzymes metabolism induces and proteins and gene expression, might be responsible for the increment anthocyanin content as was reported previously by Castellarin et al. (2007). According the McAtee et al. (2013), there is dynamic interplay between phytohormones and fruit maturation and ripening. In fact, for these authors the ripening of grapes, berries and other non-climacteric fruits is a very complex process, involving several plant growth regulators. One of them seems to be the ABA. According several authors, the control of ripening in climacteric fruits appears to be achieved predominantly through ABA and ethylene (Paul et al., 2012; Setha, 2012). In climacteric fruits, ABA is often associated with color development (Buta and Spaulding, 1994), sugar and secondary metabolites accumulation (Sun et al. 2012). However, in non-climacteric fruits the role of ABA and other endogenous phytohormones is not so clear. Several studies have implicated auxins, gibberellins (GAs), abscisic acid (ABA), and brassinosteroids (BRs) in fruit set, maturation and ripening, but much of this evidence was obtained prior to the arrival of feasible hormone quantification techniques, or relies mainly on exogenous hormone application studies. Therefore, the information is not consistent.

Our results from Pearson correlation (Table 3) showed a positive correlation between ABA, sugars and anthocyanins, but negative between IAA and GA₃. This could meaning that between fruit set and berry ripening a shift in hormonal balance occurs, and the balance between phytohormones seems to be fundamental to modulate the ripening process.

Conclusions

The highbush blueberry ripening process seems to rely on a complex balance between endogenous plant hormones. The development of simple but feasible techniques to measure endogenous hormones plant hormones associated with measurement of sugars and anthocyanins, will permit in the future optimize harvest process and by consequence planning adequately processing operations in highbush blueberry fruits. Optimization of harvesting time is then possible with methods that combine measurements of free-sugars, anthocyanins and endogenous plant hormones.

Acknowledgments

This research was funded by the INTERACT project-“Integrative Research in Environment, Agro-Chains and Technology”, no. NORTE-01-0145-FEDER-000017, in its line of research entitled ISAC, co-financed by the European Regional Development Fund (ERDF) through NORTE 2020 (North Regional Operational Program 2014/2020). The author Alfredo Aires also acknowledge the financial support of BPD/UTAD/INTERACT/ISAC/189/2016 scholarship, under the same project.

References

- Bai, F. & DeMason, D. 2006. Hormone interactions and regulation of Unifoliata, PsPK2, PsPIN1 and LE gene expression in pea (*Pisum sativum*) shoot tips. *Plant Cell Physiology* 47:935–948.
- Davies, P.J. (2004). *Plant Hormones*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2004. Biosynthesis, Signal Transduction, Action.
- Fortes, A.M., Teixeira, R.T., Agudelo-Romero, P. 2015. Complex interplay of hormonal signals during grape berry ripening. *Molecules* 20:9326-9433.

- Leng, P., Yuan, B., Guo, Y, Y. 2014. The role of Abscisic acid in fruit ripening and responses to abiotic stress. *Journal of experimental botany* 65: 4577-4588.
- FAO (2017). Statistical Division of Food and Agriculture Organization of United Nations (FAOStat), <http://www.fao.org/faostat/en/#data>, assessed in May 2017.
- Ergün, N., Topcuoğlu, F. & Yildiz, A. 2002. Auxin (Indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA3), abscisic Acid (ABA) and cytokinin (Zeatin) production by some species of mosses and lichens. *Turkish Journal of Botany* 26:13-18.
- Daniel, P.F., De Feudis, D.F, Lott, I.T. & McCluer, R.H. 1981. Quantitative microanalysis of oligosaccharides by high performance liquid chromatography. *Carbohydrate Research* 97:161-180.
- Chen, X., Parker, J., Krueger, C.G., Shanmuganayagam, D. & Reed, J.D. 2014. Validation of HPLC assay for the identification and quantification of anthocyanins in black currants. *Analytical Methods* 6:8141-8147.
- Davies, C. & Robinson, S.P. 1996. Sugar accumulation in grape berries. *Plant Physiology* 111:275-283.
- Gibson, L., Rupasinghe, H.P.V., Forney, C.F. & Eaton, L. 2013. Characterization of changes in polyphenols, antioxidant capacity and physico-chemical parameters during lowbush blueberry fruit ripening. *Antioxidants* 2:216–229.
- Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo Escobar, A., Häggman, H. & Jaakola, L. 2014. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. *Frontiers in Plant Science* 5:534.
- Castellarin, S. D., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Petelunger, E., & Di Gaspero, G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment* 30: 1381-1399.
- McAtee, P., Karim, S., Schaffer, R. & David, K. 2013. A dynamic interplay between phytohormones is required for fruit development, maturation, and ripening. *Frontiers in Plant Science* 4:79.
- Setha, S. 2012. Roles of abscisic acid in fruit ripening. *Walailak Journal of Science and Technology* 9:297-308.
- Paul, V., Pandey, R. & Srivastava, G.C. 2012. The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene – an overview. *Journal of Food Science and Technology* 49:1-21.
- Buta, J.G. & Spaulding, D.W. 1994. Changes in indole-3-acetic acid and abscisic acid levels during tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit development and ripening. *Journal of Plant Growth Regulation* 13:163–166.
- Sun, Y., Chen, P., Duan, C., Tao, P., Wang, Y., Ji, K., Hu, Y., Li, Q., Dai, S., Wu, Y., Sun, L. & Leng, P. 2012. Transcriptional regulation of genes encoding key enzymes of abscisic acid metabolism during melon (*Cucumis melo* L.) fruit development and ripening. *Journal of Plant Growth Regulation* 32:233-244.

Tables and Figures

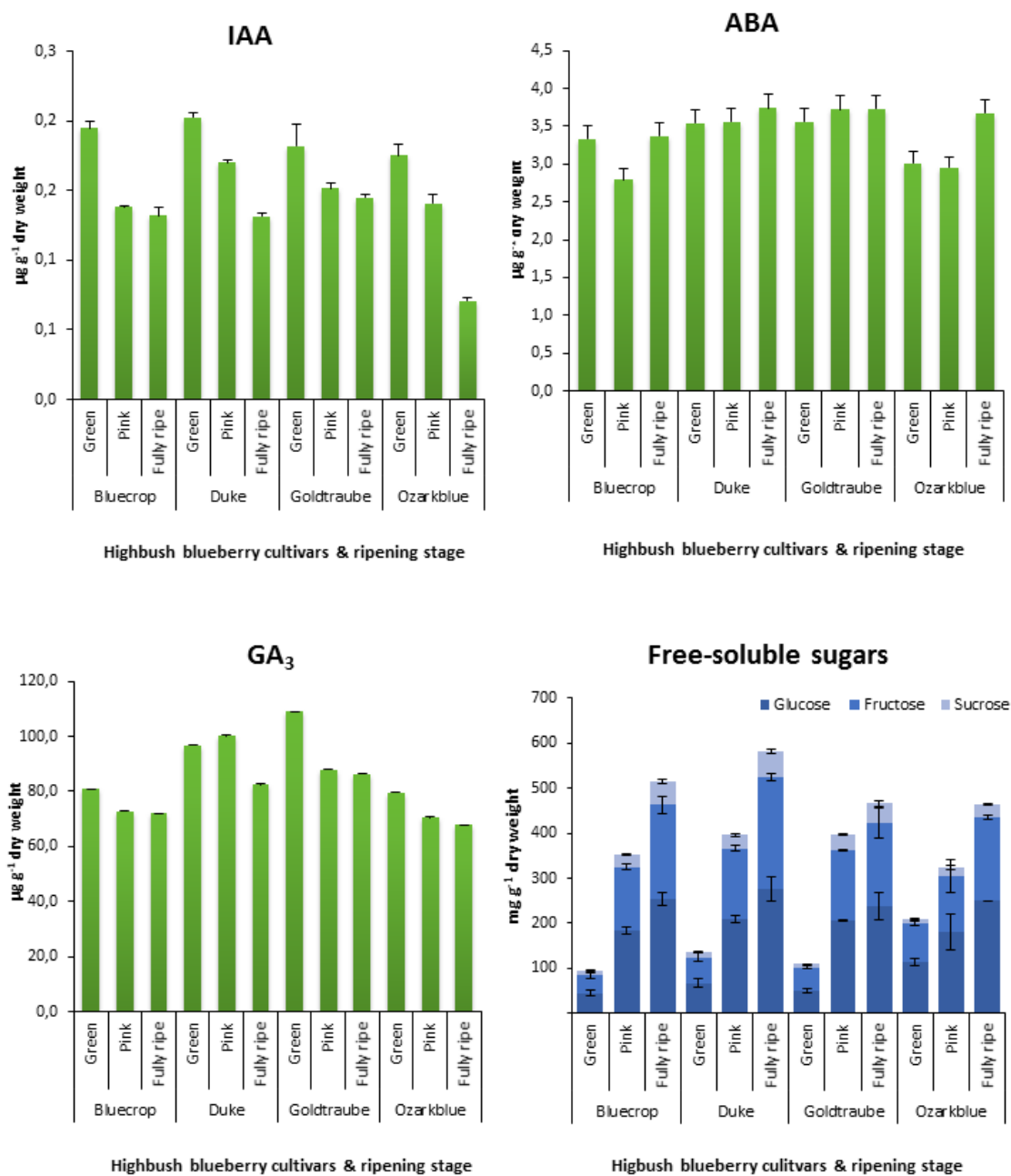


Figure 1. Variation of endogenous hormones indole-acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA), gibberellic acid (GA₃) and free-soluble sugars, within blueberry cultivars trough ripening process.

Table 1- Average levels of free-soluble sugars expressed as mg 100 g⁻¹ dry weight.^{1,2}

Anthocyanins	Bluecrop			Duke			Goldtraube			Ozarkblue		
	Green	Pink	Fully ripe	Green	Pink	Fully ripe	Green	Pink	Fully ripe	Green	Pink	Fully ripe
Delphinidin-3-O-galactoside	1.6 ± 0.1	11.4 ± 0.3	39.8 ± 0.4	0.4 ± 0.0	33.1 ± 0.6	155.2 ± 1.3	0.8 ± 0.3	24.1 ± 0.6	92.3 ± 0.7	n.d.	16.3 ± 0.6	127.2 ± 0.2
Delphinidin-3-O-rutinoside	n.d.	3.1 ± 0.1	10.6 ± 0.3	n.d.	0.5 ± 0.1	1.8 ± 0.5	n.d.	2.0 ± 0.1	12.3 ± 0.2	n.d.	n.d.	1.9 ± 0.1
Delphinidin-3-O-glucoside	0.6 ± 0.1	5.0 ± 0.1	18.4 ± 0.7	0.2 ± 0.0	13.0 ± 0.0	54.4 ± 1.8	0.3 ± 0.0	11.1 ± 0.3	35.4 ± 0.4	0.3 ± 0.0	9.4 ± 0.2	47.4 ± 0.4
Delphinidin-3-O-arabinoside	0.5 ± 0.0	2.0 ± 0.1	8.7 ± 0.6	0.1 ± 0.0	7.1 ± 0.1	49.5 ± 0.4	0.2 ± 0.1	5.3 ± 0.1	24.9 ± 0.6	n.d.	2.9 ± 0.1	37.9 ± 0.4
Cyanidin-3-O-galactoside	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.7 ± 0.0	1.9 ± 0.2	n.d.	1.0 ± 0.0	1.9 ± 0.0	n.d.	1.0 ± 0.0	2.1 ± 0.0
Malvidin-3-O-galactoside	0.3 ± 0.0	1.1 ± 0.1	6.9 ± 0.1	n.d.	3.1 ± 0.2	27.6 ± 0.6	0.1 ± 0.0	2.1 ± 0.2	11.7 ± 0.6	n.d.	1.9 ± 0.0	20.5 ± 0.2
Malvidin-3-O-rutinoside	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	20.3 ± 0.7	0.1 ± 0.0	4.6 ± 0.1	78.2 ± 0.7	0.3 ± 0.0	4.2 ± 0.2	43.0 ± 0.1	n.d.	2.1 ± 0.0	51.9 ± 0.4
Malvidin-3-O-glucoside	n.d.	1.4 ± 0.1	14.6 ± 0.7	n.d.	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.2	n.d.	0.4 ± 0.0	9.8 ± 0.2	n.d.	n.d.	1.7 ± 0.2
Malvidin-3-O-arabinoside	0.4 ± 0.0	2.2 ± 0.1	23.5 ± 0.7	0.1 ± 0.0	2.2 ± 0.0	35.9 ± 0.9	0.1 ± 0.0	2.6 ± 0.1	25.4 ± 0.9	n.d.	1.2 ± 0.1	28.5 ± 0.7
Peonidin-3-O-galactoside	n.d.	2.7 ± 0.1	17.7 ± 0.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	55.6 ± 3.0	n.d.	n.d.	n.d.
Petunidin-3-O-galactoside	n.d.	0.2 ± 0.0	2.3 ± 0.1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4.0 ± 0.0	n.d.	n.d.	n.d.
Total anthocyanins	4.3 ± 0.4	29.9 ± 1.0	162.8 ± 4.5	0.8 ± 0.0	64.3 ± 1.2	406.2 ± 6.7	1.9 ± 0.4	52.7 ± 1.6	316.4 ± 6.8	0.3 ± 0.0	34.8 ± 1.1	319.0 ± 2.7

¹ Values are expressed as mean ± SD of three replicates.² The symbol n.d. means not detected.**Table 2-** Two-Way ANOVA results.¹

Source of variation	Attributes				
	IAA	ABA	GA3	Total Sugars	Total Anthocyanins
Genotype (G)	n.s.	*	**	**	**
Harvest stage (R)	*	**	*	***	***
G x R	*	**	**	***	***

¹ The symbols means: n.s., *, **, ***: not significant or significant at $P < 0.05$, 0.01 , 0.001 by ANOVA, respectively.**Table 3-** Pearson's correlation analysis between the variables endogenous phytohormones and anthocyanins and free-soluble sugars during ripening process.^{1,2}

Attributes	IAA	ABA	GA ₃	Glucose	Fructose	Sucrose	Total free-soluble sugars	Total anthocyanins
IAA	1	-0,118 (0,715)	0,738** (0,006)	-0,796** (0,002)	-0,750** (0,005)	-0,553 (0,062)	-0,763** (0,004)	-0,696* (0,012)
ABA		1	0,420 (0,174)	0,264 (0,408)	0,324 (0,304)	0,407 (0,190)	0,306 (0,334)	0,556 (0,061)
GA ₃			1	-0,569 (0,053)	-0,505 (0,094)	-0,352 (0,262)	-0,528 (0,078)	-0,352 (0,262)
Glucose				1	0,980** (0,0001)	0,889** (0,0001)	0,993** (0,0001)	0,770** (0,003)
Fructose					1	0,942** (0,0001)	0,996** (0,0001)	0,821** (0,001)
Sucrose						1	0,933** (0,0001)	0,776** (0,003)
Total free-soluble sugars							1	0,800** (0,002)
Total anthocyanins								1

¹ The symbols means: *, **. Correlation is significant at the 0.05 and 0.01 level, respectively.² The P value is presented between parentheses.

Influência da distribuição da solução nutritiva na produção e no teor em fenóis totais e poder antioxidante em *Spinacia oleracea* cultivada em coco

Rui Machado^{1,2}, Isabel Alves-Pereira^{1,3} & Rui Ferreira^{1,3}

¹ICAAM - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, Portugal,

²Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, Portugal, rmam@uevora.pt

³Departamento de Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, Évora, Portugal.

Resumo

A produção de vegetais de folhas em substrato têm vindo a aumentar em Portugal. A utilização do coco possui a vantagem de ser um recurso biodegradável e renovável que permite a obtenção de elevadas produtividades em diferentes culturas hortícolas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da distribuição da solução nutritiva na produção, no teor em fenóis e poder antioxidante (FRAP) em espinafres cultivados em coco. Para o efeito realizou-se um ensaio com dois tratamentos, quatro e oito gotejadores por caixa de poliestireno expandido, em blocos casualizados com cinco repetições. Plântulas de espinafre em mottes (cinco por motte, 160 plantas m⁻²) foram transplantadas aos 18 dias, após a emergência para caixas de poliestireno expandido, preenchidas com coco e colocadas a crescer em estufa. As plantas foram regadas diariamente com uma solução nutritiva. A produção de matéria fresca aumentou com o número de gotejadores, tendo alcançado 3.55 kg m⁻². O teor em fenóis totais e o FRAP do limbo diminuíram com o número de gotejadores 23% e 25%, respetivamente. O teor em fenóis do pecíolo (15 mg eq. ac. gálico/100 g PF) foi muito inferior ao do limbo e não foi afetado pelo tratamento. O poder antioxidante do limbo esteve correlacionado positivamente com o seu teor em fenóis totais ($r = 0,79$, $p < 0,01$).

Palavras-chave: Espinafre, cultura sem solo, motte, FRAP, ensaio Folin-Ciocalteau.

Abstract

Leafy vegetable production in substrate has been increasing in Portugal. The advantage of using cocopeat is that it is a biodegradable and renewable resource that allows reaching high yields in different vegetable crops. The objective of this study was to evaluate the influence of nutrient solution distribution on the yield, phenols content and antioxidant power (FRAP) in spinach grown in cocopeat. The experiment was carried out with two treatments, four and eight water emission points per Styrofoam box, in a randomized block with five replicates boxes by treatment. Soil blocked spinach seedlings (five per soil block, 160 plants m⁻²) were transplanted at 18 days after emergence into Styrofoam boxes filled with cocopeat and placed in a greenhouse. The plants were irrigated daily with a nutrient solution. The yield (fresh weight, FW) increased with the number of water emission points, reaching 3.55 kg m⁻². The total phenol content and FRAP of leaf-blade decreased with the water emission points 23% and 25%, respectively. The phenol content of the petiole (15 mg eq. gallic ac/100 g FW) was much lower than that of the leaf-blade and was unaffected by the treatment. The antioxidant power of leaf-

blade was positively correlated with total phenol content of the leaf-blade ($r = 0.79$, $p < 0.01$).

Key words: Spinach, soilless culture systems, coir, FRAP, Folin-Ciocalteu assay.

Introdução

A produção de vegetais de folhas em substrato têm vindo a aumentar em Portugal. Um dos substratos mais utilizados é a turfa em mistura ou como meio de crescimento. O coco tem características físicas e químicas semelhantes à da turfa e possui a vantagem de ser um recurso renovável que tem permitido a obtenção de elevadas produtividades em diferentes culturas hortícolas, flores e pequenos frutos. Em espinafre a produção em turfa foi superior à obtida em coco (Barcelos et al., 2016), mas essa pode ser influenciada pelas técnicas culturais. O número de gotejadores sobre o substrato influencia a duração de cada rega e por consequência o volume de substrato humedecido, a distribuição dos iões e o volume de solução drenada o que pode influenciar a produção e a qualidade, nomeadamente a capacidade antioxidante e o teor em fenóis totais, a qual atualmente assume cada vez mais importância.

A capacidade antioxidante de um determinado material pode ser estimada por diferentes aproximações experimentais realizadas *in vitro*, como a quantificação da sua capacidade para reduzir o ferro (FRAP) ou o teor em antioxidantes naturais nos quais se incluem os compostos fenólicos, distribuídos pelas diversas partes das plantas, com níveis mais elevados detetados em folhas e frutos (Sucupira et al., 2012). Este tipo de compostos, ubiquamente distribuídos na natureza, tanto podem ser pigmentos que conferem aspecto colorido aos alimentos como produtos do metabolismo secundário que protegem as espécies vegetais de agressões ambientais (Silva, 2010, et al.; Erkan, 2012; Peksel et al., 2006; Ismail et al., 2010). Para além disso, condicionam a capacidade que as espécies vegetais dispõem para se auto protegerem da deterioração oxidativa, bem como o seu valor funcional e nutricional (Sucupira et al., 2012; Abas et al. 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da distribuição da solução nutritiva na produção, no teor em fenóis e no poder antioxidante (FRAP) em espinafres cultivados em coco.

Material e Métodos

O ensaio foi realizado numa estufa com armação metálica e cobertura em policarbonato, situada na Herdade da Mitra (38°57' N, 8°32' W, 200 m), na Universidade de Évora. Para o efeito realizou-se um ensaio com dois tratamentos, quatro (E4) e oito (E8) gotejadores por caixa de poliestireno expandido. As caixas de poliestireno com 0,1 m de comprimento, 0,25 m de largura e 0,10 m de altura foram cheias com 14 L de coco, que apresentava as seguintes características químicas e físicas: matéria orgânica (90%), pH (5,2 -5,7), EC (1,8- 2,1 dS cm⁻¹), volume de ar (15%), total de porosidade (95%), razão C/N (100), lignina (45%), densidade aparente (0,1g cm⁻³), massa húmida (7,8 g água/g substrato) e teor de humidade (87%, p/p).

As plântulas de espinafre (*Spinacia oleracea* L. cv. Tapir) em mottes (cinco por motte, 160 plantas m⁻²) foram transplantadas, aos 18 dias após a emergência, para as caixas de poliestireno expandido e colocadas a crescer numa estufa com cobertura em policarbonato. Em cada caixa colocaram-se 8 mottes divididos em duas linhas de cultura, com um espaçamento de 0,25 m na linha e 0,1 m na entrelinha (160 plantas/m²). Para regar e fertilizar a cultura instalou-se um sistema de rega gota-a-gota com gotejadores autocompensantes e anti-drenantes com um débito de 4 L h⁻¹. De cada gotejador saíam quatro microtubos com uma estaca na extremidade enterrada no substrato, distanciadas

entre si 25 cm e 12,5 cm na linha central da caixa de poliestireno, respetivamente no tratamento com 4 e 8 pontos de emissão de água sobre o substrato.

A frequência de rega variou entre 4 a 7 regas diárias e em cada rega 15 a 30% da quantidade de água aplicada foi drenada. A duração de cada evento de rega no tratamento com oito gotejadores foi metade da utilizada no tratamento com 4 gotejadores. A solução nutritiva foi aplicada por fertirrega desde transplantação até ao dia antes da colheita. A solução fertilizante continha NO_3^- ($8,32 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), NH_4^+ ($2,68 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), H_2PO_4^- ($0,68 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), K ($3,90 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Ca ($2,93 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mg ($1,51 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), SO_4^{2-} ($0,96 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), B ($46 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); Cu ($7,86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Fe ($8,95 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mn ($18,3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mo ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Zn ($2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Cl ($2,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) e Na ($0,7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). A partir dos 21 dias após a transplantação a solução foi ajustada para NO_3^- ($4,26 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), NH_4^+ ($4,11 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), H_2PO_4^- ($0,66 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), K ($2,9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Ca ($2,13 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mg ($0,88 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), SO_4^{2-} ($1,04 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), B ($46 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Cu ($7,86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Fe ($8,95 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mn ($18,3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Mo ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Zn ($2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), Cl ($2,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) e Na ($0,7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$).

A EC e o pH da água de drenagem de cada caixa foi medida semanalmente usando um medidor de condutividade (LF 330 WTW, Weilheim, Alemanha) e um potenciômetro (pH Micro 2000 Crison).

As plantas de cada caixa foram colhidas aos 38 dias após a transplantação (DAT). A parte aérea da planta foi cortada a 1 cm da superfície do substrato e procedeu-se à determinação da produção por caixa. Por caixa, selecionaram-se aleatoriamente 4 mottes, nos quais se determinou a biomassa da parte aérea e a área foliar.

Amostras de limbo ou pecíolo ($1,0000 \text{ g}$), homogeneizadas com $8,0 \text{ mL}$ de mistura metanol:água ($80:20, \text{ v/v}$) durante 1 min , foram centrifugadas a 6440 g durante 5 min a 4°C . Os sobrenadantes obtidos foram preservados a -20°C para posterior determinação do teor em fenóis totais e do poder antioxidante. O teor em fenóis totais, expresso em mg (equivalentes de ácido gálico)/ 100 g de peso fresco (PF), foi determinado de acordo com Bouayed et al (2011), fazendo reagir alíquotas dos sobrenadantes com reagente de Folin-Ciocalteu, lendo a absorvência do cromóforo formado a 760 nm e interpolando numa curva de calibração de ácido gálico ($0 - 50 \text{ mg L}^{-1}$). O poder antioxidante (FRAP) foi determinado de acordo com Bouayed et al. (2011). Preparou-se extemporaneamente o reagente de FRAP, composto por cloreto de ferro (20 mM), TPTZ (10 mM) em HCl (40 mM) e tampão acetato de sódio (300 mM) pH $3,6$, na proporção de $1:1:10 (\text{v/v/v})$. Em seguida, misturou-se $0,050 \text{ mL}$ de cada sobrenadante na diluição adequada/padrão com $0,950 \text{ mL}$ de reagente de FRAP, previamente aquecido a 37°C . Após incubação à mesma temperatura, durante 4 min , leu-se a absorvência a 593 nm . A poder antioxidante expresso em mg (equivalentes de Trolox)/ 100 g de peso fresco (PF) foi calculado interpolando numa curva de calibração de Trolox ($0 - 1120 \text{ mg L}^{-1}$). As análises espectrométricas foram realizadas no espectrómetro de absorção molecular Genesys 10S, Thermo Scientific (Waltham, Massachusetts, USA).

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância simples, ANOVA I e ao teste de significância de Duncan, utilizando o programa SPSS Statistics para Windows, versão 21 (Chicago, Illinois, USA), licenciado para a Universidade de Évora.

Resultados e Discussão

Água de drenagem

A condutividade elétrica da solução drenada foi menor no tratamento com maior número de gotejadores (fig. 1), o que pode significar uma maior disponibilidade de nutrientes para a cultura. A menor concentração de iões na solução pode estar relacionada

com o aumento do número de pontos de emissão de água sobre o substrato. O aumento do número de gotejadores diminuiu o tempo de rega, promoveu uma maior homogeneidade e retenção da humidade no substrato (Valdés et al., 2014).

O aumento do número de gotejadores nas três últimas datas de colheita alteraram o pH da solução drenada (fig. 1). A concentração de H_3O^+ da solução drenada nas últimas três medições apresentou a mesma tendência, mas foi mais elevada no tratamento com mais gotejadores ($\approx 4,42 \times 10^{-7}$ mol de H_3O^+ L^{-1}). Este comportamento mais uma vez pode estar relacionado com a duração de rega, a qual afeta a dimensão do bolbo humedecido e a distribuição dos iões no substrato. Nas duas últimas medições o pH da solução drenada em relação ao pH da solução nutritiva baixou, o que pode estar relacionado com uma maior absorção de cationes, com a libertação de H_3O^+ pelas plantas (Marschner, 2012).

Crescimento e produção

A produção de matéria fresca e a área foliar aumentaram com o número de gotejadores por caixa de polistireno (quadro 1). A produção de matéria fresca aumentou $\approx 27\%$ por m^2 com o aumento do número de pontos de emissão de água sobre o substrato.

Teor em fenóis e poder antioxidante

O aumento do número de gotejadores diminuiu significativamente o teor em fenóis totais do limbo (23%) e o poder antioxidante do limbo (25 %) e do pecíolo (48%) (fig. 2). O teor em fenóis totais do pecíolo (15 mg eq. ac. gálico/100 g PF) (Fig. 2) não foi afetado pelo tratamento. O aumento do número de pontos de emissão de água sobre o substrato poderá ter atenuado o stress hídrico e nutricional, diminuindo a produção de antioxidantes, o que pode encurtar o período de conservação pós-colheita das folhas e prejudicar os benefícios para a saúde dos consumidores.

O teor em fenóis totais e o poder para reduzir o ferro do limbo de *Spinacia oleracea* (Fig. 2) variaram entre 106 – 130 mg eq. ac. gálico/100 g PF e 730 – 970 mg eq. Trolox/100 g PF, respetivamente. Este intervalo de valores foi da mesma ordem grandeza dos observados por Bunea et al. (2008), Sffaryazdi et al. (2012), Apak et al. (2007) e Sreeramulu et al. (2013). O poder antioxidante do limbo foi muito superior ao do pecíolo, tal como foi observado em alcachofra por Petropoulos et al. (2017).

O poder antioxidante do limbo (FRAP) esteve correlacionado positivamente com o seu teor em fenóis totais ($r = 0,79$, $p < 0,01$) (Fig. 3). O mesmo comportamento foi observado em diferentes vegetais (Stratil et al., 2006), sumo de frutos de espécies do género *Rubus* (Deighton et al., 2000) e folhas do género *Cnidoscolus* (Kuti & Konuru, 2004). Os resultados indicam que a utilização de cultivares com elevada relação limbo/pecíolo devem ser preferidas.

Conclusões

O aumento de quatro para oito de pontos de emissão de água sobre o substrato aumentou a produção de matéria fresca, mas levou a perda de biodisponibilidade de compostos fenólicos e do poder antioxidante do limbo. O poder antioxidante do limbo foi muito superior à do pecíolo. Observou-se uma relação linear entre o poder antioxidante (FRAP) e o teor total de fenóis do limbo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pelo suporte financeiro deste trabalho, através do Projecto UID/AGR/00115/2013.

Referências

- Abas, F., Lajis, N., Israf, D.A., Khozirah, S. & Umi Kalsom, Y. 2006. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chem.*, 95: 566-573.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K. & Özyurt, D. 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12, 1496-1547.
- Barcelos, C., Machado, R.M., Alves Pereira, I., Ferreira, R. & Bryla, D.R. 2016. Effects of substrate type on plant growth and nitrogen and nitrate concentration in spinach. *International Journal of Plant Biology*, 7: 44-47.
- Bouayed, J., Hoffmann, L. & Bohn, T. 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128: 14–21.
- Bunea, A., Andjelkovic M., Socaciu C., Bobis O., Neacsu M., Verhe R. & Van Camp, J. 2008. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.) *Food Chemistry* 108: 649–656.
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C. & Davies, H.V. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species, *J Sci Food Agric*, 80: 1307-1313.
- Erkan, N. 2012. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L.. *Food Chemistry* 133: 775-781.
- Ismail, H., Chan, K., Mariod, A. & Ismail, M. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. *Food Chem.* 119: 643-647.
- Kuti, J.O. & Konuru, H.B. 2004. Antioxidant Capacity and Phenolic Content in Leaf Extracts of Tree Spinach (*Cnidioscolus spp.*) *J. Agric. Food Chem.* 52, 117-121.
- Marschner, H. 2012. Marschner's mineral nutrition of higher plants, 2nd ed., Academic press, New York
- Peksel, A., Arisan-Atac, I. & Yanardag, R. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of Purslane (*Portulaca Oleracea* subsp. *Sativa* L.). *Ital. J. Food Sci.*, 3: 295-308.
- Petropoulos S.A., Pereira, C., Barros, L., & Ferreira, I.C.F.R. 2017. Leaf parts from Greek artichoke genotypes as a good source of bioactive compounds and antioxidants. *Food Funct.* 8: 2022-2029.
- Sffaryazdi, A., Lahouti, M., Ganjeali, A. & Bayat, H. 2012. Impact of Selenium Supplementation on Growth and Selenium Accumulation on Spinach (*Spinacia oleracea* L.) *Plants, Not Sci Biol*, 2012, 4: 95-100.
- Silva, M., Costa, R., Santana, A. & Koblitz, M. 2010. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Ciências Agrárias*, Londrina, 31: 669-682.
- Sreeramulu, D., Reddy, C.V.K., Chauhan, A., Balakrishna, N. & Raghunath, M. 2013. Natural antioxidante activity of commonly consumed plant foods in India: effect of domestic processing. Hindawi Publishing Corporation, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-12.
- Stratil, P., Klejduš, B., & Kubáň, V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54: 607-616.

- Sucupira, N., Silva, A., Pereira, G. & Costa, J. 2012. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. UNOPAR, Cient. Ciênc. Biol. Saúde, 14: 263-269.
- Valdés, R., Miralles, J., Ochoa, J., Bañón, S., and Sánchez-Blanco, M. J. 2014. The number of emitters alters salt distribution and root growth in potted gerbera. HortScience 49: 160-165.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Área foliar, peso seco e produção. Efeito do número de gotejadores (E4 e E8, 4 e 8 gotejadores por caixa de polistireno expandido).

Tratamento	Área foliar (cm ² /planta)	Peso seco (g/planta)	Produção (Kg/m ²)
E4	332,3 a	2,14 a	2,78 b
E8	413,6 b	2,32 a	3,55 a

Letras diferentes dentro da mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$)

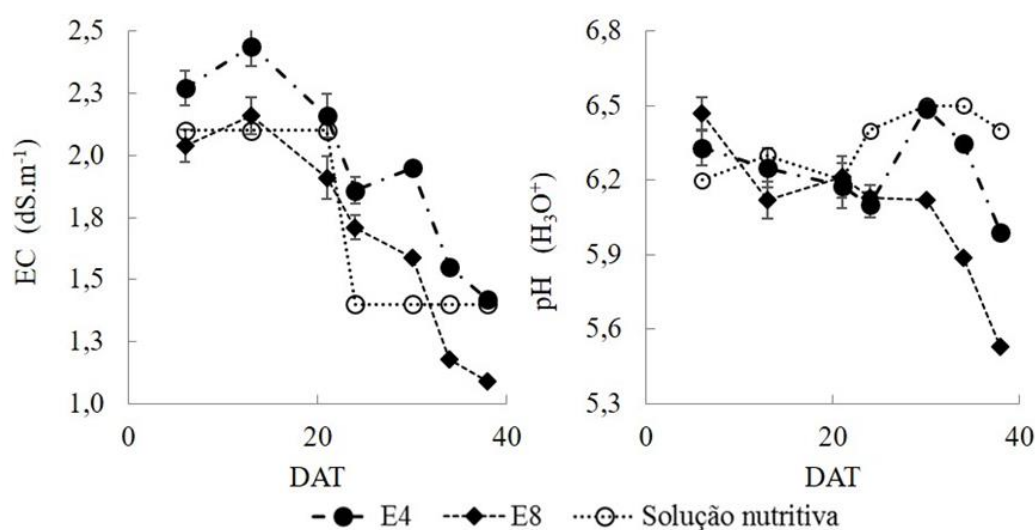


Figura 1– Condutividade elétrica e pH (H₃O⁺) da solução drenada. Efeito do número de gotejadores (E4 e E8, 4 e 8 gotejadores por caixa de polistireno expandido). Cada símbolo representa a média ± 1 erro padrão de cinco repetições.

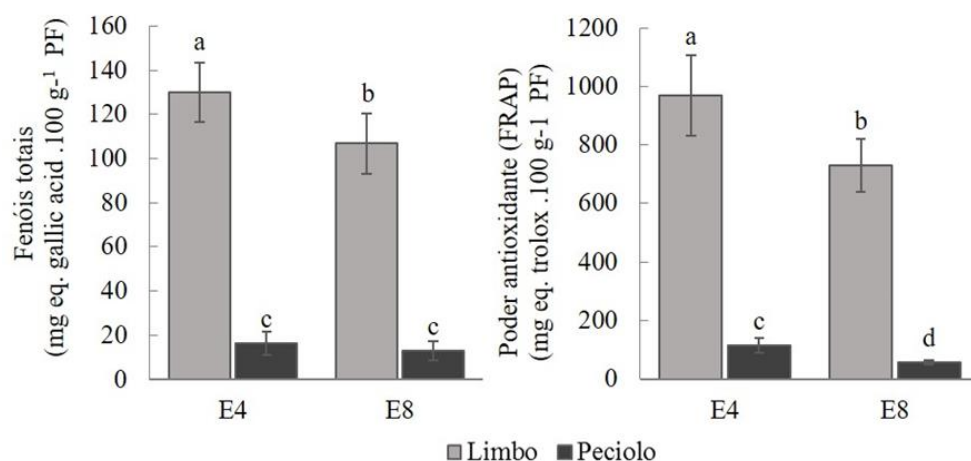


Figura 2 – Teor em fenóis totais e poder antioxidante (FRAP) do limbo e pecíolo de espinafres. Efeito do número de gotejadores (E4 e E8, 4 e 8 gotejadores por caixa de polistireno expandido). Cada barra representa a média \pm 1 erro padrão de cinco repetições. Letras diferentes por cima das barras indicam diferenças significativas ($p < 0,01$).

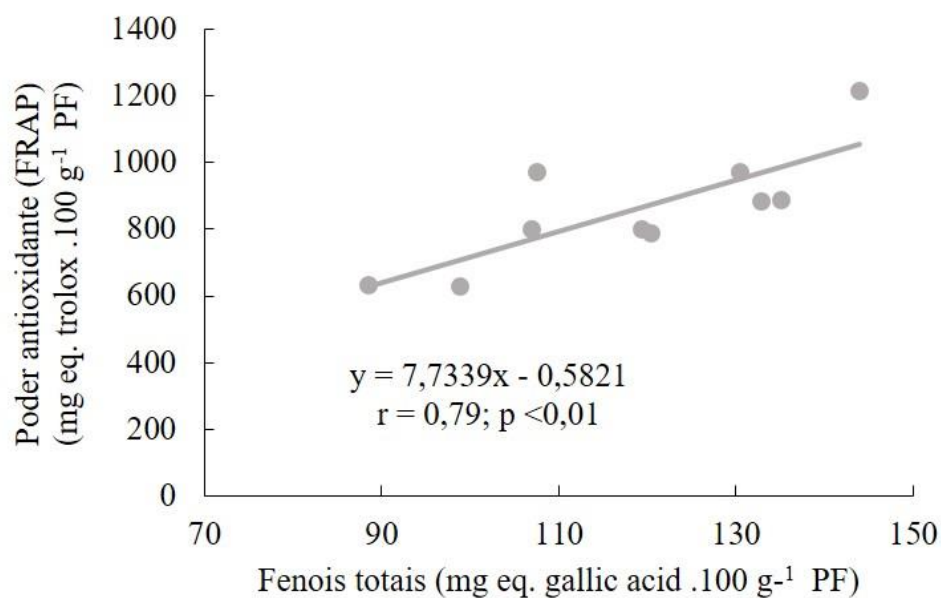


Figura 3 – Relação entre o teor em fenóis totais e o poder antioxidante (FRAP) do limbo ($r = 0,79$, $p < 0,01$).

Efecto del Gas Ozono en la Microflora y Degradación de Aflatoxina B₁ en Higos Secos

F. Sánchez¹, R. Sánchez Baltasar¹, M. Molinero² M.J. Rodríguez¹, P. Calvo¹ & J. Rocha-Pimienta¹.

¹Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España. e-mail: francisco.sanchezi@juntaex.es

²Laboratorio de Salud Pública de Badajoz, España. e-mail: marialuisa.molinero@salud-juntaex.es

Resumen

En este estudio se evaluó la eficacia del ozono gaseoso sobre la flora microbiana y el contenido de aflatoxina B₁ en higos secos. Los higos secos contaminados con aflatoxina B₁ fueron expuestos a 2 mg m³ de ozono gaseoso durante 0, 5, 24 y 48 horas. Una vez tratados se envasaron en skin y se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta el momento de su análisis. Los análisis realizados fueron recuento de mohos, levaduras y aflatoxina B₁ antes (0 h.), y después (5, 24 y 48 h) de los tratamientos con ozono. La aplicación de ozono durante 24 horas fue suficiente para reducir en 2 unidades logarítmicas el recuento de colonias. Las muestras contaminadas artificialmente con aflatoxina B₁ a un nivel de 20 µg Kg⁻¹ también fueron tratadas con ozono gaseoso y posteriormente se analizó la concentración de la micotoxina antes y después de los tratamientos, obteniéndose una reducción del 32,5% a las 48 horas en la concentración de aflatoxina B₁. Los resultados indicaron que la aplicación de ozono gaseoso es eficaz para la reducción de la población microbiana así como para la degradación de aflatoxina B₁ en higos secos.

Palabras clave: degradación, micotoxinas, mohos, levaduras, ozonación.

Abstract

In this study the efficacy of gaseous ozone on microbial flora and aflatoxin B₁ content in dried figs were investigated. The dried figs contaminated with aflatoxin B₁ were exposed to 2 mg m³ gaseous ozone for 0, 5, 24 and 48 hours, after treatment they were packaged in skin and kept freezing at -20 °C until analyzed. After dried figs were exposed to 2 mg m³ gaseous ozone for 0, 5, 24 and 48 hours, fungal, yeasts and aflatoxin B₁ were analyzed before (0 hours) and after ozone treatments (5, 24 y 48 hours). The ozone application for 24 hours was sufficient to reduce 2 colony forming units logarithmic. The samples artificially contaminated with aflatoxin B₁ at level of 20 µg kg⁻¹ were treated with ozone and mycotoxin concentration was analyzed after and before of treatments, obtaining a reduction of 32,5% after 48 hours of treatment. The results indicate that the application of gaseous ozone is effective for the reduction of the microbial population as well as for the degradation of aflatoxin B₁ in dried figs.

Keywords: degradation, mycotoxin, molds, yeast, ozonation.

Introducción

Extremadura es la primera comunidad autónoma española en extensión y producción de higos, con 5.220 hectáreas de higueras y una producción anual de 8.272 toneladas, casi el 29 % del total español. Los métodos tradicionales de producción de

higos secos, utilizados de forma generalizada, son el origen de importantes pérdidas causadas por patógenos microbianos, micotoxinas e insectos. En las plantas industriales de procesamiento de higos secos, los controles establecidos para reducir la contaminación procedente del campo no son suficientes. En general se someten los higos a un lavado higienizante, y posteriormente a una inspección ocular bajo luz ultravioleta, rechazándose los que presentan fluorescencia indicativa de la posible presencia de micotoxinas. Por tanto, es necesario evaluar nuevas tecnologías no agresivas para el medio ambiente, que disminuyan el riesgo de contaminación, ofrezcan productos seguros y minimicen las pérdidas de producto. El ozono es un fuerte oxidante y potente agente desinfectante. Existen numerosas áreas de aplicación del ozono en la industria alimentaria: saneamiento de equipos, higiene superficial, reutilización de aguas residuales e inhibición de la microflora de frutas y hortalizas entre otras (Mohammad B. et al., 2008). Dado su elevado poder germicida y su descomposición espontánea a oxígeno, se ha convertido en un potencial agente para garantizar la seguridad microbiológica y la calidad de los alimentos frescos (Bataller et al., 2010) o mínimamente procesados (Abadías et al., 2008). En Estados Unidos el ozono es considerado un producto GRAS (generalmente reconocido como seguro) y ha sido aprobado para ser usado como agente antimicrobiano (Pascual et al., 2007).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad del ozono gaseoso en el crecimiento de mohos, levaduras y degradación de aflatoxina B₁ sobre higos secos.

Materiales y Métodos

Material

Se utilizaron higos secos, variedad *calabacita*, adquiridos en el mercado local. El ensayo se desarrolló en cámara refrigerada de 1m³ de capacidad con control de temperatura y humedad.

El gas de ozono se produjo utilizando un generador dosificador-analizador de ozono por efecto corona (Modelo SIR-S50141VTT), a partir de oxígeno seco purificado, y la detección se llevó a cabo mediante absorción UV.

Metodología

Los higos secos fueron divididos en cuatro lotes de 10 higos cada uno, siendo el peso aproximado de cada lote de 100 g. Para dopar las muestras con aflatoxina B₁, se tomaron 20 µL de una disolución de 10 mg L⁻¹ de aflatoxina B₁ (LGC Standards, Germany) en metanol, y se depositaron sobre la superficie de cada higo en cada uno de los lotes, de forma que la cantidad de aflatoxina B₁ en cada lote es de 0,002 mg, es decir, el nivel de contaminación de cada lote es de 20 µg Kg⁻¹ de higo seco.

Paralelamente al ensayo con aflatoxina B₁, se establecieron otros cuatro lotes de 10 higos cada uno para el control microbiológico de mohos y levaduras.

El ozono se aplicó en la cámara refrigerada a 10 °C y 60 % de humedad relativa, a una concentración de 2 mg m³. Posteriormente se introdujeron en la cámara los ocho lotes descritos anteriormente. El tratamiento se llevó a cabo durante un total de 48 horas tomándose muestras a distintos intervalos de tiempo (0, 5, 24 y 48 h.). Después de cada intervalo, las muestras se envasaron en skin, y se mantuvieron en congelación (-20 °C) hasta su análisis.

Análisis de aflatoxina B₁

Para la extracción de aflatoxina B₁, se homogeneizó la totalidad de la muestra de cada uno de los lotes y se pesaron 5 gramos con una precisión de ± 0,2 g. A estos se les añadió 25ml de metanol 70%, agitando durante 10 minutos. El filtrado fue diluido con agua destilada en proporción 1:3. Este extracto diluido se sometió a una purificación en

columna de inmunoafinidad. Se utilizó metanol como eluyente de las aflatoxinas. Posteriormente, las aflatoxinas presentes en el extracto metanólico se cuantifican utilizando el kit Ridascreen Aflatoxin B₁ 30/15 (r-biopharm), mediante lecturas de las absorbancias en lector de placas a 450 nm. Una serie de estándares que incorpora el kit permite la construcción de una curva patrón para la interpolación de los valores obtenidos para las muestras analizadas.

Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos para el recuento e identificación de mohos y levaduras, se llevaron a cabo asépticamente mezclando 10 g de higo seco con 90 ml de agua de peptona. Se realizaron diluciones seriadas 1/10, y posterior siembra añadiendo 1 ml en placa Petri, y entre 15-20 ml de medio IGM (Merck). La incubación se realizó a 25 °C durante 5 días, y posteriormente se procedió al recuento e identificación de colonias típicas de levaduras y mohos. Los resultados se expresan como Log CFU g⁻¹ de higo seco.

Análisis estadístico

Los datos son evaluados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando SPSS 20.0 con un nivel de significación del 0,05.

Resultados y Discusión

Degradación de aflatoxina B₁.

Se calculó el porcentaje de recuperación sobre el nivel de contaminación de la muestra sin tratar (0 horas), resultando ser del 60,5 %. Este porcentaje es relativamente bajo pero puede justificarse en base a que los higos se contaminaron en su superficie, y posteriormente se envasaron en skin. En este tipo de envasado el producto queda recubierto por una fina capa de film plástico que puede arrastrar consigo la micotoxina de la superficie al abrir el envase. La concentración de aflatoxina B₁ en los higos para cada uno de los tratamientos (0, 5, 24 y 48 horas) se muestra en la Figura 1. Del análisis estadístico se deduce que todos los tratamientos fueron significativamente diferentes, principalmente debido a las bajas desviaciones entre los valores cuantificados en los distintos tratamientos. Sin embargo, podemos destacar en la gráfica un drástico descenso del contenido en aflatoxina B₁ a las 48 h de aplicación del ozono gaseoso. Este descenso se cuantificó en un 32.5% respecto al tratamiento inicial (0 horas), considerándose las 48 h de aplicación de ozono gaseoso como el tiempo mínimo requerido para un descenso notable en el contenido de aflatoxina B₁ de higos secos. Resultados similares en cuanto a la disminución del contenido de aflatoxinas en diferentes frutas deshidratadas han sido descritos por distintos autores (Hakan et al., 2010).

Análisis microbiológicos

La efectividad del ozono en el recuento de microorganismos, mohos y levaduras se muestra en la Figura 2. Se observó una reducción del contenido de los mismos en dos unidades logarítmicas respecto a la formación de colonias a las 24 horas de aplicación del ozono. El análisis estadístico nos mostró que los tratamientos 5 y 24 horas son significativamente diferentes del tratamiento de referencia a tiempo 0. Un comportamiento similar fue observado por diferentes autores en distintos productos tales como uva de mesa, melocotones y fresas (Palou L. et al., 2002; & Perez A., et al., 1999).

Conclusiones

Los resultados experimentales de esta investigación demuestran que la aplicación de ozono gaseoso tiene un considerable efecto en la contaminación microbiana y

degradación de aflatoxina B₁ en higos secos. En este trabajo no fueron evaluadas las características organolépticas de los higos secos antes y después de los tratamientos con ozono pero si se pudo constatar que la apariencia visual no varió antes y después de la aplicación de ozono gaseoso.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Extremadura y Fondos Feder (Proyecto GR10006).

Referencias

- Abadias, M., Usall, J. Anguera, M., Solsona, C. & Vinas, 2008 I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.*, 123, 121–129.
- Bataller, M., Santa Cruz, S. & García, M. 2010. El ozono: Una alternativa sostenible en el tratamiento postcosecha de frutas. Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba.
- Hakan Karaca¹, Y. Sedat Velioglu¹, & Sebahattin Nas. 2010. Review Article Mycotoxins: contamination of dried fruits and degradation by ozone. *Toxin Reviews* 29(2): 51-59.
- Mohammad B., Habibi Najafi, M.H & Haddad Khodaparast. 2008. Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food and Chemical Technology* 46, 3593-3597.
- Palou, L., Crisoto, C. H., Smilanick, J. L., Adaskaveg, J. E., & Zoffoli, J. P. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physical responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 24, 39–48.
- Pascual, A.; Llorca, I. & Canut, A. 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science and Technology* 18: S29 – S35.
- Perez, A. G., Sanz, C., Rios, J. J., Olias, R., & Olias, J. M. (1999). Effect of ozone treatment on postharvest strawberry quality. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1652–1656.

Tablas y Figuras

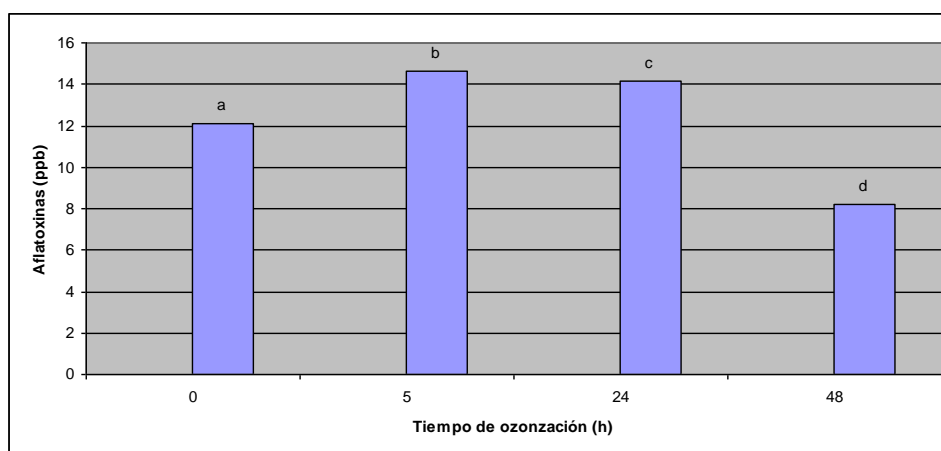


Figura 1- Efecto del tratamiento con ozono gaseoso en diferentes intervalos de tiempo sobre la degradación de aflatoxina B₁.

Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre los tratamientos (n = 3, p < 0,05)

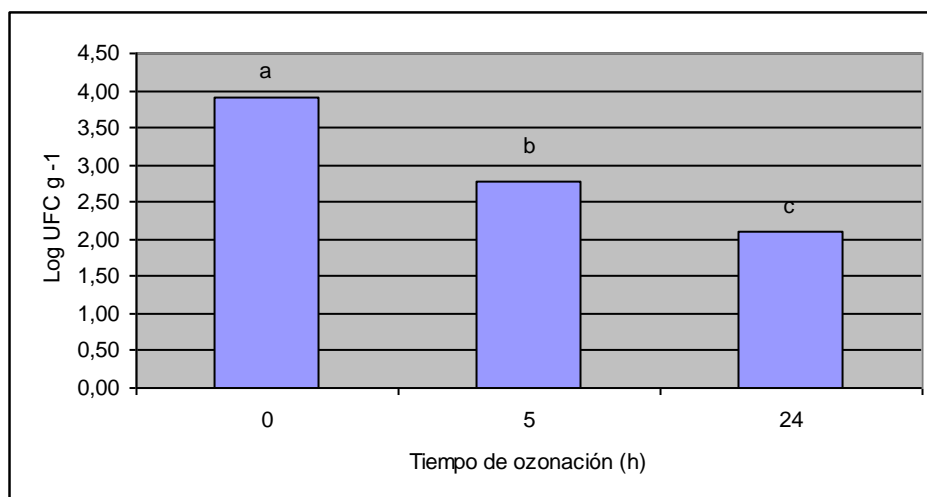


Figura 2- Efecto del tratamiento con ozono gaseoso en diferentes intervalos de tiempo sobre el crecimiento de mohos y levaduras. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre los tratamientos (n = 3, p < 0,05)

Avaliação sensorial de infusões obtidas a partir de folhas de videira de duas castas tintas portuguesas (*Touriga Nacional* e *Tinta Roriz*)

Ana Cristina Correia^{1,2}, Bruno Fernandes¹ & António Manuel Jordão^{1,2}

¹ESAV, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal.

²CI&DETS, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal.

email: anacorreia@esav.ipv.pt

Resumo

A utilização das folhas de videira, como material para infusões, pode ser uma potencial alternativa como uma eventual forma de valorização de um produto que, em geral e de forma sistemática, é deixado na videira após a realização da vindima.

Ao contrário do vinho e até das uvas, poucos estudos têm sido desenvolvidos ao nível da produção, comercialização e avaliação da qualidade para a valorização das folhas de videira. Assim, e de modo a contribuir para uma potencial valorização das folhas de videira, utilizaram-se neste estudo duas importantes castas tintas portuguesas (*Touriga Nacional* e *Tinta Roriz*), a partir das quais se efetuou a colheita de folhas numa vinha localizada na região do Dão e em duas datas diferentes, 30 e 60 dias após a vindima. As folhas recolhidas foram secas em ambiente seco e escuro, tendo sido controladas as condições de temperatura e de humidade. Foram ainda utilizadas folhas de videira comerciais disponíveis no mercado nacional. A partir das cinco amostras de folhas de videira, foram preparadas várias infusões tendo sido avaliadas sensorialmente, de modo a poder averiguar da potencial influência do tipo de casta e do momento de colheita das folhas nas características sensoriais das infusões. Os parâmetros sensoriais avaliados foram os seguintes: cor (tonalidade e intensidade); aroma (intensidade), sabor (adstringência, amargor e doçura) e apreciação global, tendo-se para tal recorrido a um painel de 15 provadores previamente treinados.

Dos resultados preliminares obtidos, foi possível constatar a existência de diferenças entre as infusões das duas castas utilizadas e a amostra comercial, ao nível dos parâmetros da intensidade do aroma e da adstringência. Por outro, os resultados obtidos para estes mesmos parâmetros sensoriais, apontam ainda para um impacto significativo da data de colheita das folhas nas características das infusões, nomeadamente quando as folhas foram colhidas após 60 dias após a vindima.

Palavras-chave: *Vitis vinífera* L., vindima, parâmetros sensoriais, subprodutos, valorização.

Abstract

The use of vine leaves as infusion material may be a potential alternative not fully exploited for valorization of vine leaves after grape harvest that are often left on the vine itself or used as organic material for fertilization, animal feed or energy production.

