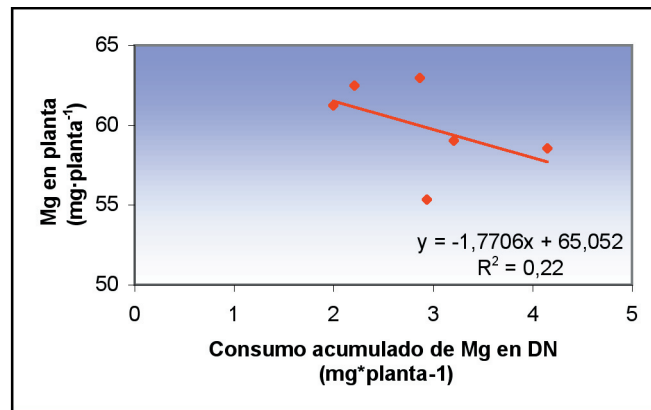


Figura 3.-Relación entre el Mg consumido de la DN y el Mg contenido en la planta a lo largo del cultivo



**significativo al 1%

Hay una buena correlación lineal entre el Ca consumido de la DN y el Ca contenido en la planta a lo largo del cultivo ($R^2 = 0,97$), Figura 4. El N y el P también presentan valores altos de R^2 , de 0,82 y 0,86, respectivamente. En la Figura 5 se aprecia la baja correlación en el caso del Mg, $R^2 = 0,22$, que es incluso menor para el K ($R^2 = 0,02$). Las razones de este comportamiento debe de encontrarse, en el caso de los cationes, en su movilidad en el floema, baja para el Ca y alta para Mg y K, y en el tipo de absorción, pasiva para el Ca y básicamente activa para el K.

Se están realizando varios experimentos para predecir la demanda de agua y de nutrientes de la planta de pimiento. Los resultados se están procesando. Las determinaciones que se incluyen en estos otros experimentos, además de los mencionados en este trabajo, son los parámetros climáticos y la superficie foliar. Cabe desatacar el uso de la técnica de interrupción (Burns, 1992) del suministro de un nutriente, para el estudio de la velocidad de respuesta de la planta. Así mismo se investiga la cinética de recuperación cuando se restituye el suministro adecuado del nutriente. Con posterioridad a estos ensayos, se pretende realizar experimentos de validación de las previsiones de consumo de agua y nutrientes en invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se ha realizado con la ayuda financiera de la Comisión Europea en el programa RTD "Calidad de vida y gestión de recursos vivos" (Proyecto QLTR-1999-31301). No refleja necesariamente la opinión de la Comisión y en ningún caso compromete su política futura en esta área.

BIBLIOGRAFÍA

BURNS I.G. 1992. Influence of plant nutrient concentration on growth rate: use of a nutrient interruption technique to determine critical concentration of N, P and K in young plants. *Plant and Soil* 142: 221-233.
ZORNOZA P. y B. AROZAMENA. 1986 Estudio de la composición química de plantas de pimiento a lo largo del ciclo de cultivo. *An. Edafol, Agrobiol.* Tomo XLV, nº 1-2, 163-174.

FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN OLIVO CV. EMPELTRE.

II.- COMPOSICIÓN POLIFENÓLICA DE HOJAS Y FRUTOS Y CALIDAD DEL ACEITE.

M. Alcubilla¹, M^a.S. Gracia², M^a.A. Romero¹, J.L. Espada³, J. Betran² y E. Monge⁴

1. Dpto. Agricultura y Econ. Agraria. Universidad Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013-Zaragoza.
2. Laboratorio Agroambiental. Diputación General de Aragón. Apartado 727. 50080-Zaragoza.
3. Centro de Técnicas Agrarias. Diputación General de Aragón. Apartado 617. 50080-Zaragoza.
4. Estación Experimental AULA DEI. CSIC. Apartado 202. 50080-Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del olivo tiene gran importancia en la economía y en la cultura mediterránea desde hace siglos. Los estudios científicos confirman que el aceite extraído de su fruto tiene grandes cualidades sanitarias, lo que ha favorecido su recomendación frente a otros aceites y grasas de peores características pero apoyados por fuertes campañas publicitarias. Dado que la supervivencia del cultivo del olivo pasa, según algunos autores, por la oferta de aceites de gran calidad (VAZQUEZ RONCERO et al., 1973; MAESTRO DURÁN y BORJA PADILLA, 1990), han sido numerosos los proyectos encaminados a conocer y mejorar la calidad del mismo.