Vine leaves production, commercialization, and quality evaluation of vine leaves infusions are not so developed as for wine and table grapes. Thus, in order to contribute to a potential valorization of the vine leaves, two important Portuguese red grape varieties (*Touriga Nacional* and *Tinta Roriz*) collected in Dão region at different dates, 30 and 60 days after harvest, were used in the preparation of the infusions. Commercial vine leaves, bought in the market, were also used. Sensorial evaluation of each infusion was made in order to evaluate the potential influence of the grape variety and the time of harvesting

the leaves. The sensorial parameters evaluated were: color (hue and intensity); Aroma (intensity), taste (astringency, bitterness and sweetness) and global evaluation, using a panel of 15 previously trained tasters.

From the preliminary results, it was possible to find the existence of differences between the infusions of the two varieties used and the commercial sample, at the aroma intensity and astringency parameters. On the other hand, the results obtained for these same sensorial parameters also point to a significant impact of the date of harvest of the leaves on the characteristics of the infusions, namely when the leaves were collected after 60 days after the grape harvest.

Keywords: *Vitis vinifera* L., harvest, sensory parameters, by-products, valorization.

Introdução

A utilização de folhas de videira, como material na preparação de infusões, pode ser uma potencial alternativa de valorização das folhas, que não tem sido totalmente explorada, a serem colhidas após a realização da vindima, uma vez que depois da colheita de uvas, as folhas são deixadas na videira ou utilizadas como matéria orgânica quer para a fertilização, a alimentação animal ou até para a produção de energia.

A produção, a comercialização e até a avaliação da qualidade de folhas de videira, não têm sido tão desenvolvidas quanto tem sido as uvas e o vinho. Deste modo, ferramentas eficientes de discriminação podem ajudar os produtores a otimizar e controlar o processo de produção, nomeadamente o tempo de colheita relativo à qualidade da infusão de folhas. Embora vários autores tenham relatado diversas propriedades biológicas da *Vitis vinifera* L. ao nível das películas (Bekhit *et al.*, 2011), das grainhas (Jayaprakasha *et al.*, 2003) e das folhas (Fernandes *et al.*, 2013), a avaliação sensorial, especialmente das infusões de folhas de videira, é particularmente escassa. Sendo também pouco o conhecimento sobre a influência potencial da data de colheita das folhas de videira sobre as características qualitativas ao nível sensorial das respectivas infusões.

Assim, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar sensorialmente infusões preparadas a partir de folhas de videira de duas importantes castas tintas portuguesas (*Touriga Nacional* e *Tinta Roriz*) colhidas em datas diferentes após a vindima e folhas de videira comerciais (já preparadas) adquiridas no comércio.

Material e Métodos

Preparação das amostras de folhas de videira

De uma vinha experimental, na região do Dão, foram colhidas e de uma forma aleatória, cerca de 40 folhas de videira (*Vitis vinifera* L.) de duas castas tintas portuguesas, *Touriga Nacional* e *Tinta Roriz*, em dois tempos diferentes - 30 e 60 dias - após a realização da vindima (Fig. 1).

As folhas foram inspeccionadas visualmente e, apenas as folhas intactas e sãs, foram utilizadas. Todas as folhas selecionadas foram secas num ambiente escuro até atingirem uma humidade de 10% (m/m), tendo sido trituradas, homogeneizadas e armazenadas em ambiente seco até serem utilizadas na preparação das infusões.

Preparação das infusões

As amostras de folhas de videira, numa concentração de 5 g/L, foram colocadas em 500 mL de água desionizada e aquecidas até atingir o ponto de ebulição. Ao fim do qual foi desligada a fonte de aquecimento, e após 10 minutos, as infusões foram filtradas e colocadas em recipientes térmicos para se manterem quentes.

Avaliação sensorial

A avaliação sensorial das 5 infusões (folhas de videira da casta *Touriga Nacional* e da casta *Tinta Roriz*, 30 e 60 dias após a vindima/casta e folhas comerciais sem identificação das castas) foi realizada numa sala de provas em cabines individuais de acordo com procedimentos descritos por Meilgaard *et al.*, 1991. Todas as provas foram realizadas durante a tarde (entre as 16:00 e as 17:00) por quinze provadores (5 masculino; 10 feminino) com devido treino em análise sensorial (bebidas quentes, em particular).

As infusões foram apresentadas (T~50°C) ao painel em chávenas de chá de porcelana branca e codificadas de forma aleatória. Os atributos sensoriais avaliados foram: ao nível visual, a tonalidade e a intensidade de cor; ao nível do aroma, a intensidade; ao nível do sabor, a adstringência, o amargo e o doce; e por fim, foi efectuada uma apreciação global. Para tal, foi utilizada uma escala crescente numérica de 1 a 10 pontos (sendo 1 correspondente a menos intensa e 10 a mais intensa) para avaliar cada atributo sensorial.

Análise estatística

Os resultados obtidos da análise sensorial foram sujeitos a uma análise estatística utilizando o software SPSS versão 23 (IBM, EUA). Para tal, foi efectuada uma análise de variância a um fator (ANOVA) e a diferença entre as médias foram avaliada utilizando o teste Tukey HSD com um nível de confiança de 5%.

A análise em componentes principais (PCA) foi utilizada para avaliar as relações entre as características sensoriais das diferentes infusões de folhas de videira das duas castas tintas estudadas, das folhas comerciais, assim como das duas datas de colheita das folhas após a vindima.

Resultados e Discussão

O perfil sensorial das diferentes infusões de folhas de videira é apresentado na Figura 2. Pela análise dos resultados obtidos foram constatados diferenças significativas entre as infusões em praticamente todos os atributos sensoriais avaliados, excepto ao nível do amargo e apreciação global.

Nos atributos sensoriais, com diferenças significativas, nomeadamente, adstringência e doçura (ao nível do sabor), tonalidade da cor e intensidade do aroma, foram constatados valores mais elevados nas infusões de folhas de videira colhidas 60 dias após a vindima independentemente da casta utilizada.

Ao nível do atributo amargo, apesar de não se ter verificado diferenças estatísticas entre as várias infusões, foram observados valores ligeiramente superiores nas infusões com folhas de videira de castas em estudo colhidas após 60 dias da vindima.

A infusão preparada com folhas comerciais (FC) foi a que apresentou menores pontuações atribuídas pelo painel de provadores.

As diferenças verificadas sugerem que o perfil sensorial, em particular alguns descritores da cor, do aroma e do sabor pode ser determinado pela data de colheita das folhas de videira.

De modo a melhor compreender a relação entre, a variedade da casta da uva, a data da colheita das folhas após a vindima e as características sensoriais das infusões das folhas, foi ainda efectuada uma análise em componentes principais (Figura 3). As duas primeiras componentes principais (PC) explicaram 92% da variância total observada nas variáveis originais. A Figura 3A mostra que a primeira PC (PC1, 67% da variância) foi correlacionada positivamente com as variáveis: tonalidade da cor (TC), intensidade da cor (IC) e do aroma (IA), adstringência (Ad) e apreciação global (AG) enquanto a segunda PC (PC2, 28,6% da variância) foi correlacionada positivamente com o atributo amargo (A).

Na figura 3B é possível visualizar a distribuição espacial das amostras das infusões em relação aos parâmetros sensoriais analisados. Após uma análise de agrupamento, verifica-se uma separação das infusões pelo tipo de casta. De facto, a PC2 separa as infusões preparadas a partir da casta *Touriga Nacional* das que foram preparadas a partir da casta *Tinta Roriz*. Para além disso, constatou-se, pela PC1, uma separação pelo tempo de colheita das folhas após a vindima. Contudo, as infusões preparadas com folhas comerciais formam um grupo separado das que foram preparadas com folhas de videira das duas castas tintas portuguesas estudadas.

Conclusões

Com este trabalho preliminar foi possível constatar uma tendência da influência da data da colheita de folhas de videira de duas castas tintas portuguesas (*Touriga Nacional* e *Tinta Roriz*) sobre as características sensoriais das infusões preparadas a partir dessas folhas. No entanto, para comprovar e retirar outras elações, são ainda necessários mais estudos essencialmente ao nível químico, nomeadamente, na composição volátil e na análise de compostos bioactivos.

Referências

- Bekhit, A.E.A., Cheng, V.J., McConnell M., Zhao J.H., Sedcole, R. & Harrison, R. 2011. Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry* 129:837-845.
- Fernandes, F., Ramalhosa, E., Pires, P., Verdial, J., Valentão, P., Andrade, P., Bento, A. & Pereira, J.A. 2013. *Vitis vinifera* leaves towards bioactivity. *Industrial Crops Products* 43:434-440.
- Jayaprakasha, G.K., Selvi, T. & Sakariah, K.K. 2003. Antibacterial and antioxidante activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International* 36:117-122.
- Meilgaard, M.C.; Civille, G.V. & Carr, B.T. 1991. *Sensory evaluation techniques*. (2nd ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Quadros e Figuras

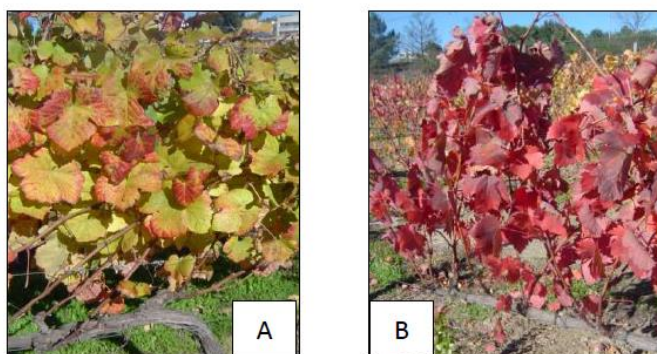


Figura 1 – Aspetto visual das folhas de videira colhidas 30 (A) e 60 (B) dias após a vindima.

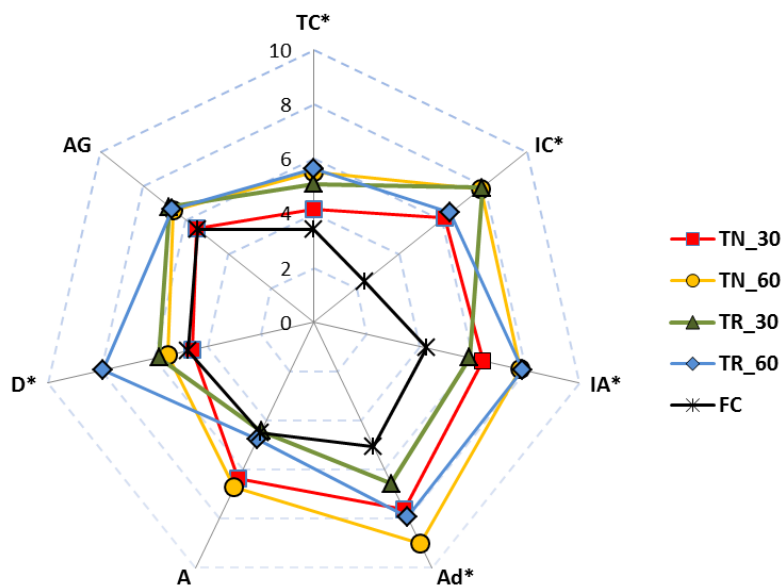


Figura 2 – Perfil sensorial das cinco infusões de folhas de videira.

TN_30 = infusão de Touriga Nacional de folhas colhidas 30 dias após a vindima; TN_60 = infusão Touriga Nacional de folhas colhidas 60 dias após a vindima; TR_30 = infusão de Tinta Roriz de folhas colhidas 30 dias após a vindima; TR_60 = infusão de Tinta Roriz das folhas colhidas 60 dias após a vindima; FC = infusão de Folhas de videira Comerciais. TC – Tonalidade da Cor; IC – Intensidade da Cor; IA – Intensidade do Aroma; Ad – Adstringência; A – Amargo; D – Doce; AG – Apreciação Global; (*) Indica a existência de diferenças estatísticas ($p < 0,05$)

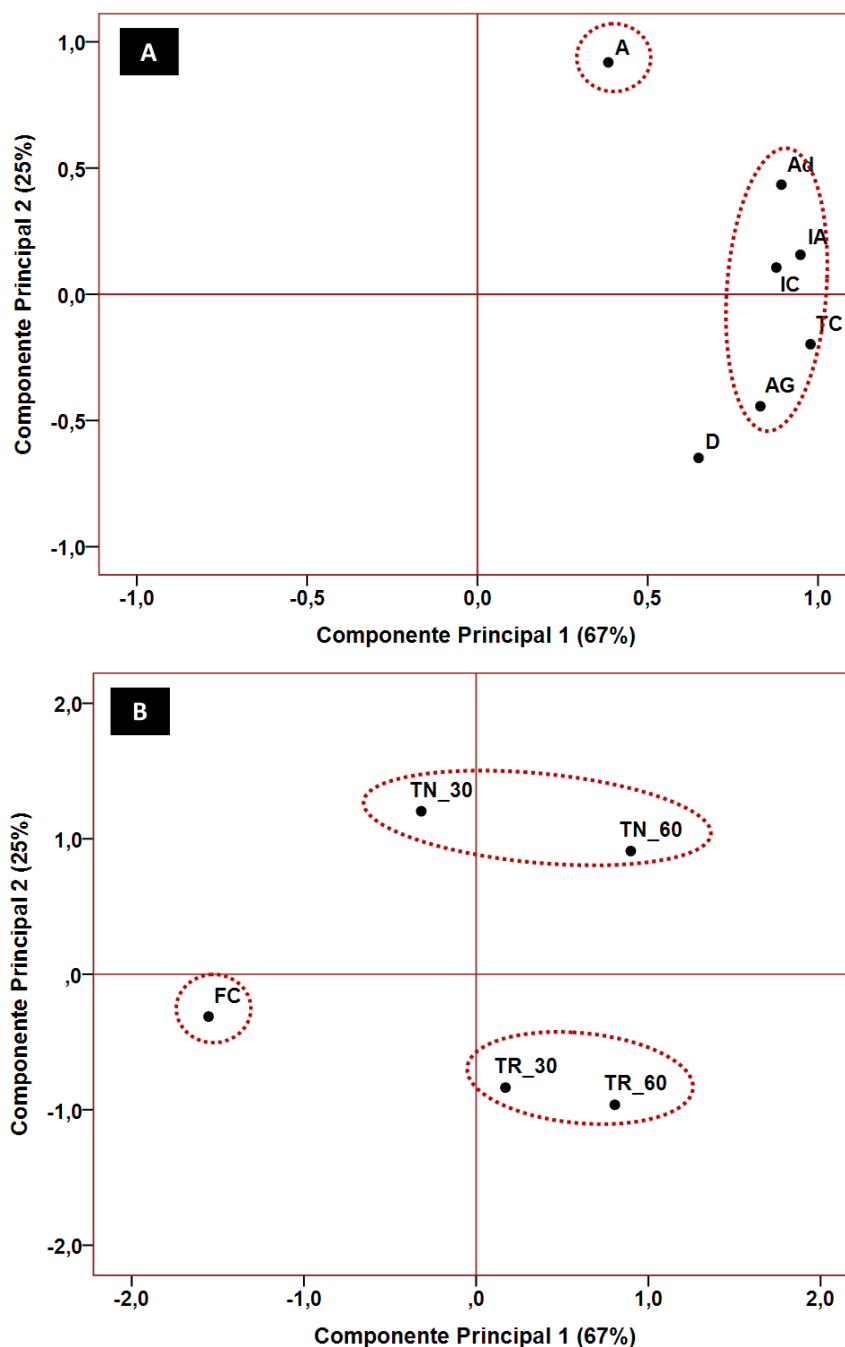


Figura 3 – Projeção das componentes principais das características sensoriais das cinco infusões de folhas de videira: (A) - Projeção das variáveis iniciais; (B) – Projeção das amostras de infusões.

TC – Tonalidade da Cor; IC – Intensidade da Cor; IA – Intensidade do Aroma; Ad-Adstringência; A – Amargo; D – Doce; AG – Apreciação Global;

TN_30 = infusão de Touriga Nacional de folhas colhidas 30 dias após a vindima; TN_60 = infusão Touriga Nacional de folhas colhidas 60 dias após a vindima; TR_30 = infusão de Tinta Roriz de folhas colhidas 30 dias após a vindima; TR_60 = infusão de Tinta Roriz das folhas colhidas 60 dias após a vindima; FC = infusão de Folhas de videira Comerciais.

Calidad microbiológica de las fuentes de agua superficial disponibles para riego de cultivos hortícolas intensivos en el Campo de Dalías

R. Baeza¹, F. Alonso¹, G. Cánovas¹, M.L. Segura¹, M.M. Parra¹ y J.I. Contreras¹

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Centro La Mojonera, Camino San Nicolás, nº1, 04745 La Mojonera, Almería.

Palabras clave: Calidad de agua, invernaderos, coliformes, *E. coli*, embalses

Resumen

El agua se ha convertido en un factor limitante para el desarrollo de los cultivos hortícolas intensivos del Campo de Dalías. Esta situación ha obligado a la búsqueda de fuentes alternativas a las tradicionales aguas subterráneas. Las nuevas fuentes incluyen tanto aguas desaladas y residuales regeneradas, como aguas superficiales dulces y salobres. El control cualitativo de las dos primeras es muy exhaustivo por tratarse de procesos industriales y por exigencias legales. En cambio las aguas superficiales utilizadas para riego están sometidas a un control más laxo, especialmente en lo que a carga microbiológica se refiere. Sin embargo, la certificación de calidad en cultivos para consumo en fresco obliga a garantizar la ausencia de *E. coli* que, por diferentes motivos, podría estar presente en estas aguas. En este estudio se ha realizado un seguimiento cualitativo a las tres posibles fuentes alternativas de agua superficial para riego en el campo de Dalías. Se han realizado muestreos bimensuales a lo largo de una campaña de riego. Se ha analizado la calidad físico-química del agua y se ha determinado la contaminación microbiológica utilizando como indicador presencia de coliformes totales y fecales (*E. coli*). Los niveles de *E. coli* se mantienen por debajo de 100 UFC en todos los muestreos, excepto en uno de ellos, coincidente con un episodio importante de lluvia. Los niveles de Coliformes Totales muestran marcadas variaciones entre los mismos. El régimen pluviométrico podría explicar por qué se producen estas variaciones. Los resultados obtenidos pueden ser considerados en la toma de decisiones de gestión de estas fuentes de agua.

Palabras clave: Calidad del agua, invernaderos, coliformes, *E. coli*, embalses.

Abstract

Water has become a limiting factor for the development of the intensive horticultural crops of the Campo de Dalías. This situation has forced the search for alternative sources to the traditional underground waters. New sources include both desalinated and regenerated sewage, sweet and brackish surface waters. The qualitative control of the first two is very exhaustive because they are industrial processes and due to legal requirements. On the other hand, the surface waters used for irrigation are subjected to a more lax control, especially in terms of microbiological load. However, certification of quality in crops for fresh consumption obliges to guarantee the absence of *E. coli* that, for different reasons, could be present in these waters. In this study, the three possible alternative sources of surface water for irrigation in the Campo de Dalías have been qualitatively monitored. Bi-monthly surveys have been conducted throughout an irrigation campaign. The physico-chemical quality of the water has been analysed and the microbiological contamination has been determined using as an indicator the presence of total and fecal coliforms (*E. coli*). *E. coli* levels are maintained below 100 CFU in all but

one of these samples, coinciding with a major rainfall episode. Total Coliformes levels show marked variations between them. The rainfall regime could explain why these variations occur. The results obtained can be considered in the decision making of management of these water sources.

Keywords: Water quality, greenhouses, coliformes, *E. coli*, reservoirs

Introducción

La superficie de cultivos hortícolas en invernadero supera las 30000 ha en la provincia de Almería (CAPDR, 2015). Este desarrollo agrícola ha ocasionado que, en algunas zonas, el sector consuma en torno al 90% de los recursos hídricos disponibles, que en su mayor parte son subterráneos. De todas las comarcas productoras la del Campo de Dalías es la que concentra la mayor superficie. Por su posición geográfica dispone de unas condiciones climáticas excepcionales para el desarrollo de este tipo de cultivos. Por contra estas condiciones limitan la disponibilidad de agua. Durante las primeras décadas de funcionamiento el agua utilizada para el riego ha sido casi exclusivamente de origen subterráneo procedente del sistema acuífero denominado Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías. Sin embargo, la sobreexplotación a la que ha estado sometido durante décadas ha generado una situación de déficit que ha obligado a la búsqueda de fuentes alternativas a las tradicionales aguas subterráneas. Las nuevas fuentes incluyen tanto aguas desaladas y residuales regeneradas, como aguas superficiales dulces y salobres (Baeza et al. 2015, Domínguez, 2013). El control cualitativo de las dos primeras es muy exhaustivo por tratarse de procesos industriales y por exigencias legales. En cambio las aguas superficiales utilizadas para riego están sometidas a un control mas laxo, especialmente en lo que a carga microbiológica se refiere.

El brote epidémico causado en 2011 en Alemania por el serotipo O104:H4 de la bacteria *E. coli* generó una crisis comercial, cuyas pérdidas comerciales para el sector agrario español se cifran en unos 200 millones de euros. Esto ha obligado a los distribuidores de productos hortícolas para consumo en fresco a incluir en sus certificaciones garantía de ausencia de *E. coli* que, por diferentes motivos, podría estar presente en las aguas superficiales.

En este contexto se ha planteado el presente trabajo al objeto de analizar la calidad microbiológica de las diferentes fuentes superficiales de agua disponibles para riego en el Campo de Dalías, tanto las empleadas en la actualidad, como las que, por necesidad o demanda del sector, podrían ser utilizadas en el futuro, con el fin de establecer pautas de manejo para estas aguas que eviten futuras alertas sanitarias o comerciales.

Material y métodos

El trabajo se ha dividido en dos fases:

- Trabajo de campo: toma de muestras.
- Trabajo de laboratorio: análisis microbiológico.

Se han analizado tres fuentes superficiales: embalse de Beninar, laguna de la Balsa del Sapo y embalse de Rules (figura 1). El agua del embalse de Beninar esta siendo utilizada en la actualidad, mientras que la Balsa del Sapo y el embalse de Rules son recursos previstos o demandados por el sector.

a) Trabajo de campo. Toma de muestras

Se ha realizado un seguimiento cualitativo de las tres fuentes de agua durante la campaña 2015-2016. La periodicidad de muestreo ha sido trimestral. Los puntos de muestreo han sido: embalse de Beninar en la conducción, conocida como Canal de

Beninar, que abastece a los regadíos de la comarca; laguna de la Balsa del Sapo en la conducción del bombeo de desagüe de la laguna hacia el mar y embalse de Rules a 10 m de profundidad en la corona de la presa. En este último caso se ha empleado una botella para la toma de muestras en profundidad (figura 2). El procedimiento in situ para cada muestra consistió en:

1. Impregnar la boquilla del frasco con alcohol (para su desinfección) y prender con cuidado.
2. Llenar el frasco directamente de la fuente respectiva.
3. Cerrar herméticamente y conservar refrigerada y en oscuridad para evitar la proliferación de microorganismos, hasta su análisis.

Este procedimiento se realizó por triplicado en cada punto de muestreo.

b) Trabajo de laboratorio

Para evaluar la carga microbiológica (*Escherichia coli* y otros coliformes) existente en los recursos superficiales, se ha determinado la presencia de Coliformes Totales y Fecales mediante el método de membranas filtrantes. Los análisis se han realizado en el laboratorio del Centro IFAPA de La Mojonera. Todo el procedimiento se realizó en el interior de una campana de flujo laminar. Los pasos seguidos para llevar a cabo el ensayo mediante el proceso de membranas filtrantes han sido los siguientes (figura 3):

1. Desinfección de las pinzas mediante el mechero de alcohol.
2. Tomar con las pinzas un filtro de membrana estéril y colocarlo sobre el embudo.
3. Filtrar 100 mL de la muestra de agua, mediante aspiración originada por la bomba de succión.
4. Pasar a través del filtro unos 30 ml de agua destilada estéril, para lavar el embudo de filtración.

Para validar el ensayo, se realizó el mismo proceso con una placa de control, a la que se añadió agua destilada. Al pasar el agua por la membrana filtrante se comprobó que ésta quedaba limpia, confirmándose que no había contaminación. Cada membrana filtrante se depositó sobre una placa de Petri (modelo “Oxoid Brilliance™ E. coli/coliform Selective Agar”, que permite la detección y recuento de *E. coli* y otros coliformes en una misma placa), dejándose incubar durante 24 horas a temperatura constante de 37°C. Después se procedió al recuento de colonias. Para la determinación de Coliformes Totales se contaron las colonias de color rojo intenso con brillo metálico dorado, rojas o rosadas. Para Coliformes Fecales se contaron las colonias que mostraron color azul o púrpura (figura 4).

No existe una normativa específica que establezca las limitaciones en la carga microbiológica permitida en el agua para riego, pero se considera que ésta debería cumplir, como mínimo, los requisitos fijados en el Real Decreto 1620/2007 por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas, donde se indica que para el riego de productos agrícolas para consumo en fresco en ningún caso se deben superar los siguientes límites:

- Escherichia coli < 100 UFC/100 mL
- Coliformes totales < 1000 UFC/100 ml

Resultados y discusión

Con respecto a la limitación para la presencia de *E. coli*, en la tabla 1 puede observarse que esta condición se cumple en todos los casos para los muestreos realizados en el Embalse de Benívar y en el de Rules, mientras que en el caso de la Balsa del Sapo se cumple en todos los muestreos (valores comprendidos entre 0 y 11 UFC) excepto en el

tercero, en el que se dispara el valor (428 UFC). En cuanto al recuento de Coliformes Totales, si se comparan los valores obtenidos para los diferentes muestreos, se observan marcadas variaciones entre los mismos.

El régimen pluviométrico podría explicar por qué se producen estas variaciones. En la figura 5 se muestran la evolución de las precipitaciones durante el periodo de muestreo, a partir de los datos recogidos en la Estación de La Mojonera, perteneciente a la Red de Información Agroclimática de Andalucía (RIA). En azul aparecen las precipitaciones, y en rojo se señalan los intervalos temporales en que tuvieron lugar los diferentes muestreos. En primer lugar, puede observarse que apenas 10 días antes del segundo muestreo (M2) tienen lugar algunas precipitaciones, que podrían explicar una primera subida del número de microorganismos fecales presentes. Pero la mayor variación ocurre en el tercer muestreo (M3), ya que acontecieron fuertes e importantes lluvias torrenciales, justo antes de llevar a cabo la toma de muestras. Cuando ocurre este tipo de fenómenos, la fuerte escorrentía y el movimiento de las aguas remueve los lodos del fondo de los embalses, en los que se suelen acumular los microorganismos anaerobios y anaerobios facultativos, haciendo que éstos emerjan a la superficie.

En vista a la variabilidad observada, una adecuada gestión de estos recursos hídricos debe llevar acompañado un frecuente control microbiológico. Teniendo en cuenta los fuertes incrementos de UFC tras los periodos de lluvia se recomienda evitar los bombeos para riego en esas circunstancias y no iniciarlos hasta la deposición de los lodos en el fondo de los embalses y siempre y cuando los controles analíticos así lo aconsejen.

Conclusiones

Los niveles de Coliformes Totales y de *E. coli* muestran marcadas variaciones entre los muestreos de las aguas superficiales analizadas.

El régimen pluviométrico podría explicar por qué se producen estas variaciones.

Los resultados obtenidos pueden ser considerados en la toma de decisiones de gestión de estas fuentes de agua.

Referencias

- Baeza, R., López, J.G., Domínguez, P., de Miguel, J., Cánovas, G. 2015 Jornada Técnica. Los recursos hídricos en el Campo de Dalías. Almería. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. 50 pp. Formato digital (ebook) - (Producción Agraria).
- BOE. núm. 294. REAL DECRETO 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. pp. 50639-50661. Consejería de Agricultura; Pesca y Desarrollo Rural (CAPDR). 2015. Boletín Final. Avance de la valoración de la campaña 2014/2015. Hortalizas protegidas. Almería. 36 pp.
- Domínguez, P. (IGME). 2013. Avance en el conocimiento de los acuíferos del Sur de Sierra de Gádor-Campo de Dalías, mediante los trabajos de la fase inicial del Programa de investigaciones de apoyo a su protección – regeneración. En: VI Seminario Técnico Agronómico Sostenibilidad de la agricultura intensiva en Almería. Fundación Cajamar – COEXPHAL, Almería, pp. 1-47.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Resultados obtenidos en los análisis microbiológicos

Fecha		07/07/2015		15/09/2015		09/11/2015		08/02/2016	
Muestreo		1		2		3		4	
Procedencia	Repetición	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	E. coli (UFC/100 ml)	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	E. coli (UFC/100 ml)	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	E. coli (UFC/100 ml)	Coliformes Totales (UFC/100 ml)	E. coli (UFC/100 ml)
Embalse de Beninar	R1	213	0	1150	1	1080	5	Incontables	0
	R2	258	0	1150	0	1110	4	Incontables	1
	R2	305	0	1644	0	1212	4	Incontables	0
	Media	259	0	1315	0	1134	4	Incontables	0
Balsa del Sapo	R1	487	0	1200	15	Incontables	430	Incontables	2
	R2	530	0	1200	7	Incontables	402	Incontables	3
	R2	556	0	1532	10	Incontables	452	Incontables	6
	Media	524	0	1311	11	Incontables	428	Incontables	4
Embalse de Rules	R1	29	2	954	3	708	9	104	0
	R2	17	0	1006	9	708	8	Incontables	0
	R2	15	0	1308	7	708	7	1912	0
	Media	20	1	1089	6	708	8	1008	0

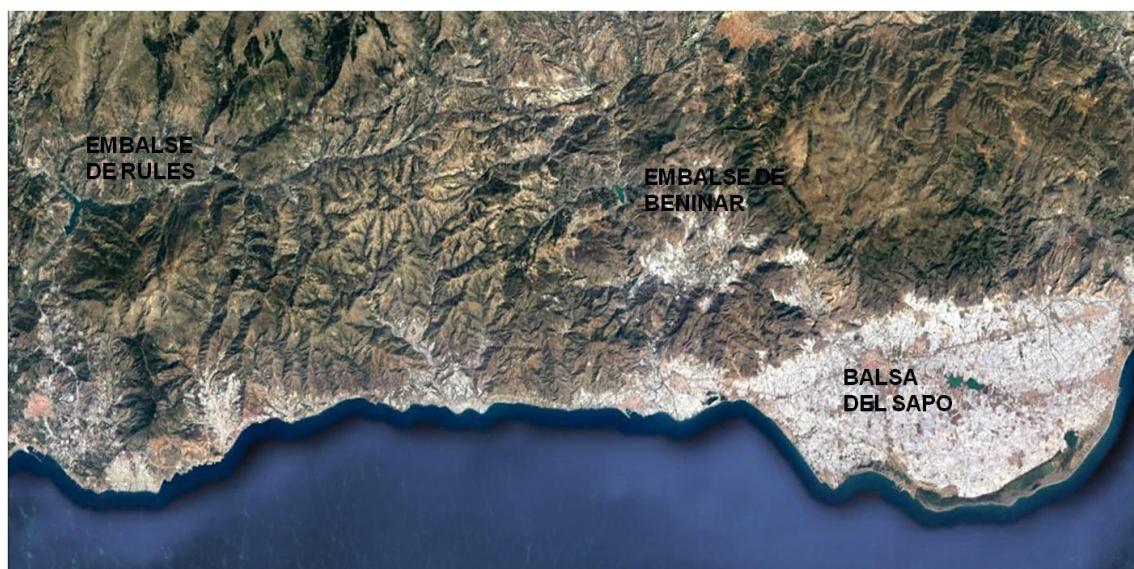


Figura 1- Localización de los diferentes puntos de muestreo



Figura 2- Botella empleada para la toma de muestras en profundidad.



Figura 3- Detalles del procedimiento analítico.

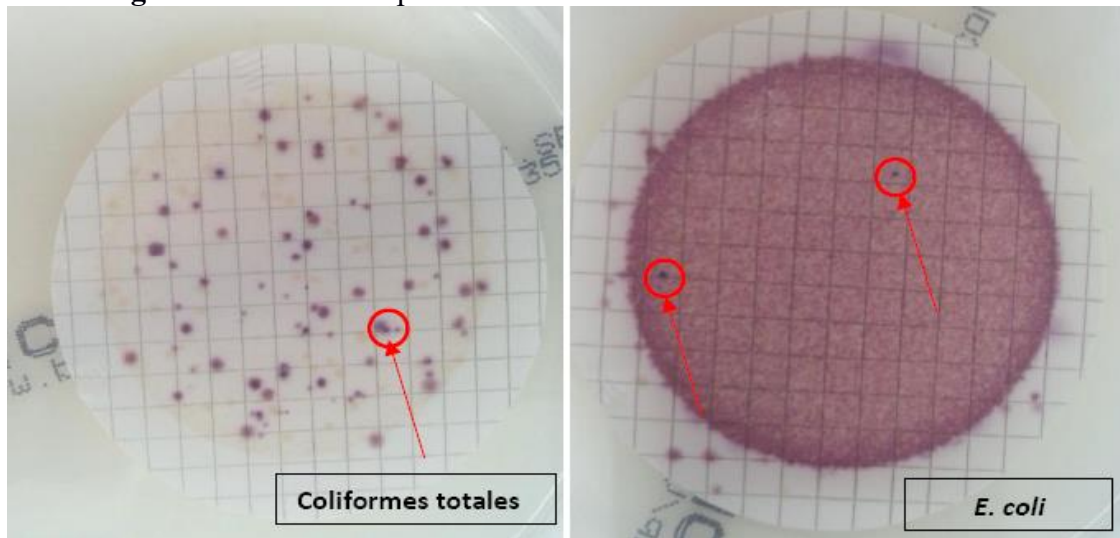


Figura 4- Detalle de las placas preparadas para el recuento de colonias.

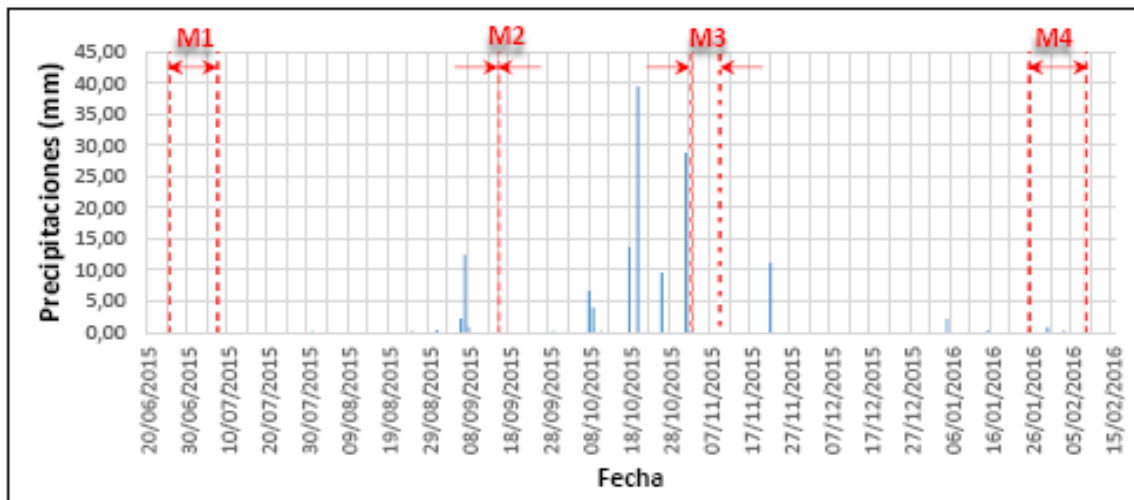


Figura 5- Evolución de las precipitaciones durante el periodo de muestreo

Sessão Temática: Consumidores e Modulação da
Qualidade Sensorial e Funcional

Differences in volatile profiles of skin, pericarp, and locular gel of tomato fruit

Tiago Vieira¹ & Domingos P.F. Almeida¹

¹Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, dalmeida@isa.ulisboa.pt

Abstract

The aroma of tomato is a determinant for consumer satisfaction. Histology and biochemistry of ripening differ in the placental tissue, pericarp and skin of the tomato fruit. Thus, different proportions of locule and pericarp should influence the aroma of the tomato. The objective of this study was to determine the differences in volatile aroma compounds in the skin, in the outer pericarp and locule of ripe tomato. Tomato (*Solanum lycopersicum* 'Valoasis', F1, Rijk Zwaan) fruit in the red stage were separated into skin, outer pericarp and locular gel without seeds. The volatiles were extracted by SPME, separated by gas chromatography and identified by mass spectrometry. A total of 48 volatile compounds relevant to the aroma were identified.

The proportion of skin mass, external pericarp and locule was 12%, 42% and 17%, respectively. A greater number of volatile compounds (32) were identified in the skin than in the pericarp (21) and the locular gel (20). In the skin alcohols predominated, with 7-octen-4-ol, 2-methyl-6-hepten-3-ol and 2,6-dimethyl-3-heptanol being the most prominent. In the pericarp and in the locule predominated the aldehydes [hexanal, 2-hexenal, 3,5-dimethylbenzaldehyde, (E)-2-octenal, (E, E)-2,4-decadienal, (Z)-2-heptenal and (E, E)-2,4-heptadienal]. The locular gel also had a high concentration of ketones, namely 6-methyl-5-heptene-2-one, 3-octanone and 4-octen-3-one, and eugenol, only detected in this tissue. In conclusion, the profile of volatile compounds is distinct in the skin, in the pericarp and in the locular gel of the tomato; fruit morphology and the histological and physiological specificities of the different parts influence the tomato aroma.

Keywords: Aldehydes, alcohols, aroma, ketones, *Solanum lycopersicum*.

Resumo

O aroma do tomate é um atributo determinante da satisfação do consumidor. A histologia e a bioquímica do amadurecimento são distintas no tecido placentário, no pericarpo e na pele do tomate. Assim, proporções diferentes de lóculo e de pericarpo devem influenciar o aroma do tomate. O objetivo deste estudo foi determinar as diferenças nos compostos voláteis do aroma na pele, no pericarpo exterior e no lóculo de tomate maduro. Frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* 'Valoasis', F1, Rijk Zwaan) no estado vermelho foram separados em pele, pericarpo exterior e gel locular sem sementes. Os compostos voláteis foram extraídos através de SPME, separados por cromatografia de gases e identificados por espectrometria de massas. Foram identificados um total de 48 compostos voláteis relevantes para o aroma.

A proporção da massa de pele, pericarpo externo e lóculo foi de 12%, 42% e 17%, respetivamente. Na pele foi identificado um maior número de compostos voláteis (32) do que no pericarpo (21) e no gel locular (20). Na pele predominaram os álcoois superiores, destacando-se o 7-octen-4-ol, o 2-metil-6-hepten-3-ol e o 2,6-dimetil-3-heptanol. No pericarpo e no lóculo predominaram os aldeídos [hexanal, 2-hexenal, 3,5-dimetilbenzaldeído, (E)-2-octenal, (E,E)-2,4-decadienal, (Z)-2-heptenal e (E,E)-2,4-

heptadienal]. O gel locular apresentou também uma concentração elevada de cetonas, nomeadamente, 6-metil-5-heptene-2-ona, 3-octanona e 4-octen-3-ona) e o eugenol, específico deste tecido. Em conclusão, o perfil de compostos voláteis é distinto na pele, no pericarpo e no lóculo do tomate; a morfologia do fruto e as especificidades histológicas e fisiológicas das diferentes partes influenciam o aroma do tomate.

Palavras-chave: Aldeídos, álcoois, aroma, cetonas, *Solanum lycopersicum*.

Introduction

Aroma, a complex mixture of volatile compounds, plays an important role in the perception and acceptability of tomato fruit by consumers. Characteristic tomato flavour results from taste components, aroma volatiles, the perception threshold of individual volatile compounds and interaction among them. Of the more than 400 volatile compounds identified in tomatoes, only a limited number are considered essential to the aromatic component of tomato flavour (Yilmaz, 2011).

Tomato fruit is composed of different parts, namely the skin, the pericarp, the locular gel, and the seeds; in the tomato pericarp the outer wall, septa, and columella, can be distinguished (figure 1). Histology and biochemistry of ripening are distinct in placental tissue, pericarp and skin in fruits (Chaffey, 2011), including tomato. Thus, different proportions of locule and pericarp should influence fruit aroma.

The volatile profiles of tomato have been characterized in whole fruit, or separately in the pericarp tissue and locular gel (Maul et al. 2000; Bai et al. 2011; Baldwin et al. 2011b; Wang et al., 2015a,b; Wang et al., 2016). However, information on the volatile profile in the skin is not well known. Maul and Sargent (1998) reported that ‘Solimar’ tomato pericarp (including columella) produced 219% more of 16 volatiles when compared to locular gel (442 and 203 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectively). The abundances of methanol, ethanol, 1-penten-3-one, (*E*)-3-hexanal, hexanal, (*Z*)-2-hexenal, (*Z*)-2-heptenal, (*E*)-3-hexenol, 6-methyl-5-hepten-2-one, and geranyl acetone were higher in pericarp, while the locular gel had higher levels of acetaldehyde, acetone, and β -ionone (Maul and Sargent, 1998). Recently, Wang et al. (2016) reported similar results with ‘FL 47’ and ‘Tasti-Lee’ tomato fruits. In fact, all cultivars analysed have higher concentration of total volatile compounds in the pericarp than in the locular gel. Pericarp tissue have higher levels of (*Z*)-3-hexenal, hexanal, heptanal, octanal, nonanal, cymene, terpinolene, undecane, dodecane, 2-phenylethanol, 6-methyl-5-hepten-2-one, 2-methylbutyl acetate, 1-nitropentane, and 1-nitro-2-phenylethane, while abundances of 2-methylpropanal, butanal, 2-methylbutanal, 2-methyl-propanol, 3-methylbutanol, and 2-butanone are more concentrated in the locular gel.

The objective of this study was to expand the characterization of aroma volatiles in tomato fruit, assessing the differences in volatile concentrations in the skin, the outer pericarp and locule in ripe tomato.

Material and Methods

Plant material. Unblemished tomato fruits (*Solanum lycopersicum* ‘Valoasis’, F1, Rijk Zwaan) at the light -red stage (Stage 5, 100% red coloration, USDA 1976) were washed, and randomly assigned to 3 biological replicates with 5 fruits per replicate. The fruit were divided into skin, outer pericarp and locular gel (without seeds), frozen in liquid nitrogen, homogenized over ice, and stored at -20 °C for volatile analyses.

Volatile analysis. Volatiles were extracted from the headspace by solid phase micro-extraction (HS-SPME), separated by gas chromatography and detected by mass spectrometry system (GC-MS), as described by Figueira et al. (2014) with some

modifications. Frozen tissue (10 g) was transferred to a 20 mL glass vial with 1.0 g of CaCl₂. The samples were incubated for 10 min at 40 °C and then the SPME fibre (50/30µm DBV/CAR/PDMS, Supelco, Bellefonte, PA, USA) was exposed to the headspace for 50 min at 40 °C. After exposure, the SPME fibre was inserted into the injector of a GC-MS (Trace 1300, Thermo Fisher Scientific, Waltham MA, USA) to desorb the extract for 5 min at 250 °C. The separation was done in a TG-WAXMS fused silica capillary column (60 m × 0.25 mm × 0.5 µm film thickness). Ultra-high purity helium was used as the carrier gas at a flow of 1.1 mL min⁻¹. Oven temperature conditions were 40 °C for 3 min, 2.0 °C min⁻¹ ramp until 80 °C, held for 2 min, 5 °C min⁻¹ ramp until 150 °C, held for 7 min, 40 °C min⁻¹ ramp until 220 °C, and then held isothermally at 220 °C for 7 min. Mass units were monitored from 35 to 300 m/z and ionized at 70 eV. Data acquisition was performed in scanning mode (mass range m/z = 35-300, 7 scans per second). Data were collected using the Thermo Xcalibur 3.1.66.10 mass spectrometry data system (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). All the volatiles were identified comparing their mass spectra with Mainlib and Willey library spectra. The internal standard used was 3-octanol (500 µL L⁻¹). The results expressed as the mean values of the 3 biological replicates.

Results and Discussion

The proportion of mass in skin, external pericarp and locule was 12%, 42% and 17%, respectively.

HS-SPME-GC-MS analysis of ‘Valoasis’ tomato fruit identified 48 volatile compounds belonging to 9 chemical classes, including 14 aldehydes, 10 alcohols, 8 aromatic hydrocarbons, 6 terpenes, 5 ketones, 2 esters, 1 sulphur, 1 hydrocarbon, and 1 furan (table 1). Aldehydes accounted for the largest percentage of the total volatile concentration, followed ketones and alcohols; these three compound classes constituted 92% of total compound volatile concentration (table 1). The compounds detected in ‘Valoasis’ tomato fruit are listed in table 1, along with their classification, odour descriptors and concentrations. C6-aldehydes, including hexanal and (*E*)-2-hexenal are among the most abundant volatiles in tomato fruit, imparting “green”, “grassy”, “tallow” of “leafy” flavour notes (table 1). (*E*)-2-Hexenal was the most abundant volatile, accounting more than 28% of the total volatiles in this tomato cultivar and is positively related with sweetness and ripe tomato sensory ratings (Maul *et al.*, 2000).

Fruit parts differed in their volatile profile. More volatile compounds (32) were identified in the skin than in the pericarp (21) and in the locular gel (20). Skin had the highest concentrations of the total volatile compounds detected (68%), follow by pericarp (24%) and locular gel (7%). On average, skin levels of terpenes, aldehydes, alcohols, ketones, and aromatic hydrocarbons were, respectively, 14, 9, 5, 3.41 and 3.37-fold higher than those in pericarp and locular gel (table 1).

The alcohols, with 2-methyl-6-hepten-3-ol, 2,6-dimethyl-3-heptanol, 7-octen-4-ol were the most abundant in the skin and present at higher concentration than in pericarp and locular gel; these volatiles are associated with “green”, “fat” or “malt” flavour descriptors. An important aromatic key alcohol, the (*Z*)-3-hexenol, with a high impact on human perception, was only detected in pericarp and locular gel; this volatile is associated with “green”, “grassy” and “fresh” descriptors, imparting a fresh and green character to tomato aroma. Terpenes, were also abundant in skin. Limonene, the most abundant terpene, contributes with a marked “citric” note to the overall flavour. Aromatic compounds despite their low concentrations were present in high numbers (table 1). The presence of isopentyl isopentanoate and 2-ethylhexyl esters was only observed in skin tissues; these compounds are perceived as “fruity” or “sweet” notes. The highest levels

of aldehydes in the overall volatiles can be explained by the presence of (*E*)-2-hexenal and 2,4-pentadienal in tomato skin. Ketones were the second group with the highest concentration of volatiles, which contribute “mushroom” or “earthy” notes to overall tomato flavour (table 1).

In the pericarp and in the locule, the number of aldehydes compounds identified was higher, with dominance of hexanal, 2-hexenal, 3,5-dimethylbenzaldehyde, (*E*)-2-octenal, (*E, E*)-2,4-decadienal, (*Z*)-2-heptenal, and (*E, E*)-2,4-heptadienal. The locular gel also had a high concentration of ketones, namely 6-methyl-5-heptene-2-one, 3-octanone and 4-octen-3-one. Eugenol was specific of the locular gel and not found in the pericarp or the skin. The predominant sulphur-containing volatile was 2-isobutylthiazole in pericarp and locular gel, and the 2-amylfuran was only detected in pericarp tissue (table 1). Of the more than 400 volatile compounds identified in tomato fruit, only a small number contribute to tomato aroma (Klee, 2010). A general consensus emerges in the literature around about 16 flavour-important volatiles (Buttery, 1993a, b; Tandom *et al.*, 2001; Klee, 2010). Nine of these 16 flavour-important volatiles were detected in this study, including (*Z*)-3-hexenol, hexanal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-2-heptenal, guaiacol, 1-octen-3-one, 6-methyl-5-heptene-2-one, geranyl acetone and 2-isobutylthiazole (Table 1). These volatiles can be classified in two groups based on their precursors and biosynthetic pathways (Klee 2010; Rambla *et al.*, 2014): (*Z*)-3-hexenol, hexanal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-2-heptenal and 1-octen-3-one derive from fatty acid; 6-methyl-5-heptene-2-one and geranyl acetone are synthesized from carotenoids. The precise biosynthetic pathways for isobutylthiazole and guaiacol are not established (Akhtar & Pichersky, 2013; Zhang *et al.*, 2015). In addition to the 9 flavour-important volatiles identified, abundance of (*E*)-2-hexenal, geranyl acetone and 6-methyl-5-heptene-2-one was measured in skin tissue, while pericarp had higher concentrations of hexanal, guaiacol and 2-isobutylthiazole, and the locular gel high levels of (*Z*)-3-hexenol. These results show that each anatomical part of the tomato fruit has a distinct profile of volatile compounds. C6-aldehydes are synthesized from C18 fatty acids, linoleic acid and linolenic acid, which are peroxidised by lipoxygenase to produce 13-hydroperoxides (13-HPOs). 13-HPOs are subsequently cleaved by 13-hydroperoxide lyase (13-HPL), releasing C6-aldehydes, hexanal and (*E*)-2-hexenal. HPL is a key enzyme for C6-aldehydes synthesis in tomato fruit (Wang *et al.*, 2015c). The abundances of (*E*)-2-hexenal and hexanal were higher in tomato skin and pericarp, respectively, than those in locular gel, hinting at possible differences in the metabolism related to these pathways. Apocarotenoid volatiles are among the most important contributors to tomato aroma (Klee, 2010). Two apocarotenoid volatiles were identified in this study, geranyl acetone and 6-methyl-5-heptene-2-one, which are characterized as “sweet”, “fruity” or “floral” (table 1). They are synthesized from carotenoid oxidative cleavage by the action of carotenoid cleavage dioxygenases (Klee, 2010) and their production is strongly correlated with the levels of their precursor carotenoids (Lewinsohn *et al.*, 2005). 6-methyl-5-heptene-2-one results from lycopene, while ζ -carotene is the direct precursor of geranyl acetone (Lewinsohn *et al.*, 2005; Klee, 2010). Thus, higher abundance of 6-methyl-5-heptene-2-one in skin is likely related to higher lycopene content in these tissues. The concentrations of geranyl acetone and 6-methyl-5-heptene-2-one were higher in pericarp than in the locular gel (table 1), as reported for ‘Solimar’ tomato (Maul and Sargent, 1998).

Conclusions

Major differences exist in the aroma volatile profile of different anatomical parts of 'Valoasis' tomato fruit. The skin had higher abundance of volatile compounds than the pericarp and the locular gel. Eugenol was detected only in the locular tissue. The fruit morphology and the histological and physiological specificities of the different parts influence the tomato aroma.

Acknowledgements

This work was partially funded by the PhD scholarship granted to Tiago Vieira by University of Lisbon (2015).

References

- Buttery, R.G. and L.C. Ling. (1993a). Enzymatic production of volatiles in tomatoes, p.137–146. In: P. Schreier and P. Winterhalter (eds.). Flavor precursors. Allured Publ., Wheaton, Ill.
- Buttery, R.G. and L.C. Ling. (1993b). Volatiles of tomato fruit and plant parts: Relationship and biogenesis, p. 23–34. R. Teranishi, R. Buttery, and H. Sugisawa (eds.). Bioactive volatile compounds from plants. ACS Books, Washington, D.C
- Maul, F., Sargent, S.A. (1998). Aroma volatile profiles from ripe tomatoes are influence by physiological maturity at harvest: An application for electronic nose technology. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123:1094-1101.
- Maul, F., Sargent, S.A., Sims, C., Baldwin, E., Balaban, M., Huber, D. (2000). Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. *Journal of Food Science* 65:1228-1237.
- Tandon, K.S., Jordan, M., Goodner, K.L., Baldwin, E.A. (2001). Characterization of fresh tomato aroma volatiles using GC-olfactometry. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 114:142–4
- Klee, HJ. 2010. Improving the flavor of fresh fruits: genomics, biochemistry and biotechnology. *New Phytologist* 187:44-56.
- Yilmaz, E. (2001) The chemistry of fresh tomato flavour. *Turkish Journal of Agriculture* 25:149–155.
- Bai, J.H., Baldwin, E.A., Imahori, Y., Kostenyuk, I., Burns, J., Brecht, J.K. (2011). Chilling and heating may regulate C6 volatile aroma production by different mechanisms in tomato (*Solanum lycopersium*) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 60:11-120.
- Baldwin, E.A., Plotto, A., Narciso, J., Bai, J.H. (2011b). Effect of 1-methylcyclopropene on tomato flavour components, shelf life and decay as influence by harvest maturity and storage temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:969-980.
- Chaffey, N. (2011). An introduction to plant structure and development. *Plant anatomy for the Twenty-first Century. Annals of Botany* 108: vi–vii.
- Akhtar, T. A., & Pichersky, E. (2013). Veratrole Biosynthesis in White Campion. *Plant Physiology* 162(1): 52–62.
- Figueira, J., Câmara, H., Pereira, J., Câmara, J.S. (2014). Evaluation of volatile metabolites as markers in *Lycopersicon esculentum* L. cultivars discrimination by multivariate analysis of headspace solid phase microextraction and mass spectrometry data. *Food chemistry* 145:653-663.
- Rambla, J.L., Tikunov, Y.M., Monforte, A.J., Bovy, A., Granell, A. (2014). The expanded tomato fruit volatile landscape. *Journal of Experimental Botany* 65:4613–4623.

- Wang, L.B., Baldwin, E.A., Plotto, A., Luo, W.Q., Raithore, S., Yu, Z.F., Bai, J.H. (2015a). Effect of methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment on the volatile profile in tomato fruit subjected to chilling temperature. *Postharvest Biology and Tecnology* 108:28-38.
- Wang, L.B., Baldwin, E.A., Yu, Z.F., Bai, J.H. (2015b). The impact of kitchen and food service preparation practices on the volatile aroma profile in ripe tomatoes: Effects of refrigeration and blanching. *Hortscience* 50, 1350-1364.
- Wang, L.B., Baldwin, E.A., Zhao, W., Plotto, A., Sun, X.X., Wang, Z., Brecht, J.K., Bai, J.H., Yu, Z.F. (2015c). Suppression of volatile production in tomato fruit exposed to chilling temperature and alleviation of chilling injury by a pre-chilling heat treatment. *LWT-Food Science and Technology* 62:115-121.
- Zhang, J., Zhao, J., Xu, Y., Liang, J., Chang, P., Yan, F., Li, M., Liang, Y. & Zou, Z. (2015). Genome-Wide Association Mapping for Tomato Volatiles Positively Contributing to Tomato Flavor. *Frontiers in Plant Science* 6:1042.
- Wang, L.B., Bai, J.H., Yu, Z.F. (2016). Difference in volatile profile between pericarp tissue and locular gel in tomato fruit 15: 2911-2920.

Tables and Figures

Table 1 – Concentrations of volatile compounds in the skin, pericarp and locular gel of ripe ‘Valoasis’ tomato fruits.