Uno de los parámetros que determinan la calidad organoléptica del aceite es el contenido en polifenoles. Los fenoles tienen efecto antioxidante (SHAHIDI y NAZCK, 1995) y son por tanto responsables de la alta estabilidad del aceite de oliva virgen, además de poseer una buena actividad antimicrobiana. Por tanto, el contenido total de fenoles es un factor determinante de la vida comercial del aceite (MAESTRO DURÁN y BORJA PADILLA, 1990; TSIMIDOU et al., 1992; MONTEDORO et al., 1993) y muy importante para asegurar una estabilidad necesaria para mantener la calidad.

En el contenido en polifenoles del aceite inciden de manera particular la variedad, el medio edafoclimático, las prácticas culturales -como fertilización y riego-, etc. (UCEDA y HERMOSO, 1998; ESTI et al., 1998). Por otra parte, se ha puesto de manifiesto en diversas especies vegetales, la relación que existe entre el estado de nutrición y el contenido en polifenoles en diversas partes de la planta (raíces, tallos, hojas, frutos), o su proporción en relación con otros componentes orgánicos (ALCUBILLA, 1971; ALCUBILLA et al. 1971, 1990; ALCUBILLA y ROMERO, 1999). Especial importancia ha mostrado tener la nutrición en nitrógeno, ya que tanto una deficiencia como un exceso de este elemento pueden conducir a un desequilibrio entre la síntesis de polifenoles y otros componentes orgánicos, como los azúcares y los aminoácidos libres.

El establecimiento de posibles relaciones entre el estado nutricional del olivo, la composición polifenólica de sus hojas y frutos y la calidad del aceite, sólo puede llevarse a cabo en experimentos de fertilización controlados, donde se estudie el efecto de un sólo elemento nutriente, manteniendo constantes todos los demás parámetros agronómicos. Este es el objetivo del presente trabajo.

Realizar un estudio de este tipo, es tarea compleja, interdisciplinar, y exige un largo periodo de tiempo de observación y seguimiento. Nuestro equipo la ha abordado, aunque consciente de que no se puede llegar en corto plazo a resultados concluyentes. La reconocida calidad de los aceites de Aragón (GRACIA, 1991, 1996, 2001) y la peculiaridad de las principales variedades aquí implantadas, Empeltre y Arbequina, han motivado la puesta en marcha de dos experimentos de fertilización con árboles jóvenes (uno en cada variedad), que puedan contribuir a mejorar su conocimiento. En dos trabajos previos (MONGE et al., 2002 a y b) se da cuenta de los datos relativos a cada uno de los experimentos, así como de los primeros resultados del estudio de los suelos, del estado nutritivo de los árboles y del crecimiento de éstos. El presente trabajo sintetiza los primeros datos obtenidos en el ensayo de fertilización nitrogenada con la variedad Empeltre sobre el contenido de los polifenoles en hoja y fruto y sobre la calidad del aceite.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo de fertilización de olivos Empeltre, situado en el ámbito de Calanda, ha sido ya caracterizado (MONGE et al., 2002). Se trata, en síntesis, de un olivar joven (plantación de 1996) donde se estudian los efectos de tres dosis crecientes de abono nitrogenado: D-0, D-1 y D-2.

Para el análisis de los compuestos fenólicos en hoja y fruto, y para el análisis del aceite, se muestrearon individualmente 12 árboles, 4 por cada variante del experimento. Las muestras de hoja se tomaron en distintos momentos del año (julio y noviembre), desde 1999 a 2001. Son hojas procedentes de

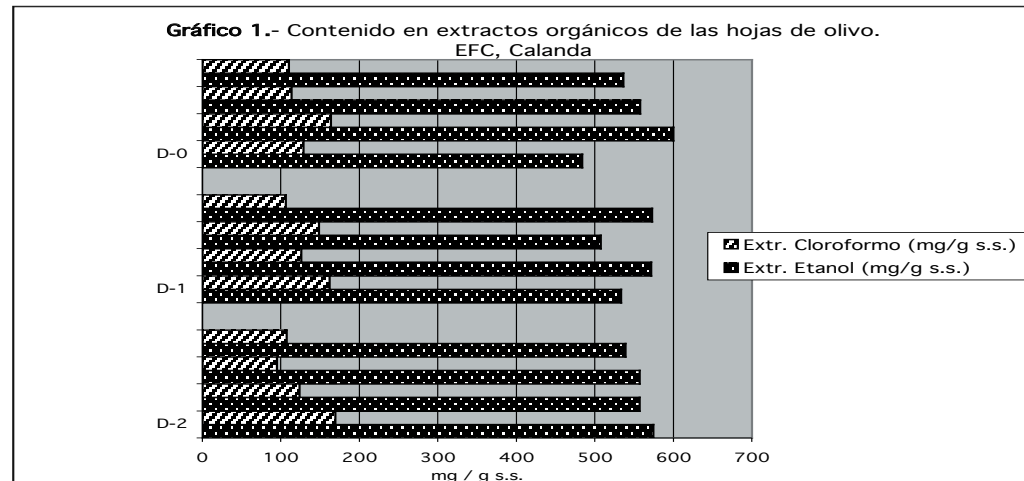
brotos del año, tomadas alrededor de la copa del árbol. Las aceitunas se cosecharon en el mes noviembre.

La metodología de toma, procesado y análisis de las muestras de hojas y frutos ha sido puesta a punto por ROMERO (2002). En todo momento es preciso evitar alteraciones de los compuestos polifenólicos. De las aceitunas se separó la pulpa del hueso; sólo la pulpa ha sido analizada. Una vez molidas las muestras, se sometieron a distintos procesos de extracción para separar los componentes solubles menos polares y más polares. A las hojas se les realizó una extracción cuantitativa, primero con cloroformo y luego con etanol. En el extracto de etanol se determinan los polifenoles con el reactivo de Folin Ciocalteu; así se obtiene el contenido en "fenoles totales" (referidos a ácido gálico). La determinación de los componentes fenólicos que pertenecen a los flavonoides se realiza con el reactivo de tricloruro de aluminio (referidos a quercetina). Las aceitunas requieren una extracción más compleja, obteniendo finalmente el extracto de hexano y el extracto de agua. En este último se determinan los polifenoles (fenoles totales referidos a ácido gálico), también con el reactivo de Folin Ciocalteu.

Los estudios sobre el aceite se realizaron del siguiente modo: Primero se obtuvo el aceite de las diferentes muestras de fruto (distintos tratamientos y repeticiones) por el sistema Abencor, en frío, para que el aceite obtenido mantenga todas sus propiedades. De ahí se obtuvo el "rendimiento Abencor"; al operar en frío, los valores obtenidos son bastante bajos. En el aceite obtenido, se realizaron las determinaciones de grado de acidez, índice de peróxidos, lecturas en el ultravioleta (K 270, K 232) y composición de ácidos grasos siguiendo los métodos del Reglamento Comunitario CEE nº 2568/91. Los valores de contenido en polifenoles totales se obtuvieron siguiendo el método de VÁZQUEZ RONCERO et al. (1973).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que no existen diferencias significativas entre los árboles abonados con los distintos tratamientos (D-0, D-1, D-2) en ninguno de los parámetros analizados (ni en hojas, ni en fruto, ni en aceite). Esto era de esperar, pues el efecto del abonado nitrogenado en distintas dosis tampoco ha conducido, hasta la fecha, a diferencias significativas en el contenido de elementos nutrientes en las hojas de los olivos (MONGE et al. 2002). Esto puede deberse, principalmente, al corto periodo de tiempo transcurrido desde el inicio del experimento (comienzo a mediados de 1999); el olivo, bien nutrido desde el principio, cuenta con reservas de masa para amortiguar las diferencias en las dosis de abono.