Volatile compound	Odour descriptors ⁽²⁾	Concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)		
		Skin	Pericarp	Locule
<i>Alcohols</i>				
3-Octyl acetate	Green, minty, citrus, fat	4.81	0.47	-
2-Octanol	Green, spicy, fresh, woody	1.73	-	-
2,6-Dimethyl-3-heptanol	Malt	17.84	-	-
5,9-Dimethyl-1-decanol	Floral, orange, fat, sweet	2.43		
1-Hexanol	Green, fruity, sweet	-	5.33	3.54
(Z)-3-Hexenol ⁽¹⁾	Green, grassy, fresh	-	2.67	7.14
(Z)-4-Hexen-1-ol	Green, herbal, musty, tomato	4.35	-	-
2-methyl-6-hepten-3-ol	Green, citrus	17.71	-	-
1-Heptanol	Green, herbal, sweet, musty	3.67	-	-
2-Ethyl-1-hexanol	Citrus, fresh, floral, sweet	2.39	1.89	
<i>Aldehydes</i>				
Pentanal	Malt, fruity, nutty, berry	-	3.70	0.45
(E)-2-Butenal	Pungent, green	-	-	0.81
2,4 Pentadienal	Fruity	214.64	-	0.06
Hexanal ⁽¹⁾	Grass, tallow, fat	-	68.92	6.00
4-Pentenal	Roasted	-	-	0.30
(E)-2-Hexenal ⁽¹⁾	Green, leafy	222.47	46.72	11.24
3-hydroxybutanal	Green, fresh	-	0.80	-
(Z)-2-Heptenal ⁽¹⁾	Fat, citrus, rancid	9.80	4.41	1.09
2-Methylpropanal	Pungent, malt, green	0.15	-	-
3-Nonanone	Fresh, sweet, floral, spicy	11.49	-	-
(E)-2-Octenal	Fat, soap, lemon, green	9.02	15.88	-
(E,E)-2,4-Heptadienal	Fat, green	-	2.20	-
(E,E)-2,4-Decadienal	Cucumber, melon, citrus, fat	-	8.77	1.94
3,5-dimethylbenzaldehyde	Almond, burn sugar	-	12.59	11.31
<i>Hydrocarbons</i>				
Tetradecane	Alkane	2.83	-	-
<i>Aromatic hydrocarbons</i>				
5-methylundecane	Alkane	3.32	-	-
2,3-Dimethyldecane	Alkane	3.57	-	-
3-Methylundecane	Alkane	4.74	-	-
Geranyl vinyl ether	Ethereal, sweet	1.09	-	-
α -pinene	Pine, turpentine	0.61	-	-
o-Cymene	Solvent, gasoline, citrus	1.19	-	-
Guaiacol ⁽¹⁾	Wood smoke	-	4.30	-
Eugenol	Sweet, spicy, clove, woody	-	-	4.32
<i>Esters</i>				
Isopentyl isopentanoate	Sweet, fruity, green, apple	5.58	-	-
2-ethylhexyl ester	Fruity	2.83	-	-
<i>Furan</i>				
2-Amylfuran	Fruity, green, earthy, beany	-	2.64	-

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Volatile compound	Odour descriptors ⁽²⁾	Concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)		
		Skin	Pericarp	Locule
<i>Ketones</i>				
3-Octanone	Mushroom, earthy	29.07	4.07	1.15
1-Octen-3-one ⁽¹⁾	Herbal, mushroom, earthy	1.52	-	-
4-Octen-3-one	Coconut, fruity	-	-	0,31
6-Methyl-5-heptene-2-one ⁽¹⁾	Fruity, floral	32.36	27.80	14.76
Geranyl acetone ⁽¹⁾	Fresh, leaf, floral, green	43.19	21.60	5.69
<i>Sulfur</i>				
2-Isobutylthiazole ⁽¹⁾	Tomato, leafy, green	-	4.18	3.01
<i>Terpenes</i>				
Limonene	Lemon, orange	17,01	0.001	0.08
1,8-Cineole	Minty, fresh, herbal	1.96	-	-
α -Ocimene	Fruity, floral, wet cloth	3.07	-	-
Isomenthone	Minty, fresh, sweet	5.12	-	-
Linalool	Citrus, floral, waxy, rose	-	-	0,48
α -citral	Citrus	6.45	4.25	1.21
<i>Sum</i>				
Alcohols		76.27	10,36	10.68
Aldehydes		467.56	163.99	33.21
Hydrocarbons		2.83	0.00	0.00
Aromatic hydrocarbons		14.53	4.30	4.32
Esters		8.41	0.00	0.00
Furan		0.00	2.64	0.00
Ketones		106.14	53.47	21.91
Sulphur		0.00	4.18	3.01
Terpenes		33.61	4.25	1.76
Total concentration		709.36	243.19	74.88
Number of compounds		33	21	20

⁽¹⁾ Key tomato aromatic volatile compounds recommended by Buttery (1993), Tandon *et al.* (2001), and Klee (2010). ⁽²⁾ Odour descriptors adapted from www.thegoodscentscompany.com; Data are the mean of 3 biological replicates.

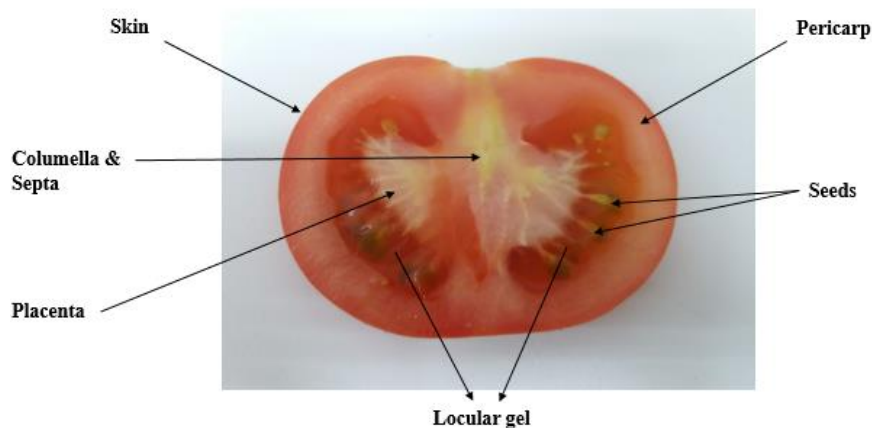


Figure 1 – Cross-section of a tomato fruit showing the skin, outer pericarp, pericarp columella and septa, locular gel, and seeds.

Estudio de compuestos antioxidantes en distintas especies del género *Capsicum*

L. Mestre¹, O. Fayos¹, M.A. Moreno², P. Mignard², C. Mallor¹ y A. Garcés-Claver¹

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Departamento de Hortofruticultura. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza, España, lmestre@aragon.es, ofayos@cita-aragon.es, cmallor@aragon.es, agarces@cita-aragon.es

²Estación Experimental de Aula Dei (CSIC). Dpto. de Pomología, Apdo. 13034, 50080 Zaragoza, España, mmoreno@eead.csic.es, pmignard@eead.csic.es

Resumen

El pimiento pertenece a la familia de las Solanáceas y género *Capsicum*. Existe un gran interés en cuanto al consumo de sus frutos, ya que estos se consideran una rica fuente de compuestos antioxidantes. Estos compuestos tienen cada vez mayor interés ya que juegan un papel importante en la prevención de enfermedades como el cáncer, la anemia, la diabetes o de tipo cardiovascular, entre otras. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el contenido de vitamina C, flavonoides, fenoles totales y de compuestos antioxidantes (RAC) en 69 entradas de pimiento pertenecientes a distintas especies del género *Capsicum*. El análisis estadístico (ANOVA) permitió detectar diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para los contenidos de dichos compuestos entre variedades. Estos estudios son de gran importancia en los trabajos de mejora y selección para aumentar los contenidos de estos compuestos en las nuevas variedades.

Palabras-clave: fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante (RAC), vitamina C.

Abstract

Peppers belong to Solanaceae family and the genus of *Capsicum*. Pepper is an important vegetable crop due to the consumption of its fruits. They have a nutritional value, because they are rich on wide contents of antioxidants. These compounds have an important role for prevention cardiovascular diseases, cancer, anemia and diabetes. The objective of this study was to analyze the content of vitamin C, total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant capacity of 69 accessions belong to several species of *Capsicum*. The data were subjected to analyze of variance (ANOVA) and it allowed detecting significant differences ($p \leq 0.05$) between varieties. The results can be of great interest for breeders to obtain new cultivars with fruits enriched in health-related compounds.

Keywords: total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity (RAC), vitamin C.

Introducción

El pimiento (*Capsicum spp.*), originario del continente americano (Bosland y Votava, 2012), era conocido y ampliamente consumido antes del establecimiento de la agricultura, alrededor del año 7000 a.C. (Pickersgill, 1969). Actualmente, es un fruto ampliamente utilizado en la gastronomía mundial y es consumido como un alimento en fresco, procesado o como especia. La especie *C. annum* es la más cultivada y la de mayor importancia económica. Esta especie junto con *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. chinense* y *C. pubescens* integran el conjunto de especies domesticadas y utilizadas por el hombre para su consumo.

Los pimientos destacan por su amplia variabilidad en cuanto a tamaño, forma y color de sus frutos (Nuez et al., 1996). Esta variabilidad también se refleja en el contenido de compuestos antioxidantes como la vitamina C, los fenoles, los flavonoides y los compuestos responsables de la capacidad antioxidante (RAC). Los fenoles, especialmente los ácidos fenólicos y los flavonoides, son compuestos metabólicos secundarios que tienen un papel fundamental en la capacidad antioxidante. Estos pueden neutralizar radicales libres y modular la actividad de las enzimas que están involucradas en los procesos de desintoxicación, oxidación y reducción. Además, pueden fortalecer el sistema inmunológico mediante la regulación de la expresión génica, la señalización celular y el metabolismo hormonal e influir en la proliferación celular y la apoptosis (Finco et al., 2012). El ácido ascórbico, o vitamina C, es considerado un compuesto que tiene un papel importante en el sistema inmunológico además de estar involucrado en la prevención de enfermedades comunes degenerativas como por ejemplo el cáncer, enfermedades cardiovasculares y cataratas (Howard et al., 2000).

Dado que el consumo medio semanal de pimiento en España es de aproximadamente 0.08 kg/hab, siendo la tercera hortaliza más consumida después del tomate y la cebolla (www.juntadeandalucia.es), el pimiento podría ser fácilmente utilizado como fuente de compuestos antioxidantes a través de la dieta. Sin embargo, el contenido de compuestos antioxidantes varía ampliamente según la variedad de pimiento (Perla et al., 2016). En este trabajo se han cuantificado los contenidos de flavonoides, fenoles, vitamina C y la capacidad antioxidante (RAC) de una amplia colección de entradas de pimiento pertenecientes a distintas especies de *Capsicum*. La evaluación de estos compuestos en la mayor diversidad posible de variedades es esencial para la selección de entradas útiles en futuros programas de mejora en pimiento.

Material y Métodos

Se han analizado 69 entradas de pimiento pertenecen al Banco de Germoplasma de Hortícolas del CITA (Zaragoza) (Tabla 1). Todas ellas pertenecientes a las cinco especies domesticadas (30 entradas a *C. annuum*, 13 a *C. chinense*, 9 a *C. baccatum*, 5 a *C. frutescens* y 2 a *C. pubescens*) y a algunas especies silvestres (7 entradas a *C. chacoense* y una entrada de cada una de las especies *C. cardenasii*, *C. galapagoense* y *C. eximium*). Las plantas fueron cultivadas en macetas en condiciones controladas de temperatura en un invernadero de las instalaciones del CITA. Se cultivaron tres plantas por entrada y los frutos de una misma planta fueron agrupados en su recolección para integrar la variabilidad que pudiera suceder en cada planta. Los frutos fueron recolectados en estado maduro y posteriormente liofilizados en frío y molidos. Las muestras obtenidas fueron mantenidas a -20°C y en oscuridad hasta la realización de los análisis. Para la extracción de los compuestos se pesaron 10 mg de muestra seca en una balanza analítica (AB104-5 Mettler Toledo). En el caso de la vitamina C la extracción se realizó con ácido metafosfórico al 5%, mientras que para los demás compuestos se realizó con metanol al 80%. En ambos casos, se homogenizó a 4°C a 15000 rpm durante 30 min en una centrifuga. Las determinaciones de la capacidad antioxidante, flavonoides, fenoles totales y vitamina C se realizaron por espectrofotometría según los protocolos descritos por Font i Forcada et al. (2014) y Reig et al. (2016) con algunas modificaciones, a unas longitudes de onda de 515 nm, 510 nm, 725 nm y 525 nm, respectivamente. Para todas las determinaciones se realizaron sus respectivas curvas de calibrado según el compuesto analizado. Se analizó por duplicado el conjunto de frutos procedentes de una planta y tres plantas por entrada. Los datos obtenidos para cada compuesto fueron analizados mediante un Análisis de Varianza (ANOVA). Se evaluó también la correlación lineal entre los

distintos compuestos, mediante el coeficiente de correlación de Pearson ($p \leq 0,01$). El programa estadístico utilizado fue SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados y Discusión

Para todos los compuestos analizados se ha observado una gran variabilidad y diferencias estadísticamente significativas entre las entradas estudiadas. Los contenidos de vitamina C estuvieron comprendidos entre los 1471,6 mg/100 g de peso seco de la entrada C-341 (*C. annuum*) hasta los 27,1 mg/100 g de la entrada C-153 (*C. chacoense*) (Figura 1), variando dentro de los esperados para pimiento (Perla et al., 2016). Los contenidos de vitamina C obtenidos en este trabajo confirman que el pimiento representa un rica fuente de esta vitamina, superando al kiwi, al brócoli o a la naranja (Kantar et al., 2016). En relación a los flavonoides, los mayores contenidos se encontraron en las entradas C-306 (*C. cardenasii*) y C-449 (*C. chinense*) con 439,4 y 426,8 mg/100 g de peso seco respectivamente (Figura 2). Esta última entrada, la C-449, también presentó el mayor contenido en fenoles totales con 1771,9 mg/100 g de peso seco (Figura 3) y capacidad antioxidante con 1161,7 mg/100 g de peso seco (Figura 4).

En cuanto a la naturaleza de la relación entre los distintos antioxidantes, los contenidos de fenoles totales y RAC mostraron la correlación positiva más fuerte ($r=0,742$; $p \leq 0,01$) en comparación a las obtenidas para RAC y vitamina C ($r=0,662$), flavonoides y fenoles totales ($r=0,492$), fenoles totales y vitamina C ($r=0,402$) y flavonoides y RAC ($r=0,207$). Valores similares de correlación entre fenoles totales y RAC también fueron obtenidos por Carvalho et al. (2015), que evaluaron distintos compuestos bioactivos en ocho genotipos de *Capsicum* y sugirieron que los compuestos fenólicos podrían ser los principales responsables de la capacidad antioxidante en el pimiento. Por otro lado, cabe destacar que los contenidos de vitamina C y flavonoides ($r=-0,215$) presentaron una correlación negativa.

Los resultados obtenidos permiten concluir que se dispone de entradas de pimiento con altos contenidos en compuestos antioxidantes, las cuales pueden ser utilizadas en programas de mejora para el desarrollo de variedades con un valor añadido en salud.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto INIA-FEDER (RTA2015-00118-C02-01), Gobierno de Aragón (Grupos de Investigación A16 y A44). L. Mestre agradece su financiación a la acción PEJ-2014-A-42551 (Ministerio de Economía y Competitividad). Se agradece al Dr. J. Abadía por la utilización del equipo de espectrofotometría y a la Dra. M.P. Vallés por el equipo de centrifugación.

Referencias

- Bosland, P.W. & Votava, E.J. 2012. Peppers: vegetable and spice capsicums (Volume 22 of Crop production science in horticulture). CABI publishing, London, UK, 230 pp.
- Carvalho, A.V., de Andrade Mattietto, R. & de Oliveira Rios, A. 2015. Journal of Food Science and Technology 52: 7457.
- Abadio-Finco, F.D., Kammerer, D.R., Carle, R., Tseng W.H., Böser, S. & Graeve, L. 2012. Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) fruit by HPLC-DAD-MS. Journal of Food Chemistry. 60:7665–7673.
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y. & Moreno, M.A. 2014. Agronomical parameters, sugar profile and antioxidant compounds of 'Catherine' peach cultivar influenced by different plum rootstocks. International Journal of Molecular Sciences 15 (2): 2237-2254.

- Howard, L.R., Talcott, S.T., Brenes, C.H. & Villalon B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* spp.) as influenced by maturity. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 48:1713–1720.
- Kantar, M.B., Anderson, J.E., Lucht, SA., Mercer, K., Bernau, V. & Case, KA. 2016. Vitamin variation in *Capsicum* Spp. provides opportunities to improve nutritional value of human diets. *PLoS ONE* 11(8): e0161464.
- Nuez, F., Gil, R. & Costa, J. 1996. *El cultivo de pimientos, chiles y ajies*. Ed. Mundi Prensa, Madrid, 586 pp.
- Pickersgill, B. 1969. The domestication of chili peppers. En: *The domestication and exploitation of plants and animals*. Eds. P.J. Ucko and G.W. Dimbleby. Duckworth, London University Press, pp. 443-450.
- Reig, G., Mestre, L., Betrán, J.A., Pinochet, J. & Moreno, M.A. 2016. Agronomic and physicochemical fruit properties of ‘Big Top’ nectarine budded on peach and plum based rootstocks in Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae* 210:85-92.
- Perla, V., Nimmakayala, P., Nadimi, M., Alaparathi, S., Hankins, G.R., Ebert, A.W. & Reddy, U.K. 2016. Vitamin C and reducing sugars in the world collection of *Capsicum baccatum* L. genotypes. *Food Chemistry* 202:189-198.

Tablas y Figuras

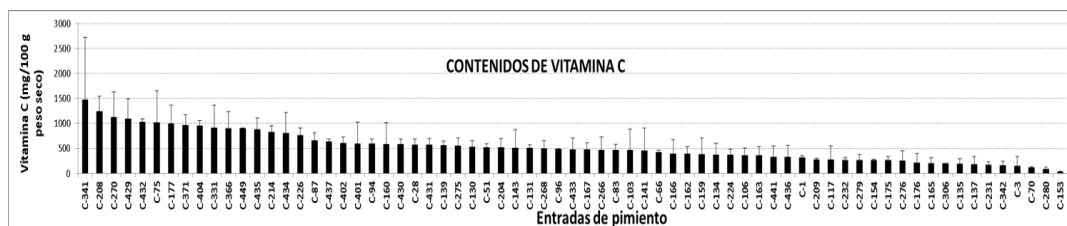


Figura 1- Contenido de vitamina C de las entradas de pimiento analizadas.

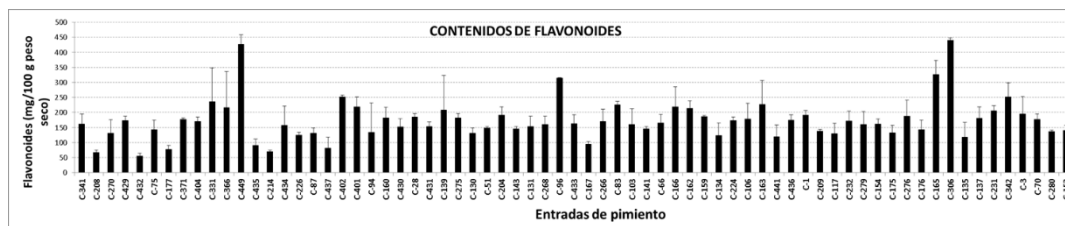


Figura 2- Contenido de flavonoides de las entradas de pimiento analizadas.

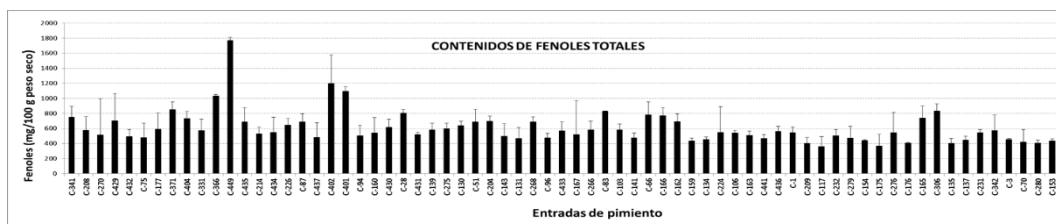


Figura 3- Contenido de fenoles totales de las entradas de pimiento analizadas.

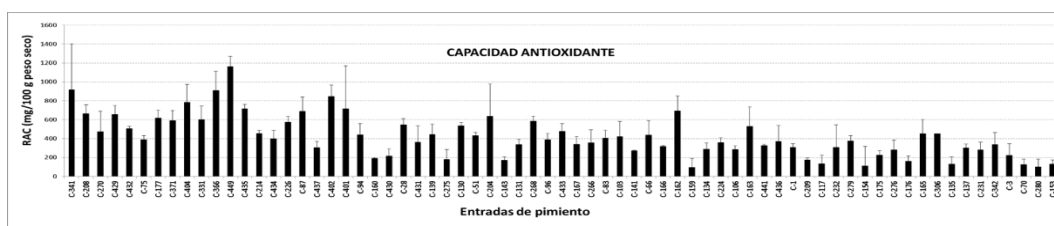


Figura 4. Capacidad antioxidante de las entradas de pimiento analizadas.

Tabla 1- Entradas de pimiento procedentes del BGHZ (CITA, Zaragoza).

Entrada	Especie	Entrada	Especie	Entrada	Especie
C-1	<i>C. annuum</i>	C-431	<i>C. annuum</i>	C-275	<i>C. chinense</i>
C-3	<i>C. annuum</i>	C-432	<i>C. annuum</i>	C-276	<i>C. chinense</i>
C-51	<i>C. annuum</i>	C-433	<i>C. annuum</i>	C-366	<i>C. chinense</i>
C-66	<i>C. annuum</i>	C-434	<i>C. annuum</i>	C-371	<i>C. chinense</i>
C-75	<i>C. annuum</i>	C-435	<i>C. annuum</i>	C-401	<i>C. chinense</i>
C-87	<i>C. annuum</i>	C-436	<i>C. annuum</i>	C-402	<i>C. chinense</i>
C-94	<i>C. annuum</i>	C-437	<i>C. annuum</i>	C-404	<i>C. chinense</i>
C-96	<i>C. annuum</i>	C-70	<i>C. baccatum</i>	C-449	<i>C. chinense</i>
C-106	<i>C. annuum</i>	C-117	<i>C. baccatum</i>	C-103	<i>C. frutescens</i>
C-141	<i>C. annuum</i>	C-130	<i>C. baccatum</i>	C-162	<i>C. frutescens</i>
C-160	<i>C. annuum</i>	C-131	<i>C. baccatum</i>	C-163	<i>C. frutescens</i>
C-204	<i>C. annuum</i>	C-134	<i>C. baccatum</i>	C-165	<i>C. frutescens</i>
C-208	<i>C. annuum</i>	C-135	<i>C. baccatum</i>	C-166	<i>C. frutescens</i>
C-214	<i>C. annuum</i>	C-137	<i>C. baccatum</i>	C-153	<i>C. chacoense</i>
C-224	<i>C. annuum</i>	C-209	<i>C. baccatum</i>	C-154	<i>C. chacoense</i>
C-226	<i>C. annuum</i>	C-232	<i>C. baccatum</i>	C-175	<i>C. chacoense</i>
C-266	<i>C. annuum</i>	C-139	<i>C. pubescens</i>	C-176	<i>C. chacoense</i>
C-268	<i>C. annuum</i>	C-342	<i>C. pubescens</i>	C-279	<i>C. chacoense</i>
C-270	<i>C. annuum</i>	C-28	<i>C. chinense</i>	C-280	<i>C. chacoense</i>
C-331	<i>C. annuum</i>	C-83	<i>C. chinense</i>	C-441	<i>C. chacoense</i>
C-341	<i>C. annuum</i>	C-143	<i>C. chinense</i>	C-306	<i>C. cardenasii</i>
C-429	<i>C. annuum</i>	C-159	<i>C. chinense</i>	C-167	<i>C. galapagoense</i>
C-430	<i>C. annuum</i>	C-231	<i>C. chinense</i>	C-177	<i>C. eximium</i>

Antioxidantes y calidad del fruto de variedades de manzana del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC

Pierre Mignard¹, Gemma Reig¹, Carolina Font i Forcada¹ & María Ángeles Moreno¹

¹Dpto. Pomología, Estación Experimental de Aula Dei-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda. Montañana 1005, E-50059 Zaragoza, España. pmignard@eead.csic.es, greig@eead.csic.es, cfont@eead.csic.es, mmoreno@eead.csic.es

Resumen

La manzana (*Malus x domestica* Borkh) es una de las frutas más consumidas en el mundo. Los compuestos antioxidantes, conocidos por sus beneficios sobre la salud son cada vez más estudiados en los productos hortofrutícolas. En este trabajo se han estudiado 18 variedades con distintas características procedentes del Banco de Germoplasma de manzano de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC (Aragón, Zaragoza). Se clasificaron en grupos en función del color de su piel (6 rojas o bicolor, 6 verdes y 6 amarillas) y de su origen (autóctonas y extranjeras). Se cosecharon los frutos durante tres años consecutivos (2014, 2015 y 2016) y se determinaron tanto parámetros básicos de calidad de fruto: color, contenido de sólidos solubles (SS), acidez (AT), índice de madurez (IM), como de compuestos antioxidantes: fenoles totales, flavonoides, vitamina C y capacidad antioxidante (RAC). El análisis estadístico de los resultados (ANOVA) mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre variedades para todos los parámetros estudiados y según los grupos de variedades antes definidos. Se observó también la influencia del año de cosecha en los valores obtenidos. Además, se encontraron correlaciones significativas y positivas ($p \leq 0,01$) entre RAC y fenoles totales ($r=0,720$), RAC y flavonoides ($r=0,605$), RAC y vitamina C ($r=0,219$) y fenoles y flavonoides ($r=0,464$). También se observaron correlaciones significativas positivas ($p \leq 0,01$) entre la acidez (AT) y los compuestos antioxidantes: fenoles totales ($r=0,583$), flavonoides ($r=0,683$) y RAC ($r=0,490$). Entre las variedades estudiadas destacó especialmente la variedad autóctona ‘Camuesa Fina de Aragón’, por mostrar los valores más altos en flavonoides, fenoles totales y RAC. Este trabajo demuestra la importancia de determinar el contenido en compuestos antioxidantes en las diferentes variedades, así como el interés de las variedades autóctonas para su uso en futuros programas de mejora.

Palabras claves: fenoles, flavonoides, *Malus sp.*, RAC, vitamina C.

Abstract

Apple (*Malus x domestica* Borkh) is one of the most consumed fruit in the world. The antioxidant compounds, known for their health benefits, are increasingly being studied in the horticultural products. In this study, 18 accessions with different characteristics from the Apple Germplasm collection at the Experimental Station of Aula Dei-CSIC (Aragón, Zaragoza) were evaluated. They were classified in groups according to the skin color (6 red or bicolor, 6 green and 6 yellow) and the origin (local or foreign). They were harvested over three consecutive years (2014, 2015 and 2016) and fruit quality traits: color, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), ripening index (RI), as well as antioxidant compounds: total phenols content, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity (RAC), were evaluated. The statistical analysis (ANOVA) showed significant differences ($p \leq 0,05$) among accessions for all traits evaluated and according to the different groups above mentioned. A year effect was also observed on the values

obtained. In addition, significant and positive correlations ($p \leq 0,01$) between RAC and total phenols content ($r=0,720$), RAC and flavonoids ($r=0,605$), RAC and vitamin C ($r=0,219$) and total phenol content and flavonoids ($r=0,464$) were found. Also, significant positive correlations between titratable acidity (TA) and antioxidant compounds were found: total phenol content ($r=0,583$), flavonoids ($r=0,683$) and RAC ($r=0,490$). Among the accessions studied, the local accession 'Camuesa Fina de Aragón' highlighted to have the highest flavonoid, total phenol content and RAC values. This work shows the importance of evaluating the antioxidant compounds in different accessions, as well as the interest of using local accessions in future breeding programs.

Keywords: phenols, flavonoids, *Malus sp.*, RAC, vitamin C.

Introducción

El manzano (*Malus x domestica* Borkh) es uno de los frutales más cultivados en el mundo. Actualmente existen más de 7000 variedades conocidas. Entre ellas están las comerciales y mundialmente conocidas como las del grupo 'Fuji', 'Gala', 'Golden', 'Granny Smith', y 'Red Delicious', entre otras, así como las autóctonas de los países productores de manzano.

La manzana es una de las principales fuentes de sustancias biológicas activas beneficiosas para la salud de los consumidores, como pectinas, fibra, vitaminas, oligosacáridos y sobre todo compuestos fenólicos (Lee et al., 2003; Raudone et al., 2017), ya que es uno de los frutos más consumidos en el mundo y está disponible todo el año en el mercado. Una reducción del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, inflamatorias, microbianas y cancerígenas también ha sido atribuida al consumo de manzana, principalmente debido a la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos (Raudone et al., 2017).

En España, como en otros países productores, los agricultores basan la producción de manzano en variedades no autóctonas, principalmente las del grupo 'Golden', 'Gala', 'Red Delicious', y 'Fuji', debido a su alta y rápida entrada en producción. Como consecuencia, las variedades autóctonas, mejor adaptadas a las zonas de origen, en cuanto a resistencia a plagas y enfermedades y calidad de fruto, han ido desapareciendo o han sido conservadas en bancos de germoplasma para evitar su extinción. Los bancos de germoplasma son una valiosa fuente de diversidad genética que hay que preservar para proveer de comida a la raza humana, ya que esta diversidad genética es necesaria para mejorar los cultivos actuales debido a factores relacionados con el cambio climático y/o plagas y enfermedades (Reig et al., 2015).

Diversos estudios han descrito y estudiado los compuestos fenólicos, tanto de la pulpa del fruto como de la piel, de algunas variedades de manzano cultivadas en distintas partes del mundo. El contenido de los compuestos fenólicos varía considerablemente en función de las condiciones ambientales, prácticas de cultivo, como también de la fecha de cosecha y las condiciones de conservación en frío. Sin embargo, según nuestro conocimiento, ningún estudio previo ha evaluado la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y Vitamina C, tanto de variedades extranjeras como de variedades autóctonas, en las condiciones edafo-climáticas de la zona del Valle del Ebro.

Material y Métodos

Dieciocho variedades del Banco de Germoplasma de manzano de la Estación Experimental de Aula Dei-CSIC (Aragón, Zaragoza) fueron evaluadas durante 3 años consecutivos (2014-2016). Las variedades se clasificaron en función del color de su piel

(6 rojas o bicolor, 6 verdes y 6 amarillas) y de su origen (autóctonas y extranjeras). Su descripción se puede observar en la Tabla 1.

En el Banco de Germoplasma cada variedad consta de tres árboles. Durante tres años se cosecharon 15 frutos por variedad (5 frutos por árbol) a madurez comercial (alrededor de 70 N de firmeza) para determinar los parámetros básicos de la calidad de fruto: sólidos solubles (SS, °Brix), acidez total (AT, g ácido málico/L), e índice de madurez (IM) como la relación entre SS y AT, así como los compuestos antioxidantes: fenoles totales (mg ácido gálico/100 g peso fresco), flavonoides (mg catequina/100 g peso fresco), capacidad antioxidante relativa (RAC, mg Trolox/100 g peso fresco), y vitamina C (mg ácido ascórbico/100 g peso fresco).

Cada fruto cosechado se dividió en dos partes. Una mitad se destinó a la calidad básica de fruto, y la otra a la determinación de los compuestos antioxidantes. Con el zumo extraído de los frutos destinados a los parámetros de SS y AT, se determinaron los SS con un refractómetro digital y la AT mediante valoración con 0,1 N NaOH. Los trozos pelados de los 5 frutos por árbol se juntaron y mezclaron, se pesaron y congelaron unos 5 gramos aproximadamente, anotando el peso exacto. Se mantuvieron las muestras en congelador a -20°C para su posterior análisis. Las determinaciones de los fenoles totales, flavonoides, RAC y vitamina C se realizaron por espectrofotometría según Font i Forcada et al. (2014), con algunas modificaciones.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa estadístico IBM SPSS, versión 24 (USA) realizándose un ANOVA de un sólo factor. La separación de medias se realizó mediante la prueba t de Student a un nivel de significación de $p \leq 0,05$. Los análisis de correlación de Pearson y de Componentes Principales (PCA) se llevaron a cabo para estudiar la relación entre las distintas variables estudiadas. Para el análisis de PCA se utilizó el programa Unscrambler X 10.3 (CamoAsa, 2001).

Resultados y Discusión

Las 18 variedades evaluadas en este estudio mostraron una amplia variabilidad fenotípica para todas las variables estudiadas. El análisis estadístico de los resultados mostró diferencias significativas entre variedades para todos los parámetros estudiados, y también según la tipología y el origen de la variedad. Se observó también la influencia del año de cosecha en los valores obtenidos. No obstante, estos valores estuvieron dentro del rango de los previamente publicados en otros estudios de manzano (Kalinowska et al., 2014; Ozturk et al., 2015; Raudone et al., 2017).

Para cada tipología de fruto (amarilla, bicolor, verde) en función de su origen (autóctona, extranjera) se observó que las variedades amarillas extranjeras presentaron valores más elevados de RAC comparado con las autóctonas (Tabla 2). Sin embargo, en las variedades bicolor se observó lo contrario. Éstas también presentaron valores más elevados de fenoles totales, flavonoides y vitamina C. En las variedades verdes no se observaron diferencias entre los compuestos antioxidantes en función de su origen. En cuanto a la calidad básica de fruto, sólo se observaron diferencias en función de su origen en las variedades verdes. Las autóctonas tendieron a ser más dulces y menos ácidas que las extranjeras.

Para cada origen en función de la tipología de fruto, se observó que las variedades autóctonas bicolor presentaban valores más elevados de RAC y flavonoides comparado con el resto de tipologías, al igual que las variedades extranjeras amarillas y verdes (Tabla 2). Éstas últimas presentaron también valores más elevados de AT, mientras que las extranjeras amarillas y bicolor presentaron valores más elevados de SS.

Dentro que cada tipología y origen, también las variedades entre sí mostraron diferencias entre ellas. La Figura 1 representa una distribución bidimensional de las 18

variedades en función de las variables estudiadas. Este gráfico bidimensional nos explica el 80% de la variabilidad total del estudio, aportando el eje principal 1 (PC1) un 62% y el eje principal 2 (PC2) un 18%. En el eje PC1 las variables que más contribuyeron a esta variabilidad fueron los fenoles totales, flavonoides, RAC y AT. Se encontraron varias correlaciones significativas y positivas ($p \leq 0,01$), entre RAC y fenoles totales ($r=0,720$), RAC y flavonoides ($r=0,605$), flavonoides y AT ($r=0,683$). La variedad autóctona 'Camuesa Fina de Aragón' destacó mostrando los valores más altos de fenoles totales, flavonoides y RAC. En cambio, las variedades 'Bost Kantoia', 'Golden Smoothee' y 'Verde Doncella' mostraron lo contrario. En el eje PC2 las variables que más contribuyeron a la variabilidad fueron SS y Vitamina C, siendo la variedad autóctona 'Aciprés' y la extranjera 'Starkrimson' las que mostraron valores más elevados de SS, y la variedad autóctona 'Reineta Encarnada' la que mostró mayor contenido de Vitamina C.

Conclusión

Este trabajo demuestra la importancia de determinar los distintos parámetros de calidad del fruto y el contenido en compuestos antioxidantes en las diferentes variedades, así como el interés de las variedades autóctonas para su uso en futuros programas de mejora.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PIE 201640E070, RFP 2012-00020 y RFP 2015-00019, cofinanciados por FEDER y el Gobierno Regional de Aragón (A44). Se agradece al Dr. J. Abadía por la utilización del equipo de espectrofotometría, a la Dra. M.P. Vallés por el equipo de centrifugación, y a M.P. Soteras y B. Montero por la caracterización morfológica del material vegetal.

Referencias

- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y. & Moreno, M.A. 2014. Agronomical parameters, sugar profile and antioxidant compounds of "Catherine" peach cultivar influenced by different plum rootstocks. *International Journal of Molecular Sciences* 57:2237-2254.
- Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska-Siwkiewicz, H., Priebe, W. & Lewandowski, W. 2014. Apples: content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry* 84:169-188.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Kim, D.O., Lee, H.J. & Lee, C.Y. 2003. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51:6516-6520.
- Ozturk, B., Yildiz, K. & Ozkan, Y. 2015. Effects of pre-harvest methyl jasmonate treatments on bioactive compounds and peel color development of 'Fuji' apples. *International Journal Food Properties* 18:954-962.
- Raudone, L., Raudonis, R., Liaudanskas, M., Janulis, V. & Viskelis, P. 2017. Phenolic antioxidants profiles in the whole fruit, flesh and peel of apple cultivars grown in Lithuania. *Scientia Horticulturae* 216:186-192.
- Reig, G., Blanco, A., Castillo, A.M., Gogorcena, Y. & Moreno, M.A. 2015. Phenotypic diversity of Spanish Apple (*Malus × domestica* Borkh) accessions grown at the vulnerable climatic conditions of the Ebro Valley, Spain. *Scientia Horticulturae* 185:200-210.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Características de las 18 variedades de manzano estudiadas procedentes del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD) – CSIC.

Accesión	Origen	Tipo fruto
Aciprés	España	Bicolor
Baujade	Francia	Verde
Bost Kantoia	España	Amarilla
Cabello de Ángel	España	Amarilla
Camuesa de Llobregat	España	Verde
Camuesa Fina de Aragón	España	Bicolor
Deljeni	Francia	Amarilla
Esperiega	España	Amarilla
Golden Smoothee	USA	Amarilla
Granny Smith	Australia	Verde
Melrose	USA	Bicolor
Merrigold	USA	Amarilla
Plaona	-	Verde
Red Rome Beauty	USA	Bicolor
Reineta Encarnada	España	Bicolor
Starkrimson	USA	Bicolor
Tempera	España	Verde
Verde Doncella	España	Verde

Tabla 2- Compuestos antioxidantes y parámetros de calidad de fruto evaluados durante 3 años seguidos (2014-2016) en función de la tipología de fruto y origen.

Tipo fruto	Origen	RAC	Fenoles totales	Flavonoides	Vit. C	SS	AT	IM
Amarilla	Autócton ^a	11,7 aA	39,8 aA	17,3 aA	2,9 aA	12,9 aA	5,1 aA	2,8 aA
	Extranjer ^a	14,1 bB	38,2 aA	19,8 aB	2,2 aA	13,3 aB	5,8 aAB	2,7 aA
Bicolor	Autócton ^a	19,8 bB	43,1 bA	42,7 bB	3,1 bA	13,9 aA	6,1 aA	4,3 aAB
	Extranjer ^a	10,6 aA	32,7 aA	12,7 aA	2,1 aA	13,8 aB	4,1 aA	3,9 aB
Verde	Autócton ^a	12,5 aA	32,0 aA	14,9 aA	2,6 aA	13,7 bA	4,4 aA	5,4 bB
	Extranjer ^a	13,5 aB	34,3 aA	17,5 aAB	2,8 aA	12,2 aA	6,7 bB	2,2 aA

Prueba t Student ($p \leq 0,05$) utilizada. Para cada tipología de frutos, los valores de una misma columna con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes. Por cada origen, los valores de una misma columna con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes.

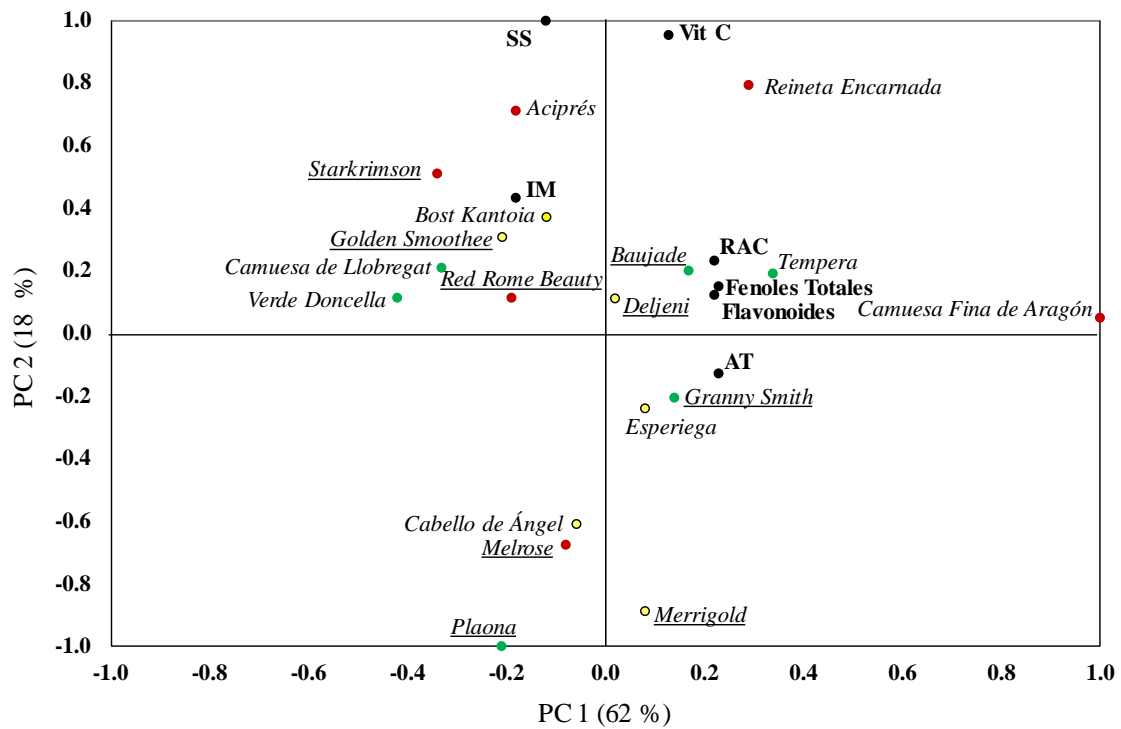


Figura 1- Segregación de las 18 variedades de manzano estudiadas en función de los parámetros básicos de calidad del fruto y compuestos antioxidantes. Las variedades subrayadas representan las variedades extranjeras.

Caracterización físico-química de dos cultivares de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill en condiciones homogéneas de cultivo

Lucia Andreu¹, Nallely Nuncio-Jáuregui², Asunción Amorós³, Pilar Legua¹ & Francisca Hernández¹

¹ Plant Sciences and Microbiology Department, Miguel Hernández University, Research Group in Plant Production and Technology, Ctra. de Beniel, km 3,2. E-03312 Orihuela, Alicante, Spain, lucia.andreu1@gmail.com

² INNOFOOD I+D+i Company. Research and Development projects of agro-food industry. C/ Fernandez Arroyo 43, E-03312 La Zubia, Granada, Spain.

³ Applied Biology Department, Miguel Hernández University, Ctra. de Beniel, km 3,2. E-03312 Orihuela, Alicante, Spain

Resumen

La chumbera (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) es la cactácea de mayor importancia agronómica, debido a que son consumidos tanto sus frutos (conocidos como higos chumbos o tunas) como sus cladodios (nopalitos), estos últimos muy populares en la cocina mexicana. Es originaria de América tropical y subtropical y su distribución geográfica abarca principalmente México y América Latina. En España, la chumbera está distribuida principalmente en la costa mediterránea, Andalucía, Murcia y las islas Baleares y Canarias.

En este trabajo se han estudiado los frutos (pulpa y piel) de dos variedades: “NE”, variedad con espinas, y “NT”, variedad tradicional, obtenidas en la finca experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Se determinaron los parámetros físicos: peso, rendimiento en pulpa y calibre, y los parámetros químicos: pH, sólidos solubles totales (SST), acidez, índice de madurez (IM), azúcares totales (AT) y ácidos orgánicos totales (AOT). Se encontraron diferencias significativas en cuanto al peso y calibre, siendo la variedad “NT” la que presentó unos valores más elevados. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al rendimiento en pulpa. En relación a los TSS, sí se encontraron diferencias significativas tanto en la piel como en la pulpa de los frutos, siendo la variedad “NE” la que presentó valores más elevados. En cuanto a la acidez no se encontraron diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, siendo la variedad “NT” la que presentó valores más elevados. Respecto al índice de madurez (IM), no se encontraron diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, presentando la variedad “NE” valores más elevados. En cuanto a los valores de AT y AOT, se encontraron diferencias significativas excepto en los AOT de la piel de los frutos, siendo la variedad “NE” la que presentó valores más elevados.

Palabras clave: chumbera, piel, pulpa, parámetros físicos, parámetros químicos.

Abstract

Opuntia ficus-indica Mill, usually named prickly pear or cactus pear, is the plant which presents the greatest agronomic importance in the Cactaceae family, because both fruits and cladodes are consumed, the latter mainly in Mexico. This plant is native to tropical and subtropical America, and its geographic distribution covers chiefly Mexico and Latin America, but due to this plant can grow in arid and semiarid climates, we can also find it in South Africa and Mediterranean countries. In Spain,

In this work have been studied fruits (pulp and peel) of two varieties of *O. ficus-indica*: “NE”, variety with spines, and “NT”, the traditional variety. Both varieties were

obtained in the experimental farm of Superior Politechnic School of Orihuela. The physical parameters: weight, pulp yield and fruit size were determined. Besides, the following chemical parameters were also determined: pH, total soluble solids (TSS), acidity, maturity index (MI), total sugars and total organic acids. Significant differences were found in weight and fruit size, being the variety “NT” which presented higher values. Nevertheless, no significant differences were found in pulp yield. As for TSS, we found significant differences both peel and pulp, being the variety “NE” which presented higher values. Concerning MI, significant differences were found in pulp, being the variety “NE” which presented higher values. Significant differences were found in total sugars, being the variety “NE” which presented higher values. Referring to total organic acids, we only found significant differences in fruit pulp, being the variety “NE” which presented higher values.

Keywords: prickly pear, peel, pulp, physical parameters, chemical parameters.

Introducción

La chumbera (*Opuntia ficus-indica* Mill.) es la cactácea de mayor importancia agronómica, debido a que son consumidos tanto sus frutos (conocidos como higos chumbos o tunas) como sus cladodios (nopalitos), estos últimos muy populares en la cocina mexicana.

Según evidencias arqueológicas, fueron las poblaciones indígenas en las zonas semiáridas de Mesoamérica las que iniciaron su cultivo (Pimienta, 1990). Su mejoramiento genético se remonta a la época prehispánica, y se cree que sus frutos fueron traídos a España en uno de los primeros viajes de Colón a América. Tras su introducción a España distribuyó por toda la cuenca mediterránea, en la cual actualmente se encuentra naturalizada (Kiesling, 1998).

La chumbera o nopal es originaria de América tropical y subtropical, encontrándose actualmente en todos los continentes. En el continente americano actualmente se encuentra desde Canadá a Chile, en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Chile, Estados Unidos, México, Perú, Venezuela y también en otros países de América Central y el Caribe. Fue introducida desde México en España y desde aquí se distribuyó a toda la cuenca del Mediterráneo: Francia, Grecia, Italia, Turquía e Israel. Los árabes introdujeron los nopales en África, llegando hasta Argelia, Egipto, Eritrea, Etiopía, Libia, Marruecos y Túnez. También podemos encontrar chumberas en Sudáfrica, Australia y la India (Sáenz et al., 2006).

La chumbera es ampliamente conocida por sus propiedades antioxidantes. En la actualidad se han realizado diversos estudios sobre su contenido en fenoles, actividad antioxidante y composición mineral de los frutos (Ammar et al., 2015; Ammar et al., 2015), además de estudios sobre la capacidad antioxidante de la piel de los frutos (Chougui et al., 2015).

Actualmente se han realizado diversos estudios que evalúan el efecto que tiene incluir la chumbera en la alimentación de las cabras, principalmente durante la época seca para reducir el consumo de agua (Costa et al., 2010; Mahouachi et al., 2012; Urrutia-Morales et al., 2014)

Aparte de su uso en alimentación, la chumbera tiene otras múltiples aplicaciones en distintos ámbitos. Por ejemplo, se han realizado estudios sobre la capacidad antígenotóxica de los cladodios de chumbera contra la micotoxina zearalenona (micotoxina F-2, producida por varias especies del género *Fusarium*) en ratones (Zorgui et al., 2008). Asimismo, también se han realizado estudios sobre el efecto hipoglucemiante de la chumbera, tanto de los frutos como de los cladodios, lo cual es útil

para tratar la hiperglucemia (Santos et al., 2006; Ávila et al., 2009). Además, se han realizado diversos estudios (Sánchez, 2012; Cadena et al., 2015) sobre el potencial del cultivo de la chumbera para la obtención de biocombustibles, concretamente bioetanol y biogás. También se ha estudiado el uso de la chumbera como coagulante natural, para la remoción de turbidez y color en aguas crudas (Villabona et al., 2013).

El objetivo de esta comunicación es la caracterización físico-química de los frutos de dos variedades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., denominadas “NT”, variedad tradicional y “NE”, variedad con muchas espinas, ambas obtenidas en la finca experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Los parámetros a determinar son los siguientes: peso, rendimiento en pulpa, calibre, pH, sólidos solubles, acidez, índice de madurez, perfil de azúcares y ácidos orgánicos. Los datos obtenidos serán sometidos a un análisis estadístico (ANOVA). Los resultados obtenidos nos permitirán seleccionar qué variedad es la más interesante para su consumo en fresco o bien para la industria.

Material y métodos

El material vegetal utilizado son los frutos de dos variedades de chumbera, “NT”, variedad tradicional y “NE”, variedad con muchas espinas. Ambas fueron obtenidas en la finca experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Esta zona presenta un clima de tipo mediterráneo, con una precipitación media anual de 290 mm. Aunque los cultivos de los que extrajo el material vegetal no estén certificados en ecológico han sido cultivados bajo condiciones agroecológicas.

Para obtener el peso medio de los frutos se escogieron 20 frutos al azar de cada una de las variedades. Una vez recogidos los frutos, se trasladaron al laboratorio para su caracterización.

El calibre de los frutos se midió con un calibre digital marca Mitutoyo (modelo CD-15 DC, con 0.01 mm de precisión). El peso de los frutos se midió con una balanza Mettler (modelo AJ50, con 0.01 g de precisión).

El rendimiento en pulpa se calculó como:

$$\text{Rendimiento en pulpa} = \frac{\text{Peso fruto-peso piel}}{\text{Peso total del fruto}} \times 100$$

Los sólidos solubles totales (SST) fueron medidos con un refractómetro digital (Atago N1) a 20 °C, y los resultados se expresaron en °Brix. La acidez total valorable (AT) se determinó utilizando un valorador de acidez automático (877 Titrino plus, análisis de iones Metrohm CH9101) con 0.1 N NaOH hasta pH 8.1 usando 1 ml de zumo diluido en 25 ml de H₂O destilada, y los resultados se expresaron como g de ácido cítrico por litro de zumo. A continuación, se determinó el IM (Índice de Madurez) como la relación entre SST/AT. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado y los resultados se presentan como valores medios ± error estándar.

Para la determinación del perfil de ácidos orgánicos y azúcares, se pasó un mililitro de zumo centrifugado a través de una membrana de filtro Millipore de 0.45 micras, y luego se inyectó en un cromatógrafo Hewlett-Packard 1100. El sistema de elución consistió en ácido fosfórico al 0.1% con un flujo de 0.5 mL min⁻¹, temperatura de 30 °C e inyección de 10 µl. Los ácidos orgánicos se separaron en una columna de Supelcogel TM C-610H (30 cm x 7.8 mm id, Supelco) y una precolumna Supelguard (5 cm x 4.6 mm, Supelco), y se detectó mediante un detector de diodos establecido a 210 nm. Para los análisis de azúcar, se utilizó el mismo equipo de HPLC, sistema de elución, velocidad de flujo, y las columnas. La detección de los azúcares se llevó a cabo utilizando un detector de índice de refracción (HP 1100, G1362A). Las curvas de calibración de patrones puros de los ácidos orgánicos (oxálico, cítrico, málico, succínico, tartárico,

fumárico, fórmico, láctico, quínico, acético y ascórbico) y de los azúcares (glucosa, fructosa, sorbitol y sacarosa) (Sigma, Poole) fueron utilizadas para la cuantificación. Los resultados se expresaron en % (g 100⁻¹ mL de zumo). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico (ANOVA) mediante el programa StatGraphics Plus 5.0 software.

Resultados y discusión

Según el análisis de la varianza ANOVA existen diferencias significativas entre el peso de las dos variedades de chumbera, siendo la variedad “NT” la que presenta un peso más elevado (Tabla 1). Los resultados obtenidos en el peso de estas variedades son inferiores a los obtenidos por Jiménez-Aguilar et al. (2012) en las variedades “Rojo San Martín”, “Verde Villanueva” y “Rojo Cenizo”. En cambio, son similares a los obtenidos por Medina, Rodríguez & Romero (2007) en la variedad “NT”, pero superiores a los de la variedad “NE”.

También encontramos diferencias significativas en el calibre de los frutos, presentando la variedad “NT” valores más elevados. El diámetro y la altura los frutos de las variedades “NE” y “NT” también es inferior a los estudiados por Jiménez-Aguilar et al. (2014).

En cambio, no se encontraron diferencias significativas en el rendimiento en pulpa. Estos valores son similares a los obtenidos por López-Palacios et al. (2014) en *Opuntia ficus-indica* Mill y otras especies del género *Opuntia*: *O. hyptiacantha* F.A.C. Weber, *O. megacantha* Salm-Dyck y *O. albicarpa* Scheinvar. Por el contrario, el rendimiento en pulpa de las variedades “NT” y “NE” es superior al obtenido por Jiménez et al. (2014) en las variedades “Rojo Sanmartín”, “Verde Villanueva” y “Rojo Cenizo”, pero similar a la variedad “Cristal”.

En lo referente al pH, no existen diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, siendo la variedad “NT” la que presenta un pH ligeramente más ácido (Tabla 2). Estos valores de pH se corresponden con los obtenidos por Albano et al. (2015) en las variedades “Purple” y “Orange”, pero son ligeramente inferiores a los obtenidos por Stintzing et al. (2005) en las variedades “Red”, “Orange”, “Green” y “Purple”. También son similares a los obtenidos por Cassano, Conidi & Drioli (2010). En cambio, los valores obtenidos por Medina et al. (2007) son superiores.

En lo referente a la acidez, no se encontraron diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, siendo la variedad “NT” la que presentó valores más elevados. Nuestros valores son superiores a los de Cassano et al. (2010) y a los de Medina et al. (2007).

En cuanto a los sólidos solubles totales, el análisis de la varianza ANOVA nos indica que existen diferencias significativas en su concentración tanto en la piel como en la pulpa de los frutos, siendo en ambos casos la variedad “NE” la que presenta valores más elevados. Estos valores son similares a los obtenidos por Albano et al. (2015) y Stintzing et al. (2005), excepto en la variedad “NE”, que presenta una concentración de sólidos solubles más elevada. Nuestros resultados también son similares a los de Sawaya et al. (1983).