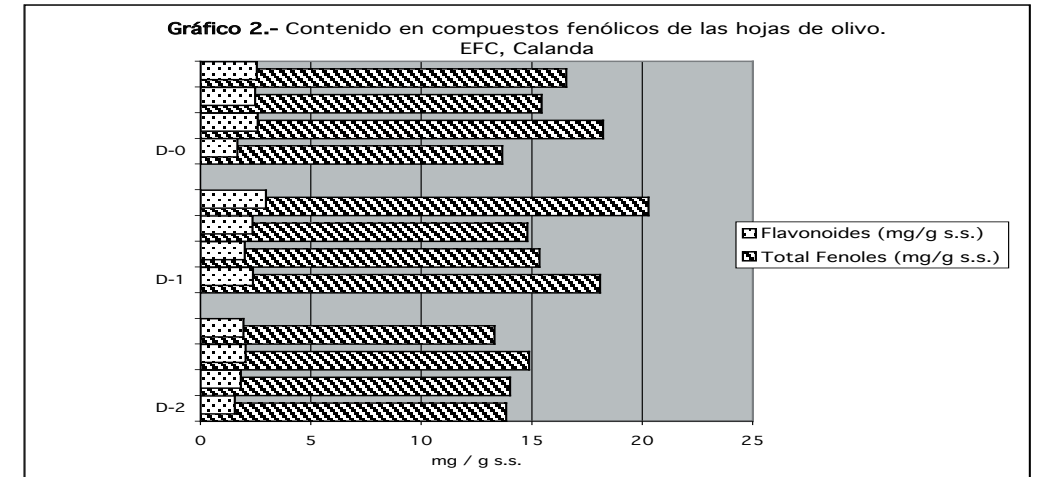


Sin embargo, los resultados iniciales de esta investigación, aportan una información valiosa sobre el contenido en extractos de las hojas y frutos de la variedad de olivo Empeltre, así como de su contenido en compuestos polifenólicos. Valiosa, porque no existen datos conocidos hasta ahora sobre estos parámetros. Representan además el punto de partida para futuras investigaciones. También es la primera vez que se aportan datos sobre la composición de compuestos orgánicos de hoja y fruto y las características del aceite, estudiadas a partir de los mismos árboles y de muestras tomadas al mismo tiempo.

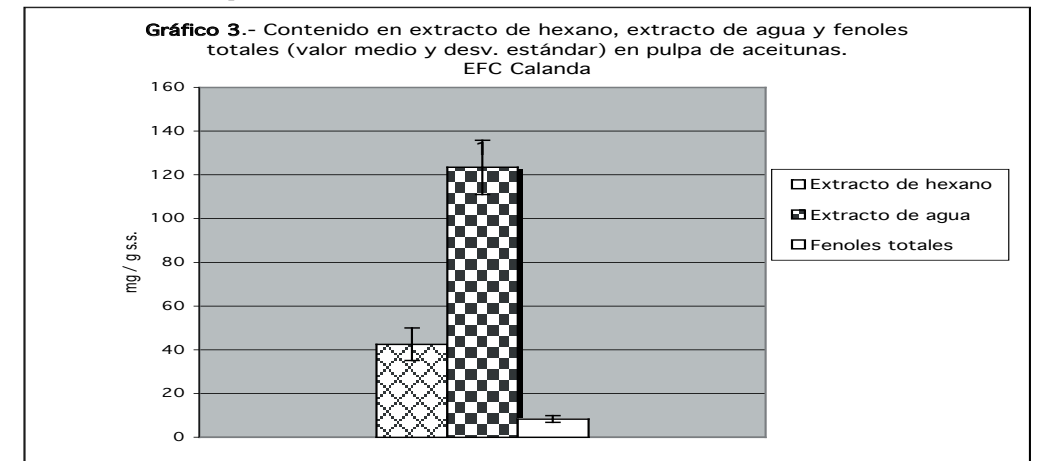
En el Gráfico 1 se han representado los contenidos de los extractos orgánicos de hoja para cada árbol individual, de las muestras tomadas en julio de 2001. El extracto de cloroformo contiene los compuestos no polares, mientras que el extracto de agua contiene los polares. El orden de magnitud de los

valores es similar en todos los casos, constatándose diferencias entre árbol y árbol dentro de todos los tratamientos (D-0, D-1 y D-2). Los resultados de las muestras de fechas anteriores son del mismo rango.