Respecto al índice de madurez (IM), no se encontraron diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, presentando la variedad “NE” valores más elevados.

Acercas de la concentración total de azúcares, se encontraron diferencias significativas tanto en la piel como en la pulpa de los frutos, siendo en ambos casos la variedad “NE” la que presentó unos valores más elevados (Tabla 3). Los resultados

obtenidos en la pulpa de los frutos son superiores a los determinados por Albano et al. (2015). Por el contrario, la cantidad de azúcares es inferior, tanto en la pulpa como en los frutos, a la determinada por Jiménez-Aguilar et al. (2014). Los resultados obtenidos por Kunyanga, Vellingiri & Imungi (2014) en *Opuntia stricta* Haw. son similares a los de la variedad “NT” pero inferiores a los obtenidos en la variedad “NE”.

En relación a la concentración total de ácidos orgánicos, no encontramos diferencias significativas en la piel de los frutos pero sí en la pulpa, siendo la variedad “NE” la que presentó concentraciones más elevadas. La concentración de ácidos orgánicos es inferior a la determinada por Teles et al. (1984). Tampoco coinciden los resultados con Moßhammer et al. (2006), cuyo estudio indica que el ácido más abundante en la pulpa de los frutos es el ácido cítrico, siendo el ácido málico en nuestro caso. Esta discordancia puede ser debida a que la chumbera presenta un mecanismo fotosintético CAM, variando la cantidad de ácidos orgánicos durante el día. También puede ser debido a que son variedades distintas.

Conclusiones

Aunque la variedad “NT” tenga un tamaño de fruto mayor que la variedad “NE”, ambas presentan un rendimiento en pulpa muy similar. Además, esta última presenta una concentración de azúcares mayor, menor acidez y un índice de madurez más elevado.

Los frutos de las dos variedades estudiadas presentan características interesantes para el consumo humano. La pulpa de la variedad “NE” se podría destinar a la elaboración de zumos y mermeladas debido a su contenido más elevado en azúcares. Además, la piel de los frutos podría ser adecuada para la alimentación animal.

Todavía quedan numerosos parámetros por determinar y seguir indagando en el aprovechamiento de la chumbera.

Referencias

- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., De Bellis, L. & Blando, F. (2015). Betalains, phenols and antioxidant capacity in Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) Genotypes. *Antioxidants*, 4(2), 269-280.
- Ammar, I., Ennouri, M., & Attia, H. (2015). Phenolic content and antioxidant activity of cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers are modified according to the extraction method. *Industrial Crops and Products*, 64, 97-104.
- Ammar, I., Ennouri, M., Bouaziz, M., Amira, A. B., & Attia, H. (2015). Phenolic Profiles, Phytochemicals and Mineral Content of Decoction and Infusion of *Opuntia ficus-indica* Flowers. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 388-394.
- Ávila García M.A, Tovar Montor M.S & Yáñez Toto A.B (2009). Tratamiento de la hiperglucemia con la ingesta de nopal verdura u *Opuntia ficus-indica* (L.) P. Mill. Tlahui-Medic No.29, I/2010. Cuernavac, Morelos, México.
- Cadena, R. P., Cuenca, A. A., Lizardi, M. A., Medina, S. A., Espinosa, T., Martínez, A., & Jurado, A. T. (2015) Selección de un variedad de cladodio de nopal (*Opuntia ficus-indica*) con potencial para la obtención de bioetanol. Guadalajara, Jalisco, México.
- Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2010). Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. *Desalination*, 250(3), 1101-1104.

- Chougui, N., Djerroud, N., Naraoui, F., Hadjal, S., Aliane, K., Zeroual, B., & Larbat, R. (2015). Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food chemistry*, *173*, 382-390.
- Costa, R. G., Beltrão Filho, E. M., do Egypto, R. D. C. R., Madruga, M. S., de Medeiros, A. N., & de Oliveira, C. J. B. (2010). Chemical composition of milk from goats fed with cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L. Miller) in substitution to corn meal. *Small Ruminant Research*, *94*(1), 214-217.
- Jimenez-Aguilar, D., Mújica-Paz, H., & Welte-Chanes, J. (2014). Phytochemical characterization of prickly pear (*Opuntia* spp.) and of its nutritional and functional properties: a review. *Current Nutrition & Food Science*, *10*(1), 57-69.
- Kiesling, R. (1998). Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, *3*, 50-59.
- Kunyanga, C. N., Vellingiri, V., & Imungi, K. J. (2014). Nutritional quality, phytochemical composition and health protective effects of an under-utilized prickly cactus fruit (*Opuntia stricta* Haw.) collected from Kenya. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, *14*(7), 9561-9577.
- López-Palacios, C., Pena-Valdivia, C. B., Reyes-Agüero, J. A., Aguirre-Rivera, J. R., Ramírez-Tobías, H. M., Soto-Hernández, R. M., & Jiménez-Bremont, J. F. (2015). Inter-and intra-specific variation in fruit biomass, number of seeds, and physical characteristics of seeds in *Opuntia* spp., Cactaceae. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *62*(8), 1205-1223.
- Mahouachi, M., Atti, N., & Hajji, H. (2012). Use of spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) for dairy goats and growing kids: impacts on milk production, kid's growth, and meat quality. *The Scientific World Journal*, *2012*.
- Medina, E. D., Rodríguez, E. R., & Romero, C. D. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food chemistry*, *103*(1), 38-45.
- Moßhammer, M. R., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Cactus pear fruits (*Opuntia* spp.): a review of processing technologies and current uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, *8*, 1-25.
- Pimienta, E. 1990 El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, Mexico.
- Sánchez Godoy, F. (2012). *Potencial del cultivo de la chumbera (Opuntia ficus-indica (L) Miller) para la obtención de biocombustibles* (Doctoral dissertation, Agronomos).
- Santos, D. B., Lorenzana-Jiménez, M., & Guerrero, G. A. M. (2006). Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Fac Med UNAM*, *49*(4).
- Sawaya, W. N., Khatchadourian, H. A., Safi, W. M., & AL-MUHAMMAD, H. M. (1983). Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. *International Journal of Food Science & Technology*, *18*(2), 183-193.
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., ... & Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(2), 442-451.
- Teles, F. F., Stull, J. W., Brown, W. H., & Whiting, F. M. (1984). Amino and organic acids of the prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *35*(4), 421-425.

- Sáenz, C., H. Berger, J.C. García, L. Galletti, V.G. de Cortázar, I. Higuera, C. Mondragón, A. Rodríguez-Félix, E. Sepúlveda, M.T. Varnero. 2006. Utilización agroindustrial de nopal. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO N° 162. Roma.
- Urrutia-Morales, J., Gámez-Vázquez, H. G., Beltrán-López, S., & Díaz-Gómez, M. O. (2014). Use of *Atriplex canescens* and *Opuntia ficus indica* as feed for lactating goats during drought. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 287-296.
- Villabona Ortiz, Á., Paz Astudillo, I. C., & Martínez García, J. (2013). Characterization of *Opuntia ficus-indica* for using as a natural coagulant. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 137-144.
- Zorgui, L., Ayed-Boussema, I., Ayed, Y., Bacha, H., & Hassen, W. (2009). The antigenotoxic activities of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes against the mycotoxin zearalenone in Balb/c mice: prevention of micronuclei, chromosome aberrations and DNA fragmentation. *Food and chemical toxicology*, 47(3), 662-667.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Peso, calibre y rendimiento en pulpa de los frutos de las variedades estudiadas.

Variedad	Peso (g)	Altura (cm)	Diámetro (cm)	Rendimiento en pulpa (%)
NE	74.56 ± 4.67	60.62 ± 1.40	42.83 ± 0.96	57.00 ± 2.71
NT	103.73 ± 4.76	69.31 ± 2.08	46.46 ± 0.76	56.08 ± 1.67
ANOVA	***	**	**	NS

Los valores son la media de tres repeticiones (\pm error estándar). *,** y *** indican los niveles significativos a $p < 0.05, 0.01$ y 0.001 , respectivamente). NS = no significativo ($p > 0.05$)

Tabla 2- pH, acidez total, sólidos solubles totales e índice de madurez de la piel y la pulpa de los frutos de las variedades estudiadas.

Variedad	Parte	pH	AT (g ácido cítrico L ⁻¹)	TSS (°Brix)	IM
NE	Piel	5.27 ± 0.19	1.26 ± 0.27	15.4 ± 0.2	8.72 ± 2.4
NT	Piel	5.59 ± 0.03	0.61 ± 0.06	11.7 ± 0.1	19.96 ± 2.14
ANOVA	Piel	NS	NS	***	NS
NE	Pulpa	5.81 ± 0.09	0.53 ± 0.09	15.7 ± 0.3	30.61 ± 4.50
NT	Pulpa	5.54 ± 0.02	1.60 ± 0.49	12.7 ± 0.2	8.40 ± 1.61
ANOVA	Pulpa	*	*	**	**

Los valores son la media de tres repeticiones (\pm error estándar). *,** y *** indican los niveles significativos a $p < 0.05, 0.01$ y 0.001 , respectivamente). NS = no significativo ($p > 0.05$)

Tabla 3- Azúcares totales y ácidos orgánicos totales de la piel y la pulpa de los frutos de las variedades estudiadas.

Variedad	Parte	Azúcares totales (%)	Ácidos totales (%)
NE	Piel	19.92 ± 0.47	0.46 ± 0.02
NT	Piel	11.28 ± 0.30	0.51 ± 0.004
ANOVA	Piel	***	NS
NE	Pulpa	22.08 ± 0.27	0.31 ± 0.02
NT	Pulpa	16.73 ± 0.36	0.24 ± 0.004
ANOVA	Pulpa	***	*

Los valores son la media de tres repeticiones (\pm error estándar). *, ** y *** indican los niveles significativos a $p < 0.05, 0.01$ y 0.001 , respectivamente). NS = no significativo ($p > 0.05$).

Preferencias del consumidor de aceite de oliva de Portugal en función del género

Rodolfo Bernabéu¹, Fátima Oliveira², Mónica Díaz³, Miguel Olmeda¹, Adrián Rabadán¹ & Mariano Suárez de Cepeda¹

¹Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, Universidad de Castilla-La Mancha, Campus Universitario, s/n, 02071 Albacete, España, Rodolfo.Bernabeu@uclm.es, Miguel.Olmeda@uclm.es, Adrian.Rabadan@uclm.es, Mariano.Suarez@uclm.es.

²Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, Estr. Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal, foliveira@esac.pt.

³Escuela de Ingenieros Agrónomos, Universidad de Castilla-La Mancha, Ronda de Calatrava, s/n, 13003 Ciudad Real, España, Monica.Diaz@uclm.es.

Resumen

La producción mundial media de aceite de oliva para el periodo 2001-2014 se sitúa en 2.830.000 t, de las que el 42% lo produce España, el 19% Italia y el 12% Grecia, principales países productores (IOC, 2015).

El consumo de aceite de oliva per cápita, es de 15,5 kg/año en Grecia, 11,4 kg/año en España, 10,3 kg/año en Italia y 7,1 kg/año en Portugal (IOC, 2015).

Con todo, el consumo per cápita de aceite de oliva en Portugal es un 38% inferior al consumo, por ejemplo, de España, lo cual supone tanto una oportunidad para los productores de aceite de oliva locales como para los productores de aceite de oliva de otros países, dados los beneficios sobre la salud que tiene el consumo de aceite de oliva en la dieta mediterránea.

En este contexto, el comportamiento del consumidor es el elemento clave de las estrategias de marketing dado que es en el proceso de compra, donde el consumidor forma sus preferencias sobre la base del conjunto de atributos que definen la calidad del producto. En este sentido, resulta especialmente interesante determinar las preferencias de distintos atributos de aceite de oliva en función del género.

Para ello, se realizó una encuesta a 421 consumidores de aceite de oliva en Lisboa, en agosto de 2015. El muestreo, aleatorio y estratificado, fue realizado por distrito, género y grupo de edad (entre 18 y 24 años, 25 a 34, 35 a 49, 50 a 64 y más de 64 años). El nivel de error fue inferior al 4,87%, para un nivel de confianza del 95,5%.

Como resultado, el aceite preferido es el de bajo precio, envasado en cristal y de producción ecológica, siendo el precio más importante para los hombres y el tipo de aceite de oliva (virgen extra), para las mujeres.

Palabras-clave: Análisis Conjunto, Comportamiento del consumidor, Encuestas, Estrategias de mercado, Marketing agroalimentario.

Abstract

The mean olive oil production from 2001 to 2014 was 2,830,000 t, of which 42% corresponded to Spain, 19% to Italy, and 12% to Greece, these three countries being the primary producers (IOC, 2015).

Per capita consumption is 15.5 kg/year in Greece, 11.4 kg/year in Spain, 10.3 kg/year in Italy and 7.1 kg/year in Portugal (IOC, 2015).

However, per capita consumption of olive oil is, for example, 38% lower in Portugal than in Spain, which represents an opportunity not only for local producers, but

also for olive oil producers from other countries, given the health benefits of olive oil consumption in the Mediterranean diet.

In this context, consumer behaviour is the key element in marketing strategies, since it is during the buying process that consumers form their preferences regarding the set of attributes that define the quality of the product. In this regard, it is of special interest to determine preferences for different attributes of olive oil according to gender.

To this end, a survey was administered to 421 olive oil consumers in Lisbon in August 2015. Random, stratified sampling was conducted by district, gender and age group (between 18 and 24 years old, 25 to 34, 35 to 49, 50 to 64, and over 64 years of age). The error level was below 4.87%, for a 95.5% confidence level.

The results revealed that consumers prefer economic, extra virgin olive oil, sold in a glass bottle and produced organically. This is true for both men and women, but for men price is more important, while women attach more importance to the type of olive oil they consume (extra virgin).

Keywords: Conjoint Analysis, Consumer Behaviour, Surveys, Marketing Strategies, Agri-food Marketing

Introducción

El aceite de oliva destaca en muchos aspectos, por resaltar alguno de ellos, es un elemento destacable de la dieta mediterránea y es un cultivo importante para los países del sur de Europa. De echo, la Unión Europea es el principal productor, exportador y consumidor de aceite de oliva del mundo, en las cinco últimas campañas (2011-2015), la UE produjo el 69%, consumió el 57% y exportó el 65% del total del aceite de oliva del mundo (Comisión Europea, 2015).

En cuanto a la producción mundial de aceite de oliva, ésta se localiza principalmente en los países de la cuenca mediterránea siendo la producción mundial media de aceite de oliva para el periodo 2001-2014 de 2.830.000 t, de las que el 42% es producido en España, el 19% en Italia y el 12% en Grecia, principales países productores (IOC, 2015). Al analizar la situación del consumo de este producto, destaca la tendencia creciente en el consumo de aceite de oliva de los países no productores. El consumo mundial de aceite de oliva aumentó entre los periodos 1990/95 y 2010/2015 en un 57%, lo que supone un 2% anual (IOC, 2014).

En lo referente al aceite de oliva portugués, tradicionalmente, se ha dedicado a la exportación, en 2011 las exportaciones representaron el 89% de la producción total. Destaca como destino Brasil, concretamente entre los años 2011 y 2013 aproximadamente el 56% del aceite portugués exportado tuvo como destino ese país. En cuanto al consumo de este producto en Portugal, se observa una clara recuperación con respecto al inicio de los años 90, donde el consumo per cápita se situó en 2,6 kg, alcanzando actualmente un valor de 7,1 kg per cápita en 2013. Sin embargo, en otros países productores de la Unión Europea como Grecia (con 16,3 kg per cápita), España (10,4 kg per cápita) e Italia (con 9,2 kg per cápita) el consumo es mucho más elevado (IOC, 2014).

En este contexto, las estrategias comerciales adquieren una especial importancia y, desde el punto de vista de la comercialización, el comportamiento del consumidor es el elemento clave de las estrategias de marketing, dado que es en el proceso de compra, donde el consumidor forma sus preferencias sobre la base del conjunto de atributos que definen la calidad del producto.

En el estudio del comportamiento de los consumidores y de las tendencias de la demanda de alimentos, debe considerarse que los consumidores son diferentes y sus

motivaciones son muy variadas (las necesidades nutricionales, la salud, el placer, la conveniencia o la seguridad alimentaria entre otros). Puede destacarse que a la hora de decantarse por el consumo de uno u otro producto el consumidor presta una especial atención a la calidad del mismo, aunque definir la calidad de un producto no es una cuestión sencilla. Los consumidores entienden la calidad de un producto sobre la base de cómo evaluar sus características o atributos, es decir, los consumidores utilizan la información disponible para formar sus expectativas con respecto a la calidad de un producto. Así mismo, puede decirse que la calidad tiene dos dimensiones, una dimensión objetiva ligada a los atributos técnicos del producto y una dimensión subjetiva que se refiere a la percepción del consumidor, existe por tanto, una diferencia entre la calidad reconocida por quienes la producen y la calidad reconocida por el consumidor (Grunert, 2005).

Existe un gran número de estudios en los que se analiza la estructura de preferencias de los consumidores de aceite de oliva. Los resultados de algunos de estos estudios muestran que los atributos extrínsecos, tales como precio o el origen son muy importantes a la hora de elegir un aceite frente a otro (Garcia et al., 2002, Dekhili et d'Hauteville, 2009, Dekhili et al., 2011), otros en cambio muestran la existencia de atributos valorados negativamente. Éste es el caso del sistema de producción ecológico, los consumidores otorgan una utilidad negativa a esta condición ya que consideran que el producto ya tiene suficientes beneficios en su estado tradicional y no es necesario pagar más para obtener mayores beneficios (Yangui et al., 2014).

En definitiva con este trabajo se pretende analizar la estructura de preferencias de los consumidores de aceite de oliva de Portugal, para que de esta forma se puedan proponer estrategias de actuación más eficientes. Buscando esa eficiencia, resulta especialmente interesante determinar las preferencias de distintos atributos de aceite de oliva en función del género.

Materiales y Métodos

Para este estudio, se entrevistó a 421 consumidores de aceite de oliva en Lisboa en agosto de 2015. Para diseñar la muestra, se utilizaron los datos recogidos en el Censo Nacional del Instituto Nacional de Estadística de Portugal sobre la población de Lisboa en el año 2012. El muestreo fue aleatorio y estratificado por población, sexo y grupo de edad. Los encuestados estaban a punto de comprar alimentos para su consumo en supermercados e hipermercados. El nivel de error fue inferior al 4,87%, para un nivel de confianza del 95,5% ($k = 2$), bajo el principio de máxima indeterminación ($p = q = 0,5$), tal y como se observa en la Tabla 1.

Dentro de las preguntas relativas al consumo de aceite de oliva, se incluyeron las encaminadas a detectar los objetivos propuestos: la composición y formación de las preferencias de los consumidores en función de la importancia que conceden en función de distintos atributos del aceite de oliva.

Respecto a las técnicas de análisis utilizada para determinar las preferencias del consumidor, se puede decir que existen dos modelos: los modelos composicionales (Wilkie y Pessemier, 1973), en los que el entrevistado proporciona su opinión sobre los diferentes atributos de un mismo producto, con lo que se estima la utilidad global del mismo por agregación, y los modelos descomposicionales, entre los que se encuentra el Análisis Conjunto (Green y Rao, 1971), en los que el sujeto informa de la preferencia global del perfil de un producto, estimando el investigador la importancia de cada uno de los atributos en la percepción global del sujeto (Vázquez, 1990).

En el caso del presente estudio y para el caso del aceite de oliva, a través de la bibliografía existente, entrevistas con expertos y de un cuestionario previo se han

seleccionado los atributos y niveles más representativos del proceso de compra del aceite por el consumidor. Los atributos (y sus niveles) identificados como más importantes han sido: el precio (2,90 €/litro; 3,80 €/litro y 4,40 €/litro), el tipo (Aceite de Oliva, Aceite de Oliva Virgen y Aceite de Oliva Virgen Extra), el envase (plástico frente a cristal) y, finalmente, el sistema de producción (ecológico y convencional). Con estos cuatro atributos y sus diez niveles se han obtenido 36 perfiles, lo que supone un número elevado de productos a mostrar al consumidor, por lo que se ha utilizado un diseño ortogonal (SPSS, 2009) que ha permitido reducir las combinaciones a nueve (Tabla 2).

La elección de un diseño ortogonal frente a la presentación de todas las combinaciones posibles de productos limita la obtención de información únicamente a los efectos principales de los atributos, eliminando las interacciones, pero presenta la ventaja de poder ofrecer sólo nueve productos a cada encuestado, estimándose que esta ventaja supera a dicho inconveniente (Kirk, 1982; Braña et al., 1995).

Una vez diseñadas las tarjetas de los aceites de oliva hipotéticos, éstas se presentaron a cada uno de los encuestados, quienes asignaron una puntuación de 1 a 10 a cada tarjeta en función de sus preferencias declaradas, con posibilidad de repetir puntuación en más de una tarjeta, correspondiendo el 1 al menor grado de preferencia y el 10 al mayor grado de preferencia (método de perfil completo), con el objeto de descubrir qué características presentan una mayor influencia sobre la preferencia total del aceite de oliva en cuestión, así como la importancia relativa de cada atributo.

La especificación del modelo de análisis conjunto parte de la hipótesis de que las preferencias de las personas entrevistadas, o la valoración global del aceite de oliva se obtiene a partir de las puntuaciones individuales de cada atributo, de tal manera que la suma de dichas puntuaciones genera la valoración global (Steenkamp, 1987). Se partió de un modelo aditivo ya que explica, en casi todos los casos, un porcentaje muy elevado (entre el 80% ó 90%) de la variación de la preferencia de los individuos (Hair et al., 1999). Su formulación se muestra en la siguiente ecuación:

$$Valoración = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i D_{1i} + \sum_{j=1}^3 \beta_j D_{2j} + \sum_{k=1}^3 \beta_k D_{3k} + \sum_{l=1}^2 \beta_l D_{4l}$$

donde β_{1i} , β_{2j} , β_{3k} y β_{4l} son los coeficientes asociados a los niveles i ($i=1,2,3$); j ($j=1,2,3$), k ($k=1,2,3$), y l ($l=1,2$) de los atributos precio (1), tipo (2), origen (3) y sistema (4), respectivamente, y donde D_{1i} , D_{2j} , D_{3k} y D_{4l} son las variables ficticias por cada atributo, considerando los niveles de cada atributo como categóricos.

El resultado final del programa Conjoint permite estimar las utilidades parciales de cada uno de los atributos y la utilidad total de cada perfil. Con las utilidades parciales de cada persona entrevistada y para determinar la estructura de preferencias de los consumidores, se calculó la importancia relativa (I.R.) de los atributos de cada una de ellas, así como la proporción de rango asignada a cada atributo sobre la variación de rangos total (Halbrendt et al., 1991; Hair et al., 1999);

$$IR(\%) = \frac{\max U_i - \min U_i}{\sum (\max U_i - \min U_i)} \times 100$$

donde: IR, es la importancia relativa, $\max U_i$, es la utilidad máxima, $\min U_i$ es la utilidad mínima.

Posteriormente se realizó una segmentación directa en función del sexo de los consumidores de aceite de oliva y se comprobó la estructura de preferencias (precio, tipo, origen y sistema) así como sus características distintivas.

Resultados y discusión

En general, los consumidores de aceite de oliva de Lisboa prefieren el aceite de oliva virgen extra, a un precio bajo, envasado en cristal y de producción ecológica, destaca de manera evidente la importancia que los consumidores conceden al precio del aceite de oliva, siendo esta una característica presente en los dos segmentos analizados.

Al dividir la población total en hombres y mujeres se observan algunas diferencias, sobretudo en relación a las utilidades relacionadas con el tipo de aceite. También se observan diferencias en las utilidades asignadas al precio y al sistema de producción pero no tan evidentes (Tabla 3).

Los hombres, representan el 48% de la población total y al igual que esta prefieren el aceite de oliva virgen extra a un precio bajo, siendo esta última condición la que les reporta una mayor utilidad. En caso de las mujeres (que representan el 52% de la población total) también otorgan una especial importancia al precio, aunque ligeramente inferior a la otorgada por los hombres.

Las diferencias más significativas aparecen al analizar el tipo de aceite, en este caso las mujeres únicamente obtienen utilidades positivas en el consumo de aceite de oliva virgen extra, frente a los hombres que únicamente muestran utilidades negativas cuando se trata de aceite de oliva. Ésto nos lleva a pensar que las mujeres valoran mucho más la calidad derivada de la condición de “virgen extra”.

También se observan diferencias significativas en el caso del sistema de producción, siendo las mujeres las que mayor utilidad obtienen del consumo de un aceite de producción ecológica y las mayor importancia dan a esta condición.

En relación a las características socioeconómicas de los grupos analizados, no existen diferencias significativas entre los mismos (Tabla 4).

Conclusiones

Según las preferencias declaradas por los consumidores de aceite de oliva, en Lisboa el aceite preferido es el de bajo precio, eso sí debe ser un aceite de oliva virgen extra envasado en cristal y de producción ecológica. Esto se cumple tanto para hombres como para mujeres. Destacando que el precio es más importante para los hombres y que las mujeres valoran más el tipo de aceite que consumen, concretamente únicamente el consumo de aceite de oliva virgen extra les reporta una utilidad positiva.

En definitiva, para conseguir satisfacer a los consumidores de aceite de oliva en esta zona sería necesario un producto muy competitivo con una buena relación calidad/precio, ya que se trata de consumidores muy sensibles al precio, pero que de igual forma valoran positivamente la presencia de otros indicios de calidad como la condición de “extra” en el aceite de oliva virgen, el envase de cristal y la producción ecológica.

Debido al hecho de que estos consumidores (tanto hombres como mujeres) valoran positivamente las cualidades extrínsecas del aceite sería adecuado invertir en campañas de comunicación de carácter informativo en las cuales se explique al consumidor el diferencial de precio que puede existir entre un aceite de oliva frente a un aceite de oliva virgen extra, en muchas ocasiones el consumidor desconoce la diferencia.

Referencias

- Braña, T., Ferraces, M. J., & Varela, J. (1995). Diseño factorial incompleto. IV Simposium de Metodología de las Ciencias del Comportamiento. Murcia.
- Comisión Europea (2015). Agricultura y Desarrollo Rural. Aceite de Oliva. http://ec.europa.eu/agriculture/olive-oil/index_en.htm. [Diciembre, 2016]

- Dekhili, S., d'Hauteville, F. (2009). Effect of the region of origin on the perceived quality of olive oil: An experimental approach using a control group. *Food Quality and Preference*, 20, 525–532.
- Dekhili, S., Sirieix, L., & Cohen, E. (2011). How consumers choose olive oil: The importance of origin cues. *Food Quality and Preference*, 22, 757-762.
- García, M., Aragonés, Z., & Poole, N. (2002). A repositioning strategy for olive oil in the UK market. *Agribusiness*, 18, 163-180.
- Green, P.E., & Rao, V.R. (1971). Conjoint Measurement from Quantifying Judgemental Data. *Journal of Marketing Research*, 8, 355-363.
- Grunert, K. (2005). Food quality and safety: consumer perception and demand. *European Review of Agricultural Economics*, 32 (3), 369-391.
- Hair, J.F.; Anderson, R.E.; Tatham, R.L., & Black, W.C. (1999). *Análisis multivariante*. Prentice-Hall. Madrid.
- Halbrendt, C.K.; Wirth, E.F., & Vaughn, G.F. (1991). Conjoint analysis of the Mid-Atlantic food-fish market for farm-raised hybrid striped bass. *Southern Journal of Agricultural Economics*, July, 155-163.
- International Olive Council (IOC) (2015). Trends in world olive oil consumption. <http://www.oliveoilmarket.eu/trends-in-world-olive-oil-consumption-ioc-report/> Accessed 8.12.2016.
- Kirk, J. (1982). *Experimental design: Procedures for the behavioural sciences*. (2nd ed.). Brooks-Cole Co. Monterrey, CA
- SPSS, Inc. (2009). *SPSS Categories*. Version 15.0. Chicago
- Steenkamp, J.B. (1987). Conjoint measurement in ham quality evaluation. *Journal of Agricultural Economics*, 38, 473-480.
- Vázquez, R. (1990). Investigación de las preferencias del consumidor mediante Análisis Conjunto. Importancia para el Diseño de nuevos productos Información Comercial Española, Julio, 149-163.
- Wilkie, W. L., & Pessemier, E.A. (1973). Issues in Marketing's Use Of Multi-attribute Attitude Models. *Journal of Marketink Research*, X, November, 428-441.
- Yangui, A., Costa-Font, M., Gil, J.M. (2014). Revealing additional preference heterogeneity with an extended random parameter logit model: the case of extra virgin olive oil. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12, 553-567.

Tablas y Figuras

Tabla 1- Ficha técnica

ÁMBITO	Ciudad de Lisboa (Portugal)
UNIVERSO	Consumidores de aceite de oliva mayores de edad.
TAMAÑO MUESTRAL	421 encuestas
ERROR MUESTRAL	±4,87%.
NIVEL DE CONFIANZA	95,5% (k=2).
MUESTREO	Aleatorio estratificado con afijación proporcional por población en el distrito, género y edad.
CONTROL	De coherencia y estabilidad.
CUESTIONARIO PREVIO	Pretest a 25 personas.
TRABAJO DE CAMPO	Agosto 2015.

Tabla 2- Tarjetas de aceites hipotéticos expuestos a los encuestados

Nº Tarjeta	Precio ¹	Tipo	Envase	Sistema
1	2,90	Aceite Oliva	Plastico	Convencional
2	3,80	Aceite Oliva	Cristal	Convencional
3	3,80	Aceite Oliva Virgen	Cristal	Convencional
4	2,90	Aceite Oliva Virgen	Cristal	Ecológico
5	4,40	Aceite Oliva Virgen	Plastico	Convencional
6	4,40	Aceite Oliva Virgen Extra	Cristal	Convencional
7	2,90	Aceite Oliva Virgen Extra	Cristal	Convencional
8	4,40	Aceite Oliva	Cristal	Ecológico
9	3,80	Aceite Oliva Virgen Extra	Plastico	Ecológico

Tabla 3- Utilidades asignadas a los niveles de los atributos

Atributos y niveles	Población total		Hombres 48,0(%) ¹		Mujeres 52,0(%) ¹	
	IR (%)	Util.	IR (%)	Util.	IR (%)	Util.
Precio	62,26		64,99		59,75	
2,9€/litro		2,681		2,725		2,641
3,8 €/litro*		0,094		0,188		0,008
4,4 €/litro*		-2,776		-2,913		-2,649
Tipo	16,99		14,83		18,97	
Aceite Oliva Virgen Extra***		0,471		0,306		0,623
Aceite de Oliva Virgen		-0,013		0,014		-0,038
Aceite de Oliva***		-0,458		-0,320		-0,585
Envase	12,11		12,06		12,16	
Vidrio		0,398		0,393		0,403
Plástico		-0,398		-0,393		-0,403
Sistema	8,64		8,12		9,12	
Convencional**		-0,140		-0,044		-0,159
Ecológico**		0,104		0,044		0,159

¹Tamaño del segmento. IR = Importancia Relativa

*, ** y ***Indica diferencias significativas con un error máximo de un 10%, 5% y 1%, respectivamente.

Tabla 4- Características socioeconómicas de los consumidores

Variable	Hombres 48,0(%)¹	Mujeres 52,0(%)¹
Edad		
<i>De 18 a 24 años</i>	11,9%	14,2%
<i>De 25 a 34 años</i>	17,8%	21,9%
<i>De 35 a 49 años</i>	17,8%	16,4%
<i>De 50 a 64 años</i>	17,8%	16,4%
<i>Más de 64 años</i>	34,7%	31,1%
Nivel de Estudios		
<i>Primarios</i>	34,0%	32,6%
<i>Secundarios</i>	18,9%	20,6%
<i>Superiores</i>	47,1%	46,8%
Actividad profesional		
<i>Ama de casa</i>	0,0%	0,4%
<i>Asalariado</i>	36,8%	41,1%
<i>Empresario</i>	10,0%	5,5%
<i>Estudiante</i>	11,4%	16,0%
<i>Jubilado</i>	33,3%	30,6%
<i>Desempleado</i>	8,0%	5,9%
<i>Otros</i>	0,5%	0,5%
Nivel de Renta		
<i>Hasta 500€</i>	3,5%	2,3%
<i>Entre 500 y 900€</i>	8,1%	9,9%
<i>Entre 901€ y 1500€</i>	36,9%	39,9%
<i>Entre 1501€ y 2100€</i>	28,8%	27,2%
<i>Entre 2101€ y 3000€</i>	14,6%	14,6%
<i>Más de 3000€</i>	8,1%	6,1%

¹Tamaño del segmento

Sessão Temática: Ornamentais

Festival Internacional de Jardins de Ponte de Lima: evolução histórica e sustentabilidade ambiental

Gabriela Dias¹, Ana Leitão¹, Luís Miguel Brito^{1,2} & Luísa Moura^{1,2}

¹ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. E-mail: gabriela@esa.ipvc.pt

² Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima. E-mail: miguelbrito@esa.ipvc.pt; luisamoura@esa.ipvc.pt

Resumo

As exposições internacionais de jardins potenciam o desenvolvimento socioeconómico e ambiental dos locais onde se realizam, servindo atualmente de modelo em matéria de urbanismo sustentável. O município de Ponte de Lima empreende desde 2005 o seu Festival Internacional de Jardins (FIJPL), o qual se afirma hoje como um veículo importante de divulgação da região.

No presente estudo, sistematizaram-se os dados referentes às XI edições do FIJPL (2005-2015), no que se refere aos participantes, países envolvidos, opções de design e construção das propostas apresentadas, assim como aspetos associados à sua manutenção. Para perceber os impactes no ambiente, decorrentes da implementação do evento, avaliaram-se as características químicas e microbiológicas dos solos e da água, na área onde decorre o evento, e zonas contíguas, de forma a comparar o efeito da utilização intensiva do solo. O interesse deste evento para Ponte de Lima e para a região é evidenciado pelo aumento crescente do número de visitantes do festival ao longo das XI edições, tendo contado com a participação de equipas de 17 países de diferentes continentes. No que respeita às opções de material vegetal adotadas na concretização das propostas, conclui-se que apenas nas três primeiras edições foram utilizadas mais espécies autóctones. Foi evidenciado que a partir da VI edição a maioria dos autores passou a privilegiar claramente a utilização de espécies exóticas.

O resultado das análises de solo efetuadas nos subespaços ocupados pelas propostas indicam que não se registam valores que possam ser considerados poluentes. A água de rega apresentou valores que se situam dentro dos valores paramétricos, sendo portanto utilizável para rega. A análise das comunidades microbianas evidenciou variações nos diferentes subespaços do FIJPL.

O resultado dos inquéritos, realizados na edição de 2015, mostraram que os visitantes são sensíveis às questões relacionadas com a sustentabilidade ambiental dos espaços verdes.

Palavras-chave: ambiente urbano, diversidade microbiana, espaços verdes efémeros, espaços verdes sustentáveis.

Abstract

The international gardens exhibitions promote the socio-economic and environmental development of the places where they are held, currently serving as a model for sustainable urbanism. Since 2005, the Municipality of Ponte de Lima has been undertaking its International Gardens Festival (FIJPL), which is today an important vehicle for promoting the region.

In the present study, the data related to the XI editions of the FIJPL (2005-2015) were systematized in terms of the participants, countries involved, design and

construction options, as well as aspects related to their maintenance. In order to understand the environmental impacts of the event, the chemical and microbiological characteristics of the soils and water were evaluated in the area where the event takes place, and contiguous zones, in order to compare the effect of the intensive use of the soil. The interest of this event for Ponte de Lima and for the region is evidenced by the increasing number of visitors of the festival during the XI editions, counting on the participation of teams from 17 countries from different continents.

Regarding the plant material options adopted in the proposals, it is concluded that only in the first three editions were used more native species. There is evidence that from the sixth edition most of the authors clearly favored the use of exotic species.

The results of the soil analyzes carried out in the subspaces occupied by the proposals indicate that there are no values that can be considered polluting. The irrigation water presents values that are within the parametric values, being therefore usable for irrigation. The analysis of the microbial communities show variations in the different subspaces of the FIJPL.

The survey results, conducted in the 2015 edition, showed that visitors are sensitive to issues related to the environmental sustainability of green spaces.

Keywords: Ephemeral green spaces, microbial diversity, sustainable green spaces, urban environment.

Introdução

O conceito de Festival Jardim teve origem na Alemanha no pós-guerra, em resposta à necessidade de reconstrução dos centros urbanos, que envolveu a criação de novos parques, jardins e espaços de lazer. O primeiro Festival de Jardins foi realizado em Hanover, em 1951 (Merrington, 2016). No Reino Unido, por influência do sucesso registado na Alemanha, os Festivais de Jardins tiveram início na década de 1980, onde terão surgido no quadro de uma estratégia de regeneração urbana em paisagens pós-industriais, e com grande enfoque na revitalização da economia urbana. Data de 1984, o primeiro evento no Reino Unido, em Liverpool (Theokas, 2004).

Entre os eventos mais recentemente criados, destaca-se, pelo reconhecimento que tem a nível mundial, o Festival Internacional de Jardins de “Chaumont-sur-Loire”, em Paris, França, que teve o seu início em 1992, e ainda o Festival de Jardins realizado, desde 2000, nos “Jardins de Métis”, também conhecidos por “Reford Gardens”, que se localizam no Quebec, Canadá. Porém, países como a Nova Zelândia, Austrália, Singapura, Irlanda, Holanda, Canadá ou Estados Unidos da América estão também familiarizados com este tipo de eventos.

Ponte de Lima aposta na dinamização de um evento deste tipo desde 2005. O Festival Internacional de Jardins de Ponte de Lima (abaixo designado de forma abreviada por FIJPL) realiza-se numa área de 2,5 ha, localizada na Vila de Arcozelo, na margem direita do Rio Lima (figura 1). O FIJPL é um evento único em Portugal e que se realiza anualmente. O projeto original é da responsabilidade dos arquitetos paisagistas Francisco Caldeira Cabral e Elsa Severino.

Estes eventos funcionam como laboratórios, onde se desenvolvem novos conceitos e se implementam soluções inovadoras, servindo de referência a futuras intervenções ao nível do planeamento, design e gestão de espaços verdes urbanos. Servem igualmente como meio de sensibilização para as questões ambientais e outras relacionadas com a qualidade de vida, atingindo direta e indiretamente milhões de pessoas, durante a sua realização, assim como no período que sucede à exposição. São múltiplos os estudos científicos que hoje evidenciam os benefícios que os espaços verdes

podem garantir, evidenciando-se os que estão relacionados com a mitigação e adaptação às alterações climáticas (Gill et al., 2007), com a regulação do ciclo hidrológico (Kirnbauer et al., 2013), a promoção da biodiversidade (Hostetler et al., 2011; McKinney, 2008), a redução dos efeitos de Ilha de Calor Urbano (ICU) (Bowler et al., 2010) e, também a melhoria da saúde humana, em particular saúde psicológica e bem-estar (Thompson, 2011; Tzoulas et al., 2007; Adevi e Lieberg, 2012), a melhoria do desempenho escolar das crianças (Wells, 2000), a redução de várias doenças, por exemplo a obesidade (Bell et al., 2008), apenas para destacar alguns. Incentivar o uso e cultivar o gosto pelo tema dos espaços verdes é fundamental nos dias de hoje.

Os objetivos do presente estudo são analisar a dinâmica do FJPL, desde a sua 1.^a edição em 2005 até 2015, e avaliar as incidências ambientais que resultam da implementação do evento.

Materiais e métodos

O estudo do festival, ao longo das suas XI edições (2005-2015), foi desenvolvido com base em documentação e informação diversa disponibilizada pela CMPL relativa aos processos de candidatura, equipas concorrentes, entidades apoiantes do festival, registos do número de visitantes em cada edição e com base nos Catálogos do FIJPL, publicados anualmente pela CMPL para cada uma das edições do festival. Paralelamente, analisou-se o projeto base e realizaram-se várias visitas ao espaço no sentido de efetuar o levantamento das condições presentes, incluindo a identificação das espécies vegetais presentes. A informação foi analisada, organizada e sintetizada, no que se refere a material vegetal aplicado, procurando evidenciar-se a prevalência de utilização de espécies autóctones ou exóticas ao longo das XI edições do festival, aos materiais inertes e equipamentos, analisando a diversidade de opções aplicadas. Fez-se ainda o registo de todas as ações de manutenção associadas.

Realizou-se um inquérito aos visitantes da XI edição (2015), com o objetivo de conhecer as motivações que levam as pessoas a visitar o espaço do FIJPL e perceber porque valorizam eventos como este. Realizaram-se 75 inquéritos a visitantes portugueses e 12 inquéritos a visitantes estrangeiros.

Para a análise das características do solo dos subespaços onde se instalam os jardins do festival, procedeu-se à recolha de amostras de solo da área de cada jardim (12 subespaços) e do espaço ajardinado envolvente, utilizado como controlo (M). Cada amostra foi obtida pela mistura de 6 sub-amostras colhidas na camada entre 0-20 cm. Efetuou-se a determinação do pH, condutividade elétrica (CE), teor de matéria orgânica (MO), fósforo e potássio extraível-assimilável, cálcio e magnésio total, cobre, níquel, crómio, cádmio, sódio, ferro, zinco e manganês, seguindo-se as normas laboratoriais do Laboratório de Solos da Escola Superior Agrária/IPVC. Para análise química da água utilizada na rega dos jardins efetuou-se uma colheita única pois toda a água utilizada é proveniente do mesmo local, sendo água oriunda do Rio Lima. Seguiram-se os procedimentos do laboratório IDEALQ (Investigação, Desenvolvimento e Análises em Laboratórios de Químicas) da Escola Superior de Tecnologia e Gestão/IPVC, utilizando as normas para água de consumo humano (DL n.º 306/2007 de 27 de agosto).

A análise da diversidade microbiológica do solo de cada subespaço foi analisada pelos perfis fisiológicos das comunidades microbianas, determinados através da análise dos padrões de utilização de 31 substratos de carbono presentes em microplacas ECOPLATE (BIOLOG®, Hayward, Califórnia, EUA) como descrito por Garland & Mills (1991) e Calbrix et al. (2005). Para cada subespaço utilizou-se uma microplaca, que inclui três repetições de cada substrato analisado. As microplacas foram incubadas a 25 °C e a absorvância lida a 590 nm a intervalos de 24 horas durante um período de 7 dias

(168 h) usando um leitor de microplacas ELISA. Os dados foram usados para avaliação da diversidade funcional (catabolismo potencial) e para realização das análises estatísticas.

O valor médio de desenvolvimento da cor “average well color development” (AWCD), resultante da oxidação de substratos durante a respiração dos microrganismos, foi calculado seguindo a metodologia descrita por Choi e Dobbs (1999) e Gómez-Luna (2012). Os dados das 31 fontes de carbono foram subdivididos em seis categorias de substratos: hidratos de carbono, ácidos carboxílicos, aminas e amidas, compostos fenólicos, polímeros e outros (Zak et al., 1994) e utilizados para análise da diversidade metabólica. Calcularam-se os índices de diversidade (S), definido como a riqueza de substratos, (H), como índice de diversidade de Shannon e (E), como uniformidade de Shannon, em que se refere ao número de diferentes substratos que podem ser utilizados pela comunidade microbiana, enquanto H compreende tanto a riqueza de substratos como a intensidade com que as fontes de carbono são utilizadas pela microbiota do solo, $H = -\sum p_i \ln p_i$, sendo p_i a razão entre a atividade de um determinado substrato e a soma da atividade de todos os substratos. O índice E mede o equilíbrio de proporções entre substratos, e é utilizado para definir a uniformidade, ou homogeneidade, da distribuição de abundância de substratos utilizados numa comunidade: $E = H / \ln S$, em que H é a diversidade de Shannon e S, a riqueza de substratos (Fulthorpe e Allen, 1994; Choi e Dobbs, 1999). No tratamento estatístico dos dados realizou-se a análise de variância (ANOVA), recorrendo ao programa SPSS, v20. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

O número de candidaturas apresentadas em cada uma das edições do festival é um indicador importante que evidencia o interesse pela iniciativa. Desde a I edição (2005) à VI (2009), o número de candidaturas foi sempre crescente, com um máximo de 77 candidaturas. Após este período, observou-se uma diminuição do número de candidaturas apresentadas, de 58 e 43, respetivamente nas edições de 2010 e 2011. Na X edição, o número de candidaturas voltou a aumentar (55 candidaturas) e no ano seguinte, em 2011 assistiu-se novamente a uma diminuição. Na I edição, as propostas para os subespaços foram efetuadas por os arquitetos responsáveis pelo projeto base do espaço que acolhe o evento, não havendo lugar a candidaturas espontâneas. O menor número de candidaturas ocorreu na II edição, com apenas 19 candidaturas apresentadas.

A divulgação do FIJPL e o sucesso alcançado, ao longo dos vários anos de realização deste evento, conduziu a que o interesse da participação de diferentes equipas fosse fomentado não só a nível nacional, mas também a nível internacional. Ao longo das XI edições do FIJPL participaram equipas de 17 países de diferentes continentes. Portugal é naturalmente o país com maior número de participantes, totalizando 68 candidaturas, seguindo-se as equipas oriundas de Espanha.

A evolução do número de visitantes é crescente até à VII edição, assistindo-se a partir daí a uma estabilização do número de visitantes, com valores próximos dos 100 mil.

Foram realizados 75 inquéritos aos visitantes portugueses e estrangeiros durante o mês de agosto de 2015. Os resultados relativos à opinião dos visitantes para a questão “Para si, um jardim sustentável tem que caraterísticas” revelam que os visitantes entendem que a sustentabilidade dos jardins está associada à presença de plantas de frutificação densa para atrair os pássaros e abelhas (44%), possuir estrato vegetal capaz de atrair fauna silvestre (37%), ter menor área impermeável (36%), ter plantas autóctones (32%). Os resultados dos inquéritos revelaram que 56% dos visitantes inquiridos

(portugueses e estrangeiros) têm jardim, sendo este aspeto mais relevante no caso dos visitantes estrangeiros, já que 75% responderam afirmativamente à questão. As respostas obtidas à questão “O que já mudou no seu jardim para que seja mais sustentável?” foram diversas. No caso dos inquiridos nacionais a resposta converge para: a) redução do consumo de água; b) reforço da plantação de árvores; c) reforço da plantação de árvores de fruto e d) compostagem. As respostas dos visitantes focam o seguinte: a) aumento de áreas de prado espontâneo; b) aumento de zonas de sombra; c) aproveitamento de água da chuva para rega; d) compostagem; e) aumento de árvores de fruto e hortícolas; f) maior número de plantas que favoreçam a polinização.

A importância que os visitantes portugueses atribuem a este evento é evidenciada pelos resultados do inquérito. Mais de metade dos inquiridos portugueses (54%) visitaram o festival em edições anteriores. Já no caso dos visitantes estrangeiros, apenas 16,7 % tinham estado presentes em edições anteriores do festival. 90,3% dos inquiridos portugueses e 88,9% dos inquiridos estrangeiros, consideram que todos os jardins do FIJPL são sustentáveis. Apenas 9,7% dos portugueses responderam que nenhum jardim era sustentável.

A sistematização da informação relativa ao tipo de plantas adotadas nas propostas implementadas nos espaços do FIJPL permitiu verificar que o maior número de subespaços em que se utilizaram plantas autóctones (50-100%) está evidenciado até à VI edição (2010). A partir daí, e até edição de 2015, é notório que a maioria dos autores passou a dar menos importância às espécies autóctones, privilegiando claramente a utilização de espécies exóticas (50-100% das espécies utilizadas).

Considerando a evolução do número total de espécies utilizadas nos subespaços ao longo das XI edições do FIJPL (figura 2), verifica-se que em todas as edições foram utilizadas mais plantas exóticas (ex: edição VII: 154 espécies de plantas exóticas e 20 espécies de plantas autóctones), tendo ainda havido um aumento na sua utilização da edição VI para a edição IX.

Quanto às plantas autóctones, verifica-se que há um aumento na sua utilização da I edição (2005) à IV edição (2008), seguindo-se um período (IV edição, 2008 à VIII edição, 2012) em que os autores não tiveram preocupação em utilizar estas plantas, que foram substituídas por plantas exóticas. O espaço possui um elenco florístico permanente muito diversificado, porém também com domínio de espécies vegetais exóticas. Como o espaço em que se desenvolve o FIJPL se encontra classificado como Rede Natura 2000, seria importante um maior domínio de espécies autóctones.

No que se refere às operações de manutenção, verifica-se que há nas últimas edições a preocupação pela aplicação de produtos biológicos ao nível dos tratamentos fitossanitários. A rega é efetuada com recurso a sistema de rega automático, sendo a captação da água efetuada diretamente no Rio Lima.

Relativamente às análises do solo conclui-se que com exceção de um subespaço (K) todos os restantes apresentam textura mediana e pH pouco ácido ou ácido, variando entre 5 e 6,9 (Quadro 1). Os teores de matéria orgânica variam entre 4,3% e 8,1%, apresentando na maioria dos canteiros valores altos ou muito altos no caso B. Os teores do fósforo são médios ($48 \mu\text{g g}^{-1}$) a muito altos ($279 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo os valores do potássio médios ($66 \mu\text{g g}^{-1}$) a altos ($164 \mu\text{g g}^{-1}$). Para os micronutrientes analisados verificou-se que não existe grande variação nos teores quantificados nos diferentes canteiros. São, contudo, exceção os valores do Cobre (em média $2,3 \pm 1,0 \mu\text{g g}^{-1}$), mais baixo ($0,6 \mu\text{g g}^{-1}$) e mais altos ($5,0 \mu\text{g g}^{-1}$) nos canteiros G e L, respetivamente.

A água utilizada na rega mostrou que os valores de pH (6,4) e condutividade ($84 \mu\text{S cm}^{-1}$) estão dentro dos valores mais favoráveis para o solo e para a maioria das culturas, sendo os valores dos nitratos ($1,54 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$) e azoto amoniacal ($<4,5 \times 10^{-2}$

mg NH₄⁺ L⁻¹) muito inferiores ao valor paramétrico, o que indica que a água é segura para rega. Do mesmo modo, os valores do alumínio, manganês e ferro encontram-se abaixo do Valor Máximo Admissível definido pela legislação em vigor, o que indica que a água é segura para rega.

Os resultados da utilização de fontes de carbono (Microplacas EcoPlate/Biolog) apresentam-se na figura 3. O perfil metabólico da Zona de Lazer (M), que não está sujeita à sequência anual das práticas culturais e técnicas de construção e manutenção utilizadas nos subespaços do FIJPL, utilizado neste estudo como controlo/comparação, apresentou perfis metabólicos idênticos aos subespaços A, C, D, E, H, I e J, sendo significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos perfis de B, E, F, K e G (figura 3a). Para o conjunto dos subespaços verificou-se que as populações utilizam mais aminoácidos e menos compostos fenólicos (figura 3b). De acordo com (Grayston et al., 2004) estas variações no perfil metabólico de comunidades microbianas podem estar relacionadas com fatores como a diversidade vegetal de cada área e as características químicas (pH e teores de nutrientes) e físicas (porosidade, estabilidade de agregados e estrutura) observadas em cada solo.

A escala de H para as placas EcoPlate varia de 0 a 4 (Zak et al., 1994). Nos solos dos subespaços estudados, os valores de H obtidos são próximos de 3, portanto elevados. O índice de diversidade de Shannon (H) da Zona de Lazer (H=3,2) apenas difere dos subespaços I e J que têm valores inferiores ($p < 0,05$). O valor de E é sempre semelhante em todos os subespaços, e muito elevado (próximo de 1), indicando que a atividade enzimática nos substratos degradados é semelhante. Os subespaços E e F, conjugam uma grande riqueza (S) de substratos degradados com um valor de E muito elevado, indicando que existe uma grande quantidade de substratos com atividade muito proporcional entre eles, o que faz elevar o valor de H (diversidade). Contudo, salienta-se que os valores elevados de S, H e E nos subespaços E e F, são estatisticamente idênticos aos da Zona de Lazer (M). Nesta área com funções distintas da dos canteiros do FIJPL, as práticas de manutenção do relvado são naturalmente diferentes das do FIJPL, não havendo por exemplo, mobilizações do solo anual, que poderiam afetar a estrutura e composição das comunidades microbianas, que se esperariam mais estáveis. Apesar de ser zona que apresenta maior riqueza na capacidade de utilização de substratos de carbono, apresentando também maior percentagem de matéria orgânica, e simultaneamente valores de H e E elevados, os resultados são idênticos aos registados para vários canteiros do FIJPL.

Conclusões

O estudo do historial do FIJPL demonstrou que este evento tem tido elevado interesse, nas várias vertentes analisadas. Reflexo disso é a variação do número de candidaturas apresentadas a concurso anos após ano, tendo tido um máximo de 77 candidaturas na VI edição do festival. A clara adesão dos visitantes ao evento, com uma evolução crescente até à VII edição, onde foram atingidos 100 mil visitantes, bem como o número de apoios concedidos para a implementação de cada edição (máximo de apoio de 40 entidades), sempre crescente até ao ano de 2008, testemunham a importância e dinâmica do FIJPL. Portugal é o país que tem apresentado mais candidaturas e que naturalmente mais participações tem ao longo das edições do FIJPL.

A utilização de plantas exóticas foi privilegiada em detrimento das autóctones, em muitas edições do festival, sendo mais acentuada a partir da VI edição (2010) e, apenas nas três primeiras edições se utilizaram mais espécies autóctones.

Foi possível constatar, através dos inquéritos realizados, que os visitantes são sensíveis às questões relacionadas com a sustentabilidade ambiental.

O resultado das análises de solo, efetuadas nos subespaços ocupados pelas propostas, indicam que não se registam valores que possam ser considerados poluentes. A água de rega apresenta valores que se situam dentro dos valores paramétricos, sendo, portanto, utilizável para rega. A análise das comunidades microbianas mostrou que apesar de se terem encontrado diferenças entre os perfis metabólicos nos solos dos canteiros do FIJPL, não foi possível relacionar essas diferenças com a sequência de espécies vegetais e a prevalência de espécies autóctones ou exóticas utilizadas ao longo dos anos num mesmo canteiro, nem com as práticas agronómicas de construção e manutenção associadas a determinado projeto.