En el Gráfico 2 se han representado los contenidos en fenoles totales y en flavonoides, también para cada árbol en particular de julio de 2001. De nuevo se pone de manifiesto la variabilidad individual (por eso se han analizado las muestras de cada árbol, para determinar la variabilidad existente), dentro de un orden de magnitud similar. Podría dibujarse una tendencia en el sentido de que los árboles abonados con la dosis D-2 presentan contenidos fenólicos un poquito menores que los de las otras dos variables; esto, además, coincide con la experiencia de otras especies vegetales. Sin embargo, es preciso esperar a obtener resultados con más tiempo de influencia del abono para llegar a conclusiones claras, ya que el análisis de varianza no aporta diferencias significativas. También aquí, el valor de la información radica en que se trata de los primeros datos obtenidos para olivos Empeltre.



Los resultados sobre el contenido de extractos y de compuestos polifenólicos en la pulpa de las aceitunas analizadas se recogen en el Gráfico 3. En él se han representado los valores medios y sus desviaciones estándar de los 12 árboles analizados en los distintos tratamientos, ya que no se dan diferencias significativas entre los grupos. Igual que en el caso de las hojas, los valores obtenidos son muy similares entre sí, independientemente de la dosis de abono.



La Tabla 1 muestra los resultados del análisis del aceite obtenido a partir de los frutos de la cosecha 2000/01. Se presentan solamente los valores medios de todos los árboles (independientemente del tratamiento), ya que no hay diferencias significativas entre las variables. Los resultados apuntan a que la calidad del aceite no se ha visto afectada hasta ahora por un aporte variable de nitrógeno; sí hay variaciones individuales en el contenido de polifenoles, pero podría relacionarse con el índice de madurez de los frutos.

Tabla 1: Resultados analíticos del aceite Empeltre (valores medios). EFC Calanda. Campaña 2000-2001.

Rendimiento Abencor (% en frío) 6,12		COMPOSICIÓN ÁCIDOS GRASOS %	
Grado de acidez (% ácido oleico) 0,1		C 16:0 16,1	
Polifenoles (mg /1000 g) 76,9		C 16:1 2,2	
LECTURAS EN EL ULTRAVIOLETA		C 18:0 1,4	
K 270 0,06		C 18:1 68,6	
K 232 1,72		C 18:2 10,5	
Delta - K < 0,01		C 18:3 1,2	

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el MAPA, Programa de Mejora de la Calidad de la Producción de Aceite de Oliva, proyecto CAO99-020-C2. Los autores agradecen a R. Herrero, C. Campo y E. Arranz su colaboración en los trabajos analíticos de laboratorio.

REFERENCIAS

- ALCUBILLA, M. (1971). Polifenoles del líber del abeto rojo (*Picea abies* Karst). Tesis Doctoral. Madrid.
- ALCUBILLA, M.; ROMERO, M.A. (1999). Estado nutricional del olivo: eslabón entre el medio agrológico, la producción y la calidad del aceite. *Revista de. Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario* 3, 21-28.
- ALCUBILLA, M.; DÍAZ-PALACIO, M.P.; KREUTZER, K.; LAATSCH, W.; REHFUESS, K.E.; WENZEL, G. (1971). Beziehungen zwischen dem Ernährungszustand der Fichte (*Picea abies* Karst.), ihrem Kernfäulebefall und der Pilzhemmwirkung ihres Basts. *Eur. J. For. Path.*, 1, 100-114.
- ALCUBILLA, M.; HEIBL, R.; REHFUESS, K. E. (1990). Langfristige Effekte von Düngungsmassnahmen auf die chemische Zusammensetzung von Fichtenbast und -holz und ihre Hemmwirkung gegenüber *Heterobasidion annosum* (Fr. Bref.). Ein Beitrag zur Rotfäuleforschung. *Forstliche Forschungsberichte München*, Nr. 102, 182 pp.
- ESTI, M.; CINQUANTA, L.; LA NOTTE, E. (1998). Phenolic compounds in different olive varieties. *J. Agric Food Chem.* 46, 32-35.
- GRACIA M^ªS. (1991). Caracterización de los aceites de oliva de Aragón. Publicado por el Dpto. de Agricultura, Ganadería y Montes, de la Diputación General de Aragón.
- GRACIA, M^ªS. (2001). Composición química de distintas calidades de aceites de oliva virgen de la variedad "Empeltre" en el Bajo Aragón. *Grasas y Aceites* 52 (1), 52-58.
- GRACIA, M^ªS. (1996). El olivar y su aceite en Aragón. *Oleo (especial SIO-96)*, 44-46.
- MAESTRO DURÁN, R.; BORJA PADILLA, R. (1990). La calidad del aceite de oliva en relación con la composición y maduración de la aceituna. *Grasas y aceites* 41, 171-177.
- MONGE, E.; ESPADA, J.L.; VAL, J.; BETRAN, J.; GRACIA, M^ªS.; ALCUBILLA, M. (2002a). Fertilización nitrogenada en olivo cv. Empeltre. I.- Contenido en nutrientes y crecimiento del árbol. *Actas del IX Simposio Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas. 10-13 Septiembre 2002. Zaragoza*
- MONGE, E.; ESPADA, J.L.; VAL, J.; BETRAN, J.; GRACIA, M^ªS.; ALCUBILLA, M. (2002b). Efectos del abonado nitrogenado en el comportamiento agronómico del olivo cv. Arbequina. *Actas del IX Simposio Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas. 10-13 Septiembre 2002. Zaragoza*.
- MONTEDORO, G.; SERVILI, M.; BADIOLI, M.; SELVAGGINI, R.; MINIATI, E.; MACCIONI, A. (1993). Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil. 3: Spectroscopic characterization of the secoiridoid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 41 (11) 2228-2234.
- ROMERO, M.A. (2002): El estado nutricional del olivo cv. Empeltre en el Bajo Aragón y su composición polifenólica. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza. (En proceso de elaboración).
- SHAHIDI, F.; NAZCK, M. (1995). en "Food Phenolics". Technomic Publishing Lancaster, Pennsylvania.
- TSIMIDOU, M.; PAPAPOULOS, G.; BOSKOU, D. (1992). Phenolic compounds and stability of virgin olive oil. Part I. *Food Chemistry* 45 (2) 141- 144
- UCEDA, M.; HERMOSO, M. (1998). La calidad del aceite de oliva. En Barranco, D. et al (ed.) 'El cultivo del olivo'. Coed. Junta de Andalucía-Mundiprensa. Madrid. 2^a ed., pp. 547-571.
- VÁZQUEZ RONCERO, A. ; JANER DEL VALLE, C.; JANER DEL VALLE, M^ªL. (1973). Determinación de los polifenoles totales del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*, 24, 350-357.

OPTIMIZACIÓN DE LA NUTRICIÓN NITROGENADA MEDIANTE HIDROPONÍA EN *Arbutus unedo* L. DOSIS TOTAL DE N Y RELACIÓN NO₃⁻/NH₄⁺

Martín, I.; Cadahía, C.; Alonso, N.; López, M.C.; Prieto, M.; Eymar, E.

Dpto. Química Agrícola, Geología y Geoquímica. Facultad de Ciencias. C-VII
Carretera de Colmenar, Km 15. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid

INTRODUCCIÓN

La obtención de un aumento de la producción y calidad de un cultivo pasa por conseguir un nivel de fertilidad adecuado del suelo o sustrato y de optimizar la disolución del suelo de donde se va a nutrir esa planta. Por otro lado, se debe reducir al mínimo las fuentes de contaminación para conseguir una agricultura compatible con la conservación del medio ambiente.

Dentro de los nutrientes esenciales, el N y su aporte en la fertilización es uno de los factores nutricionales que más condiciona la producción y la calidad (Ek y col., 1994). Sin embargo, la fertilización nitrogenada excesiva supone uno de los problemas medioambientales más graves.

El N se suele aplicar tradicionalmente en forma de nitratos, sin embargo, se ha demostrado que el amonio puede incrementar el rendimiento en algunas especies. Algunos cultivos leñosos, como las coníferas, alcanzan sus mayores rendimientos con disoluciones que presentan una concentración amónica importante frente a la nutrición exclusivamente nítrica (Sánchez y col., 2000; Kronzucker y col., 1997). Por otra parte, no todas las especies vegetales son capaces de tolerar concentraciones elevadas de amonio como fuente de N. A partir de una concentración específica en el medio de cultivo el aporte de amonio puede ser tóxico y el rendimiento se puede ver afectado, normalmente de forma muy acusada, lo que obliga a ser cautelosos en el control de su utilización (Zornoza y col., 1987b, Sánchez y col., 2000).

La optimización de la fertilización nitrogenada pasa por reducir los aportes excesivos para reducir las pérdidas por lixiviación de nitratos, no únicamente por cuestiones medioambientales sino también por interés económico. El amonio es una forma de N que puede quedar retenida en los coloides del suelo, como son los minerales de las arcillas y las sustancias húmicas. Determinar la relación nitrato/amonio más baja que admiten las especies cultivadas sin afectar el rendimiento comercial permitiría hacer una fertilización que mantenga una reserva de N no tan fácilmente lixiviable, reduciría la contaminación por nitratos y aumentaría la eficiencia de la fertilización, con el consiguiente ahorro económico, mano de obra y energía para aplicarlo, así como obtener plantas más resistentes y nutridas para el trasplante.

El objetivo de este trabajo es determinar la concentración total de N y la relación NO₃⁻/NH₄⁺ más adecuada para el desarrollo de *Arbutus unedo* L mediante el uso de disoluciones nutritivas en hidroponía, con el fin de optimizar la nutrición nitrogenada y controlar y reducir, en lo posible, la fertilización en forma de nitratos, en producciones en vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante los años 1998 y 1999 en el invernadero de investigación del Departamento de Química Agrícola, Geología y Geoquímica de la Universidad Autónoma de Madrid. El diseño experimental consistió en un sistema hidropónico recirculante. Se utilizaron contenedores de 50 litros con arena de cuarzo como sustrato inerte y plantas de madroño (*Arbutus unedo* L).

En un primer ensayo se estudió la concentración de N total más adecuada para dicha especie. Se estudiaron cuatro aportaciones de N total: 1, 3, 5 y 7 mmol/L con una relación NO₃⁻/NH₄⁺ 50/50. En un segundo ensayo se estudiaron tres relaciones de NO₃⁻/NH₄⁺ (50/50, 40/60 y 30/70) manteniendo la concentración total de N en 5 mmol/L.

En la tabla 1 se muestra la composición de las disoluciones nutritivas (DN) ensayadas. La DN se administró mediante riego por inundación y se recuperaba mediante un sistema de recirculación de los drenajes. La DN tenía, en ambos ensayos, un pH inicial entre 6,0 y 6,3, renovándose periódicamente.

Se midió índice SPAD (Minolta SPAD). Se tomaron muestras a mitad y final de ensayo de parte aérea y raíz, así como de savia. Las hojas y raíces se lavaron y se secaron en estufa a 80°C. Se determinó N mediante el método Kjeldhal y P, K, Ca y Mg tras digestión vía seca de las muestras de raíz y de hoja (Jones y Mills, 1996) y directamente en savia, tras extracción y dilución (Eymar y col., 2000). Se determinó N y P por colorimetría automatizada y K, Ca y Mg en absorción atómica (Perkin Elmer 4000).

Los resultados obtenidos se trataron mediante un análisis de varianza mediante el procedimiento ANOVA del programa informático SAS (S.A.S. Institute, 1985).