Referências bibliográficas

- Adevi, Anna A., Mats Lieberg. 2012. Stress Rehabilitation through Garden Therapy. A Caregiver Perspective on Factors Considered Most Essential to the Recovery Process. *Urban Forestry and Urban Greening*, 11 (1): 51–58.
- Bell, J F, J S Wilson, G C Liu. 2008. Neighborhood Greenness and 2-Year Changes in Body Mass Index of Children and Youth. *American Journal of Preventive Medicine*. 35 (1873–2607 (Electronic)). Department of Health Services, School of Public Health and Community Medicine, University of Washington, Seattle, Washington 98195-7230, USA. jfbell@u.washington.edu: 547–53.
- Bowler, D. E., L. Buyung-Ali, T. M. Knight, A. S. Pullin. 2010. Urban Greening to Cool Towns and Cities: A Systematic Review of the Empirical Evidence. *Landscape & Urban Planning*, 97: 147–55.
- Calbrix, R., Laval, K., Barray, S. 2005. Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: A reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *Eur. J Soil Biol*, 41 (1): 11-20.
- Choi, Keun Hyung e Fred C. Dobbs. 1999. Comparison of Two Kinds of Biolog Microplates (GN and ECO) in Their Ability to Distinguish among Aquatic Microbial Communities. *Journal of Microbiological Methods*, 36 (3): 203–13.
- Fulthorpe, R R, D G Allen. 1994. Evaluation of Biolog MT Plates for Aromatic and Chloroaromatic Substrate Utilization Tests. *Canadian Journal of Microbiology*, 40: 1067–71.
- Garland, J. L., A. L. Mills. 1991. Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Patterns of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (8): 2351–2359.
- Grayston, S.J.; Ampbell, C.D.; Bardgett, R.D.; Mawdsley, J.L.; Clegg, C.D.; Ritz, K.; Griffiths, B.S.; Rodwell, J.S.; Edwards, S.J.; Davies, W.J.; Elston, D.J.; Millard, P. 2004. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands differing in management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Applied Soil Ecology*, 25: 63-84.
- Gill, S E, J F Handley, A R Ennos, S Pauleit. 2007. Adapting Cities for Climate Change: The Role of the Green Infrastructure. *Built Environment Climate Change and Cities* 33 (1): 115–33.
- Hostetler, Mark, Will Allen, Colin Meurk. 2011. Conserving Urban Biodiversity? Creating Green Infrastructure Is Only the First Step. *Landscape and Urban Planning*, 100 (4): 369–71.
- Kirnbauer, M. C., Baetz, B. W., & Kenney, W. A. 2013. Estimating the stormwater attenuation benefits derived from planting four monoculture species of deciduous trees on vacant and underutilized urban land parcels. *Urban Forestry and Urban Greening*, 12(3): 401–407.

- McKinney, Michael L. 2008. Effects of Urbanization on Species Richness: A Review of Plants and Animals. *Urban Ecosystems*, 11 (2): 161–76.
- Merrington, P. 2016. Festival as process: art, territory, assemblage and mobility in North East England 2003-2012. PhD Thesis. School of Arts and Cultures. Newcastle University.
- Theokas, Andrew C. 2004. *Grounds for review: the garden festival in urban planning and design*. Liverpool: Liverpool University Press, 289 pp.
- Tzoulas, Konstantinos, Kaveji Korpela, Stephen Venn. 2007. Promoting Ecosystem and Human Health in Urban Areas Using Green Infrastructure: A Literature Review. *Landscape and Urban Planning*, 81 (3): 167–78.
- Zak, J, M Willig, D Moorhead, H Wildman. 1994. Functional Diversity of Microbial Communities: A Quantitative Approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 26 (9): 1101–8.
- Ward Thompson, Catharine. 2011. Linking Landscape and Health: The Recurring Theme. *Landscape and Urban Planning*, 99 (3-4): 187-195.
- Wells, N. M. 2000. At Home with Nature: Effects of ‘Greenness’ on Children’s Cognitive Functioning. *Environment and Behavior*, 32 (6): 775–95.

Quadros e Figuras

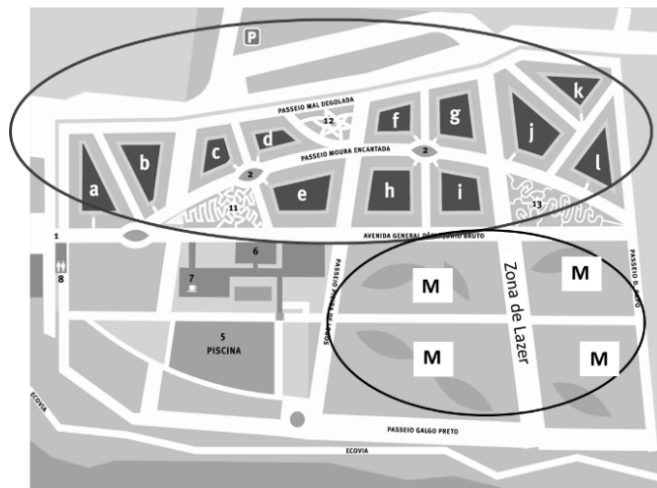


Figura 1- Subespaços do FIIPL; A a L subespaços destinados ao concurso; M – zona de lazer (controlo)

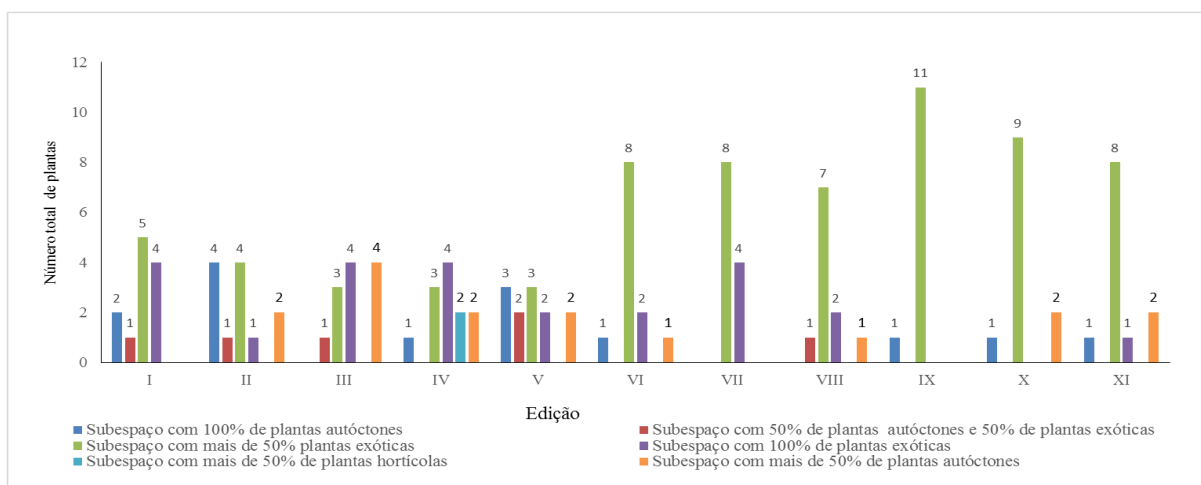


Figura 2- Evolução do número de espécies autóctones e exóticas utilizadas nos subespaços ao longo das várias edições

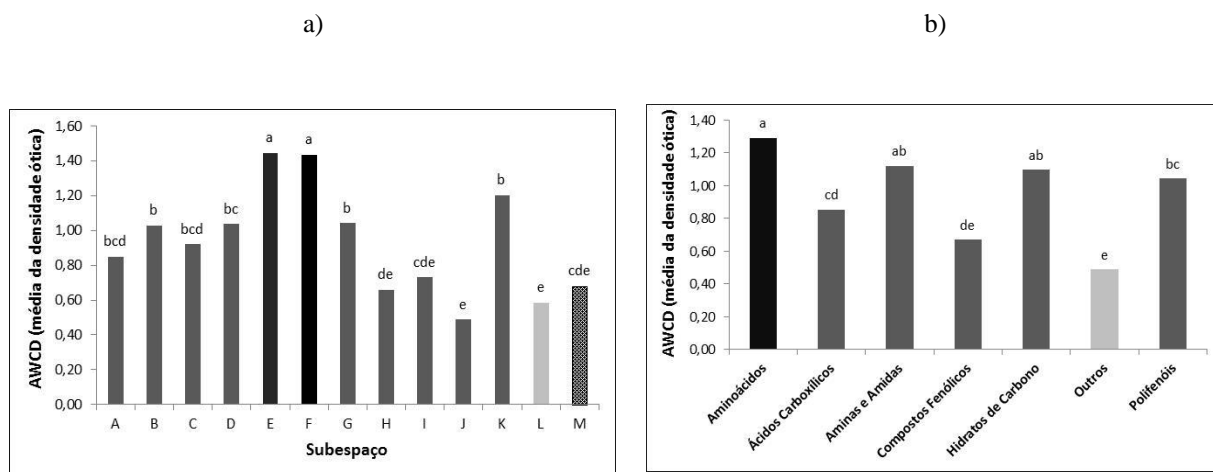


Figura 3- a) Utilização de substratos de carbono pela comunidade microbiana dos solos dos subespaços A a L da XI edição do FIFPL (2015), M-Zona de Lazer (controlo); b) Utilização de substratos de carbono por grupos. Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes, de acordo com teste de Duncan ($p < 0,05$).

Quadro 1. Características dos solos dos subespaços A a L da XI edição do FIFPL (2015); M-Zona de Lazer (controlo).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
pH (H ₂ O)	6,1	6,3	6,0	6,0	5,9	6,2	6,3	5,3	5,8	6,9	6,5	5,0	5,9
MO (%)	5,7	7,2	6,5	4,6	6,5	4,9	5,2	4,3	6,9	5,6	4,4	6,1	8,1
P ₂ O ₅ (µg g ⁻¹)	103	165	155	217	279	139	186	48	256	279	106	62	126
K ₂ O (µg g ⁻¹)	164	131	162	138	148	89	105	66	116	103	84	104	124
Ca (µg g ⁻¹)	1299	1252	1362	774	1406	1110	1679	414	1152	2038	1468	248	1438
Mg (µg g ⁻¹)	125	97	121	56	127	70	109	68	108	84	62	69	97

Comportamiento ornamental de distintas mezclas de gramíneas C₄ y autóctonas C₃ frente a mezclas estándar para formación de praderas

José F. Marín Peira¹; Juan Ruiz-Fernández²; Alberto Masaguer Rodríguez¹; Pedro V. Mauri Ablanque²

¹ETSIAAB-Universidad Politécnica de Madrid, España. ² IMIDRA, España.

Resumen

Se evalúa el cultivo de tres especies de gramíneas C₄: *Cynodon dactylon* “Gobi” (Cy), *Zoysia japónica* “Zenith” (Zo), y *Buchloe dactyloides* “Texoca” (Bu), combinado con las especies autóctonas C₃: *Brachipodium dystachion* (Br), *Poa bulbosa* (Pb) y *Vulpia myuros* (Vu) en las mezclas: Cy+Br, Cy+Vu, Bu+Br, Bu+Vu; Zo+Br, Zo+Vu; Cy+Pb, y Br+Vu al objeto de conocer la compatibilidad entre si y el comportamiento ornamental frente a una mezcla estándar compuesta por: *Festuca arundinacea* “Terrano” (Fa)+*Lolium perenne* “Sun” (Lp)+*Poa pratensis* “Parafin” (Pp) en aras de una mayor sostenibilidad.

A la hora de analizar la compatibilidad de las combinaciones para la formación de praderas, se valora la agresividad-dominancia de las especies utilizadas mediante el estudio de la presencia-abundancia de las mismas sobre las mezclas planteadas.

La producción de materia fresca y seca producida en los diversos cortes realizados y las distintas alturas alcanzadas en cada tipo de mezclas permite analizar su comportamiento tanto de las combinaciones entre si como de estas con la mezcla estándar.

Se comprueba el desarrollo de las distintas mezclas en sus primeras fases de cultivo, testando la diferente agresividad que muestran las especies C₃ frente a las C₄, destacando una alta ocupación por parte de las mezclas con Vu en sus distintas combinaciones en relación con las que contienen Br o Pb durante su primer año de implantación.

Palabras Clave: “Praderas sostenibles”; “Especies C₄ y C₃”; “Compatibilidad gramíneas”.

Introducción

Atendiendo a la gran cantidad de superficies de céspedes ornamentales que mantienen un carácter estético en el planeamiento y ordenación de territorio de las ciudades, y que para ello emplean en modo genérico combinaciones de especies C₃ o especies C₄ en función de su localización geográfica, se plantea valorar la posibilidad de empleo de distintas combinaciones de ambas clases de especies para la formación de este tipo de praderas estéticas.

Se diseña un Proyecto que estudia la viabilidad en campo sobre el comportamiento de distintas mezclas de gramíneas C₃ y C₄ con un cierto grado de rusticidad, estudiando la fitosociología de la vegetación obtenida y realizando un análisis sobre una serie parámetros de cultivo con el objeto de valorar si su mantenimiento no supone una mayor implicación en su gestión y si un mayor beneficio ambiental.

Para el ensayo se han usado como base tres especies C₄ que se han mezclado con 3 especies C₃, sembrando en parcelas de 1,5 m² y realizando las combinaciones de dos especies por parcela, con 3 repeticiones de cada una, los trabajos se desarrollan en la finca de investigación de El Encín en Alcalá de Henares, perteneciente al IMIDRA en la Comunidad de Madrid (España).

Material y Métodos

Se trabaja en primer lugar sobre los terrenos, comprobando y corrigiendo sus condiciones para alcanzar una caracterización física y estado de fertilidad adecuados, se implementa un sistema de riego por aspersión para atender la demanda hídrica en función de la ETP del cultivo, todos los datos son registrados y controlados periódicamente, al igual que la calidad del agua de riego.

La dosis de siembra empleada para cada especie ha sido la siguiente:

<i>Cynodon dactylon</i>	10 g/m ²	<i>Poa pratensis</i>	15 g/ m ²	<i>Festuca arundinacea</i>	40 g/m ²
<i>Vulpia myuros</i>	20 g/m ²	<i>Buchloe dactyloides</i>	5 g/m ²	<i>Brachypodium distachyon</i>	30 g/m ²
<i>Zoysia japonica</i>	5 g/m ²	<i>Lolium perenne</i>	30 g/m ²	<i>Poa bulbosa</i>	15 g/m ²
<i>Festuca arundinacea+Lolium perenne+Poa pratensis</i>					40 g/m ²

Las mezclas se realizan en porcentaje de: (50 %) C₄ + (50 %) C₃, y en la mezcla estándar *Festuca arundinacea* (70%) + *Poa pratensis* (15%), *Poa Bulbosa* (15 %). La cantidad de semilla a incorporar será: Superficie m² x dosis de siembra gr/m²) x (porcentaje de la mezcla) = gr total.

Previo a la siembra en terreno se realizan unos ensayos de germinación sobre todas las semillas, para comprobar el correcto estado del material y la correcta implantación de las mezclas.

Se realiza sobre las parcelas, una vez implantadas, un programa de mantenimiento en cuanto a riego, siegas, y tratamientos, acorde a los criterios y lógicas establecidas para la conservación de praderas cespitosas ornamentales en los parques e instalaciones públicas. Sobre las parcelas ya cubiertas y en un correcto estado de desarrollo se planifican una serie de controles, con una frecuencia determinada, lo cual permite evaluar la viabilidad de cultivo como pradera para las mezclas ensayadas y su comparación con la mezcla estándar.

Para ello se realizan una serie de muestreos sobre las 27 parcelas con una periodicidad quincenal o mensual, en función de la época de crecimiento del cultivo, realizando los mismos en día previo a las labores de siega programadas en el mantenimiento.

Se comprueba el estado del cultivo mediante el posible grado de estrés que pueda registrarse en la planta realizando una medición de la reflexión y absorción de diversas bandas de luz y obteniendo un índice de vegetación normalizado, NVDI dependiente de la clorofila presente.

Se toman alturas mediante regla desde el cuello de la planta en distintos puntos de cada parcela y sobre cada especie. También se toman muestras de material obtenido tras la siega, mediante su corte en superficies delimitadas dentro de cada parcela, realizando el pesaje del material obtenido en fresco y en seco, tras secado en estufa, valorando con ello su crecimiento y desarrollo.

También se analiza la compatibilidad de las asociaciones planteadas, mediante identificación y conteo manual de las especies presentes, e identificación y análisis de su distinto grado de desarrollo y de colonización y crecimiento sobre el terreno.

Cada parcela elemental era de 100cmx 150 cm. Para evitar el efecto borde, se descartó una franja de 20 cm de ancho alrededor de cada parcela, quedando la subparcela de muestreo de 60 cm por 130 cm. La metodología del muestreo fitosociológico consistió en cinco muestras por subparcela y tratamiento aplicado, contándose las plantas como brotes y tallos presentes en un rectángulo de 157,88 cm² distribuidos uno en la zona central y cuatro en las esquinas de la subparcela. El conteo se realizó 'in situ' durante el

periodo comprendido entre el 11 de noviembre y el 10 de diciembre de 2016. El diferente hábito de crecimiento de las distintas especies y, en consecuencia de cobertura, implicó determinar el sistema más adecuado para cada tipo especie, según el comportamiento mostrado en el ensayo. Los resultados obtenidos del conteo de las cinco muestras, se transformaron a m².

Especificidades aplicadas a cada especie en el muestreo fitosociológico:

-Especies C3

Vulpia myuros: especie de ahijamiento basal formando macolla. Se contaron los brotes de esta especie presentes. *Brachypodium distachyon*: Esta especie, en el caso que nos ocupa, mostró un comportamiento que, según emitía varias ramificaciones desde la base, a su vez se ramificaban por los nudos generando nuevos tallos. Se contó el total de tallos presentes en la zona de muestreo, que es lo que daba la cobertura del suelo.

Poa bulbosa: En este caso, se contaban los tallos emitidos a partir del bulbo sembrado y los ahijamientos producidos en los nuevos brotes que darían lugar a los nuevos bulbos de reposición para la estación siguiente.

-Especies C4.

Este grupo de especies emiten estolones radicales y/o rizomas capaces de producir nuevos tallos y, en consecuencia, forman un tapiz en el cual es imposible determinar el origen. En este caso concreto de las C4 se contaban los tallos presente erectos y, en los estolones presentes en la zona de muestreo, procedentes de los laterales, se consideraban como planta-brote las yemas presentes en los nudos de los estolones.

Resultados y Discusión

El objetivo es el valorar la fitosociología presente sobre las mezclas de especies ensayadas y evaluar la viabilidad de desarrollo la mezcla, tomando como patrón de referencia la mezcla estándar para comparar los resultados se observan diferencias a nivel de aspecto y calidad de la pradera.

El *Brachypodium distachyon* forma una plantita con uno a varios tallos (Ramificaciones Primarias) que salen desde la base, sin ramificar, rematados en la inflorescencia, estas ramificaciones primarias pueden, por un lado emitir raíces en los nudos y bajos de estos, y también producir nuevos brotes en sus entrenudos.

La *Vulpia myuros* produce un ahijamiento basal en la planta formando macolla. Es una especie cespitosa pura.

A la hora de realizar el Inventario Fitosociológico de ambas especies, en el *Brachypodium* se contó el no de brotes totales en la superficie de muestreo, y en la *Vulpia*, al ser basales todos, se contaron el n° de tallos presentes en dicha superficie de muestreo. Para hacer la transformación de los brotes por planta de *Br. Distachyon* se han contado en herbario el n° de Ramificaciones Primarias y el n° de brotes por ramificación primaria. Hay diferencias significativas a nivel de $p \leq 0.05$. En la tabla 1a se observa que el *Cynodon* en la mezcla con *Vulpia* y mezcla con *Poa bulbosa* los brotes-tallos de *Cynodon* se reducen a algo más de la mitad que en el estado de especie pura (24862 en 2ACy frente a los 13965 y 13436 asociada con *Vulpia* y *Poa bulbosa*).

En el caso de las especies C3 asociadas con *Cynodon*, la población de *Vulpia* (11.199) destaca frente a *Br* (4.016) y las 3.180 de *Pb*.

En principio, parece que la combinación Cy+Vu complementan bien como mezcla. De la tabla 2 se observa una drástica reducción del número de unidades de Zo en las mezclas con especies C3 (16.822 de Zo sola frente a 443 y 595 cuando se mezcla con *Br* y *Vu*.). En este caso el *Bu* se comporta frente a las C3 como la Zo, reduciendo su presencia respecto del testigo de *Bu*.

En cambio Br y Vu presentan gran auge En la mezcla de ambas especies (Br y Vu) se presenta una gran dominancia de Vu respecto a Br.

De la observación de los resultados obtenidos en el periodo de tiempo indicado parece que Vu tiene una mayor agresividad que Br y Pb. Por otro lado, sorprende el comportamiento de las especies C4 (Zo y Bu), combinadas con Vu y Br, llegando a ser su presencia residual comparando con los testigos de Zo y Bu con tan buen comportamiento, aunque Vu resulta más agresiva que Br mezclados juntos (tratamiento 1+2). Las plantas de Bu y Zo presentes en las mezclas con Bu y Zo han pervivido durante toda la estación invernal, pudiendo ver su comportamiento durante la siguiente estación de crecimiento de las C4.

Comportamientos en valores de peso, color y alturas

No se observan grandes diferencias en el peso de material vegetal producido, media de 21,671 g con una diferencia máxima entre muestras de 5,997 g, siendo estas algo mayores en la relación con sus valores de materia seca cuando se analiza en cada muestra, en general presentan una media de 16,564 g y una diferencia máxima entre muestras de 5,222 g.

La mezcla estándar es la que mayor cuantía de agua retiene con gran diferencia por tanto en peso entre fresco-seco (9,132 g) respecto al resto, siendo las mezclas de C4 con vulpia las que mayor residuo generan (4,434 g), con una notable diferencia respecto a la de vu + Br (2,816 g).

Se observa una notable diferencia entre el valor que registra la mezcla estándar con un valor de 0,768 frente al resto, con un valor medio de 0,581, no siendo tanta máxima existente entre ellas 0,005, esto no indica un defecto en el estado fitosanitario o de salud de la pradera, reflejando una diferencia en coloración y en aspecto que obtiene la mezcla.

Dentro de esas pequeñas diferencias son las parcelas con presencia de vulpia las que menos índice muestran, cosa que es apreciable a simple vista por la propia coloración menos hacia verdes oscuros que registran sus hojas.

Se obtienen diferencias distintas entre mismas especies combinadas en distintas mezclas, esto es achacable a los comportamientos y hábitos de crecimiento diferentes que estas muestran y desarrollan en función de la especie asociada.

Es destacable la mayor media de altura alcanzada por la mezcla estándar frente al resto, así como una mayor uniformidad en su desarrollo, siendo esto observable a simple vista y registrado en las fotografías cenitales tomadas, siendo en el resto de mezclas en estudio mayor el tiempo necesario de cubrición para alcanzar una buena homogeneidad.

Conclusiones

En las primeras fases de cultivo, EL Cynodon y la Vulpia presentan una dominancia mayor frente al resto de C4 y C3 en las mezclas ensayadas, por otro lado la mezcla estándar registra mayores valores de altura, peso, y color frente a todas las demás, no siendo tanta la diferencia de estos parámetros entre el resto de mezclas.

El ensayo se comenzó en marzo de 2016 teniendo las parcelas sembradas en el mes de junio y será a final de campaña cuando puedan sacarse mayores conclusiones, y sobre todo más sólidas en cuanto a la evolución que presenten las distintas mezclas comprobando la persistencia y la colonización de cada especie en relación con las otras, y a su vez frente a la mezcla estándar.

Agradecimientos

A las empresas FITOGARDEN, RIVERSA, SEMILLAS FITO, EUROARCE, Y RAINBIRD por su aportación de materiales para el desarrollo del proyecto.



Referencias

- María S. Carponi, Claudia M. A. Scorciapino, María I. Laurencena, Jorge Cerana, Marcelo Wilson, Marina Butus (2003). Ensayo para evaluar el efecto de la presión de pisoteo en céspedes con fines deportivos. *Revista Científica Agropecuaria* 7(2): 65-69.
- Douglas E. Karcher and Michael D. Richardson (2003). Quantifying Turfgrass Color Using Digital Image Analysis. *Crop Science* 43: 943-951.
- Ellis, R. H. / Hong, T. D. / Roberts, E. H. (1985). Handbook of seed technology for genebanks. Volume 1. Principles and methodology, Volume II: compendium of specific germination information and test recommendation. International Board for Plant Genetic Resources, IT, Rome.
- James B. Beard (1973). Turfgrass: Science and Culture by Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Laurencena, María I.; Carponi, María S.; Reinoso, Patricia D.; Butus, Marina; Scorciapino, Claudia; Galli, Martín; Pérez, Guillermo (2009). Behaviour of Turfgrasses of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. in Paraná, Entre Ríos, Argentina. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 39: 129-141.
- María I. Laurencena, María S. Carponi, Claudia M. A. Scorciapino, Patricia D. Reinoso y Marina L. Butus (2001). Evaluación de cobertura, textura y color para determinar uniformidad en césped con fines deportivos. *Revista Científica Agropecuaria* 5: 11-16.
- Mislaidys López, L. Hernández, Wendy Ramírez, R. Medina, J. M. Pérez y M. C. González (2013). Estado del conocimiento del mejoramiento genético de cespitosas. *Pastos y Forrajes* vol.36 n°3 Matanzas.
- Rao, N.K.; Hanson, J.; Dulloo, M.E.; Ghosh, K.; Nowell, A.; Iarinde, M. (2007). Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma.
- Texas A&M University. Texas A&M Agrilife Research/Extension. Texas A&M Plant Breeding Bulletin (October 2014).

Cuadros y Figuras

Cuadro 1- Relación plantas cynodon respecto brachypodium, vulpia, y poa bulbosa

Tabla 1a	2ACy	1ACy(Br)	3ACy(Vu)	6Cy(Pb)	Tabla 1b	1ABr(Cy)	3AVu(Cy)	6Pb(Cy)
	30681,37	5818,8743	16398,646	8463,8172		2977,0139	4813,8948	5827,3464
	32797,292	6876,8515	13224,714	18514,6		3673,7618	14695,047	2280,266
	21688,532	7405,84	15869,657	17456,623		4687,2134	14948,41	1140,133
	18514,6	6876,8515	13753,703	4231,9086		4053,8062	9627,7897	3167,0361
	20630,554	3702,92	10579,771	18514,6		4687,2134	11908,056	3483,7397
Media	24862,463	6136,2675	13965,298	13436,31	Media	4015,8017	11198,64	3179,7042
Desvest	6424,5439	1477,3847	2323,9402	6655,5929	Desvest	724,41407	4183,9411	1737,1994
Error típico	2873,1434	660,70652	1039,2976	2976,4716	Error típico	323,96782	1871,1154	776,89919
	a	b	c	c		a	b	a

Cuadro 2- Relación plantas zoysia solas respecto brachypodium y vulpia

	1	2	3		1B Br(Zo)	3B Vu(Zo)
Tabla 2a	2BZo	1BZo(Br)	3BZo(Vu)	Tabla 2b		
	31210,326	253,36289	506,72577		12794,826	15075,092
	29094,372	0	696,74794		12668,144	27109,829
	10050,783	380,04433	1076,7923		18368,809	19002,216
	6347,8629	823,42938	380,04433		13808,277	23056,023
	7405,84	760,08866	316,70361		6334,0721	17608,721
Media	16821,837	443,38505	595,40278	Media	12794,826	20370,376
Desvest	12266,377	346,93142	305,74613	Desvest	4296,9105	4747,9353
Error típico	5485,6906	155,15245	136,73383	Error típico	1921,6368	2123,3412
	a	b	b		a	b

Cuadro3- Relación plantas buchloe solas y respecto brachypodium y vulpia

	2CBu	1CBu(Br)	3CBu(Vu)		1CBr(Bu)	3CVu(Bu)
	11637,749	2470,2881	443,38505		11654,693	16721,95
	11108,76	950,11082	443,38505		15961,862	23562,748
	6347,8629	950,11082	316,70361		15961,862	21789,208
	6347,8629	1710,1995	443,38505		12414,781	20522,394
	7405,84	4687,2134	1140,133		9247,7453	20522,394
Media	8569,6149	2153,5845	557,39835	Media	13048,189	20623,739
Desvest	2602,2797	1550,231	330,34479	Desvest	2905,3996	2512,0007
Error típico	1163,7749	693,28438	147,73468	Error típico	1299,3342	1123,4009
	a	b	c		a	b

Cuadro4- Relación plantas brachypodium y vulpia respecto mezcla testigo

Tabla 4a	1+2Br(Vu)	1+2Vu(Br)
	3104	12795
	2027	16722
	2597	18495
	1710	16342
	1203	13428
Media	2128	15556
Desvest	743,54561	2385,8525
Error Típico	332,52371	1066,9857
	a	b

Cuadro 5 - Peso fresco-seco (g)

MEZCLAS / PESO FRESCO - SECO (g)	26-oct		31-mar		12-abr		24-abr		MEDIA	
	Brachypodium + Cynodon	18,13	10,70	18,63	15,26	22,09	15,87	17,98	15,07	19,21
Brachypodium + Zoysia	17,54	10,21	19,77	15,55	22,11	15,67	21,21	16,39	20,16	14,45
Brachypodium + buchloe	19,90	10,52	20,22	16,05	23,08	15,99	23,03	17,30	21,56	14,97
Lolium + Festuca + Poa	13,17	9,01	26,88	16,80	33,82	18,06	22,80	16,28	24,17	15,04
Brachypodium + Vulpia	18,73	10,08	22,14	19,74	26,31	24,54	24,94	19,20	23,03	18,39
Vulpia + Cynodon	22,38	11,61	22,63	20,07	24,52	22,92	25,89	20,18	23,85	18,70
Vulpia + Zoysia	20,28	10,42	21,24	22,36	23,64	21,89	25,34	21,82	22,63	19,12
Vulpia + buchloe	15,86	9,77	21,51	21,13	26,26	23,31	25,43	23,58	22,27	19,45
Poa bulbosa + Cynodon	20,31	11,41	16,64	14,12	18,10	16,52	17,63	16,90	18,17	14,74

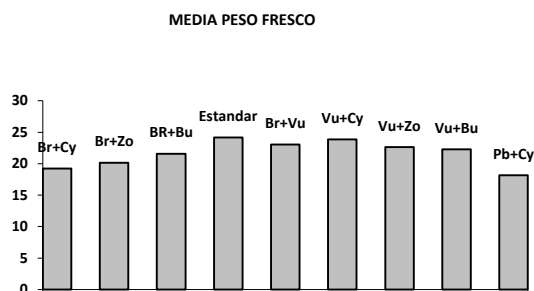


Figura 1 – Media peso fresco

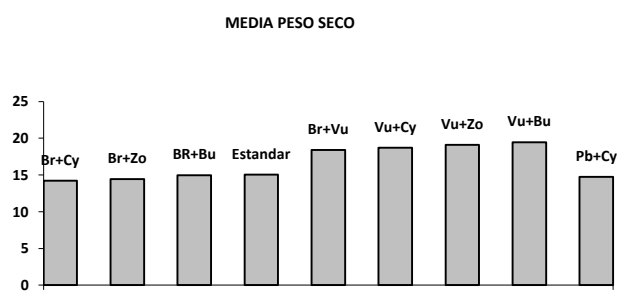


Figura 2– Media peso seco

Cuadro 6 - Mezclas / valor NVDI

MEZCLAS / VALOR NVDI	24-ago	22-sep	28-oct	18-ene	12-abr	24-abr	Media
Brachypodium distachyon + Cynodon dactylon	0,796	0,689	0,691	0,349	0,526	0,499	0,591
Brachypodium distachyon + Zoysia	0,622	0,704	0,707	0,491	0,556	0,466	0,591
Brachypodium distachyon + buchloe dactyloides	0,580	0,672	0,721	0,461	0,541	0,467	0,574
Lolium perenne + Festuca arundinácea + Poa pratensis	0,742	0,737	0,833	0,727	0,817	0,751	0,768
Brachypodium distachyon + Vulpia myuros	0,683	0,657	0,741	0,511	0,583	0,436	0,602
Vulpia myuros+ Cynodon dactylon	0,802	0,634	0,712	0,408	0,549	0,466	0,595
Vulpia myuros+ Zoysia	0,530	0,696	0,726	0,481	0,539	0,374	0,558
Vulpia myuros + buchloe dactyloides	0,646	0,720	0,711	0,481	0,540	0,421	0,586
Poa bulbosa + Cynodon dactylon	0,779	0,598	0,640	0,291		0,444	0,550

Cuadro 7 – Mezclas / Alturas(cm)

MEZCLAS / ALTURAS	26oct	02-nov	07-nov	28-nov	12-ene	12-abr	26-abr	MEDIA
Brachypodium distachyon + Cynodon dactylon	8,4	8,4	6,6	6,6	3,3	8,7	7,1	7,0
Brachypodium distachyon + Zoysia	6,9	4,4	6,1	5,6	3,7	6,1	6,2	5,6
Brachypodium distachyon + buchloe dactyloides	5,9	4,8	6,9	7,1	3,5	8,6	9,0	6,5
Lolium perenne + Festuca arundinácea + Poa pratensis	9,7	10,6	7,9	9,1	7,6	10,9	9,3	9,3
Brachypodium distachyon + Vulpia myuros	9,8	10,4	7,7	8,5	7,6	7,9	7,7	8,5
Vulpia myuros+ Cynodon dactylon	8,3	9,3	6,6	6,5	3,0	8,0	6,3	6,9
Vulpia myuros+ Zoysia	5,7	5,3	4,1	5,5	2,8	6,6	4,7	5,0
Vulpia myuros + buchloe dactyloides	6,3	4,9	5,3	6,2	2,8	7,8	6,4	5,7
Poa bulbosa + Cynodon dactylon	5,2	6,2	5,6	5,9	3,0	6,4	3,3	5,1

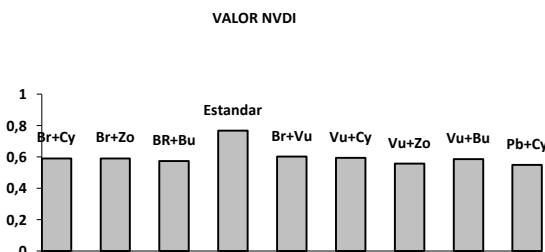


Figura 3 - Valor NVDI

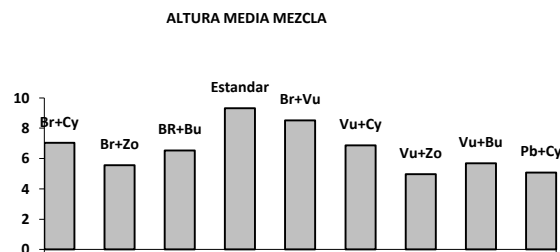


Figura 4- Altura media mezcla

Evaluación de clones de romero de la Comunidad de Madrid en su primer año de cultivo en campo

Juan Ruiz-Fernández¹ & M^a Cruz Amorós Serrano¹

¹ IMIDRA, Alcalá de Henares. Madrid (España), juan.ruiz.fernandez@madrid.org

Resumen

El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una especie de amplia distribución en la Comunidad de Madrid. Presenta una gran variabilidad visual en cuanto al color de las flores y portes observados en campo. Dichos individuos sobresalientes por alguna característica de interés en Jardinería Sostenible y Restauración Ambiental fueron recolectados en sucesivos años. Se evalúan un total de 16 clones locales y 4 cultivares comerciales de porte erecto (2) y postrado (2), como testigos para determinar en cultivo su comportamiento y determinación de usos. El seguimiento se ha realizado en el periodo verano-primavera, a partir de los seis meses de su plantación en campo. El carácter más distintivo, a nivel del color de la flor, es el número de clones locales (6) con flores blanco-puro y botón amarillo.

Precocidad a flor, 13 clones florecieron en otoño del primer año (postrados:1, semierectos-cubresuelos: 2 y erectos: 10), y a finales del invierno-principios de primavera de la temporada siguiente 7 (postrados: 1, semierectos-cubresuelos:1 y erectos: 5). Otros parámetros considerados: Hábito: porte, altura y diámetro de la planta; Flores: longitud de la corola y del cáliz; Posición de las flores en la primera floración en los tallos: basal, medio-basal, medio-superior, superior, terminal. Tallos: diámetro y longitud. Hojas: anchura, longitud, color y densidad en el tallo. En el apartado de usos, además de Jardinería Sostenible, cabe destacar los clones locales para utilización en Bioingeniería Ambiental para evitar la erosión y retención del suelo por la cobertura del 100% que realiza del mismo, siendo más vigorosos que los cultivares comerciales tipo postrados usados como testigos.

Palabras clave: Jardinería Sostenible, Bioingeniería, Especies autóctonas, *Rosmarinus officinalis*.

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is a species of wide distribution in the Community of Madrid. It presents a great visual variability as far as the color of the flowers and ports observed in the field. These individuals outstanding for some characteristic of interest in Sustainable Gardening and Environmental Restoration were collected in successive years.

A total of 16 local clones and 4 erect (2) and prostrate (2) commercial cultivars were evaluated as controls to determine their behavior and determination of uses. Follow-up was carried out in the summer-spring period, starting at six months of field planting. The most distinctive character, at flower color level, is the number of local clones (6) with white-pure flowers and yellow button.

Key words: Sustainable Gardening, Bioengineering, Native species, *Rosmarinus officinalis*.

Introducción

La diversidad de las poblaciones de Romero peninsulares, permiten disponer de una base de selección de nuevos romeros para diversos usos. En el IMIDRA se ha trabajado con esta especie al objeto de formar una colección de plantas madre representativa de las poblaciones presentes en la Comunidad de Madrid. Trabajos de introducción y recolección de especies para Jardinería Sostenible autóctonas y de homoclimas mediterráneos han permitido crear un Jardín Demostración (Mauri, et al., 2015) en el cual se pueden observar distintas procedencia de especies aclimatadas a nuestra zona. El romero dentro de la variabilidad en formas y colores disponibles en la Comunidad de Madrid, se empezó a realizar, junto con otras especies, recolecciones de individuos selectos buscando la mayor variabilidad posible tanto en tonos de flor como en portes. Al objeto de promover su utilización si cabe en la Jardinería pública.

Como muestra de ellos se realizaron ensayos como el de Ruiz-Fernández et al., 2014. En el cual se comienza a evaluar la diversidad presente dentro del género en relación a las diversas coloraciones de flor. Entre ellas se detectó la presencia de individuos con flores que presentaban el botón amarillo antes de producirse la antesis, virando posteriormente a blanco puro sin ningún tipo de mancha en estambres ni en el tubo del estigma.

El interés sobre la biodiversidad en la utilización de especies autóctonas queda patente en los trabajos realizados con otras especies autóctonas como *Frankenia thymipholia* (Ruiz-Fernández et al. 2016).

Material y Métodos

Se evalúan un total de 16 clones locales y 4 cultivares comerciales (2 de porte erecto y 2 postrado) para determinar en cultivo su comportamiento y determinación de usos. El material fue propagado vegetativamente y se llevó a campo en Diciembre de 2015. El marco de plantación entre plantas fue de 1,0 m y entre líneas de 1,25 m, con cinco plantas por clon. El seguimiento se ha realizado en el periodo verano-primavera (2016-2017), a partir de los seis meses de su plantación en campo, en estado juvenil. Los clones locales corresponden a recolecciones realizadas dentro de la Comunidad de Madrid.

Los 6 clones de color blanco se recogieron como rareza. Presentan el botón amarillo antes de la antesis y se torna blanco puro a medida que se abre la flor, incluso antes. Presentan los filamentos de los estambres sin ninguna tonalidad, al igual que el tubo del estigma. En estos clones el color blanco de la flor no cambia por los fríos de finales del invierno. Los clones con flor blanca y botón amarillo son los nº 1-2-3-5-6-7. Entre el resto de los clones locales, varios se seleccionaron por porte y hábito de crecimiento erguidos, extendidos y por el color de las flores (rositas, azulillas, etc.).

Los parámetros considerados en esta primera fase han sido: Parámetros de la Flor (Tab.1): Longitud del Cáliz (LC) y Longitud de la Flor (LF), ambos en mm. Floración de la Planta (Tabla 2): Época del Año de la Primera Floración (EAPF) (2016: entre Septiembre y Diciembre) y (2017: entre Enero y Mayo). Tipo de Floración (TF: Se dividen idealmente los tallos en cinco partes, desde la base al extremo apical del mismo: Basal (1), Medio Basal (2), Medio Superior (3), Superior (4) y Terminar (5). Parámetros de la Planta (Tabla 3): Altura Total (ATP). Altura al Diámetro Mayor (ADMP). Diámetros de la Planta, se realizan dos medidas perpendiculares por diámetro y se hace la media entre las dos: Diámetro Mayor (DMP). Diámetro de la Base (DBP), se realiza hasta donde la base se separa del suelo unos 5cm, Todos en cm. Parámetros de las Hojas (Tabla 4): Los parámetros de Longitud de la Hoja (LHP), se han tomado en hojas completamente desarrolladas en este año, completamente maduras, para ello se examinaba la rama para definir qué entrenudos presentaban las hojas más desarrolladas,

cogiendo dos hojas, una del nudo superior y otra del nudo inferior, sobre las dos medidas se ha realizado la media de los datos en cm. Anchura de la Hoja (AHP), en la zona media más ancha, en mm. Color de la Hoja (CHP) con la Carta de Colores de Tejidos Vegetales (RHSCC). Parámetros del Tallo (mm): Longitud del Entrenudo (LEP). Diámetro del Tallo (DTP).

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se observa que la LC oscila entre 3,87 mm y 7,40 mm (clon17 y clon 4); la LF entre 10,03 mm y 16,91 mm (clon 12 y clon 4). En cuanto a Floración de la Planta (Tabla 2): la EAPF la mayoría florecen el primer año. En el TFP Predomina la Floración Terminal (Tipo 5) con 14 clones y el resto mayoría Tipo 3-2.

Parámetros de la Planta (Tabla 3): La ATP alcanza entre mínimo de 23,25 (clon14C) y máximo de 70,00 cm (clon 19C). La ADMP varía entre un mínimo de 5,00 (clon 14C) y 36,00 (clon19C). El DMP entre 47,33 cm (clon 5) y 119,63 cm (clon 9). El DBP está entre 21,00 cm (clon 15 y 17) y 90,10 en el clon 14C.

Parámetros de las Hojas (Tabla 4): Los parámetros de Longitud de la Hoja (LHP) varía entre 1,85 cm (clon 14C) y 4,32 cm (clon 15) y la AHP entre 1,75 (clon 20) y 3,67 (clon 13C). LEP entre 11,65 del Clon 11 y 26,79 del clon 12. El DTP entre 1,71 (clon 10) y 3,76 del clon 15

Conclusiones

La evaluación juvenil de clones de Romero permite poder diferenciar diversos grupos de comportamiento dentro de un mismo tipo o porte de los clones. Además, permite asignar nuevos posibles usos como en Bioingeniería Ambiental aquellos clones que se adapten mejor a tal fin, por ejemplo mayor cubrición de suelo.

También permite avanzar en la evaluación de la especie coincidiendo con las ideas ya expuestas en los trabajos presentados en Zaragoza (Ruiz-Fernández et al., 2014) proponiendo la necesidad de un descriptor para *Rosmarinus officinalis* que unifique los criterios de evaluación de la especie. Esperamos que ésto sea una contribución al avance de esa línea de investigación.

Referencias

- Mauri, P.V., Plaza, A. & Ruiz-Fernández, J. 2015. Uso del periodo de floración de las especies de Jardinería Sostenible: seguimiento y evaluación. Diversificación en los proyectos de Jardinería. XIX International Congress on Project Management and Engineering AEIPRO. Granada. 15-17 Julio 2015
- Ruiz-Fernández, J., Amorós, M.C. & Mauri, P.V. 2014. Evaluación de clones de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) de poblaciones locales de la Comunidad de Madrid para Jardinería Sostenible. VII Congreso de Mejora Genética de Plantas. Zaragoza. 16-18 Septiembre 2014. Actas de Horticultura 69.
- Ruiz-Fernández, J., Amorós, M.C. & Mauri, P.V. 2016. Evaluación de clones de *Frankenia thymifolia* para Jardinería Sostenible de la Comunidad de Madrid. VIII Congreso de Mejora Genética de Plantas. Vitoria-Gasteiz, España. 16-18 Julio 2016. Actas de Horticultura 74:211-212.

Tablas y Figuras

CLON	Nº flores	Longitud Cáliz			Longitud Flor		
		\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E
4	3,00	7,40	0,09	0,05	16,91	1,19	0,69
1	11,00	5,25	0,52	0,16	13,22	0,69	0,21
2	11,00	5,78	1,43	0,43	14,99	3,87	1,17
3	6,00	5,46	0,38	0,16	15,08	0,42	0,17
5	9,00	5,95	0,28	0,09	16,97	0,63	0,21
6	9,00	5,25	0,46	0,15	13,51	1,10	0,37
7	10,00	5,64	0,56	0,18	15,84	0,34	0,11
8C	10,00	5,63	0,63	0,20	14,59	1,64	0,52
9	10,00	5,75	0,86	0,27	15,37	3,82	1,21
10	12,00	5,32	0,77	0,22	13,40	1,82	0,52
11	9,00	6,39	0,71	0,24	16,56	1,49	0,50
12	5,00	5,13	0,33	0,15	10,03	0,74	0,33
13C	8,00	6,78	0,47	0,17	16,24	1,31	0,46
14C	10,00	4,64	0,62	0,20	13,01	0,61	0,19
15	4,00	7,01	0,25	0,12	19,59	2,83	1,42
16	6,00	6,75	0,32	0,13	15,70	0,40	0,16
17	7,00	3,87	0,43	0,16	10,83	0,91	0,34
18	19,00	5,60	0,51	0,12	14,99	1,22	0,28
19C	4,00	5,73	0,65	0,32	14,69	0,58	0,29
20	4,00	1,75	0,11	0,05			

Tabla 1. \bar{X} (Media); DE (Desviación Estandar); E (Error).

Floración de la Planta			
CLON	EAPF	TFP	color hoja
4	2016	5	5 GY 4/4
1	2016	5	5 GY 4/6
2	2017	5	5 GY 5/6
3	2016	5	5 GY 4/4
5	2016	5-4	5 GY 4/6
6	2016	5-4	5 GY 4/4
7	2016	5	5 GY 5/4
8C	2017	3-2	5 GY 3/4
9	2017	5	5 GY 5/4
10	2016	5	5 GY 4/4
11	2016	5	5 GY 4/4
12	2016	5	7/5 GY 4/4
13C	2017	3-2 Dispersa	5 GY 4/4
14C	2016	3-2	5 GY 4/6
15	2017	3-2 dispersa	5 GY 4/6
16	2017	3-2 Dispersa	5 GY 5/6
17	2016	5-(4)	5 GY 4/4
18	2016	5	6 GY 4/4
19C	2017	3 -2Dispersa	5 GY 4/4
20	2016	5	5 GY 4/6

Tabla 2

CLON	ATP			ADMP			DMP			DBP		
	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E
4	38,60	10,60	4,74	14,60	0,89	0,40	48,00	14,83	6,63	28,25	13,55	6,06
1	41,00	2,24	1,00	20,00	3,54	1,58	46,00	5,18	2,32	26,25	1,77	0,88
2	47,00	4,47	2,00	23,00	4,47	2,00	54,50	9,59	4,29	26,90	6,53	2,92
3	58,33	2,89	1,67	25,00	5,00	2,89	54,17	7,22	4,17	30,42	4,02	2,32
5	58,33	2,89	1,67	25,00	5,00	2,89	47,33	0,29	0,17	36,25	4,33	2,50
6	44,40	11,37	5,09	19,00	4,18	1,87	50,30	14,66	6,55	22,25	4,37	1,95
7	30,50	3,32	1,66	12,50	2,89	1,44	48,75	7,50	3,75	31,25	8,16	4,08
8C	34,00	5,66	4,00	8,50	2,12	1,50	77,50	3,54	2,50	61,88	0,88	0,63
9	53,75	4,79	2,39	18,13	8,98	4,49	119,63	16,77	8,38	65,83	13,77	7,95
10	48,00	7,58	3,39	20,00	6,12	2,74	101,80	8,17	3,65	75,80	15,81	7,07
11	42,00	10,37	4,64	14,00	4,18	1,87	77,10	17,09	7,64	59,05	6,30	2,82
12	56,00	9,62	4,30	28,00	5,70	2,55	80,60	16,13	7,21	30,00	10,00	4,47
13C	55,86	6,57	2,48	30,71	6,73	2,54	63,71	4,99	1,89	31,86	7,60	2,87
14C	23,25	0,50	0,22	5,00	0,00	0,00	89,20	7,99	3,57	90,10	7,82	3,50
15	64,00	8,94	4,00	34,20	12,17	5,44	64,00	15,27	6,83	21,00	2,24	1,00
16	60,00	6,12	2,74	31,00	2,24	1,00	69,00	9,12	4,08	27,00	11,91	5,33
17	35,00	3,81	1,70	14,50	1,12	0,50	56,30	3,55	1,59	21,00	2,24	1,00
18	43,75	2,50	1,25	21,25	4,79	2,39	74,13	8,59	4,29	49,38	1,25	0,63
19C	70,00	0,00	0,00	36,00	0,71	0,71	67,00	2,83	2,00	32,38	0,53	0,38
20	56,25	7,50	3,75	27,50	5,00	2,50	74,38	8,26	4,13	38,13	3,75	1,88

Tabla 3. Parámetros de la Planta. \bar{X} (Media); DE (Desviación Estandar); E (Error).

CLON	LHP			AHP			LEP			DTP		
	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E	\bar{X}	DE	E
4	2,19	0,11	0,05	2,06	0,12	0,06	15,44	1,93	0,96	1,96	0,15	0,07
1	2,37	0,40	0,18	2,28	0,13	0,06	17,18	2,87	1,28	2,20	0,04	0,02
2	2,36	0,16	0,07	1,79	0,10	0,05	18,59	0,96	0,43	2,07	0,38	0,17
3	3,23	0,13	0,07	2,68	0,26	0,15	23,30	5,49	3,17	2,64	0,19	0,11
5	2,82	0,33	0,19	2,45	0,29	0,17	14,45	3,46	2,00	1,98	0,19	0,11
6	2,61	0,30	0,13	2,57	0,17	0,08	17,51	1,32	0,59	2,33	0,24	0,11
7	3,37	0,18	0,08	2,45	0,27	0,12	19,65	1,69	0,76	2,50	0,30	0,14
8C	2,10	0,25	0,18	2,53	0,03	0,02	11,87	2,67	1,89	2,63	0,08	0,06
9	2,45	0,15	0,07	2,43	0,25	0,11	13,75	0,86	0,38	1,93	0,58	0,26
10	2,31	0,12	0,06	2,12	0,20	0,09	16,59	3,09	1,38	1,71	0,34	0,15
11	2,31	0,09	0,04	2,11	0,14	0,06	11,65	3,01	1,35	2,22	0,30	0,13
12	3,01	0,36	0,16	3,00	0,90	0,40	26,79	3,94	1,76	2,29	0,35	0,16
13C	4,01	0,52	0,21	3,67	0,76	0,31	17,33	2,37	0,97	2,55	0,45	0,18
14C	1,85	0,07	0,05	2,40	0,27	0,19	17,39	3,48	2,46	2,20	0,01	0,01
15	4,32	0,22	0,11	3,51	0,11	0,05	21,52	3,30	1,65	3,76	0,49	0,25
16	3,95	0,10	0,05	2,78	0,18	0,08	17,90	1,62	0,72	2,92	0,19	0,08
17	1,99	0,12	0,05	2,16	0,17	0,07	13,27	0,98	0,40	2,22	0,32	0,13
18	2,09	0,19	0,10	2,14	0,10	0,05	13,91	0,61	0,31	2,17	0,17	0,08
19C	3,10	0,63	0,28	2,89	0,45	0,20	15,62	1,38	0,62	3,20	0,93	0,42
20	2,32	0,10	0,05	1,75	0,11	0,05	15,33	1,03	0,46	2,05	0,19	0,08

Tabla 4. Parámetros de las Hojas. \bar{X} (Media); DE (Desviación Estandar); E (Error).

El presente trabajo está financiado por Proyecto FP16-JARD del IMIDRA (2016-2017)

Sessão Temática: Proteção das Culturas

La polilla guatemalteca de la papa en Canarias

Domingo Ríos^{1,2} María Eugenia Trujillo¹, Santiago Perera¹, Belarmino Santos¹

¹Servicio Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife, Cl. Alcalde Mandillo Tejera, 8. Santa Cruz de Tenerife. domingor@tenerife.es

²Departamento Ingeniería Agraria, Náutica, Civil y Marítima Universidad de La Laguna. Carretera Geneto, 2. La Laguna. djrios@ull.es

Resumen

En las Islas Canarias y especialmente en Tenerife, el cultivo de la papa tiene una gran importancia paisajística, gastronómica y cultural, formando parte de un conjunto de agrosistemas característicos de la Isla. Actualmente en la Isla se cultivan 2869 ha de papa, siendo el tercer cultivo en superficie por detrás de la platanera y de la viña. Desde su detección en 1999, la polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora* Povolny) se ha convertido en la plaga más importante de este cultivo llegando a producir pérdidas superiores al 50%, principalmente en la zona norte de la Isla, y en cultivos en secano. En el año 2015 ha sido detectada además en el norte de la península ibérica, en concreto, en las comunidades autónomas de Galicia y Asturias. Desde su introducción en Canarias, se han realizado numerosos trabajos de experimentación e investigación a nivel de control químico y biológico, dinámica de las poblaciones, comportamiento postcosecha, recogida de residuos de papas afectadas, etc. En esta ponencia se presenta una relación de los mismos, así como una descripción de la incidencia de la plaga desde su introducción en las Islas Canarias en 1999, de tal forma que permita una mejor interpretación del comportamiento de esta plaga a nivel nacional y de la Union Europea.

Palabras clave: *Tecia solanivora* Povolny, Lepidoptera, Gelechiidae, control, dinámica de poblaciones.

Abstract

Potato cultivation in Canary Islands, and especially in Tenerife, form some of the agro-systems characteristic of the island, having a great gastronomic, cultural and landscape importance. Potato is the third crop in importance in the island, after bananas and vineyards, with 2869 ha.

Guatemalan potato moth (*Tecia solanivora* Povolny) was detected in 1999 in Tenerife and has become the most important pest of the crop, resulting in losses over 50%, mainly in the northern part of the island, with no irrigation. In 2015, this pest has also been detected in Spain mainland (Galicia and Asturias).

Since 1999, numerous research has been conducted, for the control of potato moth (population dynamics, biological, cultural and chemical control), focused in the development of an integrated pest management. This paper presents a list of these, as well as a description of the incidence of the pest since its introduction in the Canary Islands in 1999, in a way that allows a better interpretation of the behavior of this pest at national level and the European Union.

Keywords: *Tecia solanivora* Povolny, Lepidoptera, Gelechiidae, control, population dynamics.

Antecedentes

La polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny, es un lepidóptero de la familia *Gelechiidae*, detectada por primera vez en Tenerife en el año 1999 en el municipio de Icod de los Vinos. En un primer momento se identificó como *Scrobipalopsis* sp. Tras el envío de las muestras del insecto a los laboratorios de referencia se concluyó que se trataba de la especie *Tecia solanivora* P., constituyendo ésta la primera referencia que se tiene de este insecto en Europa (Ríos, 2012).

La especie, originaria de Guatemala, se distribuye actualmente en Guatemala (1956), Costa Rica (1970), Panamá (1973), Honduras (1973), El Salvador (1973), Venezuela (1983), Colombia (1985), Ecuador (1986), Nicaragua (1973) y México (2011). En 2015 se declaró su presencia en Galicia, España.

Desde el año 2001 la plaga ha venido causando daños muy severos en los cultivos de papa situados en la vertiente norte de la isla de Tenerife. Las dificultades para el control de la plaga, su facilidad de dispersión y la adaptabilidad que ha presentado a las condiciones ambientales de las islas han hecho que las pérdidas en determinadas zonas lleguen a superar el 50 % de la cosecha. En los casos en que el agricultor decide no cosechar las pérdidas alcanzan el 100 %. Desde el año 2000 la plaga ha sido incluida en la lista de alerta de plagas y enfermedades de la EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). Actualmente la plaga se encuentra presente también en la Isla de La Palma y Lanzarote, habiéndose detectado su presencia en Gran Canaria, La Gomera y El Hierro.

Las consecuencias que ha tenido la introducción de *T. solanivora* en Tenerife en los años posteriores a su introducción han sido:

- Disminución de la superficie cultivada
- Abandono del cultivo de la papa en zonas tradicionales de cultivo
- Riesgo de desaparición de las variedades locales de papas
- Incremento abusivo del uso de productos fitosanitarios
- Incremento de costes en el cultivo
- Disminución del rendimiento del cultivo

Actuaciones realizadas

Desde el Servicio de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo Insular de Tenerife se han llevado a cabo múltiples acciones encaminadas al control de *T. solanivora*, desde la detección de la misma, destacando la divulgación de las medidas de control entre los agricultores y las actividades de investigación en el control de la plaga realizadas en colaboración con otras instituciones, como Universidad de La Laguna, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias y Servicio de Sanidad vegetal de la Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca del Gobierno de Canarias.

Red de seguimiento: Una de las primeras medidas tomadas por el Servicio de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo Insular de Tenerife fue establecer una red de trampas para el seguimiento de las poblaciones de *T. solanivora* con el objetivo de determinar el alcance de la plaga en la isla y por otro lado prevenir la aparición de este lepidóptero en zonas no infestadas hasta ese momento. Inicialmente se instalaron 75 trampas. El seguimiento se inició en el año 2001, abarcando 24 municipios y se mantiene hasta la actualidad con modificaciones en la extensión del mismo (Ríos, 2012).

El muestreo se lleva a cabo empleando trampas de agua y utilizando como atrayente dispensadores de feromona sexual específica para *T. solanivora*. Los datos del muestreo nos permiten aproximarnos al ciclo de vida de la polilla en condiciones de campo, mediante la realización de curvas de vuelo por año y paraje. A su vez este seguimiento

permite detectar focos en zonas no afectadas y actuar preventivamente para evitar la dispersión del insecto. Las curvas de vuelo se publican en la página web <http://www.agrocabildo.org>.

Campaña insular de control: Desde la introducción de *T. solanivora* en la isla la lucha contra la polilla ha constituido uno de los principales ejes de trabajo del Servicio de Agricultura del Cabildo de Tenerife a través de las Agencias de Extensión Agraria. Se han realizado campañas de divulgación dirigidas a agricultores informando sobre las medidas de control de la plaga, habiéndose impartido hasta el momento más de 170 charlas, además de intensificar las visitas a campo por parte de los técnicos, dando recomendaciones concretas a los agricultores. La formación de los agricultores se acompaña con abundante material divulgativo como carteles, video, folletos e informaciones técnicas que se actualizan frecuentemente (Ríos, 2012).

La prevención de la dispersión de la plaga a zonas no afectadas es un objetivo fundamental para la vertiente sur de la isla, ya que hasta el año 2015 los daños por *T. solanivora* en el sur de la isla únicamente se producían en focos puntuales. El cultivo de papa temprana ocupa el 50% de la superficie anual cultivada en esta vertiente, sin embargo existen determinados municipios como Vilaflor, Granadilla de Abona, Arona y San Miguel donde la superficie de papa tardía, llega a ser más importantes o igual que la temprana y cuyas plantaciones se realizan durante el mes de julio con semilla de papa procedente de la propia Isla denominada *de segunda multiplicación*. Por ello y por el alto riesgo de extensión de la plaga desde el norte a través del material de plantación se elaboró un plan específico de actuación para la vertiente sur, que incluía las siguientes medidas:

- Una campaña informativa a los agricultores del alto riesgo de plantar tubérculos procedentes del norte de la Isla.
- La colocación de trampas con feromonas en los almacenes de los agricultores, para comprobar la no contaminación de su propio material vegetal.
- La prohibición a los almacenistas de papa de consumo, de vender tubérculos procedente de las zonas contaminadas para ser destinados a siembra.

Campaña de recogida de tubérculos afectados: Habida cuenta de la importancia de no dejar en el terreno focos que actúen como difusores de la plaga, el Cabildo de Tenerife y la Consejería de Agricultura del Gobierno de Canarias, en colaboración con los Ayuntamientos, Cooperativas y Almacenistas, vienen realizando campañas de recogida rápida y controlada de tubérculos afectados para su destrucción en vertedero autorizado. Para ello se colocan contenedores de vertido en distintas cooperativas y puntos municipales, para que los agricultores y comercializadores, depositen en ellos los tubérculos afectados. Los contenedores de recogida se recogen como mínimo una vez por semana durante el período de cosecha, para ser enterrados a profundidades adecuadas en el Vertedero Insular de Tenerife. Durante la época de cosecha se refuerza la divulgación de las medidas de control (retirar todos los tubérculos del campo, depositarlos en puntos habilitados para ello y almacenar únicamente tubérculos sanos) (Ríos, 2012).

Ensayos de eficacia de productos: Desde el año 2002 se han ejecutado diversas experiencias de control químico de *T. solanivora* que se resumen a continuación:

- Valoración de distintas alternativas de tratamiento granulados al suelo, combinados con distintos tratamientos periódicos en pulverización (2 ensayos a 900 y 400 msnm en San Juan de La Rambla). En total se probaron más de 20 combinaciones de productos fitosanitarios sin que se encontraran resultados significativos (Ríos, 2012).
- Valoración de la eficacia de los fumigantes de suelo previos a la plantación (1 ensayo a 450 msnm en Los Realejos). No se encontraron resultados concluyentes, además de tratarse de productos de uso más restringido.

- Valoración de la eficacia de los tratamientos por riego localizado: goteo y cinta de riego (1 ensayo a 450 msnm en Los Realejos).

En los años 2006 y 2007 se realizaron ensayos de eficacia de productos fitosanitarios que no pudieron ser evaluados ya que la infestación natural de la plaga no fue lo suficiente para poder evaluar la eficacia de los productos fitosanitarios. En 2008 se evaluaron tres insecticidas para el control de la polilla de la papa (*clorpirifos*, *tiacloprid* y *lambda-cihalotrina*) sin obtener diferencias significativas entre las parcelas tratadas con insecticidas y las parcelas sin tratar (testigo). En este ensayo se obtuvo el mayor porcentaje en peso de tubérculos con daños provocados por polilla en las parcelas tratadas con *clorpirifos* y *tiacloprid* con un 51,3% en ambos casos, seguidas de las parcelas que no han recibido ningún tratamiento (testigo) con un 48,0% y por las parcelas tratadas con *lambda-cihalotrina* con un 45,7%.

En el año 2014 y posteriormente en el año 2016 (Perera y Trujillo, 2016) se realizaron dos ensayos con el objetivo de evaluar la eficacia de *clorantraniliprol* al 20% (Coragen 20 SC) en el control de *T. solanivora* realizando 2 aplicaciones a partir del inicio de tuberización dirigidas al interior y a la base de la planta y a la parte aérea. En la actualidad, este producto está autorizado en España en el cultivo de la papa sobre polilla y posee efecto ovicida y larvicida. Los datos suministrados por la empresa del producto y por las páginas web de las empresas de comercialización de enemigos naturales indican que este producto es respetuoso con los principales himenópteros parásitos de huevos de lepidópteros. Se evaluó el peso y número de tubérculos sanos y afectados por *T. solanivora* y la intensidad del daño con el número de galerías por tubérculo afectado. En la campaña 2014 la infestación natural de la plaga no permitió evaluar los resultados. Sin embargo en el ensayo realizado en 2016 los porcentajes de eficacia con la aplicación de *clorantraniliprol* dirigida al interior y a la base de la planta fueron de alrededor del 40%, obteniéndose valores ligeramente menores a esta cifra en el caso de las aplicaciones dirigidas a la parte aérea de la planta. A pesar de las escasas diferencias entre el tratamiento con *clorantraniliprol* dirigido al interior y la base de la planta y el dirigido a la parte aérea se considera que de acuerdo a la biología y hábitos de la plaga, al modo de acción del producto y a las recomendaciones de los principales centros de investigación que estudian el control de esta plaga, las aplicaciones deben ser dirigidas al interior y a la base de la planta. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la aplicación de Coragen 20 SC debe ir acompañada del resto de medidas culturales y biotécnicas para alcanzar un control adecuado de la polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora*).

Estos resultados coinciden con las recomendaciones emitidas por los centros de investigación que estudian el control de esta plaga y que destacan que el uso de insecticidas químicos es sólo una medida complementaria dentro del manejo integrado de plagas de la papa y que su sola utilización no asegura que la producción obtenida esté libre de los daños de esta plaga.

Control biológico: La aparición de resistencia a insecticidas, la cada vez más restrictiva lista de sustancias activas permitidas y la importancia de los residuos químicos en las hortalizas, hace que el uso de agentes de control biológico, se tenga en cuenta cada vez más en la agricultura actual. En el caso de *T. solanivora*, dada las dificultades existentes en el control convencional de la plaga se ha optado desde un principio por trabajar varias líneas de control biológico.

Así, en el año 2001 se firmó un convenio con la Universidad de La Laguna para la cría de poblaciones autóctonas del himenóptero parásito de *Phthorimaea operculella* Zeller y de *T. solanivora*, *Copidosoma koehleri* Blanchard, en laboratorio, suelta y estudio de su efecto sobre la polilla, como método de control biológico de la plaga, efectuándose una experiencia en cultivo en invernaderos experimentales (San Juan de la Rambla) y a

mayor escala en La Juncia (Los Silos). Los resultados fueron positivos, con reducción del daño el primer año y daño prácticamente inexistente en los años posteriores del estudio. En la actualidad se ha establecido un área de manejo integrado de la plaga, en Icod el Alto (Los Realejos), en la que participan 56 agricultores, que aplican medidas de control culturales, etológicas y biológicas, mediante sueltas de *Copidosoma koehleri* y aplicación de productos ecológicos (aceite de neem y *Bacillus thuringiensis*).

Tecia solanivora es atacada por una serie de parasitoides, destacando especies como: *Apanteles* sp., *Copidosoma koehleri*, *Diadegma mollipla* Holmgren, *Pimpla spuria* Gravenhorst, *Trichogramma* sp. pero la efectividad de los mismos en el control de polilla es muy baja, y sus crianzas masivas complicadas, y por tanto, no justificables. Durante el período 2014-2015 y dentro de un proyecto de colaboración con la Universidad de La Laguna se realizaron búsquedas de enemigos naturales, no habiéndose detectado parasitoides de interés diferentes a *Copidosoma koehleri* en los muestreos realizados, lo que confirma los resultados previos de estudios sobre este mismo tema realizados en Tenerife (Martín. 2015).

Durante el año 2009 se realizó un ensayo cuyo objetivo fue evaluar la eficacia de dos especies de nematodos entomopatógenos (*Steinernema carpocapsae* y *Steinernema feltiae*) en el control de *T. solanivora*. No se obtuvieron resultados concluyentes debido a los bajos niveles de daños producidos por *T. solanivora* en todos los tratamientos, atribuibles a las frecuentes lluvias así como a las bajas temperaturas registradas en dicho periodo, siendo bajo también el nivel de parasitismo de los nematodos, posiblemente por encontrarse éstos por debajo del rango de temperatura de suelo óptimo para su actividad. A pesar de estas conclusiones, la aplicación de estos organismos de control biológico podría ser una medida de control en condiciones óptimas de temperatura (siembras tardías), siempre teniendo en cuenta otros factores limitantes para la acción de estos organismos como el pH, temperatura, humedad del suelo y textura que junto con el resto de parámetros y el manejo del cultivo en general determinan la complejidad del hábitat suelo y limitan la persistencia y viabilidad de los organismos entomopatógenos en el cultivo (pertera *et al.*, 2009).

Otros acciones realizadas han sido el estudio del ciclo biológico de *T. solanivora* a tres altitudes diferentes, el efecto del laboreo sobre la supervivencia en el suelo de pupas de la polilla guatemalteca de la papa, y el estudio comparativo de dos feromonas sexuales y de dos tipos de trampas para la captura de adultos de *T. solanivora*.

Control en postcosecha: En el año 2007 se realizó un ensayo de eficacia de productos fitosanitarios de postcosecha en el control de la polilla guatemalteca de la papa. Los resultados de este ensayo indicaron que la eficacia de los dos productos fitosanitarios evaluados, a base de piretrinas, era del 100% y que la falta de eficacia de dichos productos manifestada por los agricultores podría ser debida a la incorrecta aplicación provocada por empleo de dosis incorrecta o mala aplicación del producto.

En cuanto a experiencias en postcosecha con atmósfera controlada, desde el año 2006 hasta la actualidad se han realizado múltiples ensayos con el fin de obtener un tratamiento de cuarentena que permita la exportación de papas y/o la conservación de la papa de semilla.

Inicialmente se testaron distintas combinaciones de gases (del 10 al 50% de CO₂, con 20 % de O₂ y el resto N₂ durante 48 horas) sobre papas infestadas por polilla guatemalteca en campo y sobre tubérculos inoculados en laboratorio. Las aplicaciones de gases fueron realizadas por el Laboratorio de Postcosecha y Tecnología de los Alimentos (Dpto. Fruticultura Tropical) del Instituto Canario de Investigaciones agrarias. En esta experiencia se concluyó que la aplicación de atmósfera controlada a partir de un porcentaje de CO₂ del 20% puede ser un método adecuado para garantizar el saneamiento

de los tubérculos, siempre y cuando el insecto no llegue en fase de pupa a las cámaras de atmósfera controlada, lo que se podría conseguir con una selección previa en el momento de la recogida y el mantenimiento a bajas temperaturas de dichos tubérculos seleccionados. En el 2011 se aprobó un proyecto INIA cuyo título fue “Desinfestación de papas utilizando dióxido de carbono: Optimización como tratamiento de cuarentena de la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*)” y en el que participaron el Cabildo Insular de Tenerife, la Universidad de La Laguna y el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. A lo largo del proyecto se determinaron los parámetros óptimos para el control de *T. solanivora* en postcosecha mediante atmósfera controlada, logrando un tratamiento gaseoso que puede ser considerado y validado como tratamiento cuarentenario. En la actualidad se está preparando un protocolo de exportación con todos los ensayos realizados en el presente proyecto de investigación para que el tratamiento cuarentenario desarrollado sea validado por el Ministerio de Agricultura (Lobo *et al.*, 2015).

Referencias

- Lobo G. et al. 2015. Informe final de proyecto de investigación INIA: Desinsectación de papas utilizando dióxido de carbono: Optimización como tratamiento de cuarentena de la polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*). 2015. Sin publicar.
- Martín Toledo, T. 2015. Memoria final del proyecto de búsqueda de enemigos naturales de las Polillas de la Papa presentes en Tenerife. Sin publicar.
- Estadística agraria de Canarias. ISTAC.
- Perera, S., Trujillo, E. 2016. Ensayo de eficacia de Coragen 20 SC en el control de la polilla guatemalteca de la papa. En línea: http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/papa_600_Coragen.pdf
- Perera, S., Cubas F. Padilla, A., Carnero, A., Hernández, J., Asencio, M. 2009. Ensayo de eficacia en el control de la polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora*) mediante la aplicación en campo de nematodos entomopatógenos. En línea: http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/papa_248_L_con_polilla_nema_ento_mo.pdf
- Ríos Mesa, D.J. 2012. La polilla guatemalteca de la papa (*Tecia solanivora*) en Tenerife (2012). En línea: http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/papa_482_polilla_guatemalteca_red.pdf.

Agradecimientos

Este trabajo está englobado dentro de los Proyectos Papa del Plan Anual de Trabajo del 2000-2015 del Servicio de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo Insular de Tenerife, dentro del proyecto INIA RTA 2011-00125 y del trabajo anual planificado por el Servicio de Sanidad Vegetal de la Consejería de Agricultura Ganadería y Pesca del Gobierno de Canarias.

Tablas y Figuras



Figura 1- Sucesivas introducciones de la Polilla Gautemaltéca (*Tecia solanivora* Povolny (*Lepidoptera: Gelechiidae*)) en diferentes países.

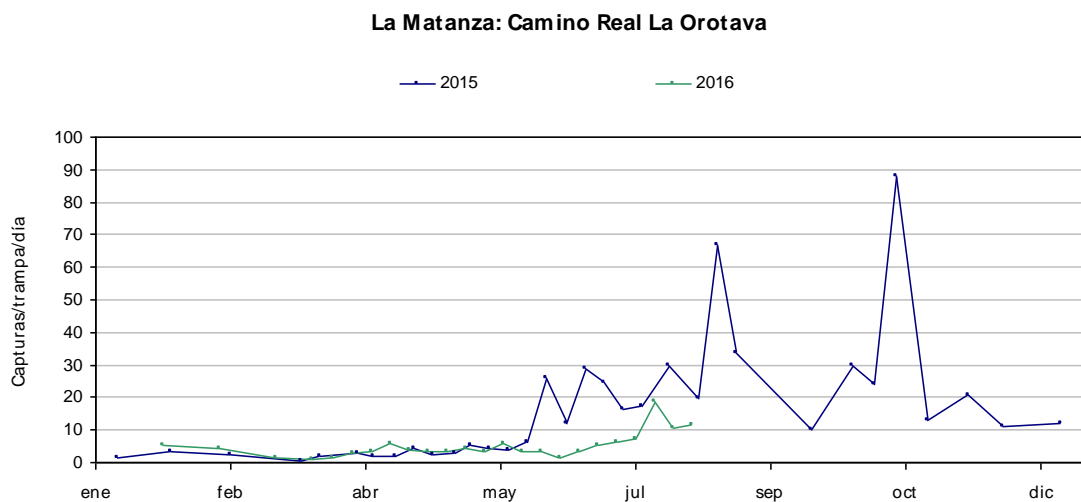


Figura. 2- Curva de vuelo de *T. solanivora* en La Matanza (2015-2016)

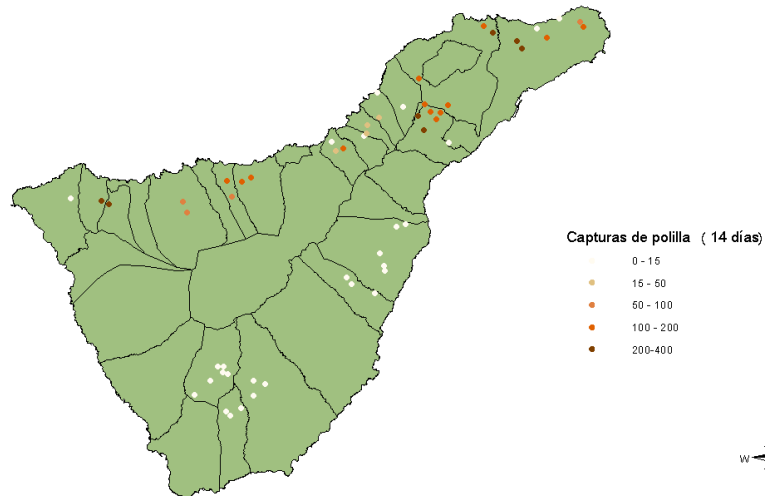


Figura 3- Puntos de muestreo de polilla en Tenerife.

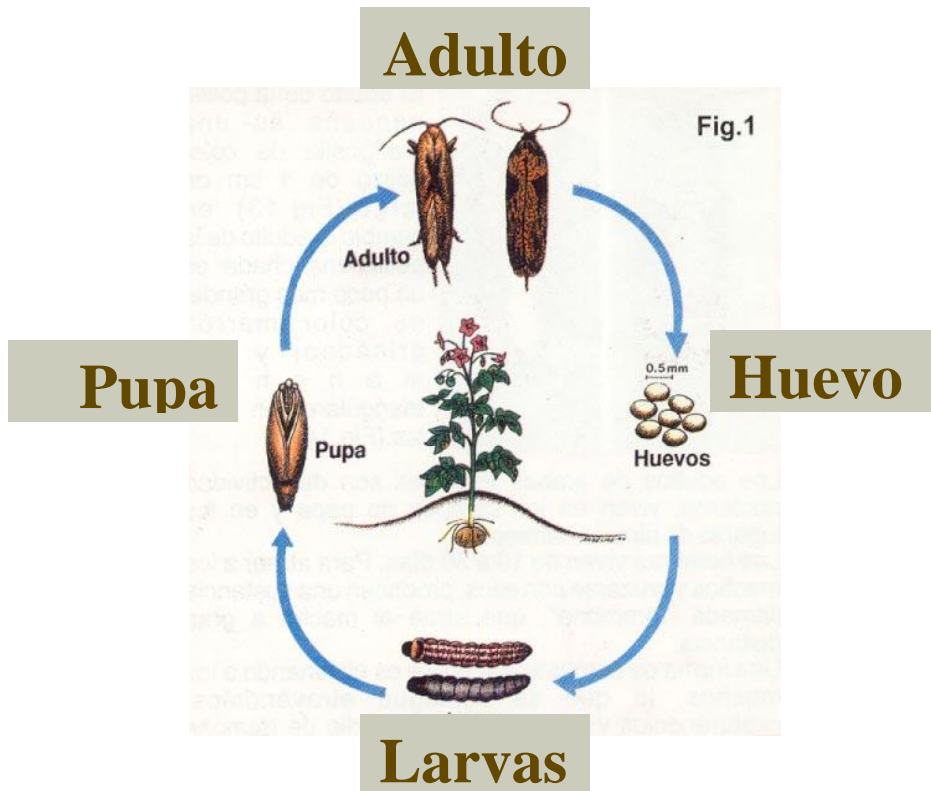


Figura 4- Ciclo de la Polilla Guatemalteca



Figura 5 y 6- Larva (izquierda) y pupa (derecha) de la Polilla Guatemalteca



Figura 7- Adulto Polilla Guatemalteca



Figura 8- Daños en tubérculo causados por Polilla guatemalteca.

Presença da sarna da batata-doce (*Monilochaetes infuscans*) em Portugal continental

Amílcar Duarte¹, Luísa Coelho¹, Pedro Louro¹, João P. Duarte Costa¹ & Lídia Dionísio¹

¹MeditBio, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve (UALg), Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, aduarte@ualg.pt

Resumo

A batata-doce é uma cultura oriunda do continente americano, que está presente no sul de Portugal desde há vários séculos, fazendo parte das tradições gastronómicas desta zona do país. Tradicionalmente, a batata-doce fazia parte de um sistema de rotação de culturas, alternando com cereais e leguminosas. Nessas condições, a cultura não apresentava problemas fitossanitários, não carecendo, portanto, de aplicação de nenhum pesticida.

Nos últimos anos tem havido um incremento do interesse pelo produto e um aumento da produção, com cultivo de batata-doce nas mesmas parcelas em anos seguidos. Este abandono dos sistemas de rotação e a importação de plantas de outras zonas produtoras, sem os devidos cuidados fitossanitários, levaram ao aparecimento de várias doenças e pragas que começam a produzir danos significativos. A introdução de um sistema de produção de material vegetal de qualidade que diminua os riscos de propagação de doenças e pragas pode minimizar o efeito negativo do abandono das boas práticas agrícolas de outrora.

De entre as doenças que atacam a cultura, a sarna da batata-doce é uma das mais disseminadas, estando presente em muitas zonas produtoras. Em Portugal, esta doença só tinha sido identificada nos Açores. Em 2016 a doença foi detetada em plantações de batata-doce do sudoeste de Portugal continental. Amostras de batata-doce com sintomas característicos da doença foram recolhidas numa exploração agrícola e analisadas na Universidade do Algarve. Foi feita uma inoculação em meio de cultura PDA, adequado para o crescimento de fungos, e incubou-se a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. As colónias de fungos formadas foram repicadas para PDA com o objectivo de se obter cultura pura. As características culturais macroscópicas e microscópicas testemunham a presença de *Monilochaetes infuscans* Ell. & Halst. ex Harter. Este fungo causa lesões acastanhadas na superfície da batata-doce, desvalorizando comercialmente o produto e acarretando perdas económicas significativas.

Palavras-chave: *Ipomoea batatas*, doença, rotações, policultura, propagação.

Abstract

The sweet potato is a culture originating in the American continent and it has been present in the south of Portugal for several centuries, being part of the gastronomic traditions of this zone of the country. Traditionally, sweet potatoes were part of a crop rotation system, alternating with cereals and legumes. Under these conditions, the crop did not present phytosanitary problems, and therefore did not require the application of any pesticide.

In recent years there has been an increase in interest in the product and an increase in production, leading to the cultivation of sweet potatoes in the same plots in consecutive years. This abandonment of rotation systems and the importation of plants from other producing areas, without due phytosanitary care, have led to the emergence of several diseases and pests which are beginning to produce significant damages. The introduction

of a quality plant material production system that reduces the risks of disease and pest spread can minimize the negative effect of abandoning good traditional agricultural practices.

Among the diseases that attack the crop, sweetpotato scurf is one of the most widespread, being present in many producing areas. In Portugal, this disease had only been identified in the Azores. In 2016 the disease was detected in sweet potato plantations in the southwest of mainland Portugal. Samples of sweet potatoes with symptoms characteristic of the disease were collected on a farm and analyzed at the University of Algarve. Inoculation was done in PDA culture medium, suitable for fungal growth, and incubated at 25 ± 2 ° C. The fungal colonies formed were punctured to PDA in order to obtain pure culture. Macroscopic and microscopic cultural characteristics testify the presence of *Monilochaetes infuscans* Ell. & Halst. Ex Harter. This fungus causes brownish lesions on the surface of sweet potatoes, commercially devaluing the product and causing significant economic losses.

Keywords: *Ipomoea batatas*, disease, rotations, polyculture, propagation.

Introdução

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) constituiu durante muitos anos a base da alimentação das populações mais pobres do Algarve e de parte do Alentejo, devido à facilidade do seu cultivo e também pelo facto de poder ser cozinhada sem qualquer condimento. O cultivo desta planta era inserido num sistema de rotação de culturas e a introdução de material vegetal vindo de outras regiões ou países era rara. A adubação orgânica era muito usada e os adubos minerais ou não eram aplicados ou eram-no em pequenas quantidades. Nessas condições a batata-doce não apresentava problemas fitossanitários graves. O aparecimento esporádico de aranhaço vermelho e alguns casos raros de podridões não exigiam a aplicação de tratamentos fitossanitários (Duarte, 1999; Rosa, 2006).

Embora a zona de cultivo abrangesse quase todo o Algarve e grande parte do Alentejo, a batata-doce produzida no concelho de Aljezur sempre foi considerada como sendo de superior qualidade. Isso fez com que, embora noutras zonas do continente a produção tenha diminuído, em Aljezur e em algumas freguesias do concelho de Odemira a produção se tenha mantido ou e até aumentou nos últimos anos (Barbosa, 2015). A versatilidade do produto, o seu sabor agradável e o elevado valor nutritivo levaram a que a batata-doce tenha vindo a ser cada vez mais apreciada e valorizada em diversos pratos tradicionais e também em novos pratos de prestigiados cozinheiros.

O prestígio da batata-doce de Aljezur recebeu o merecido reconhecimento através da aprovação da Indicação Geográfica Protegida (IGP) “Batata Doce de Aljezur” (European Union, 2006), o que ainda veio chamar mais atenção sobre a cultura e aumentar a sua área de cultivo.

O aumento do cultivo foi acompanhado do abandono das práticas tradicionais de cultivo e da importação de plantas de outras zonas produtoras, sem os devidos cuidados fitossanitários, o que levou ao aparecimento de várias doenças (Lima et al., 2013; Varanda et al., 2015) e pragas que começam a produzir danos significativos.

É certo que também está em curso a introdução de um sistema de produção de material vegetal de qualidade que diminui os riscos de propagação de doenças e pragas, mas a tendência geral parece ser o abandono das boas práticas agrícolas de outrora.

A sarna da batata-doce é uma doença provocada pelo fungo *Monilochaetes infuscans* Ell. & Halst. ex Harter (Clark & Moyer, 1988; Lenna et al., 1999). Este agente patogénico provoca manchas escuras na superfície da raiz, que poderão evoluir para

fendas, causando grandes perdas económicas, por desvalorização do produto no mercado. Se as condições de armazenamento forem adequadas à conservação do produto, nomeadamente humidade elevada e temperatura adequada, a doença continua a evoluir depois da colheita (Harter, 1916).

A introdução de um sistema de produção de material vegetal de qualidade, que diminua os riscos de propagação de doenças e pragas, pode contribuir para minimizar os danos desta e de outras doenças.

Material e métodos

Amostras de batata-doce, com sintomas característicos da doença, foram recolhidas numa exploração agrícola do sudoeste de Portugal continental, num solo arenoso, no início de novembro de 2016. A doença estava presente numa parte significativa das raízes de reserva, onde era evidente a presença de manchas características, assim como algum fendilhamento no centro das manchas de maiores dimensões.

A tabela 1 mostra os valores dos parâmetros climáticos mais relevantes observados durante o desenvolvimento da cultura da batata-doce no campo.

As amostras foram analisadas na Universidade do Algarve. Após lavagem das raízes, as zonas lesionadas foram cortadas em pequenos fragmentos e desinfectadas em conformidade com Pimentel et al. (2006). Posteriormente inoculou-se o tecido em meio de cultura PDA (Oxoid, Uk), adequado para o crescimento de fungos, e incubou-se a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram feitas repicagens sucessivas até obtenção de cultura pura. Ao microscópio, com uma ampliação de 1000x, observaram-se as características microscópicas do fungo, nomeadamente o micélio e os conídeos. As características macroscópicas foram analisadas por observação do crescimento e evolução do fungo em meio de cultura PDA.

Resultados e discussão

A partir de uma cultura pura, 4 dias após a inoculação, observou-se o desenvolvimento de um micélio branco que posteriormente se tornou castanho-escuro. Ao microscópio pode-se observar que o micélio inicialmente é hialino, tornando-se castanho posteriormente. Os conídios são escuros, septados e erectos e inicialmente hialinos, isolados ou em cadeia (fig. 2).

As características culturais macroscópicas e microscópicas indicam tratar-se de *Monilochaetes infuscans* Ell. & Halst. ex Harter. Relativamente às condições climáticas, o fungo desenvolve-se num intervalo de temperaturas compreendido entre 28,8 e 31,1°C (Reddy, 2015). Conforme o quadro 1, no período de desenvolvimento da cultura, a temperatura média máxima do ar, nos meses de julho, agosto e setembro atingiram valores elevados e adequados para o desenvolvimento deste fitopatogéneo. Também ao nível do solo as temperaturas foram favoráveis. A rega e as chuvas ocorridas durante o mês de setembro, aumentando a humidade no solo, poderão ter também contribuído para o desenvolvimento da doença.

Conclusões

A sarna da batata-doce, *Monilochaetes infuscans* Ell. & Halst. ex Harter, foi identificada em Portugal continental.

A presença desta doença parece estar relacionada com a importação de material de propagação, sem que tenham sido tomadas medidas que minimizem o risco de entrada de novas doenças e pragas.

Uma vez que a maior parte da produção portuguesa de batata-doce se destina ao comércio em fresco, a doença pode causar perdas económicas significativas, se não forem tomadas medidas de contenção da doença.

O monocultivo de batata-doce que se pratica em algumas explorações agrícolas, agrava a incidência da doença.

Para controlar a sarna da batata-doce é necessário:

- Usar material de propagação livre da doença;
- Não plantar batata-doce em solos infectados com o fungo;
- O intervalo de tempo entre duas plantações de batata-doce deve ser de 2-3 anos em solos arenosos e de 4 anos em solos pesados e/ou ricos em matéria orgânica;

As caixas e outros materiais usados no transporte e manipulação da batata-doce devem ser cuidadosamente desinfectados.

A adopção destas medidas poderá baixar os níveis de incidência da doença. Porém, se os agricultores não forem sensibilizados para este problema, e não adoptarem as necessárias medidas, os danos causados pela sarna da batata-doce terão tendência para se estender a toda a zona de produção e aumentar a taxa de batatas com sintomas, com elevados prejuízos.

Referências

- Barbosa, J. 2015. Batata-doce cresce no sudoeste alentejano. Vida Rural. <http://www.vidarural.pt/batata-doce-cresce-no-sudoeste-alentejano/>
- Clark, C. A. & Moyer, J. W., 1988. Compendium of Sweet Potato Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Duarte, A. 1999. Algumas Razões para o Incentivo da Cultura da Batata-Doce, no Âmbito das Medidas Agroambientais. Algazur, 89 (maio 1999):7.
- European Union, 2016. COUNCIL REGULATION (EC) No 510/2006 ‘BATATA DOCE DE ALJEZUR’. Official Journal of the European Union, C 324: 31-33
- Harter, L. L. 1916. Sweet-potato scurf. Journal of Agricultural Research 17: 787-795
- Lenna, P. Di, Mascarello, & Xodo, N. E., 1999, First Report of Sweetpotato Scurf Caused by *Monilochaetes infuscans* in Italy. Plant Disease 83(3): 300.
- Lima, A., Caetano, M.F.F. & Ramos, A.P. 2013. Podridão do pé da batata-doce. Folheto de divulgação. ISA, LPVVA e DRAPALG.
- Reddy, P. P. 2015. Plant Protection in Tropical Root and Tuber Crops. Springer. Bangalore, India.
- Rosa, R. 2006. Batata Doce de Aljezur. Al-Rihana, 2:89-98.
- Pimentel, I. C., Kuczkowski, F.R., Chime, M.A., Auer, C.G. & Junior, A.G. 2006. Fungos endofíticos em folha de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Floresta, 36:123-128.
- Varanda, C., Santos, S., Oliveira, M., Clara, M. E., & Félix, M. R. (2015). Detection of sweet potato virus C, sweet potato virus 2 and sweet potato feathery mottle virus in Portugal. Acta Virol. 59(2):185-188.

Quadros e Figuras



Figura 1 - Manchas provocadas por *M. infuscans* em batata-doce, no momento da colheita, com pequenas fendas na casca, na zona manchada.



Figura 2 - Aspecto microscópico do fungo *M. infuscans* (x1000)

Quadro 1 - Principais parâmetros climáticos na região onde foi identificada a doença.

	Tmd (°C) (*)	Tmx (°C)	Ts (°C)	HR (%)	P (mm)	ETP (mm)
Julho	20,9	29,8	29	71	0,0	4,8
Agosto	21,8	30,4	29,3	69	0,0	4,7
Setembro	20,2	29,3	27,3	72	3,8	4,2
Outubro	17,5	25,1	21,8	79	63,2	2,7
Novembro	14	20,4	16,6	79	71,4	1,9

(*) Tmd, temperatura média do ar; Tmx, temperatura máxima do ar; Ts, temperatura do solo a 15 cm de profundidade; HR, humidade relativa média; P, precipitação; ETP, evapotranspiração.

Efecto supresor de nuevos compost sobre *Pythium irregulare* para el cultivo de lechuga 'baby leaf' en sistema de bandejas flotantes

A. Giménez¹; J.A. Fernández^{1a}; C. Egea-Gilabert²; J.A. Pascual³; M. Ros³.

¹Dpto. Producción Vegetal, Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena, e-mail: juan.fernandez@upct.es

²Dpto. Ciencia y Tecnología Agraria (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena

³Dpto. Conservación de suelos y Agua y Manejo de Residuos Orgánicos. CEBAS-CSIC, Campus de Espinardo, E-30100-Murcia

Resumen

En la producción de lechuga 'baby leaf' en bandejas flotantes, el uso de la turba como sustrato puede generar importantes pérdidas debido a que las plantas se ven afectadas por enfermedades que merman el crecimiento y la calidad de las lechugas. Entre ellas, destaca el "damping off" causada entre otros por hongos del género *Pythium*. El uso de nuevos compost con potencial actividad supresiva podría permitir un sistema de producción más sostenible al reemplazar el uso de turbas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad supresiva de un compost obtenido a partir de residuos de la industria agroalimentaria (C14) en el patosistema *Pythium irregulare*-lechuga, y su efecto sobre la calidad y producción de lechuga. En el experimento se utilizó un cultivar de lechuga 'baby leaf' roja 'Antoria'. La recolección se efectuó 35 días tras la siembra, analizándose el crecimiento aéreo y radical de la planta y se determinó el contenido de nitratos, fenoles totales, capacidad antioxidante y vitamina C. En ausencia de patógeno, no se observaron diferencias significativas de peso fresco y área foliar entre el compost y la turba. En condiciones de presión de patógeno, el compost (C14) mejoró el crecimiento de las plantas de lechuga, obteniendo valores significativamente mayores que la turba, en peso fresco aéreo, área foliar y altura. Asimismo, C14 redujo el contenido de nitratos tanto en ausencia como en presencia de patógeno. El contenido de fenoles totales y de capacidad antioxidante aumentó en presencia de patógeno en C14. En conclusión, el compost C14 podría ser una alternativa factible a la turba en sistema de bandeja flotante, ya que mejora el crecimiento y la calidad de las plantas de lechuga en presencia del patógeno, evitando que la infección afecte al desarrollo de las mismas.

Palabras clave: *Lactuca sativa*, supresividad, damping off.

Abstract

In the production of small leafy lettuce (baby leaf) in floating system, the use of peat as a substrate could presents significant losses, since plants can be affected by different diseases such as 'damping off', which are caused by fungi as *Pythium spp*. The use of composts with suppressive effect can be used as an alternative to peat helping to control these pathogens and allowing a more sustainable production system. The objective of this work was to study the suppressive capacity of new compost obtained from residues of the agrifood industry (C14) in the pathosystem *Pythium irregulare*-lettuce, and its effect on the lettuce quality and production. In the experiment a cultivar of lettuce 'baby leaf' red 'Antoria' was used. Harvesting was done 35 days after sowing. The aerial and root growth, nitrate content, total phenolics, antioxidant capacity and vitamin C were measured at harvesting time. In the non-infected conditions, no significant differences were observed in fresh weight and leaf area between C14 and peat. In the infected conditions, C14 improved the growth of lettuce plants, with higher in fresh

weight, leaf area and height. Also, C14 reduced nitrate content both in the non-infected and infected conditions. The content of total phenolics and antioxidant capacity increased in plants grown in C14 with the presence of pathogen. In conclusion, compost C14 can be used as an alternative to peat in a floating system, improving the growth and quality of plants lettuce in the presence of the pathogen and preventing the infection of lettuce.

Keywords: *Lactuca sativa*, suppressiveness, damping off.

Introducción

La producción de lechuga ‘baby leaf’ (*Lactuca sativa* L.) en sistema hidropónico de bandeja flotante se realiza utilizando principalmente turba como sustrato, debido a sus características agronómicas positivas tales como propiedades químicas y físicas constantes, alta capacidad de retención de agua, porosidad óptima y pH controlado (Pane et al., 2011). No obstante, el uso de turba hace que las plantas puedan verse afectadas por enfermedades tales como el ‘damping off’, causada por hongos como *Pythium* spp., que reducen el crecimiento y la calidad de los cultivos. La incidencia de *Pythium* en el cultivo de lechuga en bandeja flotante sobre una solución nutritiva en medio acuoso, se ve reforzada por condiciones de elevada humedad y temperatura (20-30 ° C) y/o exceso de nitrógeno. El cultivo puede ser afectado tanto antes, produciendo la no germinación, como después de la misma, produciéndose en este caso una hoja amarillenta, doblándose el tallo y, finalmente, la muerte de la planta.

La industria procesadora de frutas y hortalizas produce una gran cantidad de residuos orgánicos, que pueden representar una importante fuente de nutrientes para las plantas y microorganismos y, por tanto, mejoran la producción de los cultivos (Hernandez y col. 2014). Estos residuos, a través del compostaje, producen un compost de alta calidad que pueden ser utilizado en agricultura (Blaya et al., 2015). El compost puede utilizarse como sustrato de cultivo de acuerdo con las directrices establecidas por la legislación española (RD 865/2010), así como en sustitución parcial de la turba (López-Mondejar et al., 2010).

El uso de determinados compost tiene un valor añadido por su carácter supresor de enfermedades (Hadar et al., 2012, Blaya et al., 2015), a diferencia de la turba que casi nunca es supresiva contra patógenos (Bonanomi et al., 2010). Los materiales iniciales, la madurez, la composición y la actividad microbiana del compost son características importantes que pueden determinar la capacidad supresora del sustrato (Castaño et al., 2011). La actividad supresiva de los compost frente a diferentes patógenos de plantas se ha atribuido a factores bióticos y/o abióticos (Noble & Coventry, 2005). Está considerado que son las características bióticas las principales responsables de dicha actividad, aunque las abióticas como las sustancias fenólicas también pueden contribuir a dicha actividad supresora. Por ello, el uso de compost puede ayudar a reducir el uso de productos químicos empleados para la protección de las plantas.

Para las hortalizas de hoja pequeña (baby leaf), además de controlar patógenos, el compost también podría mejorar el rendimiento y la calidad del producto final. Un aspecto importante para la calidad de lechuga baby leaf es el contenido final de nitratos, regulado por el Reglamento de la UE 1258/2011. La acumulación de nitratos en planta está influenciada por muchos factores, siendo la fertilización nitrogenada y la intensidad luminosa los principales factores que influyen en dicho proceso (Santamaria, 2006). Además, la lechuga y particularmente la roja, destaca por su contenido en potasio y hierro, así como, por su contenido en vitaminas (folatos, betacaroteno, vitaminas C y E) y flavonoides. Según Tomás-Barberán y Espin (2001), la composición del suelo (mineral y orgánica), la genética de las plantas, las condiciones medioambientales y las condiciones

de pre y poscosecha pueden influir de forma importante en el contenido en compuestos polifenólicos en las plantas. Particularmente, la aportación de compost puede aumentar su contenido. Así, Cruz et al. (2014) observaron un efecto favorable en el contenido nutricional (compuestos bioactivos) de las plantas de lechuga al adicionar restos de café, y Singh et al. (2003) observaron un incremento en la producción de compuestos fenólicos de la planta de guisante al añadir extracto de vermicompost. En este sentido, el compost representa una alternativa cada vez más atractiva a la turba en la producción agrícola sostenible.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la capacidad supresiva de un compost obtenido a partir de residuos de la industria agroalimentaria (C14) en el patosistema *Pythium irregulare*-lechuga, y su efecto sobre la calidad y producción de lechuga.

Material y métodos

El ensayo se realizó en la estación experimental agrícola “Tomas Ferro” de la UPCT (37° 41 'N; 0° 57' O). En el experimento se utilizó el cultivar de lechuga roja ‘Antoria’ de la casa Rijk Zwaan. La siembra se realizó manualmente el 23 de noviembre de 2016 en bandejas "styrofloat" de 20 x 41 cm, con un total de 16 fisuras tronco-cónicas por bandeja, con un volumen de 32,4 cm³ por fisura. Tras la siembra, las bandejas se dispusieron en una cámara climática con condiciones de 18 °C, 90% de humedad relativa y oscuridad durante 48 horas para facilitar la germinación. Seguidamente, las bandejas se pasaron a unas mesas de cultivo con 200 L de agua de dimensiones 1,35 x 1,25 x 0,2 m, ubicadas en el interior de un invernadero de policarbonato.

El compost agroindustrial utilizado fue el compost C14, cuya composición y características se describen en la Tabla 1. La turba rubia (Pindstrup) se usó como sustrato control. El compost fue producido por el CEBAS-CSIC en pilas al aire libre, con una fase biooxidante y una de maduración de 75 y 42 días, respectivamente. Una vez terminado el proceso de compostaje, se procedió a picar y tamizar (1 cm) el compost obtenido. Las muestras se almacenaron a -20°C y 4°C para su posterior uso.

El patógeno utilizado fue *Pythium irregulare*, el cual se obtuvo a partir de plantas de lechuga con síntomas de la enfermedad. El inóculo infectivo se consiguió transfiriendo un disco de (5mm) de una placa de agar con micelio de siete días en patata dextrosa agar. El cultivo se incubó a 28°C durante 7 días. El micelio de una placa se recogió y se mezcló con una batidora con 25 mL de agua destilada estéril. La cantidad a incorporar fue de 100 mL por cada 200 litros de agua ($2,08 \times 10^3$ copias ITS del patógeno) en cada una de las mesas. Se consideraron dos condiciones, el agua no infectada (SP) e infectada (PA) con el patógeno *Pythium irregulare*.

Transcurrida una semana se realizó un aclareo de plántulas, dejando 8 por fisura, lo que representó una densidad de plantación de 1600 plantas m². A partir de esa fecha se empleó una solución nutritiva con un pH: 5,8 y una conductividad eléctrica (CE): 2,5 dS m⁻¹, conteniendo las siguientes concentraciones iónicas en $\mu\text{mol.L}^{-1}$: NO₃⁻, 7200; NH₄⁺, 4800; H₂PO₄⁻, 2000; K⁺, 6000; Mg²⁺, 1500; Ca²⁺. A esta solución se le añadió una mezcla comercial de microelementos y un quelato de Fe, ambos a una concentración de 0,02 g L⁻¹. La solución nutritiva fue oxigenada mediante bombas de aire y tubos perforados situados en la base de las mesas de flotación.

La duración del ciclo de cultivo fue de 35 días. En la recolección se analizó el crecimiento aéreo (altura de planta, peso fresco y seco de la planta y área foliar (mediante LICOR- 3100 C)). El crecimiento radical (longitud, diámetro medio, área y volumen de raíces) fue medido con el programa Winzhizo LA 1600 y el contenido de nitratos se cuantificó mediante cromatografía iónica (Lara et al., 2011). También se analizó el contenido de vitamina C, suma del ácido ascórbico (AA) y del ácido dehidroascorbico

(DHA), usando cromatografía líquida de alta resolución (Shimadzu Corporation, Canby, OR) (Rodríguez Hidalgo et al., 2010). Además, se midió el contenido de fenoles totales mediante el método clorométrico de Folin-Ciocalteu (Everette et al., 2010) y la capacidad antioxidante según el modelo de Brand-Williams y col. (1995) con las modificaciones descritas por Pérez-Tortosa et al. (2012).

Para el diseño experimental se consideró como parcela elemental una bandeja tipo "styrofloat" de dimensiones 20 cm x 41 cm, disponiendo de 4 repeticiones al azar por tratamiento (SP/Turba, SP/C14, P/Turba, P/C14). Los datos tomados se sometieron a un análisis de variancia multifactorial ANOVA, utilizando el test LSD (95%) para la separación de las medias mediante el software Statgraphics Plus para Windows, versión 2.1

Resultados y discusión

En el crecimiento vegetativo hubo interacción significativa entre la infección y el tipo de sustrato en todos los parámetros estudiados (tabla 2). De los resultados de la interacción se destaca que los valores de peso fresco, peso seco, área foliar y altura se redujeron significativamente en turba en condiciones de infección (figura 1). C14 no mostró diferencias significativas en el peso fresco y la altura entre el tratamiento infectado y no infectado, mostrando de este modo la capacidad de este compost a reducir la infección del patógeno en la planta. En cuanto al crecimiento de las raíces de las plantas de lechuga, no fue afectado ni por la infección ni por los sustratos empleados (tabla 3).

El contenido de nitratos presentó una interacción significativa entre la infección y el tipo de sustrato (tabla 4). De los resultados obtenidos se observó que el contenido de nitratos fue significativamente mayor en turba en ausencia de patógeno respecto al resto de tratamientos con y sin presencia del patógeno (figura 2), siendo los niveles de nitratos en C14 los más bajos en ambas condiciones con y sin infección. En plantas infectas con *Pythium*, el contenido en nitratos es bajo debido, probablemente, a que parte del nitrógeno es requerido por la planta para la biosíntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis, así como de otros componentes de la defensa vegetal frente al ataque por Oomicetos (Schultz et al., 2013). Los valores obtenidos se encuentran muy por debajo de los niveles máximos establecidos por la Comisión Europea en el Reglamento de la UE 1258/2011, que para lechuga en invernadero en dichas fechas es de 5000 mg.Kg⁻¹. Tesi y Lenzi, (1998) observaron que el uso de fertilizantes de liberación lenta produce una reducción del contenido de nitratos en las plantas, por lo que la utilización de compost podría favorecer la reducción de nitratos debido a su forma gradual de liberación de nutrientes.

La concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante en plantas de lechuga presentan interacción significativa entre la infección y el tipo de sustrato (tabla 4). El contenido de fenoles totales fue significativamente mayor en C14 en presencia de patógeno, en comparación con el tratamiento en ausencia del mismo. En el caso de la turba, los valores de fenoles no mostraron diferencia en presencia o ausencia de patógeno (figura 2). En el caso de la capacidad antioxidante, el valor de C14 fue significativamente mayor en presencia de patógeno con respecto al valor obtenido en ausencia de patógeno. Se ha demostrado que el contenido de estos compuestos fitoquímicos puede incrementarse por factores que inducen estrés en la planta (Pandino et al., 2010). En cuanto a la vitamina C, su contenido no se vio afectado ni por el tipo de sustrato, ni por el tipo de infección. Por último, se observó un alto nivel de correlación positiva entre la capacidad antioxidante y la vitamina C en el caso del C14, no así con la turba (datos no presentados). La incidencia del patógeno mostró una correlación negativa con la reducción de peso fresco y peso seco en el caso de la turba, no siendo así en el C14 (datos no presentados).

Conclusiones

En condiciones de presencia del patógeno el uso de un sustrato como el compost agroindustrial C14 mejora el crecimiento aéreo de las plantas de lechuga tipo 'baby leaf' cultivadas en bandeja flotante, mostrando la capacidad de C14 de reducir la infección del patógeno en la planta. El contenido de nitratos en hojas se ve reducido considerablemente en presencia de patógeno, mejorando la calidad de las plantas. Los valores de fenoles totales y capacidad antioxidante aumentan con la presencia del patógeno *Pythium irregulare* en el compost agroindustrial seleccionado. Los resultados obtenidos parecen sugerir que el uso de compost con efecto supresivo es una alternativa a la turba en sistema de bandejas flotantes, ya que mejora el crecimiento y calidad de las plantas en presencia de patógeno.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España, proyectos AGL-2014-52732-C2-1-R y AGL-2014-52732-C2-2-R.

Referencias

- Castaño, R., Borrero, C. & Avilés, M. 2011. Organic matter fractions by SP-MAS ¹³C NMR and microbial communities involved in the suppression of *Fusarium wilt* in organic growth media. *Biological Control* 58, 286-293.
- Blaya, J., Lloret, E., Ros, M. & Pascual, J.A. 2015. Identification of predictor parameters to determine agro-industrial compost suppressiveness against *Fusarium oxysporum* and *Phytophthora capsici* diseases in muskmelon and pepper seedlings. *Journal Science Food Agriculture*. 95(7), 1482-90.
- Bonanomi, G., Antignani, V., Capodilupo, M. & Scala, F. 2010. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soil-borne plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry*. 42, 136-144.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30.
- Cruz, R., Gomes, T., Ferreira, A. & Casal, S. 2014. Antioxidant activity and bioactive compounds of lettuce improved by espresso coffee residues. *Food Chemistry*. 145C:95-101
- Everette, J.D., Bryant, Q.M., Green, A.M, Abbey, Y.A., Wangila, G.W. & Walker, R.B. 2010. Through study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 8139-8144.
- Hadar, Y. & Papadopoulou, K.K. 2012. Suppressive composts: microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. *Annual Review Phytopathology*. 50, 133-153.
- Hernández, T., Chocano, C., Moreno, J.L. & García, C., 2014. Towards a more sustainable fertilization: combined use of compost and inorganic fertilization for tomato cultivation. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 196, 178-184
- Lara, L.J., Egea-Gilabert, C., Niñirola, D., Conesa, E. & Fernández, J.A., 2011. Effect of aeration of the nutrient solution on the growth and quality of purslane (*Portulaca oleracea*). *Journal Horticultural Science Biotechnology*. 86, 603–610.
- López-Mondéjar, R., Anton, A., Raidl, S. & Pascual, J.A. 2010. Quantification of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* with real-time TaqMan PCR and its potential extrapolation to the hyphal biomass. *Bioresource Technology* 101, 2888-2891.

- Noble, R. & Coventry, E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review. *Biocontrol Science and Technology*. 15, 3-20.
- Pane, C., Spaccini, R., Piccolo, A., Scala, F. & Bonanomi, G., 2011. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. *Biological Control* 56, 115-124.
- Pandino, G. Courts, F.L., Lombardo, S., Manuromicale, G. & Williamson, G. 2010. Caffeoylquinic acids and flavonoids in the immature inflorescence of globe artichoke, wild cardoon, and cultivated cardoon. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 58, 1026-1031.
- Pérez-Tortosa, V, López-Orenes, A, Martínez-Pérez, A, Ferrer, M.A. & Calderón, A.A. (2012). Antioxidant activity and rosmarinic acid changes in salicylic acid-treated *Thymus membranaceus* shoots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 130: 362-369.
- Rodríguez-Hidalgo, S., Artés-Hernández, F., Gómez, P., Fernández, J.A. & Artés, F. 2010. Quality of fresh-cut baby spinach grown under a floating trays system as affected by nitrogen fertilization and innovative packaging treatments. *Journal Science Food Agriculture*. 90:1089–1097.
- Santamaria, P., 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal Science Food Agriculture*. 86, 10–17.
- Singh U.P., Maurya, S. & Singh, D.P. 2003. Antifungal activity and induced resistance in pea by aqueous extract of vermicompost and for control of powdery mildew of pea and balsam. *Journal Plant Diseases Protection*. 110:544-553
- Tesi, R. & Lenzi, A., 1998. Controlled-release fertilizers and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agricoltura Mediterranea* 128(4), 313-320.
- Tomás-Barberán, F. & Espin, J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal Science Food Agriculture*. 81, 853-876.
- Schultz, J.C., Appel, H.M., Ferrieri, A.P. & Arnold, T.M. 2013. Flexible resource allocation during plant defence responses. *Frontiers in Plant Science*. 4(324), 1-11

Tablas y Figuras

Tabla 1- Propiedades y composición del compost usado (C14).

Propiedades físico-químicas		Patógenos	
pH	8,85	<i>Salmonella</i> en 25 g	Ausente
CE (dS.m ⁻¹)	3,07	<i>Listeria</i> en 25 g	Ausente
C/N	18,69	<i>Streptococcus faecalis</i> (Ufc x g)	1200
N (g.kg ⁻¹)	25,8	<i>Escherichia coli</i> (Ufc x g)	<10
P (g.kg ⁻¹)	4,9	Composición (%)	
K (g.kg ⁻¹)	15,4	Poda	12
Fe (mg.kg ⁻¹)	798	Tomate	71
Mn (mg.kg ⁻¹)	68	Cebolla	17
Cd (mg.kg ⁻¹)	<0,1		
Cu (mg.kg ⁻¹)	16		
Cr (mg.kg ⁻¹)	14		
Pb (mg.kg ⁻¹)	1		
Ni (mg.kg ⁻¹)	3		

Tabla 2- Parámetros de crecimiento vegetativo de lechuga cultivada en dos sustratos (turba (T) y compost (C14)) y con condiciones de infección (no infectado (SP) e infectado (P)). n.s. = no significativo, * P≤0,05, ** P≤0,01, *** P≤0,001. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos descritas por el test LSD (p<0.05).

Parámetros	Infección (I)		Sustrato (S)		Significación Estadística		
	SP	P	T	C14	I	C	IxS
P. Fresco (g)	1,28 b	1,08 a	1,15	1,22	***	n.s	*
P. Seco (g)	0,029	0,027	0,027	0,029	n.s.	n.s	***
Área foliar (cm²)	35,80 b	32,89 a	32,31 a	36,38 b	***	***	***
Altura (cm)	12,00 b	10,78 a	11,04 a	11,76 b	***	*	***

Tabla 3- Parámetros de crecimiento radicular de lechuga cultivada en dos sustratos (turba (T) y compost (C14)) con dos condiciones de infección (no infectado (SP) e infectado (P)). n.s.= no significativo, * P≤0,05, ** P≤0,01, *** P≤0,001. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos descritas por el test LSD (p<0.05).

Parámetros	Infección (I)		Sustrato (S)		Significación Estadística		
	SP	P	T	C14	I	C	IxS
Longitud (cm)	139,25	150,09	150,53	138,81	n.s.	n.s	n.s.
Área (cm²)	4,48	4,96	4,84	4,61	n.s.	n.s	n.s.
Diámetro (mm)	0,32	0,33	0,32	0,33	n.s.	n.s	n.s.
Volumen (cm³)	0,11	0,13	0,12	0,12	n.s.	n.s	n.s.

Tabla 4- Influencia de la infección (no infectado (SP) e infectado (P)) sobre el tipo de sustrato (turba (T) y compost (C14)) en el contenido de nitratos, fenoles totales, capacidad antioxidante y vitamina C de lechuga cultivada en bandeja flotante. n.s.= no significativo, * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos descritas por el test LSD ($p < 0.05$).

Parámetros	Infección (I)		Sustrato (S)		Significación Estadística		
	SP	P	T	C14	I	C	IxS
			787.74				
Nitratos (mg kg ⁻¹ FW)	734.18 b	425.18 a	b	372.23 a	***	***	***
Fenoles totales (mg ac. gálico kg ⁻¹ FW)	1058.39 a	1279.47 b	1116.29	1221.65	**	n.s	***
Capacidad antiox.(mg DPPH reducido kg ⁻¹ FW)	86.58	83.19	89.45	80.32	n.s.	n.s	***
Vitamina C (mg kg ⁻¹ FW)	14.82 b	11.22 a	12.42	13.63	*	n.s	n.s.

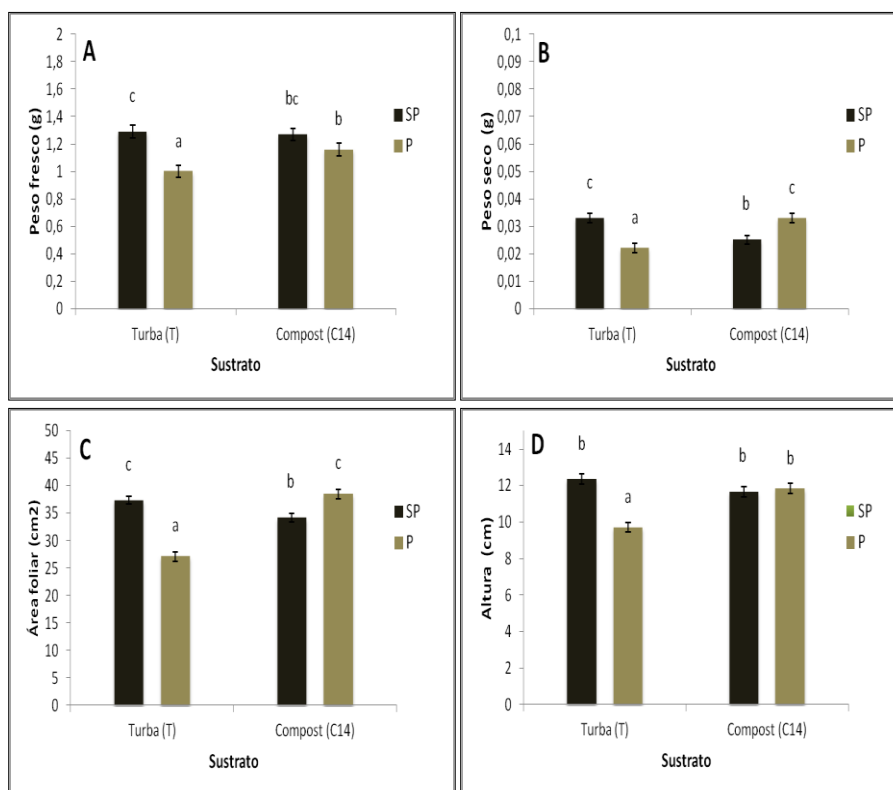


Figura 1- Efecto en el peso fresco (A), peso seco (B), área foliar (C) y altura (D) de las condiciones de infección (no infectada -SP- e infectada -PA-) en lechuga roja, en turba (T) y en compost (C14). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$), test LSD.

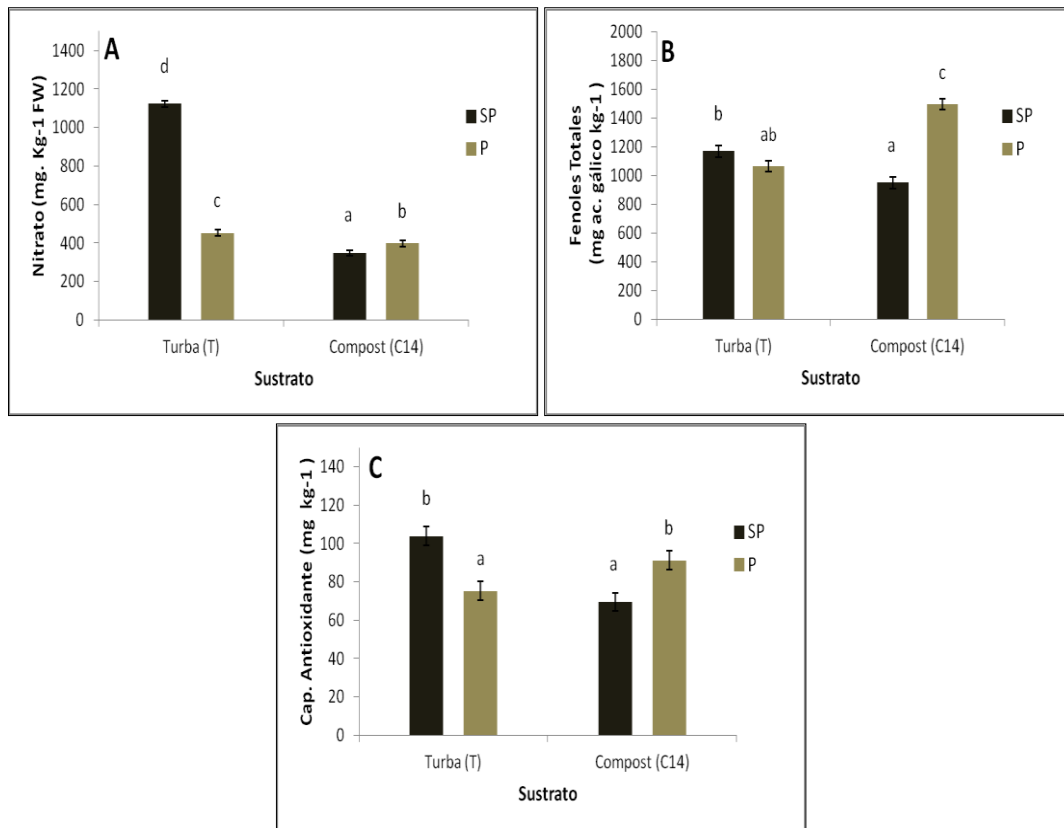


Figura 2- Efecto en el contenido de nitratos (A), fenoles totales (B) y capacidad antioxidante (C) de las condiciones de infección (no infectada -SP- e infectada -PA-) en lechuga roja, en turba (T) y en compost (C14). Diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$), test LSD.

Efecto y disipación de propiconazol y tebuconazol sobre el crecimiento de *Geotrichum candidum* en ciruela ‘Angelino’

M.J. Rodríguez, P. Calvo, B. Velardo, J. Delgado, F. Sánchez, J. Fernández, M.J. Serradilla

Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX-CICYTEX). Área de Vegetales. Avda. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, Spain
e-mail: mariajose.rodriguez@juntaex.es

Resumen

La pudrición ácida de la fruta de hueso originada por *Geotrichum spp.* (*G. candidum*) ha causado importantes daños en recientes campañas frutícolas. La fruta desarrolla la enfermedad en la postcosecha, lo que conlleva un deterioro de la fruta en el almacenamiento y posterior rechazo en los mercados de destino. Los fungicidas triazoles, propiconazol y tebuconazol, son principios activos de varios fungicidas comerciales, y son ampliamente utilizados en agricultura debido a su amplio espectro de acción. Éstos han demostrado actividad antifúngica frente a *G. candidum* en aplicaciones postcosecha. Actualmente, en España el propiconazol está autorizado como principio activo fungicida en la postcosecha de cítricos (Reglamento (CE) N° 540/2011) para el tratamiento de *G. candidum*. Con el objetivo de buscar soluciones a las podredumbres causadas por *G. candidum* en fruta de hueso durante la postcosecha, se estudió el efecto de propiconazol y tebuconazol.

El estudio fue realizado *in vivo* sobre muestras de ciruela del cultivar ‘Angelino’ desinfectadas previamente, e inoculadas artificialmente con una suspensión del patógeno. La aplicación del principio activo fue mediante pulverización intensa sobre la fruta en la dosis indicada en su formulado comercial. Posteriormente los frutos fueron envasados en atmósfera modificada y almacenados en refrigeración a una temperatura de 0.5-2.0 °C y humedad relativa del 90-95% durante 45 días. Los resultados mostraron que el tratamiento con propiconazol controló el crecimiento de *G. candidum* de forma significativa respecto al tratamiento con tebuconazol.

Por otro lado, se estudió la disipación de los residuos de tebuconazol y propiconazol después de su aplicación postcosecha. Valores inferiores a 1 y 2 mg kg⁻¹ de residuos de tebuconazol y propiconazol respectivamente fueron encontrados a las 7 h de la aplicación a las dosis empleadas. Estos valores decrecieron a lo largo del almacenamiento hasta llegar a un valor constante de 0.3 y 0.4 mg kg⁻¹ a los 14 y 28 días para tebuconazol y propiconazol respectivamente. Esto sugiere que el propiconazol presenta una acción más prolongada en el tiempo.

Palabras Clave: *in vivo*, inoculación, inhibición, postcosecha.

Abstract

The sour rot of fruit caused by *Geotrichum spp.* (*G. candidum*) have generated important damages throughout the last fruit seasons. Fruits develop this disease during postharvest storage, although the main damage is observed in destination's markets. The triazole propiconazole and tebuconazole, are active ingredients of several commercial fungicides, and they are widely used in agriculture due to their wide spectrum of action.

These have demonstrated antifungal activity in postharvest applications, including activity for inhibition of *G. candidum*. Nowadays, propiconazole is authorized as active fungicidal in citrus fruits postharvest storage for the treatment of *G. candidum* (Reglamento (CE) N° 540/2011). With the aim of looking for solutions to reduce or

decrease decay caused by *G. candidum* in stone fruit during postharvest, the effect of propiconazole and tebuconazole was evaluated.

The study was performed in vivo with samples of 'Angelino' plums previously disinfected, and artificially inoculated with a suspension of *G. candidum*. The application of the active compounds was carried out by intense pulverization over the fruit at the dose indicated in the commercial formulation labels. Later fruits were packed in modified atmosphere and store in refrigeration at 0.5-2.0 °C and 90-95 % relative humidity for 45 days. Results showed that propiconazole controlled the growth of *G. candidum* with regard to tebuconazole significantly.

On the other hand, the decrease of propiconazole and tebuconazole residues after postharvest application were studied. Lower values than 1 and 2 mg kg⁻¹ of tebuconazole and propiconazole were found to 7 h after application respectively. These values decreased in postharvest storage until 0.3 and 0.4 mg kg⁻¹ constant value to 14 and 28 days for tebuconazole and propiconazole respectively. This suggests that propiconazole presents an action more prolonged in the time.

Keywords: *in vivo*, inhibition, inoculation, postharvest.

Introducción

Geotrichum candidum (*G. candidum*) es el agente causante de la conocida pudrición ácida por el fuerte olor a fermentado y agrio que desprenden los frutos podridos, en los que se produce maceración y desintegración de la epidermis y la pulpa (Fig. 1). En fruta de hueso la pudrición ácida ha causado importantes daños en recientes campañas frutícolas, pasando de ser una enfermedad ocasional a un problema de gran importancia. La fruta desarrolla la enfermedad en la postcosecha, lo que conlleva un deterioro de la fruta en el almacenamiento y posterior rechazo en los mercados de destino (Yaghmour et al., 2012). Por ello existe gran interés en el uso de compuestos que controlen o eviten el desarrollo del microorganismo en el almacenamiento postcosecha.

Los fungicidas triazoles, propiconazol y tebuconazol, son principios activos de varios fungicidas comerciales, y han demostrado actividad antifúngica frente a *G. candidum* en aplicaciones postcosecha (Pinilla, 2005). Actualmente, en España el propiconazol está autorizado su uso como principio activo fungicida en la postcosecha de cítricos (Reglamento (CE) N° 540/2011) para el tratamiento de *Geotrichum aurantii*. Sin embargo su uso no está autorizado en la postcosecha de ciruela, pero con el objetivo de una futura autorización se estudió el efecto de propiconazol y tebuconazol sobre el crecimiento micelial de *G. candidum*.

Material y Métodos

Material vegetal y diseño experimental

La fruta objeto de estudio fue ciruela 'Angelino' (*Prunus salicina* L.), en un estado de madurez comercial. Los principios activos tebuconazol y propiconazol fueron aplicados a partir de sus formulados comerciales, Folicur® (25% p/p de principio activo) y Bravatia® (10% p/v de principio activo), en una concentración de 175 µg mL⁻¹ (T1) y 600 µg mL⁻¹ (T2) respectivamente. Además de los tratamientos con fungicidas se incluyó un control (C, fruta herida sin inocular y no tratada con fungicida), y un control inoculado (CI, fruta herida e inoculada y no tratada con fungicida). El inóculo fúngico fue preparado según describe Choi et al. (1999), a partir de una cepa del patógeno procedente de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Universitat de Valencia, España), en una concentración de 10⁴ conidios/ml. **Metodología**

La metodología fue la siguiente:

- 1) Desinfección superficial de los frutos mediante inmersión en una solución de hipoclorito sódico (200 mg mL^{-1} y pH 4-5) durante 30 s. (Fig. 2, izquierda)
- 2) Incisión en la fruta con material previamente esterilizado para generar una herida en el fruto (Fig. 2, centro).
- 3) Inoculación de los frutos con la solución de esporas del microorganismo (Fig. 2, derecha).
- 4) Aplicación del fungicida mediante pulverización intensa sobre los frutos.
- 5) Envasado en atmósfera modificada de los frutos sometidos a los diferentes tratamientos (T1, T2, C, CI) y almacenamiento refrigerado a $0.5\text{-}2.0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 45 días.
- 6) Recuento de frutos podridos con una periodicidad de 15 días.
- 7) Cuantificación de los residuos de propiconazol y tebuconazol cada 7 días mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas triple cuadrupolo (LC-MS/MS).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa *IBM SPSS* versión 20. En cada una de las fechas de análisis, se hizo el recuento de todos los frutos con síntomas de podredumbre de cada tratamiento, y los resultados se expresaron como porcentaje, sobre los que se aplicó un análisis de varianza ANOVA y test de Tukey ($p < 0.05$), en caso de existir diferencias significativas entre las medias.

Resultados y Discusión

En cada una de las fechas de análisis estudiadas, se hizo el recuento de todos los frutos de cada tratamiento con síntomas de podredumbre. La Fig. 3 muestra el aspecto de los frutos para diferentes tratamientos a los 45 días de almacenamiento. Se observó un desarrollo total de pudrición ácida en el caso de los frutos control, y en el caso del tratamiento con tebuconazol se observó desarrollo de podredumbre en las heridas realizadas. Sin embargo, no se observaron síntomas de crecimiento de *G. candidum* en los frutos tratados con propiconazol. El recuento de los frutos se expresó como porcentaje de frutos con síntomas de pudrición ácida respecto al contenido total de frutos contenidos en el envase. En la Fig. 4 observamos que el tratamiento con propiconazol (T2) controló de forma significativa el desarrollo de la podredumbre respecto al tratamiento con tebuconazol (T1) y el control inoculado (CI) en el almacenamiento. Sin embargo, el tratamiento con tebuconazol (T1) no resultó efectivo en el control de la pudrición ácida en el almacenamiento.

Para el control de los residuos de fungicidas en el almacenamiento, muestras de ciruelas sometidas a los tratamientos T1 y T2 fueron analizadas durante 28 días de almacenamiento. Los resultados mostraron que los residuos de tebuconazol (T1) estuvieron en todo momento por debajo de 1 mg Kg^{-1} (Fig. 5), sin embargo no presentó efecto fungicida como muestra la Fig. 4. En el caso del propiconazol se obtuvo un valor máximo del residuo de 1.9 mg Kg^{-1} a las 7 h de la aplicación decreciendo hasta 0.5 mg Kg^{-1} a lo largo del almacenamiento (Fig. 5). Cabe destacar el descenso más atenuado en el tiempo de la concentración de propiconazol respecto al tebuconazol, lo que hace que su efectividad fungicida se mantenga durante el almacenamiento.

Conclusiones

Del estudio *in vivo* realizado se deduce que el tratamiento con propiconazol controló el crecimiento de *G. candidum* de forma significativa respecto al tratamiento con tebuconazol. Por otro lado, del estudio de disipación de los residuos de tebuconazol y propiconazol se deduce que el descenso más atenuado en el tiempo de la concentración de propiconazol, hace que su efectividad fúngica se mantenga durante más tiempo en el almacenamiento. Esto indica que será adecuado el uso de propiconazol en el caso de transporte a largas distancias.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por FEDER y Junta de Extremadura a través de los proyectos INI1502010 y GR10006 ('Hortofruenol'). Los autores agradecen al Laboratorio Agroalimentario de Extremadura por la realización de los ensayos cromatográficos y a la empresa Tecnidex por la cesión del formulado Bravatia.

Referencias

- Pinilla, B. 2005. Eficiencia de fungicidas in vitro en la inhibición del hongo *Geotrichum Candidum* agente causal de la pudrición ácida en duraznos. XV Congreso de la Sociedad Chilena de Fitopatología.
- Reglamento (CE) N° 540/2011_ Lista de sustancias activas autorizadas.
- Yaghmour, M.A., Bostock, R.M., Morgan, D.P. & Michailides, T.J. 2012. Biology and sources of inoculum of *Geotrichum Candidum* causing sour rot of peach and nectarine fruit in California. *Plant disease* 96:204-210.

Tablas y Figuras



Figura 1- Pudrición blanda caracterizada por una maceración de los tejidos y desarrollo de micelio blanco en condiciones de alta humedad.



Figura 2- Desinfección de la fruta (izquierda); B) Incisión con material estéril (centro); C) Inoculación con suspensión de esporas del microorganismos (derecha).

A)



B)



C)



Figura 3- Desarrollo de podredumbres a los 45 días de almacenamiento refrigerado; A) Control inoculado. B) Tratamiento con $175 \mu\text{g mL}^{-1}$ de tebuconazol (T1); C) Tratamiento con $600 \mu\text{g mL}^{-1}$ de propiconazol (T2).

b

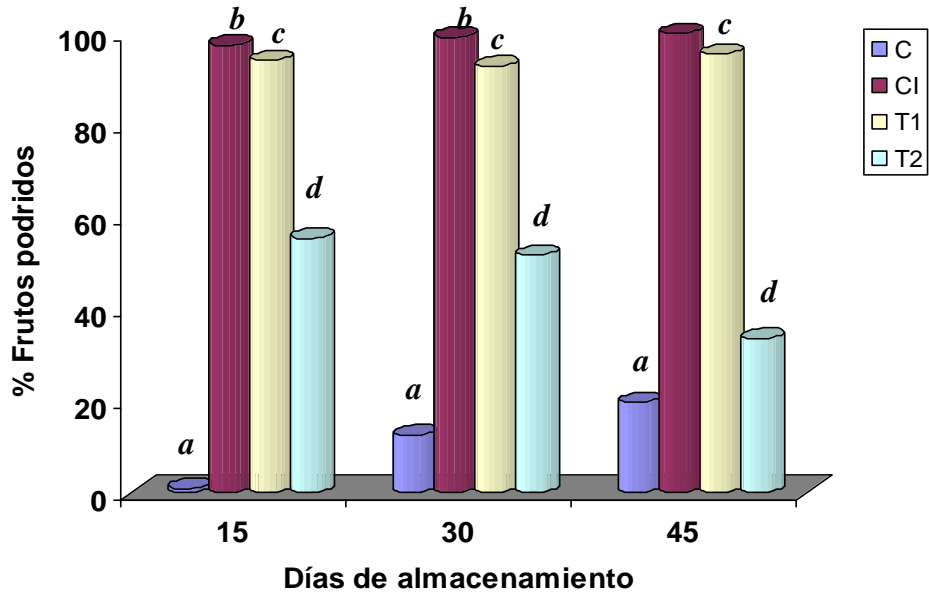


Figura 4- Porcentaje de frutos podridos para cada tratamiento y fecha de análisis. Test de Tuckey <math><0.05</math>.

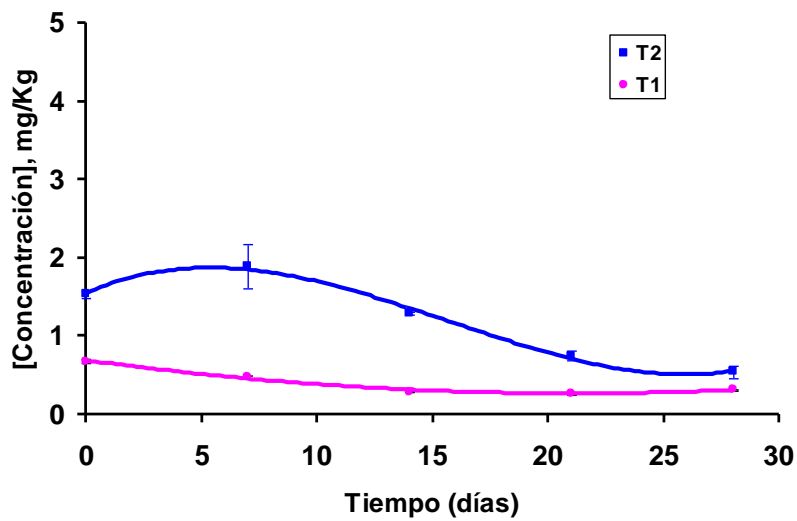


Figura 5- Disipación de los residuos de fungicidas durante el almacenamiento.

Promover a Sustentabilidade Através do Potencial Nematodocida de Plantas

Micael Silva^{1,2}, Valdemiro Pereira² & Cristina Galhano^{1,3}

¹Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra, Bencanta, 3045-601, Coimbra, Portugal

²Aidos da Vila – Quinta Biológica e Pedagógica, Vilarinho do Bairro, 3780-599, Anadia, Portugal

³Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, 3000-456 Coimbra, Portugal

Resumo

O Modo de Produção Biológico (MPB) é sustentável por utilizar práticas que respeitam o Agroecossistema. Apesar de algumas espécies de nemátodes serem essenciais para o equilíbrio dos ecossistemas, populações elevadas de nemátodes fitoparasitas, nomeadamente dos nemátodes-das-galhas-radiculares (NGR), *Meloidogyne* spp., causam graves prejuízos económicos em muitas hortícolas.

De modo a minimizar os desequilíbrios a que assistimos nos ecossistemas, urge encontrar soluções que permitam controlar estes inimigos das plantas que estejam simultaneamente em harmonia com o ambiente. Com este objetivo, iniciou-se o estudo do potencial nematodocida de duas espécies vegetais, *Melianthus major* e *Tagetes minuta*, em relação a uma espécie de NGR. Realizou-se um bioensaio utilizando blocos de vidro escavado contendo 0,5 mL de cada um dos tratamentos, óleo essencial e hidrolato de *T. minuta* e hidrolato de *M. major*, com 20 jovens de segundo estágio (J2) de 24 horas. A água destilada serviu como testemunha.

Foram feitas cinco repetições para cada tratamento e testemunha. As observações foram efetuadas às 24, 48 e às 168 horas, tendo-se registado o número de J2 vivos, imóveis ou mortos. Os valores de mortalidade cumulativa, às 168 horas, foram submetidos a uma ANOVA, tendo sido realizado o teste de Tukey, quando se verificaram diferenças significativas. Os resultados obtidos indicam o potencial nematodocida instantâneo do óleo essencial de *T. minuta*, tendo os hidrolatos das duas plantas apresentado efeito nematostático. Este trabalho pode considerar-se pertinente, tendo em conta que, de um modo geral, as duas plantas em estudo, *T. minuta* e *M. major*, apresentam potencial nematodocida em relação a esta espécie de *Meloidogyne*. É importante referir que não foi encontrada qualquer referência de *M. major* em relação aos NGR.

Palavras-chave: Agricultura Biológica; *Melianthus major*; *Meloidogyne* sp.; *Tagetes minuta*.

Abstract

Organic Farming (OF) is considered a sustainable production mode for using practices that respect the Agroecosystem. Although some species of nematodes are essential for the ecosystems equilibrium, high populations of phytopathogenic nematodes, particularly root-knot nematodes (RKN), *Meloidogyne* spp., cause severe economic damage in many crops. In order to minimize the imbalances observed in ecosystems, it is crucial to find environmentally-friendly solutions to control those plant enemies.

For this purpose, the study of the nematicidal potential of two plants, *Melianthus major* and *Tagetes minuta*, in relation to a RKN species was started. A bioassay was carried out using excavated glass blocks with 0.5 mL of each treatment, *T. minuta* essential oil and hydrolate and *M. major* hydrolate, with 20 second-stage juveniles (J2) with 24 hours. Distilled water served as control. There were five replicates for each treatment and control. Observations were made at 24, 48 and 168 hours. The numbers of alive, immobile and dead J2 were registered. The cumulative mortality values, at 168 hours, were submitted to an ANOVA, and the Tukey test was performed, when significant differences were observed.

The obtained results showed an instantaneous nematicidal potential of *T. minuta* essential oil, and a nematostatic effect of the two plants hydrolates. Hence, this work can be considered relevant since, in a general way, the two plants under study, *T. minuta* and *M. major*, have nematicidal potential in relation to this *Meloidogyne* species. It is also important to highlight that, so far, no reference was found for *M. major* effect on RKN.

Keywords: *Melianthus major*; *Meloidogyne* sp.; Organic Farming; *Tagetes minuta*.

Introdução

As plantas cultivadas crescem regularmente desde que disponham de condições básicas apropriadas nomeadamente um solo suficientemente nutrido, água em quantidade adequada e uma exposição solar favorável. Contudo, o desenvolvimento regular fica comprometido, quando afetado por inimigos, podendo a produção sofrer alterações qualitativas e/ou quantitativas (Agrios, 2005).

Do conjunto lato de inimigos das plantas, os nemátodes fitoparasitas são frequentemente desvalorizados por estarem, de certa maneira, camuflados no solo (Jairajpuri et al., 1990). Os nemátodes fitoparasitas estão amplamente distribuídos existindo mais de 4100 espécies descritas. Podem causar danos severos nas culturas, dependendo da densidade populacional, densidade de plantação e presença da planta hospedeira. Dependem ainda de outros fatores como o solo, o clima e a presença de outras pragas e doenças (Mourão, 2007; Coyne et al., 2009; Jones et al., 2013).

Os labirintos de microtúbulos do solo e os tecidos vegetais são os locais onde os nemátodes fitoparasitas são, em regra, encontrados. Estes possuem um estilete com o qual perfuram as células do hospedeiro para se alimentarem, reduzindo a mobilidade de água e nutrientes, originando inevitavelmente plantas débeis e menos produtivas (Jones & Jones, 1964; Rubina, 2003). *Meloidogyne* encontra-se é o primeiro dos dez géneros de nemátodes fitoparasitas mais prejudiciais, sendo as suas principais espécies *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica*, por estarem amplamente distribuídas e por parasitarem quase todas as plantas cultivadas (Sasser et al., 1984; Karssen & Moens, 2006; Teixeira, 2016). Os ataques ocorrem ao nível de raízes, bolbos e tubérculos causando decréscimos na absorção de água e de nutrientes (Oka et al., 2000).

Os Nemátodes-das-Galhas-Radiculares (NGR) provocam grandes danos nas culturas pela formação de galhas nas raízes, em resposta à invasão dos nemátodes. As fêmeas adultas depositam os ovos numa matriz gelatinosa no exterior da raiz (Karssen & Moens, 2006). Os jovens de segundo estágio (J2), designados por infetivos, eclodem das massas de ovos, procuram raízes da mesma planta, ou das plantas circundantes, para se fixarem e desenvolverem. Com o auxílio do estilete, perfuram as células radiculares injetando secreções que originam alterações morfológicas e fisiológicas nessas células, designadas por células gigantes. Estas alterações levam à hiperplasia e hipertrofia das células vegetais formando assim as galhas na raiz (Abrantes et al., 2007). O tamanho das galhas varia com o grau de infeção e com a planta hospedeira (Michereff et al., 2005).

A minimização dos prejuízos destes inimigos conduz a um eminente desenvolvimento de estratégias de luta que deverão ser eficazes, específicas e causar o mínimo de impactes no meio ambiente (Abrantes et al., 2007). Recorrendo ao Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos – Lista dos Produtos com Venda Autorizada em Portugal, os nematodocidas apresentam várias advertências como irritantes, nocivos, corrosivos, tóxicos e perigosos para o ambiente, sendo as substâncias ativas o dazomete, 1,3-dicloropropeno e metame-sódio (Cavaco & Mendes, 2015).

Tendo em conta os graves problemas provenientes da elevada toxicidade dos pesticidas de síntese química, quer no ambiente quer na saúde humana, torna-se urgente encontrar alternativas sustentáveis e amigas do ambiente (Oka et al., 2000; Chitwood, 2002; Tsay et al., 2004; Galhano, 2005; Martins et al., 2015). O Modo de Produção Biológico (MPB) é uma forma de produção agrícola sustentável quando comparado com a agricultura convencional, utilizando práticas que se preocupam em respeitar os ciclos dos seres vivos bem como de todo o ecossistema. Porém, quando consultado o Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos em MPB, conclui-se a inexistência de nematodocidas permitidos em agricultura biológica (Silva et al., 2011). Assim, o presente estudo tem como objetivo encontrar alternativas ecologicamente sustentáveis para o controlo de NGR.

Material e Métodos

Obtenção dos óleos essenciais e dos hidrolatos de *Melianthus major* e de *Tagetes minuta*

Das duas espécies vegetais provenientes de Aidos da Vila – Quinta Biológica e Pedagógica extraiu-se o óleo essencial e o hidrolato. Procedeu-se à destilação, no laboratório de Aidos da Vila – Quinta Biológica e Pedagógica, usando método descrito por Schmidt (2010). De 250 g de *Tagetes minuta* seca obtiveram-se 2 mL de óleo essencial e 250 mL de hidrolato; da extração de 360 g de *Melianthus major* fresca obtiveram-se 300 mL de hidrolato, não tendo sido possível obter óleo essencial.

Obtenção dos J2 de *Meloidogyne* sp.

Com o auxílio de um microscópio estereoscópico, foram retiradas massas de ovos e colocadas numa caixa de Petri, para eclosão numa estufa a 25°C. Foram extraídas massas de ovos de uma raiz de tomateiro infetado com NGR, proveniente de uma estufa de um produtor da região do Algarve. Esta planta foi gentilmente cedida pela Doutora Sofia dos Santos da Rocha Costa, investigadora da Universidade do Minho, não tendo ainda sido possível identificar a espécie. As massas de ovos foram colocadas num pequeno crivo, preparado com um quadrado de náilon, com cerca de 30 µm de malha, preso com um elástico a um anel de plástico rígido, com cerca de 2,5 cm de diâmetro e 0,9 cm de altura. Esse crivo foi humedecido com água destilada e colocado numa caixa de Petri de vidro, com 10 cm de diâmetro, esterilizada. Entre o fundo da caixa de Petri e o crivo foi colocado um quadrado de rede plástica, criando-se, deste modo, um espaço entre os dois. Os J2 eclodidos nas primeiras 24 horas foram desprezados, tendo sido depois utilizados os que eclodiram nas 24 horas seguintes.

Estudo do potencial nematodocida

Com o auxílio de uma pestana colocada na extremidade de uma vareta de vidro, transferiram-se 20 J2 com 24 horas para um bloco de vidro escavado, desinfetado, contendo 0,5 mL de cada um dos tratamentos, óleo essencial e hidrolato de *T. minuta* e hidrolato de *M. major*. A água destilada serviu como testemunha. Foram feitas cinco repetições de cada um dos tratamentos e da testemunha. As experiências decorreram no escuro, à temperatura de 22±2°C. As contagens do número de J2 vivos, imóveis e mortos foram efetuadas às 24, 48 e às 168 horas, após a exposição dos J2 ao tratamento,

utilizando um microscópio estereoscópico. Os J2 que só apresentavam movimentos quando tocados com a pestana, foram considerados como imóveis. Os J2 foram considerados mortos quando, tocados com a pestana, não apresentavam movimento e depois de colocados em água destilada, durante uma hora, e novamente tocados com a pestana, continuavam a não apresentar movimento.

Os valores de mortalidade cumulativa, isto é, do total de J2 mortos até às 168 horas, foram submetidos a uma ANOVA. Quando se verificaram diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey, para se verificar entre que tratamentos existiam essas diferenças. Os testes foram realizados para um nível de significância de $p=0,05$ (Zar, 1996).

Foi feita uma correção em relação à mortalidade ocorrida na testemunha, água destilada, utilizando a fórmula de Schneider-Orelli (Püntener, 1981):

$$\begin{aligned} & \% \text{ da Mortalidade corrigida} = \\ & = \frac{\% \text{ mortalidade no tratamento} - \% \text{ de Mortalidade da testemunha}}{100 - \% \text{ de Mortalidade da testemunha}} \times 100 \end{aligned}$$

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste estudo encontram-se nos quadros 1 e 2 e na figura 1.

De um modo geral, este estudo indica que as duas plantas em estudo, *T. minuta* e *M. major*, apresentam potencial nematocida em relação a esta espécie de *Meloidogyne*.

O potencial nematocida é mais evidente para *T. minuta*, especialmente no caso do óleo essencial, em que se verificou a imobilização instantânea dos nemátodes quando entravam em contacto com o óleo. Constatou-se que 100% dos J2 imóveis se encontravam não apenas imóveis, mas sim mortos. Assim, dever-se-á estudar o efeito de concentrações mais baixas deste óleo essencial, de modo a conhecer-se a CL_{50} para que mais facilmente se possa comparar o efeito com os dos nematocidas comerciais. Por outro lado, também 100% dos J2 expostos ao hidrolato de *T. minuta* se encontravam imóveis, 24 horas após o início da experiência, continuando imóveis às 48 horas, o que indica o seu potencial nematostático. Verificou-se que 168 horas após o início da experiência a mortalidade corrigida no hidrolato de *T. minuta* era de 9,5%.

Em relação a *M. major*, apesar de não ter sido possível estudar o efeito do óleo essencial por não ter sido obtido atempadamente para este trabalho, os resultados obtidos para o hidrolato indicam também que esta planta detém um potencial nematocida. Por isso, é importante estudar também o efeito do óleo essencial que, provavelmente será mais evidente do que o do hidrolato. De facto, verificou-se que o hidrolato desta planta teve um efeito nematocida superior ao de *T. minuta* tendo sido observada mortalidade corrigida, 9%, logo após 24 horas do início do bioensaio. A mortalidade aumentou para 11 e para 28,4%, às 48 e 168 horas, respetivamente. Este hidrolato causou também imobilidade, 75%, às 24 horas, tendo esta aumentado para 90%, às 48 horas.

Com base no anteriormente referido, reforça-se a importância de estudar o efeito do óleo essencial de *M. major*, sendo importante tentar fazer a sua extração a partir da planta seca, como aconteceu para *T. minuta*. Mas também parece interessante tentar extrair óleo a partir de plantas de *T. minuta* frescas para se aprofundar o conhecimento destas duas espécies de plantas.

Tendo em conta que o hidrolato pode ser considerado um subproduto da destilação quando se obtém óleos essenciais, a conversão de um resíduo em matéria-prima, neste caso em nematocida biológico, permite ir ao encontro dos princípios da Economia Circular preconizados pela União Europeia (CE, 2016).

Relativamente à testemunha, é importante salientar que geralmente não se observa nem mortalidade nem sequer imobilidade dos J2 mesmo 168 horas após o início deste tipo de bioensaios (Galhano, 2005; Martins et al., 2015). No entanto, neste bioensaio, foram registados J2 imóveis, 15%, logo após 24 horas do início da experiência, tendo essa imobilidade atingido 75%, no final da experiência. Este facto pode estar relacionado com alguma característica da própria espécie ainda por identificar. Por outro lado, os nemátodes normalmente utilizados nas experiências são obtidos de isolados mantidos em laboratório, em hospedeiros conhecidos, suscetíveis e em condições padronizadas. Os nemátodes utilizados neste estudo, como referido anteriormente, foram obtidos diretamente de uma raiz infetada de uma planta colhida numa estufa, durante uma prospeção de NGR e que, tendo em conta a oportunidade, foi mantida num frigorífico, durante um tempo considerável. Assim, também por este motivo, os resultados aqui apresentados deverão ser efetivamente considerados como preliminares, no entanto, parece justificar-se a repetição dos bioensaios.

Podem considerar-se que os resultados deste estudo vêm corroborar os resultados de vários autores em relação ao potencial nematocida de *T. minuta* em relação a *Meloidogyne* spp. (Weaver et al., 1994; Gil, 1996; Garcia et al., 2012; Shiavon et al., 2015; Holm et al., 1997 cit. por CABI, 2016;). No entanto, salienta-se o facto de, até à data, não terem sido encontradas quaisquer referências sobre o efeito de *Melianthus major* em relação a NGR.

Conclusões

Neste trabalho verificou-se que o óleo essencial de *T. minuta* apresentou um efeito nematocida instantâneo, tendo os hidrolatos de *T. minuta* e de *M. major* evidenciado efeito nematostático.

Este estudo poderá ser considerado pioneiro em relação ao efeito de *Melianthus major* em relação a NGR, parecendo pertinente aprofundar o conhecimento relativamente ao seu uso como potencial nematocida em relação a estes nemátodes.

Estudos mais detalhados relativamente ao potencial nematocida destas plantas deverão ser desenvolvidos, de modo a poderem ser encontradas as necessárias e urgentes alternativas ambientalmente sustentáveis que permitam controlar os NGR, um dos principais grupos de inimigos para as culturas hortícolas.

Referências

- Abrantes, M. de O., Santos, M.C.V. dos, Santos, M.S.N. de A. & Franco, C.M.A. 2007. Principais Doenças e Pragas do Tomateiro e Meios de Luta. Coimbra: Instituto do Ambiente e Vida - Departamento de Zoologia da Universidade de Coimbra.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (5a). USA: Elsevier Academic Press.
- CABI. 2016. Invasive Species Compendium. Obtido 21 de Abril de 2016, de <http://www.cabi.org/isc/datasheet/52642>
- Cavaco, M. & Mendes, A. 2015. Guia dos Produtos Fitofarmacêuticos - Lista dos Produtos com Venda Autorizada (Governo de Portugal-Ministério da Agricultura e do Mar-Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária-Direcção de Serviços de Meios de Defesa Sanitária-Divisão de Gestão e Autorização de Produtos Fitofarmacêuticos). Lisboa.
- CE2016. Economia circular: Novo regulamento para incentivar a utilização de adubos orgânicos e de adubos à base de resíduos. Comissão Europeia, Bruxelas.
- Chitwood, D. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40: 221-249.

- Coyne, D.L., Nicol, J.M. & Claudius-Cole, B. 2009. Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório (2a). International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Benin: SP-IPM Secretariat.
- Galhano, C.I.C. 2005. Efeitos de plantas aráceas (*Colocasia esculenta* e *Xanthosoma sagittifolium*) sobre nemátodes das galhas radiculares (*Meloidogyne javanica* e *M. megadora*) (Dissertação de doutoramento em Biologia). Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Garcia, M.V., Matias, J., Barros, J.C., Lima, D.P. de & Lopes, R. da S. 2012. Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticks. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 405–411.
- Jairajpuri, M.S., Alam, M.M. & Ahmad, I. 1990. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species): systematics, biology and control. London, UK: Academic Press.
- Jones, F.G.W. & Jones, M.G. 1964. Pests of Field Crops. Reino Unido: William Clowes and Sons Ltd.
- Jones, J., Haegeman, A., Danching, E., Gaur, H., Helder, J., Jones, M. & Perry, R. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14: 946-961
- Karssen, G. & Moens, M. 2006. Root-knot Nematodes. p. 59-90. In: *Plant Nematology* Londres -: CAB International.
- Martins, F., Costa, M. & Galhano, C.I.C. 2015. ON THE WAY FOR A NEW BIONEMATOCIDE. *Journal of International Scientific Publications* 3:130-137.
- Michereff, S., Andrade, D., Peruch, L. & Menezes, M. 2005. Manejo Integrado de Doenças Radiculares. Em *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil. pp. 367–388
- Mourão, I. de M. 2007. Manual de Horticultura no Modo de Produção Biológico. Ponte de Lima: Escola Superior Agrária de Ponte de Lima/IPVC.
- Oka, Y., Koltai, H., Bar-Eyal, M., Mor, M., Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. 2000. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. *Pest Management Science*, 56: 983–988.
- Püntener, W. 1981. Manual for field trials in plant protection Werner Püntener Manual for field trials in plant protection. Basileia, Suíça: Ciba-Geigy, Ltd.
- Rubina, M. T. 2003. Manual de Nematologia Agrícola - Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal. Intitut de Recerca i Formació agrària i Pesquera - Conselleria d'Agricultura i Pesca de les illes Balears.
- Sasser, J. N., Carter, C. C. & Hartman, K. M. 1984. Standardization of Host Suitability Studies and Reporting of Resistance to Root-Knot Nematodes. North Carolina State University.
- Schmidt, E. 2010. Production of Essential Oils. In: *Handbook of Essential Oils - Science, technology, and applications* (1a, p. 102). New York: CRC Press.
- Shiavon, Diane Bender Almeida, Schuch, Luiz Filipe Damé, Faccin, Ângela, Gonçalves, Carolina Lambrecht, Vieira, Viviane Seixas Cardoso & Gonçalves, Helena Piúma. 2015. Revisão Sistemática de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae): uso popular, composição química e atividade biológica. *Science and animal health* 3:192–208.
- Silva (2011). Guia dos produtos fitofarmacêuticos em Modo de Produção Biológico. Governo de Portugal - Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território - Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural.
- Teixeira, A. S. E. 2016. Comunidade de Nemátodes Associada à Agricultura em Modo Convencional e em Modo Biológico (Dissertação de Mestrado. p.9). Universidade do Minho, Braga.

- Tsay, T., Wu, S. & Lyn, Y. 2004. Evaluation of Asteraceae plants for control of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 36: 36-41.
- Zar, J.H.. *Biostatistical analysis*. New Jersey USA, Prentice Hall International. 1996. ISBN 0-13-084542-6 p. 662

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Percentagem de mortalidade cumulativa corrigida de jovens do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* sp. após exposição ao óleo essencial e ao hidrolato de *Tagetes minuta* e ao hidrolato de *Melianthus major*

Tratamento	Tempo (horas)		
	24	48	168
<i>Tagetes minuta</i> óleo essencial	100	100	100
<i>Tagetes minuta</i> hidrolato	0	0	9,5
<i>Melianthus major</i> hidrolato	9	11	28,4

Quadro 2 - Percentagem de imobilidade de jovens do segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* sp. após exposição ao óleo essencial e ao hidrolato de *Tagetes minuta* e ao hidrolato de *Melianthus major*.

Tratamento	Tempo (horas)		
	24	48	168
Testemunha	15	15	75
<i>Tagetes minuta</i> óleo essencial	0	0	0
<i>Tagetes minuta</i> hidrolato	100	100	70
<i>Melianthus major</i> hidrolato	75	90	70

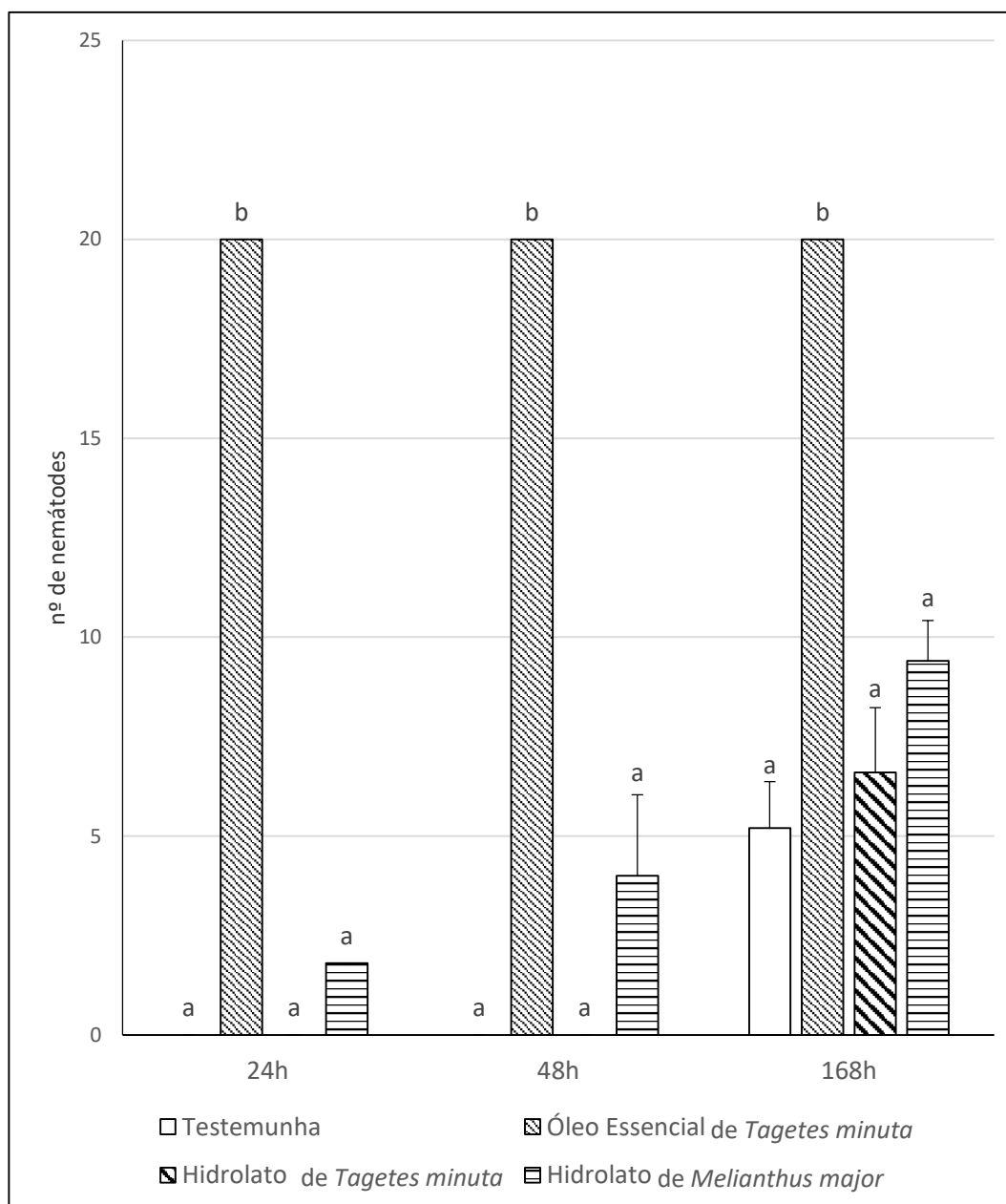


Figura 1 - Efeito nematocida de *Tagetes minuta* e de *Melianthus major* sobre os nemátodes-das-galhas-radiculares, *Meloidogyne* sp. Os resultados correspondem à média da mortalidade cumulativa mais desvio padrão de 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 20 J2 de *Meloidogyne* sp.; colunas seguidas de letras diferentes, para o mesmo tempo de observação, apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), de acordo com o teste Tukey.

Valorização de Plantas Aromáticas e Medicinais (PAM): procurando alternativas ambientalmente sustentáveis para o controlo do fogo bacteriano

Teresa Costa¹, João Pedro Luz²; Conceição Amaro²; Susana Dias¹; Fernanda Ferreira^{1,3}, Paula Castro⁴ & Cristina Galhano^{1,4}

¹Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra, Bencanta, 3045-601, Coimbra, Portugal

²Instituto Politécnico de Castelo Branco, Quinta da Senhora de Mércules, 6001-909 Castelo Branco, Portugal

³CITAB - Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real

⁴CFE - Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, 3000-456 Coimbra, Portugal

Resumo

O fogo bacteriano, doença provocada pela bactéria *Erwinia amylovora*, propaga-se rapidamente, causando elevados prejuízos económicos. Os produtores de pomóideas, nomeadamente maçãs, peras e marmelos, para além de terem quebras significativas de produção, são obrigados a adotar programas de erradicação e controlo de elevados custos. Atualmente não são conhecidos métodos de controlo eficazes para esta doença, tendo a estratégia de controlo sido focada fundamentalmente na prevenção e na redução do inóculo. Neste contexto, surge este trabalho, no qual foi avaliado o potencial biocida de várias plantas aromáticas e medicinais (PAM) em relação a *E. amylovora*. Foram preparados extratos aquosos, obtidos por maceração, na concentração de 5 g de planta em 30 mL de água, de *Acacia dealbata*, *Allium sativum*, *Cinnamomum camphora*, *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus mastichina* e de *T. vulgaris*. Foi ainda estudado o efeito biocida dos óleos essenciais de *C. camphora*, *E. globulus*, *O. vulgare*, *Ricinus communis*, *R. officinalis*, *T. mastichina* e de *T. vulgaris*. O efeito antibacteriano das plantas sobre *E. amylovora* foi avaliado através antibiogramas, utilizando o método de difusão em meio sólido, tendo a estreptomomicina (0,02%) servido como controlo positivo e a água destilada como controlo negativo. Os resultados obtidos mostraram que os extratos aquosos das plantas estudadas não inibiram o crescimento de *E. amylovora*. No entanto, no que se refere aos óleos, verificou-se que todos inibiram o crescimento da bactéria, com exceção do óleo de rícino (*Ricinus communis*). O óleo que apresentou o maior halo de inibição foi o de *Origanum vulgare*, com 3,3 cm, seguido do de *Thymus vulgaris*, com 3,2 cm, e do de *Rosmarinus officinalis*, com 2,4 cm. Todos estes apresentaram maior halo de inibição do que a estreptomomicina. Estes resultados apontam para que, estudos mais detalhados acerca do potencial destas plantas sejam realizados, no sentido de se encontrarem alternativas aos químicos de síntese, seguindo assim as diretrizes europeias e nacionais para o desenvolvimento sustentável.

Palavras-chave: Agricultura biológica, antibiogramas, biocida, *Erwinia amylovora*.

Abstract

Fire blight is a disease caused by the bacterium *Erwinia amylovora*, that spreads rapidly, causing high economic losses. It essentially affects pome fruit, namely apples, pears and quinces. In addition to yield reduction, producers are forced to adopt costly eradication and control programmes. Currently, no effective control methods for this disease are known, with the control strategy being focused chiefly on prevention and inoculum reduction. In this scope, this study aimed to assess the biocidal potential of various Medicinal and Aromatic Plants in relation to *E. amylovora*. Aqueous extracts of plants were obtained by maceration, at the concentration of 5 g of plant in 30 mL of water, of *Acacia dealbata*, *Allium sativum*, *Cinnamomum camphora*, *Eucalyptus globulus*, *Laurus nobilis*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus mastichina*, *T. vulgaris*. The biocidal effects of the essential oils of *Cinnamomum camphora*, *Eucalyptus globulus*, *Origanum vulgare*, *Ricinus communis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus mastichina* and *T. vulgaris* were also evaluated. The antibacterial effect was initially assessed using antibiograms through the disk-diffusion method in solid medium, with streptomycin (0.02%) and water as positive and negative control, respectively. The results showed that the aqueous plant extracts did not inhibited the growth of *E. amylovora*. Nevertheless, with respect to the oils, it was found that all inhibited the growth of the bacterium, with the exception of castor oil (*Ricinus communis*). The oil that presented the largest zone of inhibition was *Origanum vulgare*, with 3.3 cm, followed by *Thymus vulgaris*, with 3.2 cm, and *Rosmarinus officinalis*, with 2.4 cm. All the tested oils induced a larger zone of inhibition than streptomycin. These results point out that more detailed studies about the potential of these plants as biocides should be carried out, in order to find alternatives to synthetic chemicals, following the European and national guidelines for sustainable development.

Keywords: antibiograms, biocides, *Erwinia amylovora*, organic farming.

Introdução

O fogo bacteriano é causado pela bactéria *Erwinia amylovora* (Burr) considerado um organismo de quarentena a nível comunitário e como tal, incluído no Anexo II da Diretiva n.º 2000/29/CE, do Conselho, de 8 de maio. Esta é a doença das plantas com maior impacto económico no mundo, ameaçando a produção global de espécies de rosáceas ornamentais e fruteiras com grande interesse comercial, como a maçã, pera e marmelo, podendo destruir árvores e mesmo pomares inteiros numa só época, restringindo, assim, o comércio internacional. De facto, esta doença altamente contagiosa e de rápida propagação, sem métodos de controlo eficazes, para além dos prejuízos económicos causados diretamente relacionados com a produção, exige o estabelecimento de programas de erradicação e quarentena que implicam também elevados custos (Braun-Kiewnick *et al.*, 2011; DGADR, 2011 e 2012; Buhlmann *et al.*, 2013; Luz, 2013a,b).

Sabendo que não existem meios de combate eficazes, Amaro & Luz (2012) defendem que o controlo do fogo bacteriano deverá ser baseado numa estratégia integrada, visando reduzir o inóculo, evitar o estabelecimento da bactéria no hospedeiro e diminuir a suscetibilidade do hospedeiro à infeção. Segundo estes autores, esta estratégia deve incluir sistemas de previsão de risco e medidas de controlo baseadas tanto na prevenção, como na coexistência com a doença.

Efetivamente são vários os autores que defendem como melhor medida de controlo do fogo bacteriano a combinação de práticas culturais, técnicas de minimização do inóculo no pomar, utilização de variedades resistentes em porta-enxertos resistentes, assim como aplicações bem sincronizadas de bactericidas (Wilcox, 1994; Ozrenk *et al.*, 2011; Cruz & Sousa, 2013; Franco, 2013). De facto, os métodos químicos podem

igualmente ser utilizados no controlo do fogo bacteriano. Podem ser aplicados produtos de carácter bacteriostático ou bactericida, como o cobre, antibióticos, ou outros que estimulam os mecanismos de defesa das plantas (Ordax *cit. in* Amaro *et al.*, 2012). O uso de produtos bioestimulantes, que incrementam a espessura da parede celular, ativa mecanismos de defesa natural das plantas e auxilia os novos crescimentos (Franco, 2013). Plantas mais resistentes poderão apresentar um ambiente mais desfavorável ao crescimento bacteriano (Milcevicová *et al.*, 2010). Pode ainda recorrer-se à aplicação de produtos derivados do fungo *Aureobasidium pullulans* (de Bary) G. Arnaud e da bactéria *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn que, atuam preventivamente colonizando as flores abertas, entrando em competição por nutrientes e espaço com a bactéria (DGAV, 2013; Franco, 2013; Prates & Cavaco, 2013).

A estreptomicina é o antibiótico que tem apresentado os melhores resultados. No entanto, o seu uso está proibido na União Europeia, devido à possibilidade de transferência de resistência a bactérias patogénicas que infetam o homem e outros animais. Nos EUA, o uso de estreptomicina é permitido, no entanto, apresenta já problemas de resistência, justificando a existência de estudos que procuram antibióticos alternativos (Amaro *et al.*, 2012).

A maioria das plantas é resistente aos diferentes agentes patogénicos, podendo esta resistência estar relacionada com a síntese natural de compostos químicos antimicrobianos (Lemos *et al.*, 1990 *cit. in* Knaak *et al.*, 2010). Cunha *et al.* (2009) consideraram que um dos efeitos mais importantes dos óleos essenciais é a ação antisséptica sobre bactérias patogénicas, fungos e leveduras. Para além do tomilho, a cânfora, alfazema, canela, cravinho e o eucalipto estão dotados desta ação.

Foram identificados óleos essenciais de plantas com ação antimicrobiana contra um grande número de bactérias, incluindo espécies resistentes aos antibióticos sintéticos (Knaak *et al.*, 2010). Os compostos presentes nos óleos essenciais degradam-se mais rapidamente do que os produtos sintéticos, evidenciando ainda alguns óleos essenciais propriedades que favorecem insetos benéficos (Pillmoor *et al.*, 1993 *cit. in* Knaak *et al.*, 2010). Kokoskoval *et al.* (2011) estudaram o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de cinco plantas aromáticas da família *Lamiaceae* em três estirpes de *Erwinia amylovora*, tendo constatado a eficácia dos óleos essenciais de *Origanum compactum* Benth., *O. vulgare* e *Thymus vulgaris* no controlo da bactéria. Verificaram ainda que o óleo essencial de *T. vulgaris* era um dos mais eficazes, apresentando uma atividade antimicrobiana superior a 50%, quando comparada com a estreptomicina no controlo de *Erwinia amylovora*.

Considerando a inexistência de métodos completamente eficazes no controlo do fogo bacteriano, inclusive em agricultura biológica, este trabalho teve como objetivo principal avaliar o potencial biocida de PAM, em relação a *Erwinia amylovora*. Mais concretamente, analisou-se o efeito *in vitro* de extratos aquosos e óleos essenciais de várias plantas aromáticas e medicinais (PAM) sobre *E. amylovora*.

Material e Métodos

Foi analisado o efeito *in vitro* sobre *E. amylovora* de extratos aquosos obtidos através de maceração de nove espécies vegetais e óleos essenciais de sete espécies (Quadro 1). Em todas as experiências foram efetuadas seis repetições, para cada modalidade, assim como, para os respetivos controlos: estreptomicina, na concentração de 0,02%, como controlo positivo e água destilada como controlo negativo. Os extratos aquosos foram preparados adaptando a metodologia utilizada por Martins *et al.* (2014), bem como da Farmacopeia Portuguesa (2009). Para a obtenção dos extratos foram utilizados ramos e folhas que através de observação visual foram considerados sãos. O

material vegetal foi seco durante sete dias, num compartimento com condições controladas de temperatura a 25°C e humidade relativa inferior a 60%. Após trituração da planta seca, foi preparada uma mistura constituída por 5 g de material vegetal e 30 mL de água, que foi mantida em garrafas de vidro âmbar, à temperatura de 19°C, no escuro. Após 24 horas, a mistura foi centrifugada a 4800 rpm, durante 5 minutos, filtrando-se de seguida o sobrenadante. O filtrado que constituiu o extrato foi esterilizado para tubos Eppendorf e armazenado num frigorífico a 4°C, até utilização posterior. Tal como os extratos, os óleos essenciais foram esterilizados utilizando membranas de filtração, para tubos Eppendorf e armazenados num frigorífico a 4°C até utilização. O mesmo procedimento foi seguido para a solução de estreptomicina na concentração de 0,02% e para a água destilada.

A bactéria utilizada neste trabalho é uma estirpe portuguesa. Em condições de assepsia, a estirpe foi repicada e mantida em caixas de Petri com meio de King B, num frigorífico a 4°C. Para a realização das várias experiências, sempre que necessário, a bactéria foi repicada para novo meio, de modo a obter-se a cultura na fase *lag* de crescimento.

Tendo por base os trabalhos de Kokoskoval *et al.* (2011), EPPO (2013) e Silva (2013), preparou-se uma suspensão-mãe com a concentração de 10^8 ufc.mL⁻¹. Sob condições de assepsia, as caixas de Petri com o meio King B foram inundadas com a suspensão-mãe, tendo o excesso sido posteriormente retirado com uma pipeta de Pasteur. Após a sementeira, em cada uma das caixas de Petri foram colocados, de forma a ficarem equidistantes, quatro discos de papel de filtro previamente esterilizados, obtidos utilizando um furador de papel. Destes quatro discos de papel, um deles continha 20 µL de água destilada esterilizada como controlo negativo, outro uma solução de estreptomicina de 0,02% como controlo positivo e dos outros dois discos de papel, um deles continha 20 µL de extracto e o outro 20 µL de óleo essencial.

Trinta e oito horas após a incubação a 25°C, foram medidos e registados os diâmetros dos halos de inibição dos extratos, dos óleos essenciais e dos respetivos controlos. A eficácia de cada tratamento foi determinada comparando os seus halos de inibição com o do controlo positivo.

Os resultados obtidos nos antibiogramas foram também avaliados de acordo com a fórmula proposta por Vancheva *et al.* (2015). Assim, foi calculado o índice da atividade antimicrobiana (IAA) utilizando a seguinte expressão:

$$\text{IAA (\%)} = \{-1 \times [(C-T)/(C+T)]\} \times 100$$

em que, C é a média da zona de inibição (mm) promovida pela estreptomicina e T a média da zona de inibição (mm) promovida pelo óleo essencial.

Foi realizada análise estatística descritiva em relação aos halos de inibição de cada planta em comparação com o antibiótico estreptomicina (controlo positivo). Os resultados obtidos foram posteriormente submetidos a uma análise da variância, recorrendo-se ao teste t de Student, relacionado ou emparelhado, de forma a verificar se as variáveis apresentavam diferenças estatisticamente significativas ($p=0,05$) entre as plantas estudadas, o controlo positivo e o controlo negativo. Para a análise dos dados, utilizou-se o programa SPSS, versão 23 (SPSS, Inc. Chicago, Illinois, USA).

Resultados e Discussão

Todos os óleos essenciais apresentaram efeito antibacteriano em relação a *Erwinia amylovora*. O mesmo foi observado no controlo positivo, o antibiótico estreptomicina (0,02%), conforme esperado (fig. 1, Quadro 2). Todavia, os extratos aquosos das plantas estudadas, na concentração de 5 g de planta seca/30 mL, não tiveram efeito antibacteriano, tendo apresentado comportamento semelhante ao controlo negativo.

Os óleos que evidenciaram um efeito bactericida mais relevante foram os de *Origanum vulgare* com um halo de inibição de 3,33 cm, seguido de *Thymus vulgaris* com um halo de inibição de 3,17 cm e de *T. mastichina* e *Rosmarinus officinalis* com 2,58 e 2,37 cm, respetivamente. É de salientar que os halos de inibição atrás referidos foram maiores do que os observados para a estreptomomicina, (1,13; 2,18 e 1,4 cm respetivamente) possibilitando uma comparação mais rigorosa com o controlo positivo. Pode considerar-se que os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, de *R. officinalis* e de *T. mastichina* tiveram um efeito comparável ao da estreptomomicina; por outro lado os óleos essenciais de *Cinnamomum camphora*, de *O. vulgare* e de *T. vulgaris* apresentaram comportamento significativamente diferente do da estreptomomicina: a primeira planta apresentou menor efeito bactericida do que a estreptomomicina, e as duas outras plantas um efeito bactericida superior ao da estreptomomicina.

No Quadro 3 é evidenciado o efeito bactericida em relação a *E. amylovora* para os óleos de *C. camphora* (-25,8%) e de *E. globulus* (-14,1), no entanto, inferior ao da estreptomomicina. Contudo, os restantes óleos tiveram um efeito superior ao da estreptomomicina, tendo o IAA para *T. vulgaris* sido superior a 47%, enquanto o IAA para *T. mastichina* foi de apenas 8,4%.

Vários estudos evidenciaram o efeito antibacteriano de óleos essenciais, nomeadamente em relação a *E. amylovora*. Kokoskova *et al.* (2011) verificaram que os halos de inibição de crescimento desta bactéria obtidos para os óleos essenciais de *T. vulgaris* e de *O. vulgare* foram, respetivamente, $2,8 \pm 1,1$ cm e $2,1 \pm 0,5$ cm, superiores aos da estreptomomicina a 0,02%, $0,8 \pm 0,4$ cm. No estudo aqui apresentado, os valores encontrados para estas plantas foram superiores. Num outro estudo com *T. vulgaris*, Karami-Osboo *et al.* (2010) obtiveram um halo de inibição de 2,5 cm, comprovando o efeito antibacteriano desta planta sobre a bactéria causadora do fogo bacteriano, provavelmente devido à presença do carvacrol e do timol presentes no óleo essencial desta planta. Assim, estes resultados são concordantes com os obtidos no estudo aqui apresentado, em que o halo de inibição de *T. vulgaris* foi superior ao da estreptomomicina. O valor do IAA encontrado neste estudo para *T. vulgaris* vai ao encontro do descrito por Kokoskova *et al.* (2011) que constataram igualmente que o óleo essencial desta planta era um dos mais eficazes no controlo de bactérias, apresentando uma atividade antimicrobiana superior a 50%, quando comparada com a estreptomomicina no controlo de *E. amylovora*. De facto, diversos autores consideram que as espécies do género *Thymus* estão entre as plantas com maior potencial antimicrobiano devido essencialmente à sua atividade contra microrganismos patogénicos resistentes a antibióticos convencionais. A sua ação antibacteriana provém da capacidade que o timol e o carvacrol têm de permeabilizar e despolarizar a membrana citoplasmática de bactérias (Bouzidi *et al.*, 2013). Pesavento *et al.* (2015), para além de *T. vulgaris*, estudou o efeito antibacteriano de *O. vulgare* e de *R. officinalis* sobre bactérias gram-negativas tendo constatado que os três óleos essenciais inibiam o crescimento bacteriano, tendo o maior halo de inibição sido apresentado por *T. vulgaris*, seguido de *O. vulgare* e *R. officinalis*. No estudo aqui apresentado, analisando os valores dos halos de inibição, verifica-se que o que apresentou maior valor foi *O. vulgare*, seguido de um valor muito próximo de *T. vulgaris* e de *R. officinalis*. No entanto, se considerarmos os valores do IAA, este foi superior para *T. vulgaris*, seguido do de *O. vulgare* e do de *R. officinalis*.

Conclusões

Considerando que o efeito antibacteriano de plantas sobre *Erwinia amylovora* ainda é escasso, este trabalho acrescentou informação sobre o potencial biocida de extratos e óleos essenciais de plantas em relação a esta bactéria. Verificou-se que: os

extratos das plantas utilizadas, na concentração de 5 g de planta/30 mL de água, não inibiram o crescimento da bactéria; todos os óleos essenciais estudados, com exceção do óleo de rícino, inibiram o crescimento de *E. amylovora*, tendo sido o óleo essencial de *Origanum vulgare* o que apresentou o maior valor de halo de inibição de crescimento da bactéria e o de *Cinnamomum camphora* o menor valor. O IAA evidenciou que os óleos essenciais de *O. vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus mastichina* e *T. vulgaris* tiveram um efeito superior ao da estreptomicina.

Assim, os resultados obtidos indicam a necessidade de se aprofundar este estudo, de modo a contribuir para a descoberta de potenciais soluções ambientalmente sustentáveis para um problema economicamente importante como é o fogo bacteriano.

Referências

- Amaro, C. & Luz, J.P. 2012. O Fogo Bacteriano. *Agroforum* 29: 7-17.
- Bouzidi, L.E., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D. & Abbada, A. 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products* 43: 450– 456.
- Braun-Kiewnick, A., Altenbach, T., Oberhãnsli, T., Bitterlin, B. & Duffy, B. 2011. A rapid lateral-flow immunoassay for phytosanitary detection of *Erwinia amylovora* and on-site fire blight diagnosis. *Journal of Microbiological Methods* 87:1-9.
- Buhlmann, A., Pothier, J., Rezzonico, F., Smits, T., Andreou, M., Boonham, N. & Frey, J. 2013. *Erwinia amylovora* loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid pathogen detection and on-site diagnosis of fire blight. *Journal of Microbiological Methods* 92: 332-339.
- Cruz, L. & Sousa, R.D. 2013. Resistência do hospedeiro. *Cadernos Técnicos N.º 2: Fogo Bacteriano "Erwinia Amylovora" Sustainia - Agricultura Sustentável*:18-19.
- CUNHA, d. P., TEIXEIRA, F., SILVA, A. P., & ROQUE, O. R.. *Plantas na Terapêutica Farmacologia e Ensaio Clínicos*. Lisboa Fundação Calouste Glubenkian, 2009.
- DGADR. Manual de Boas Práticas para o Controlo de Fogo Bacteriano (*Erwinia amylovora*). Lisboa Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território. (2011)
- DGADR. Plano de ação nacional para o controlo de *Erwinia amylovora*. Lisboa Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território. 2012.
- EPPO, E. O. Data Sheets on Quarantine Pests: *Erwinia amylovora*. EU: EPPO quarantine pest. [Consultado em 22/07/2015] Disponível em HYPERLINK "<http://www.cabi.org/isc/datasheet/21908>"
- Franco, L. 2013. O Fogo Bacteriano. *Agrotec* : .
- Karami-Osboo, R., Khodaverdi, M. & Ali-Akbari, F. 2010. Antibacterial effect of effective compounds of *Staureja hortensis* and *Thymus vulgaris* essential oils against *Erwinia amylovora*. *Journal of Agricultural Science and Technology* 12: 35-45.
- KNAAK, N., & FIUZA, L. M.. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical Biology and Conservation*, 120-132. 2010.
- Kokoskova, B., Pouvova, D. & Pavela, R. 2011. Effectiveness of plant essential oils against *Erwinia Amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and associated saprophytic bacteria on/in host plants. *Journal of Plant Pathology* 93: 133-139.
- Luz, J.P.a.: Fogo Bacteriano "*Erwinia Amylovora*". *Bioecologia e ciclo de Vida*. *Cadernos Técnicos N.º 2, Sustainia - Agricultura Sustentável, Lda.* .p.16-17. 2013.
- Luz, J. P.b. Doenças Bacterianas das Pomóideas. *Manual Bayfruta*. p.107-116. 2013

- Luz, J.P., & AMARO, C. O fogo bacteriano das pomoideas em Portugal. II Ciclo de Conferências: Conselho Técnico-Científico. Castelo Branco, Edições IPCB. p.6-11. 2014.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Silva, S. & Matos Henriques, M. 2014. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation. *Food Chemistry* 167: 131–137.
- Milcevicová, R., Gosch, C., Halbwith, H., Stich, K., & Hanke, M.-V. 2010. *Erwinia amylovora*-induced defense mechanisms of two apple species that differ. *Plant Science* 179: 60-67.
- Ozrenk, K., Balta, F., Guleryuz, M. & Kan, T. 2011. Fire blight (*Erwinia amylovora*) resistant/susceptibility of native apple germplasm from eastern. Turkey. *Crop Protection* 30:526 - 530.
- Pesavento, G., Calonico, C., Bilia, A., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R. & Nostro, A.L. 2015. Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control* 54: 188-199.
- Prates, A. & Cavaco, M.. Métodos culturais, biológicos e químicos. Estratégias integradas. Cadernos Técnicos n.º 2: Fogo Bacteriano "*Erwinia amylovora*", p.24-31. 2013.
- Vancheva, T., Encheva-Malinova, M., Tatyozova, M., Gochev, V., Stoyanova, M., Moncheva, P. & Bogatzevska, N. 2015. Antimicrobial activity of essential oils against pepper bacterial spots agents. *Annuaire de l'Université de Sofia "St. Kliment Ohridski" Faculte de Biologie* 100: 200-207.
- Wilcox, W. F. Fire Blight . Disease Identification Sheet No. D3. 1994.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Plantas utilizadas no estudo do potencial antibacteriano sobre *Erwinia amylovora*.

Espécie	Nome vulgar	Família	Extrato por maceração	Óleo
<i>Acacia delbata</i> (L)	Mimosa	Fabaceae	X	
<i>Allium sativum</i> (L)	Alho	Amaryllidacea e	X	
<i>Cinnamomum camphora</i> (L)	Canforeira	Lauraceae	X	X
<i>Eucalyptus globulus</i> (L)	Eucalipto	Myrtaceae	X	X
<i>Laurus nobilis</i> (L)	Loureiro	Lauraceae	X	
<i>Origanum vulgare</i> (L)	Orégão	Lamiaceae	X	X
<i>Ricinus communis</i> (L)	ricino	Euphorbiaceae		X
<i>Rosmarinus officinalis</i> (L)	alecrim	Lamiaceae	X	X
<i>Thymus mastichina</i> (L)	bela-luz	Lamiaceae	X	X
<i>Thymus vulgaris</i> (L)	tomilho- vulgar	Lamiaceae	X	X

Quadro 2 - Halos de inibição (cm) observados em antibiogramas, das plantas em estudo (extrato aquoso e óleos essenciais) em relação a *Erwinia amylovora*, comparativamente ao controlo positivo, estreptomomicina, e ao controlo negativo, água destilada esterilizada. [(n.d. – valor de halo de inibição não detetável. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$)].

Espécie	Óleo (cm)	Extrato (cm)	Controlo positivo (cm)	Controlo negativo (cm)
<i>Acacia dealbata</i>	Não testado	n.d.	1,60±0,580	n.d.
<i>Allium sativum</i>	Não testado	n.d.	1,60±0,580	n.d.
<i>Cinnamomum camphora</i>	0,92±0,360 ^a	n.d.	1,55±0,745 ^b	n.d.
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,07±0,266 ^a	n.d.	1,42±0,279 ^a	n.d.
<i>Laurus nobilis</i>	Não testado	n.d.	2,08±0,264	n.d.
<i>Origanum vulgare</i>	3,33±1,633 ^a	n.d.	1,77±1,294 ^b	n.d.
<i>Ricinus cominis</i>	n.d	Não testado	1,00±1,112	n.d.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2,37±1,227 ^a	n.d.	1,40±0,518 ^a	n.d.
<i>Thymus mastichina</i>	2,58±0,736 ^a	n.d.	2,18±0,204 ^a	n.d.
<i>Thymus vulgaris</i>	3,17±2,562 ^a	n.d.	1,13±0,920 ^b	n.d.

Quadro 3 - Índice da atividade antimicrobiana (IAA) dos óleos essenciais das plantas em estudo em relação a *Erwinia amylovora*.

Óleo essencial	IAA (%)
<i>Cinnamomum camphora</i>	-25,8
<i>Eucalyptus globulus</i>	-14,1
<i>Origanum vulgare</i>	30,7
<i>Rosmarinus officinalis</i>	25,7
<i>Thymus mastichina</i>	8,4
<i>Thymus vulgaris</i>	47,3

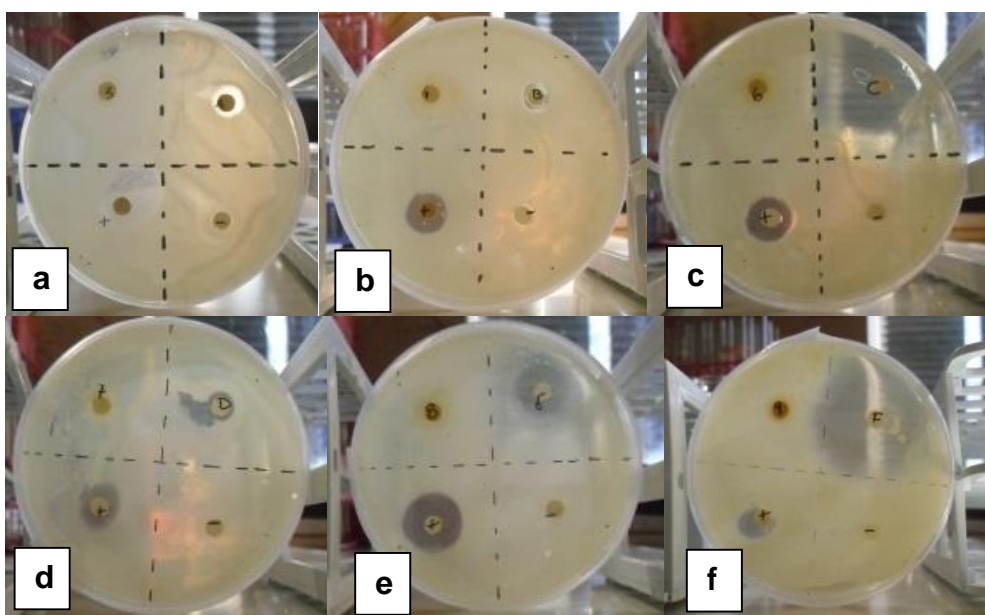


Figura 1 - Antibiogramas em que se pode observar os halos de inibição, em relação a *Erwinia amylovora*, dos óleos essenciais de (a) *Cinnamomum camphora*; (b) *Eucalyptus globulus*; (c) *Origanum vulgare*; (d) *Rosmarinus officinalis*; (e) *Thymus mastichina* e (f) *T. vulgaris*. Os extratos das mesmas plantas, o antibiótico estreptomicina (0,02%) (controlo positivo) e água destilada esterilizada (controlo negativo).

Sessão Temática: Horticultura Urbana, Social
e Terapêutica

Serviços dos ecossistemas e boas práticas em hortas urbanas

P.B. Luz¹ & M.E. Ferreira¹

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras – Portugal, paulo.luz@iniav.pt, elvira.ferreira@iniav.pt

Resumo

Nas estratégias de planeamento urbano, nas quais de forma consistente tendem a ser envolvidos objetivos de "crescimento verde", a dinamização das hortas urbanas (HU) constitui um importante contributo para a qualidade de vida dos habitantes. Reconhece-se que as HU podem melhorar as estruturas dos ecossistemas, ao nível da parcela ou da área macro urbana, providenciando benefícios em termos de bens e serviços tangíveis e de valores intangíveis. Sendo desenvolvidas com base em pilares de multifuncionalidade e sustentabilidade, as HU fomentam: o abastecimento de produtos de consumo alimentar; a regulação das condições ambientais (e.g. biodiversidade, *habitats*, corredores ecológicos, ou redução dos impactes de eventos meteorológicos); programas comunitários socioculturais na perspetiva do encontro e da proximidade com a natureza, de novas aprendizagens, da recreação, ou de processos terapêuticos.

A avaliação das vertentes agroambientais, económicas e sociais são fundamentais para incrementar a eficiência dos serviços dos ecossistemas em HU. Esses processos deverão ter também em linha de conta os impactos negativos associados a diversos riscos e vulnerabilidades. No âmbito das boas práticas, e através da gestão orientada pelos agentes de nível político, devem ser promovidas formas de governança em HU, envolvendo os decisores, os técnicos e os utentes em abordagens multidisciplinares (e.g. ecologia, horticultura, sociologia, redes de informação, economia). Para a concretização de estratégias específicas, destacam-se as ações de informação e formação, a implementação de plataformas de cogestão e participação cívica, os serviços de avisos/monitorização (e.g. meteorologia, água no solo, qualidade dos recursos naturais) e a elaboração de guias práticos, de quadros de indicadores e de sistemas de apoio à decisão.

Apresentam-se as boas práticas em HU para o estabelecimento de comportamentos/compromissos decorrentes das atividades, com especial foco para a conjugação dos sistemas agrícolas/hortícolas com os fatores pedológicos, hidrológicos, climáticos e institucionais. Nas recomendações estão envolvidos aspetos normativos baseados em avaliações qualitativas e quantitativas (incluindo custos), considerando-se os principais impactos (positivos e negativos) da horticultura urbana.

Palavras-chave: estratégias de planeamento urbano, multifuncionalidade, sustentabilidade.

Abstract

In urban planning strategies where "green growth" goals are consistently involved, the dynamism of urban allotment gardens (UAG) is an important contribution to the quality of life of the inhabitants. It is recognized that UAG's can improve ecosystem structures at the parcel or macro-urban level by providing benefits in terms of tangible goods and services and intangible values. Being developed based on pillars of multifunctionality and sustainability, the UAG foster: 1) the supply of food products; 2) the regulation of environmental conditions (e.g. biodiversity, habitats, ecological corridors, or reduction of impacts from weather events); 3) socio-cultural community

programs in the perspective of the encounter and proximity to nature, new learning, recreation, or therapeutic processes.

The assessment of the agri-environmental, economic and social aspects is essential to increase the efficiency of ecosystem services in UAG. On the other hand, these processes must also take into account the negative impacts associated with various risks and vulnerabilities. Establishing a regulatory framework of good practices, at policy level, involving decision-makers, practitioners and users in multidisciplinary approaches (e.g. ecology, horticulture, sociology, information networks, economy), shall promote new forms of governance in UAG. To implement specific strategies, operational support may be provided through: information and training actions, joint management and civic participation platforms, warning / monitoring services (e.g. meteorology, groundwater, quality of natural resources), practical guides, indicators and decision support systems.

Good practices are presented to establish behaviours / commitments concerning UAG activities, with special focus on the combination of agricultural / horticultural systems with key pedological, hydrological, climatic and institutional factors. Proposed recommendations consider normative aspects based on qualitative and quantitative (including cost) evaluations, regarding the main impacts (positive and negative) of urban horticulture.

Keywords: urban planning strategies, multifunctionality, sustainability.

Introdução

Nos planos de ordenamento urbanístico colocam-se importantes desafios sociais e ecológicos para se atingirem níveis elevados de qualidade de vida dos habitantes, com elevada eficiência e sustentabilidade no uso dos recursos naturais e financeiros. Numa abordagem complexa e holística com interações entre a população e o ambiente, o desenvolvimento de HU tem surgido como uma oportunidade para se implementarem serviços multifuncionais (Langmeyer et al., 2016). O sucesso da implantação de HU está associado a condições determinadas pela escolha dos locais, pela adaptação de estruturas e tecnologias, e pela governança socioeconómica. Assim, são necessárias recomendações associadas aos principais fatores e procedimentos a observar nas temáticas de referência, para a aplicação de "boas práticas" e soluções eficazes num quadro de impactes positivos e negativos a ter em linha de conta (Heller & Luz, 2016). Neste contexto, o objetivo deste estudo é apresentar diferentes fases e fundamentos dos processos de avaliação e decisão, destacando e sistematizando a informação multidisciplinar necessária.

Serviços dos ecossistemas

Reconhece-se que as HU podem melhorar as estruturas dos ecossistemas, a diferentes escalas espaciais (ao nível da parcela ou da área macro urbana), providenciando benefícios em termos de bens e serviços tangíveis e de valores intangíveis. Ou seja, sendo desenvolvidas com base em pilares de multifuncionalidade e sustentabilidade, as HU fomentam (Bell et al., 2016): 1) a regulação das condições ambientais (e.g. biodiversidade, habitats, corredores ecológicos, ou redução dos impactes de eventos meteorológicos); 2) o abastecimento de produtos de consumo alimentar; 3) programas comunitários socioculturais na perspetiva, do encontro e proximidade com a natureza, de novas aprendizagens, da recreação, ou de processos terapêuticos.

Regulação ambiental abiótica e biótica

A grande variabilidade sazonal e interanual do ciclo hidrológico em Portugal está associada às condições climáticas mediterrânicas, bem como às anomalias e tendências

verificadas com as alterações climáticas (Santos et al., 2002). Essas condições são propícias para a ocorrência de períodos prolongados de chuvas fortes e cheias, ou com temperaturas elevadas e secos (Rosário, 2004). Face ao impacto de interações de variáveis climáticas (e.g. temperatura, radiação, precipitação) e fatores do solo (e.g. camadas impermeáveis, relevo), suscetíveis de afetarem negativamente os equilíbrios dos ecossistemas urbanos, torna-se necessário ajustar medidas de mitigação. Neste sentido, num contexto de opções de planeamento, de gestão e de adaptação do meio urbano, têm sido avançadas soluções baseadas na natureza (Bell et al., 2016), ou com combinações das designadas infraestruturas "cinzentas" e "verdes" que enquadram serviços de engenharia-construção e ambientais-natureza, respetivamente (EEA, 2012a).

Em resposta aos padrões climáticos que contribuem para a vulnerabilidade dos processos relacionados com o ciclo hidrológico e a conservação dos recursos naturais, as HU têm potencialidades para desenvolver serviços ambientais de regulação e proteção. Esta atividade deverá conduzir ao crescimento, com qualidade e sustentabilidade, de estruturas e corredores "verdes", onde, contrariando irregularidades hidrometeorológicas (e.g. escassez de água ou fortes escoamentos erosivos e poluentes) e condições de risco de contaminação dos recursos, um dado sistema solo-planta terá um papel muito positivo associado a processos naturais de interceção, retenção, filtração, armazenamento e drenagem da água (Orsini et al., 2016). Regista-se ainda que as HU favorecem a fertilidade e o ciclo de nutrientes nos solos urbanos (Langmeyer et al., 2016).

A regulação ambiental associada a HU e outras áreas "verdes" envolve ainda, ao nível microclimático, a capacidade de melhorar a qualidade atmosférica através: 1) do aumento da oxigenação; 2) da absorção de gases de efeito de estufa ou poluentes; 3) da regulação térmica do ambiente nos meses mais quentes, pelo maior ensombramento, aumento da humidade e circulação do ar (e.g. moderação dos efeitos atmosféricos da "ilha de calor urbano" e das ondas de calor) (EEA, 2012a; Langmeyer et al., 2016).

Os terrenos urbanos de qualidade e respetiva flora e fauna, proporcionam benefícios em termos da criação, controlo e proteção da biodiversidade, de habitats e da paisagem (valores intangíveis). Nesta perspetiva as HU podem contribuir para a preservação e manutenção de espécies vegetais e animais, e a heterogeneidade (mais ecológica) da paisagem urbana (Heller & Luz, 2016).

Nos locais de implantação de HU considera-se vantajosa uma gestão que favoreça a regulação ambiental biótica, pela dispersão de plantas e sementes, pela polinização e pelos maiores níveis de matéria orgânica do solo. Em particular, existe já um foco bastante positivo na utilização da flora melífera, de plantas de variedades regionais e de sementes que promovem a defesa do património genético (Heller & Luz, 2016). Pelas suas características biofísicas os produtos de compostagem e os estrumes também suportam a qualidade das HU e o seu papel nessa regulação (Brito, 2013).

Ao nível da biosfera, a regulação ambiental pelas HU (como um sistema de filtragem solo-planta) envolve a capacidade de purificar o ar e a água, reduzindo os níveis de contaminantes biológicos e de microrganismos (Sumner, 2000; Langmeyer et al., 2016).

Produção e alimentação

Os utentes das HU têm como principal objetivo a produção de alimentos frescos para autoconsumo, como frutas e legumes. A escolha do que produzir pode ser muito diversificada, pois depende, em primeiro lugar dos hábitos alimentares dos utentes, muitas vezes de origens distintas. Esta multiplicidade de produtos que na maior parte das vezes é partilhada entre utentes, conduz a dietas mais equilibradas e mais ricas em frutas e legumes e mais diversificadas (Keatinge et al., 2011).

As HU têm também sido apontadas como um local de produção de alimentos em tempo de crise, como por exemplo em situações de guerra, crise económica ou em cidades menos desenvolvidas (Buchmann, 2009; Keshavarz & Bell, 2016).

A produção em HU é preferencialmente em modo de produção biológica (MPB) o que garante uma melhoria da segurança e da dieta alimentar.

Interações socioculturais

As HU promovem interações entre os utentes que frequentemente são intergeracionais e multiculturais. Contribuem também para a integração social de migrantes que ao utilizá-las para produzir espécies dos seus países/regiões de origem promovem a diversidade e a disseminação de novas espécies.

A integração na natureza e o contacto com as plantas trazem grandes benefícios na saúde física e mental dos utentes e ajudam a reduzir o *stress*. Van den Berg et al. (2010) referem que as pessoas que cuidam das suas hortas depois de situações ‘problemáticas’, aliviam mais rapidamente o *stress* do que aqueles que se dedicam à leitura para relaxar.

As diferentes práticas culturais que decorrem na horta, como por exemplo sementeira, plantação, rega, mondas e colheitas, obrigam a atividade física, num ambiente saudável em contacto com a natureza, com benefícios acrescidos comparativamente com a prática de exercício físico em recintos fechados.

Para os mais jovens, o contacto com as plantas traz-lhes ensinamentos que serão facilmente interiorizados pela observação ao vivo do crescimento e desenvolvimento das plantas, pela perceção dos respetivos ciclos culturais e por último pela degustação das plantas que ajudaram a criar. Há assim uma ligação entre o conhecimento teórico da escola e o conhecimento prático. O contacto com a natureza beneficia também a estimulação dos sentidos, desenvolve a criatividade e aumenta o interesse e a motivação (Langemeyer et al., 2016).

Para os idosos, o exercício físico, o contacto com outras pessoas e o ar livre, ajudam a reduzir problemas de solidão e de saúde, como a depressão e as habilidades cognitivas (de Vries, 2006).

Riscos e vulnerabilidades

Nas estratégias de desenvolvimento das atividades em HU deverão ser tidos em linha de conta diversos efeitos adversos nos ecossistemas, em termos quantitativos, qualitativos e de custos. Processos de avaliação dos riscos, que apresentam um determinado grau de intensidade, e da vulnerabilidade a fatores negativos, deverão conduzir a medidas de adaptação (EEA, 2013).

Agroambientais

Na vertente agroambiental, por fatores de natureza física, química e biológica, são identificados potenciais problemas nas HU. São de destacar (EEA, 2012b; Leitão et al., 2016): 1) locais com solos e águas subterrâneas contaminados, zonas industriais e urbanas de elevada poluição atmosférica ou corredores poluídos; 2) a utilização de produtos químicos que promovem a poluição do solo e da água, envolvendo perigos para a saúde humana, a flora e a fauna, e afetando a biodiversidade e os *habitats*; 3) más práticas de cultivo como a ausência de coberto vegetal em períodos de maior precipitação, rega em excesso ou sobreutilização de água de reservas, com consequências na delapidação e degradação dos recursos (e.g. erosão); 4) plantas invasoras; 5) a falta de controlo de pragas e doenças; 6) equipamentos motorizados que produzem poluição sonora.

Económicos

Ferramentas metodológicas de apoio à decisão (e.g. análise custo-benefício, árvores de decisão) poderão ser utilizadas para comparação de custos (e.g. fatores de produção) com benefícios, incluindo mesmo a valoração dos serviços dos ecossistemas intangíveis (e.g. biodiversidade, saúde). Neste tipo de análise, em que se identificam também várias questões de risco e incerteza, os impactos económicos associados às atividades em HU poderão corresponder a situações negativas (i.e. custos superiores aos benefícios). Estas situações, que de uma forma mais simplista apontam para projetos economicamente inviáveis, podem resultar do efeito das variáveis isoladas ou combinadas. São caso disso: 1) os gastos excessivos em recursos, equipamentos e trabalhos de adaptação, 2) os custos crescentes da ocupação dos terrenos devido a pressões do crescimento urbano; 3) a volatilidade dos preços dos alimentos, etc. (EEA, 2013).

Sociais

Tendo as HU uma dinâmica bastante assente no voluntariado podem surgir conflitos entre os utentes devido a faltas de compromisso ou comportamentos irresponsáveis que devem ser ultrapassados.

A pressão urbanística ou outros conflitos de valor e de interesses podem levar à redução ou eliminação das HU.

A falta de acompanhamento dos utentes e/ou insuficiente conhecimentos agroambientais dos mesmos, em especial no início do projeto e o impacto visual que as HU provocam nos utentes e nos outros cidadãos, podem levar à desmotivação e ao abandono do local.

A localização das HU em zonas com elevado risco de poluição são manifestamente um risco para a saúde dos utentes, pois a probabilidade da existência de resíduos/contaminantes nos alimentos será maior. Acidentes decorrentes das práticas agrícolas e do uso inadequado de produtos e de utensílios enquadram também situações com alguns perigos.

Boas práticas

Para melhorar os serviços dos ecossistemas devem ser seguidas boas práticas enquadradas em estratégias específicas, no que diz respeito à conservação dos recursos, às técnicas de cultivo e segurança alimentar, a infraestruturas e equipamentos e à governança e planeamento.

Um planeamento plurianual do espaço deve ser feito à partida com o esboço dos objetivos de utilização, das culturas a implantar, de um inventário detalhado dos recursos, equipamentos e de registos disponíveis e ainda dos riscos e problemas mais expectáveis, considerando-se assim a preparação de uma gestão calendarizada.

Conservação dos recursos

Face às pressões induzidas pela ação humana no contexto urbano (e.g. contaminação e compactação do solo) verifica-se a necessidade, no desenvolvimento de HU, de um foco em comportamentos orientados para a proteção ambiental. Ao nível da microescala de um talhão, e para a especificidade de um sistema solo-planta-atmosfera, é possível desenvolver uma HU envolvendo um conjunto de parâmetros e indicadores com valores que cumpram as normas enquadradas nas boas práticas agroambientais, nomeadamente de conservação dos recursos (solo, água, biodiversidade e energia) (Ferreira & Luz, 2016). Neste contexto, promovem-se técnicas de monitorização (e.g. precipitação, défice de água no solo), de amostragem (e.g. análise da qualidade da água,

infiltrabilidade do solo) e de avaliação (e.g. sistema de rega), que resultam em melhor eficiência no uso dos recursos e na redução dos riscos e vulnerabilidades.

As boas práticas, com ações preventivas e corretivas, são hoje já em grande medida o resultado da adoção de diretivas e regulamentos nacionais e europeus. Dos tópicos mais abordados com implicações na sustentabilidade das atividades em HU destacam-se: 1) o uso eficiente da água (incluindo a rega e a drenagem); 2) o aproveitamento de águas pluviais e residuais tratadas/recicladas; 3) a prevenção do escoamento superficial e da erosão; 4) o aumento da matéria orgânica nos solos.

Técnicas de cultivo e segurança alimentar

A escolha das espécies a serem produzidas deve ser baseada nas condições edafoclimáticas do local da HU. Uma vez escolhidas as espécies, as variedades regionais, por estarem bem adaptadas ao local, devem ser preferidas. Através do seu cultivo é possível preservar um recurso genético vegetal (conservação *ex-situ*) e redescobrir sabores e texturas que são uma mais-valia para o consumidor. A diversidade vegetal é essencial ao equilíbrio ambiental e é determinada pelo número de espécies que em certo momento existem num local (Veloso, 2010). Para aumentar a biodiversidade, o cultivo de espécies em vias de extinção deve ser equacionado, enquanto espécies invasoras devem ser evitadas (Voigt & Leitão, 2016). A recolha de sementes ou propágulos pela região e/ou agricultores vizinhos pode ser necessária e até poderá ajudar a compilar informações/memórias que deverão passar de geração em geração através da sua divulgação pela comunidade (Valagão, 2010).

As plantas hortícolas, as plantas aromáticas e medicinais (PAM) e as flores comestíveis são os grupos de plantas mais adequados para cultivar em HU (Luz et al., 2015) pelo seu curto ciclo cultural. As PAM são recomendadas como cultura ou como bordadura, pois como possuem elevados teores de óleos essenciais, apresentam atividade atraente, repelente ou tóxica a insetos ou outros microrganismos. Os extratos destas plantas também se utilizam para pulverização noutras plantas infestadas (Rodrigues, 2013).

Em horticultura urbana o modo de produção recomendado e mais utilizado é o MPB. Este é um modo de produção sustentável, que privilegia o uso de boas práticas, como por exemplo a rotação de culturas, a utilização de composto como fertilizante, adubações verdes por incorporação de plantas no solo e controlo biológico de pragas e doenças.

As rotações culturais ajudam a manter o equilíbrio de nutrientes no solo e limitam o aparecimento de infestantes e de pragas e doenças, além de proporcionarem uma maior diversidade de alimentos (Ferreira & Barreiro, 2016).

A compostagem doméstica é uma prática que ajuda a reduzir custos com fertilizantes. O composto que se obtém não tem microrganismos patogénicos nem sementes viáveis de infestantes (Mourão, 2016).

O MPB usa métodos culturais, biológicos e mecânicos em detrimento do uso de materiais sintéticos/químicos. Por exemplo, predadores, parasitoides e organismos entomopatogénicos são utilizados para o controlo de pragas (Rodrigues, 2013), o controlo de infestantes por monda manual, mecânica ou térmica ou cobertura de solo com produtos vegetais (palhas, casca de pinheiro compostada, estilha, etc.), o uso de plantas companheiras e o uso de sebes naturais com plantas hospedeiras.

A produção de alimentos segundo este modo de produção, contribui para o aumento da fertilidade do solo e da retenção da água, para uma melhor eficiência na utilização de recursos, para promover a biodiversidade e tem um menor impacto nas alterações climáticas.

Árvores ou sebes naturais podem ser utilizadas em locais estratégicos para proteção contra ventos. Para promover a biodiversidade, recomenda-se também a criação de habitats para antagonistas naturais de pragas e doenças, para servirem de abrigo, alimento ou polinizadores, como por exemplo casas de pássaros e de insetos e pequenas lagoas ou charcos (Voigt & Leitão, 2016).

Infraestruturas e equipamentos

As práticas que promovem a conservação dos recursos estão também dependentes da estruturação das condições locais e da utilização de tecnologia. As ações a concretizar estarão associadas à inventariação e caracterização dos recursos e à informação de base disponível em catálogos técnicos e comerciais. Todos os sistemas (armazenamento, rega e drenagem) deverão ser avaliados em função de vários fatores, tais como: combinação da dimensão e espaço disponível, tecnologias adequadas (e.g. tubagens, filtros, tanques e bombagem) e fontes de energia (e.g. renováveis ou de estruturas com aproveitamento da gravidade). Observa-se ainda que existem hoje equipamentos portáteis de uso expedito e comprados em superfícies comerciais ou na internet, nomeadamente, para monitorização da qualidade da água (e.g. pH e condutividade elétrica) ou estimativa do teor de água no solo (e.g. sensores). Nesta perspetiva, algumas orientações deverão ter lugar num planeamento que poderá incluir (EEA, 2012b; Heller & Luz, 2016):

- 1) Um sistema de rega devidamente selecionado de acordo com as especificidades das condições locais, preferencialmente com funcionamento em pressão;
- 2) A necessidade de nivelamentos e/ou terraços face a condicionamentos do solo e topográficos;
- 3) Estruturas alternativas para cultivo, em situações de contaminação do solo;
- 4) A captação e armazenamento da água da chuva em reservatórios ou sistemas lagunares, que poderá ser posteriormente aplicada na rega; os sistemas de valas, de drenos tubulares ou de galerias permitem também desviar a água para ser armazenada;
- 5) Estruturas para combater o deslizamento de terras, face a eventos hidrometeorológicos extremos (e.g. forte precipitação).

Governança e planeamento

Os utentes das HU não possuem habitualmente conhecimentos agroambientais adequados, pelo que formação específica nessa área, antes de iniciar o cultivo da horta é fundamental. Os conteúdos desta formação devem ser construídos em função do grupo e a sua complexidade ir aumentando à medida que os conhecimentos básicos vão sendo interiorizados.

A publicação de manuais técnicos com noções básicas e também por cultura deve ser incentivada, havendo já no mercado obras que possam ser consultadas e servir de base de apoio (Mourão, 2007; Chambel, 2012; Casabosch, 2013; Mourão & Brito, 2014; Ferreira & Barreiro, 2016).

O 'diário' da horta deve ser implementado e fomentado o seu preenchimento. Nele serão anotadas as atividades da horta, as tomadas de decisão e até os percalços que forem surgindo, com o objetivo de poderem ajudar a prevenir e a remediar futuras intervenções e/ou dificuldades.

A gestão participada de HU facilita o intercâmbio entre utentes e uma maior coesão entre todos. Deverão ser as entidades promotoras a iniciar o processo para depois cederem o lugar aos utentes.

Práticas de sociabilização, como por exemplo encontros temáticos em torno das atividades e dos produtos devem também ser planeadas e promovidas.

Recomendações

No contexto dos benefícios/serviços dos ecossistemas observados nas HU e dos riscos e vulnerabilidades a elas associados, estabelece-se um conjunto medidas básicas. Esta abordagem multidisciplinar envolve procedimentos e fatores e pressupõe processos de avaliação (qualitativos, quantitativos) que permitirão as tomadas de decisão mais adequadas para o sucesso das HU. Neste sentido, o processamento da informação que se propõe, permitirá o cumprimento de boas práticas, enquadradas em recomendações e aspetos normativos, através de interações entre o decisor e o utente.

De forma a facilitar a utilização e integração dos aspetos salientados neste trabalho, apresenta-se uma listagem de recomendações em áreas-chave a programar no desenvolvimento das HU (quadro 1).

Referências

- Bell, S., Fox-Kämper, R., Keshavarz, N., Benson, M., Caputo, S., Noori, S. & Voigt, A. (eds.). 2016. Urban allotment gardens in Europe. COST and Earthcan from Routledge, London.
- Brito, L.M. 2013. 4.4. Fertilidade do solo e compostagem. p.159-166. In: I.M. Mourão & L.M. Brito (eds.). Horticultura Social e Terapêutica. Publindústria, Porto.
- Buchmann, C. 2009. Cuban home gardens and their role in social-ecological resilience. *Human Ecology* 37(6):705-721.
- Casabosch, M.E. 2013. Uma horta para ser feliz. Arteplural edições, Lisboa, 215 pp.
- Chambel, T. 2012. Um jardim para cuidar. A Esfera dos Livros, Lisboa, 355 pp.
- De Vries, S. 2006. Contributions of natural elements and areas in residential environments to human health and well-being. p.21-30. In: J. Hassink & M. van Dijk (eds.). Farming for health. Dordrecht, Springer.
- EEA. 2012a. Urban adaptation to climate change in Europe. EEA Technical Report No. 2/2012. Copenhagen. 142 pp.
- EEA. 2012b. Climate change, impacts and vulnerability in Europe 2012. EEA Technical Report No. 12/2012. Copenhagen. 300 pp.
- EEA. 2013. Adaptation in Europe. EEA Technical Report No.3/2013. Copenhagen. 132 pp.
- Ferreira, M.E. & Barreiro, G. (coord.). 2016. Mãos à horta. Agrobook, Porto, 326 pp.
- Ferreira, M.E. & Luz, P.B. 2017. As hortas urbanas e a sustentabilidade dos recursos solo, água e energia. *Actas Portuguesas de Horticultura* 27 (aceite para publicação).
- Heller, A. & Luz, P.B. 2016. Hortas Urbanas na Europa. O Contributo das Hortas Urbanas para os Serviços dos Ecossistemas. Série Informativa - Ficha 11 | Edição 1.
- Keatinge, J.D.H., Yang, R.-Y., Hughes, J.d'A., Easdown, W.J. & Holmer, R. 2011. The importance of vegetables in ensuring both food and nutritional security in attainment of the Millenium Development Goals. In: *Food Security* 3(4):491-501.
- Keshavarz, N. & Bell, S. 2016. A history of urban gardens in Europe. p.8-32. In: S. Bell, R. Fox-Kämper, N. Keshavarz, M. Benson, S. Caputo, I.S. Noor & A. Voigt (eds.). Urban allotment gardens in Europe. COST and Earthcan from Routledge, London.
- Langemeyer, J., Latkouska, M.J. & Gómez-Baggethun, E.N. 2016. Ecosystem services from urban gardens. p.115-141. In: S. Bell, R. Fox-Kämper, N. Keshavarz, M. Benson, S. Caputo, I.S. Noor & A. Voigt (eds.). Urban allotment gardens in Europe. COST and Earthcan from Routledge, London.
- Leitão, T.E., Henriques, M.J., Cameira, M.R., Mourato, M., Rodrigo, I., Martins, M.L.L., Costa, H.D. & Pacheco, J.M. 2016. Avaliação da qualidade dos solos, das águas subterrâneas e das espécies hortícolas em hortas urbanas de Lisboa. Identificação de medidas de mitigação visando a proteção da saúde pública. Relatório 54/2016 – DHA/NRE, LNEC, Lisboa, 149 pp.

- Luz, P.B., Ferreira, M.E. & Luz, P.B. 2015. Apostar nas hortas urbanas. SCML – Lisboa. *Revista Cidade Solidária* 34:66-73.
- Mourão, I.M. (ed.). 2007. Manual de horticultura no modo de produção biológico. Projeto AGRO 747, ESAPL/IPVC, 198 pp.
- Mourão, I.M. 2016. Compostagem doméstica – fácil e barata. p.55-58. In: M.E. Ferreira & G. Barreiro (coord.). *Mãos à horta*. Agrobook, Porto.
- Mourão, I.M. & Brito, M.M. 2014. Uma horta em casa. *Arteplural* edições, Lisboa, 247 pp.
- Orsini, F., Accorsi, M., Luz, P., Tsirogiannis, I. & Gianquinto, G. 2016. Sustainable water management in green roofs. Chapter 6, p.167-207. In: T. Younos, T.E. Parece (eds), *Sustainable Water Management in Urban Environments*. Switzerland, Springer International Publishing.
- Rodrigues, R. 2013. 4.6. Proteção das plantas no modo de produção biológico. p.175-185. In: I.M. Mourão & L.M. Brito (eds.). *Horticultura social e terapêutica*. Publindústria, Porto.
- Rosário, L. 2004. Indicadores de desertificação para Portugal Continental. *Direção-Geral dos Recursos Florestais. Núcleo de Desertificação*. Lisboa, 65 p.
- Santos, F.D., Forbes, K. & Moita, R. (eds.). 2002. *Climate Change in Portugal*. SIAM Project, Gradiva, Lisbon.
- Sumner, M. 2000. *Handbook of Soil Science*. CRC. New York, USA.
- Valagão, M.M. 2010. Heranças antigas, Dinâmicas modernas. p.23-41. In: M.M. Valagão (Org.), *Natureza, Gastronomia e Lazer. Plantas Silvestres e Ervas Aromáticas Condimentares*. Edição Colibri, Lisboa.
- Van der Berg, A.E., van Winsum-Vestra, M., de Vries, S. & van Dillen, S.M.E. 2010. Allotment gardening and health: a comparative survey among allotment gardeners and their neighbors without an allotment. *Environmental Health* 9:74-86.
- Veloso, M.M. 2010. Biodiversidade vegetal, um recurso em declínio. p. 73-85. In: M.M. Valagão (Org.), *Natureza, Gastronomia e Lazer. Plantas Silvestres e Ervas Aromáticas Condimentares*. Edição Colibri, Lisboa.
- Voigt, A. & Leitão, T.E. 2016. Lessons learned. Indicators and good practice for an environmentally-friendly urban garden. p.165-197. In: S. Bell, R. Fox-Kämper, N. Keshavarz, M. Benson, S. Caputo, I.S. Noor & A. Voigt (eds.). *Urban allotment gardens in Europe*. COST and Earthcan from Routledge, London.

Quadros e Figuras

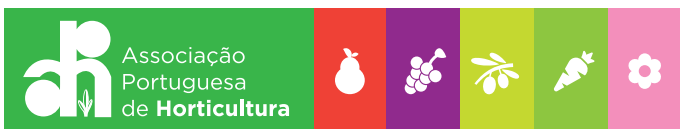
Quadro 1 – Listagem de procedimentos e fatores para o planeamento e decisão em hortas urbanas.

<i>1. Local</i>	Decisor	Utente
• Recuperação de zonas degradadas e abandonadas	X	X
• Histórico de utilização	X	
• Avaliação de impactos das atividades das áreas vizinhas	X	
• Avaliação da disponibilidade e qualidade dos recursos naturais (solo, água e energia)	X	
• Promover a boa acessibilidade ao local	X	X
• Conservação da biodiversidade pela preservação de <i>habitats</i> e de espécies	X	X
<i>2. Tecnologias e gestão</i>		
• Infraestruturas em material biológico, reciclável e reutilizável	X	X
• Analisar periodicamente a qualidade do solo e da água		X
• Utilização do modo de produção biológico		X
• Planeamento e rotações das culturas	X	X
• Reutilização ou reciclagem de materiais e de resíduos		X
• Utilização de sistemas de recolha e armazenamento de água	X	X
• Prevenir a degradação do solo (ex. terraços, cobertura vegetal)		X
• Sistemas de rega e de drenagem adaptados às condições edafoclimáticas locais		X
<i>3. Governança socioeconómica</i>		
• Levantamento de custos de investimento com infraestruturas e equipamentos	X	X
• Estabelecer normas de conduta e de utilização do espaço em comissões de participação cívica	X	X
• Implementar serviços de avisos (meteorológicos, água no solo, aparecimento de pragas e doenças)	X	
• Implementar ações de formação e informação	X	
• Usar ferramentas metodológicas para apoio à decisão	X	
• Estabelecer grupos prioritários de utentes	X	



Organização:

InFormamos Horticultura



Sociedad Española de Ciencias Hortícolas

Patrocinadores:



Apoio:

