



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE MAGISTER EN CIENCIAS AGRARIAS

“Desarrollo del fruto del olivo (*Olea europaea* L.) cultivado en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires creciendo bajo condiciones de riego y seco”

Ing. Agrónoma María Verónica Rosetti

Bahía Blanca

Argentina

2016

“Desarrollo del fruto del olivo (*Olea europaea* L.) cultivado en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires creciendo bajo condiciones de riego y secano”

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO
ACADEMICO DE MAGISTER EN CIENCIAS AGRARIAS**

Ing. Agrónoma María Verónica Rosetti

“El propio árbol del olivo es un personaje inevitable en las mitologías, en la tumba de los faraones, en la Grecia de Helena y Ulises, en la Biblia, en el llanto de Cristo en Jerusalén. Para judíos, musulmanes y cristianos, es un árbol familiar y querido como lo fue antes para adivinos, magos y chamanes. Es símbolo de paz, victoria, reconocimiento y fraternidad. Según dice la tradición, el olivo no muere nunca, es un símbolo de eternidad”.

Escritor Mario Vargas Llosa.

PREFACIO

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar el grado Académico de Magister en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otras. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Cátedra de Morfología Vegetal, del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur durante el período comprendido entre los años 2012 y 2016, bajo la dirección del Dr. Ing. Agr. Luis F. Hernández, Profesor Titular de Morfología Vegetal (DA-UNS) e Investigador Independiente de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC-PBA) y la codirección de la Lic. Cs. Biol., Mg. Andrea Flemmer, Profesora Adjunta de Morfología Vegetal (DA-UNS).

Departamento de Agronomía
Universidad Nacional del Sur

María Verónica Rosetti



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la
calificación de(.....)

CONTENIDO

PREFACIO.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	ix
ABREVIATURAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE CUADROS.....	xvii
LISTA DE TABLAS	xviii
RESUMEN.....	xx
SUMMARY.....	xxii

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Breve historia del cultivo del olivo.....	1
1.2 El cultivo del olivo en Argentina.....	1
1.3 Olivicultura en el Sudoeste bonaerense.....	3
1.4 Características de la especie.....	4
1.5 Características del fruto.....	5
1.6 Desarrollo del fruto.....	7
1.7 Histogénesis del mesocarpo.....	7
1.8 Esclerificación del endocarpo.....	9
1.9 Rendimiento graso del fruto.....	10
1.10 Factores que influyen en el desarrollo y el crecimiento del fruto.....	10
1.10.1 <i>Variedad</i>	11
1.10.2 <i>Carga frutal</i>	12
1.10.3 <i>Disponibilidad de agua edáfica</i>	12
1.11 Fundamentos de esta investigación.....	14
1.12 Hipótesis.....	14
1.13 Objetivos.....	15

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sitio experimental.....	16
2.2 Primer año de ensayo.....	16
2.2.1 <i>Material experimental y manejo del cultivo</i>	17
2.2.2 <i>Determinación de los estadios fenológicos</i>	18
2.2.3 <i>Crecimiento del fruto</i>	19
2.2.4 <i>Anatomía del fruto</i>	20
2.2.5 <i>Anatomía del endocarpo</i>	23
2.3 Segundo y tercer año de ensayo.....	23
2.3.1 <i>Material experimental y manejo del cultivo</i>	23
2.3.2 <i>Diseño experimental</i>	25
2.3.3 <i>Determinación de los estadios fenológicos</i>	26
2.3.4 <i>Estado hídrico de los árboles</i>	26
2.3.5 <i>Crecimiento del fruto</i>	27
2.3.6 <i>Anatomía del fruto</i>	27
2.3.6.1 <i>Anatomía de la sección longitudinal del fruto</i>	28
2.3.7 <i>Rendimiento y sus componentes</i>	28
2.3.7.1 <i>Rendimiento frutal e índice de madurez</i>	28
2.3.7.2 <i>Humedad del fruto y rendimiento graso</i>	29
2.4 Registro de variables climáticas en los tres años de ensayo.....	31

3. RESULTADOS

3.1 Primer año de ensayo.....	32
3.1.1 <i>Variables climáticas</i>	32
3.1.2 <i>Estadios fenológicos</i>	32
3.1.3 <i>Cambios morfológicos del fruto</i>	34
3.1.3.1 <i>Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo</i>	36
3.1.4 <i>Anatomía del fruto</i>	36
3.1.4.1 <i>Estructura anatómica del fruto de “Nevadillo”</i>	36
3.1.4.2 <i>Área celular y número de células del mesocarpo</i>	39
3.1.4.3 <i>Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular</i>	41

3.2 Segundo año de ensayo.....	42
3.2.1 Variables climáticas.....	42
3.2.2 Estadios fenológicos.....	42
3.2.3 Estado hídrico del cultivo.....	44
3.2.4 Cambios morfológicos del fruto.....	45
3.2.4.1 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo.....	49
3.2.5 Anatomía del fruto.....	50
3.2.5.1 Área celular y número de células del mesocarpo.....	50
3.2.5.2 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular.....	54
3.2.6 Rendimiento y sus componentes.....	54
3.2.6.1 Rendimiento frutal e índice de madurez.....	54
3.2.6.2 Rendimiento graso.....	55
3.3 Tercer año de ensayo.....	56
3.3.1 Variables climáticas.....	56
3.3.2 Estadios fenológicos.....	56
3.3.3 Estado hídrico del cultivo.....	56
3.3.4 Cambios morfológicos del fruto.....	58
3.3.4.1 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo.....	63
3.3.5 Anatomía del fruto.....	64
3.3.5.1 Área celular y número de células del mesocarpo.....	64
3.3.5.2 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular.....	66
3.3.5.3 Anatomía de la sección longitudinal del fruto.....	67
3.3.6 Rendimiento y sus componentes.....	72
3.3.6.1 Rendimiento frutal e índice de madurez.....	72
3.3.6.2 Rendimiento graso.....	73

4. DISCUSIÓN

4.1 Regímenes hídricos.....	75
-----------------------------	----

4.2 Cambios morfológicos del fruto.....	75
4.3 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo.....	76
4.4 Anatomía del fruto.....	77
4.5 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular	78
4.6 Anatomía de la sección longitudinal del fruto.....	79
4.7 Anatomía del endocarpo.....	79
4.8 Rendimiento frutal y sus componentes.....	80
5. CONCLUSIONES.....	83
6. PERSPECTIVAS A FUTURO.....	86
7. BIBLIOGRAFÍA.....	87
8. APÉNDICE I.....	105

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a las siguientes personas e instituciones, que de una u otra manera me ayudaron a llevar a cabo el presente trabajo:

A mi director de tesis, Luis Hernández, por permitirme formar parte de su maravilloso grupo de trabajo, por su constante dedicación y guía durante mi formación en la investigación científica, por brindarme diariamente sus conocimientos y ser ejemplo de persona e investigador.

A mi codirectora, Andrea Flemmer, por el tiempo dedicado durante la realización y revisión de esta Tesis, por sus consejos y ayuda constante.

A Ivonne, Luis, Andrea y Clara, integrantes de la cátedra “Morfología Vegetal”, en quienes encontré excelentes personas y compañeros de trabajo.

A la Secretaría General de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional del Sur por haberme otorgado la beca “Interna de iniciación a la investigación en la UNS”, la cual posibilitó la realización de esta Tesis. Y por la ayuda económica brindada que me permitió realizar una pasantía por tres meses en el Instituto de Agricultura Sostenible (IAS) en Córdoba, España.

Al Departamento de Agronomía por brindarme los medios físicos y académicos propicios para la realización de esta Tesis.

Al Sr. Ignacio Bottini por poner a nuestra disposición el olivar de su propiedad ubicado en la estancia “La Susana” en Coronel Dorrego, y al Sr. Marcelo Pecinia por su amable ayuda durante la ejecución del trabajo experimental.

A la estación experimental de INTA-Coronel Dorrego, por el aporte de los datos meteorológicos.

A mis papás, a Joaquín, a mi gran familia y a mis amigos que me acompañan día a día con mucho cariño.

ABREVIATURAS

AL: área longitudinal radial de la célula

ANDEVA: análisis de la varianza

AT: área transversal ecuatorial

AT_e: área transversal ecuatorial del endocarpo

AT_f: área transversal ecuatorial del fruto

AT_m: área transversal ecuatorial del mesocarpo

CRA_h: contenido relativo de agua foliar

DMS: diferencia mínima significativa

ES: error estándar

ETOH: alcohol etílico

FAA: formol- ácido acético-alcohol

H_{bs}: humedad en base seca

IM: índice de madurez

MG_{bs}: materia grasa en base seca

PF_f: peso fresco de los frutos

P_hF: peso foliar fresco

P_hS: peso foliar seco

P_hT: peso foliar turgente

PS_f: peso seco de los frutos

PS_m: peso seco de muestra de frutos molidos

PS_{mg}: peso seco de materia grasa de la muestra de frutos molidos

SDPF: semanas desde plena floración

SOB: Sudoeste bonaerense

TBA: alcohol ter-butílico

TCA: tasa de crecimiento absoluto

TCA_e: tasa de crecimiento absoluto del endocarpo

TCA_f: tasa de crecimiento absoluto del fruto

TCA_m: tasa de crecimiento absoluto del mesocarpo

- Figura 1.** Mapa de la República Argentina con las principales provincias productoras del olivo resaltadas en color naranja (**A**). Mapa de la provincia de Buenos Aires con los partidos de la región del Sudoeste bonaerense resaltados en color verde (**B**). El área en cuadrículado señala el partido de Coronel Dorrego (**B**), donde se ubica el monte de olivo utilizado para la realización de esta Tesis..... 3
- Figura 2.** Corte longitudinal del fruto (drupa) del olivo, mostrando sus partes constitutivas..... 6
- Figura 3.** Crecimiento y desarrollo del fruto del olivo variedad ‘Manzanillo’. Adaptada de Hartmann, 1948..... 8
- Figura 4.** Frutos del olivo variedad ‘Nevadillo’ (**A**), los cuales presentan una forma similar a un esferoide alargado. Dibujo del fruto (**B**) mostrando las dimensiones del eje polar (flecha verde) y los ejes ecuatoriales (flechas roja y azul). Sección transversal del fruto a nivel ecuatorial, describiendo las partes que lo componen (**C**)..... 19
- Figura 5.** Criterio utilizado para el análisis celular del fruto. Corte transversal del fruto con el endocarpo aún no esclerificado, con tres áreas de $0,02 \text{ mm}^2$ seleccionadas al azar en el mesocarpo y detalle de una de las áreas elegidas para realizar el recuento celular (**A**). Corte transversal del mesocarpo con tres áreas de $0,06 \text{ mm}^2$ seleccionadas al azar y detalle de una de las áreas elegidas para realizar el recuento celular (**B**). En: endocarpo, Ep: epicarpo, L: lóculo y Me: mesocarpo..... 22
- Figura 6.** Árbol del olivo mantenido bajo condiciones de riego. Se aprecian las dos líneas de riego con goteros paralelas entre sí (flechas), ubicadas a cada lado de la línea de plantación 25
- Figura 7.** Frutos del olivo variedad ‘Arbequina’ (**A**), los cuales presentan una forma similar a una esfera. Dibujo del fruto (**B**) mostrando las dimensiones del eje polar (flecha verde) y los ejes ecuatoriales (flechas roja y azul)..... 27
- Figura 8.** Sección longitudinal radial del fruto del olivo mostrando las zonas delimitadas para el análisis de la variabilidad celular en dirección centrípeta desde la periferia hacia el interior, como indican las flechas..... 28
- Figura 9.** Equipo extractor de materia grasa Goldfish mostrando sus partes principales. Vaso: vaso de precipitado conteniendo éter etílico y tubo poroso con la muestra de la pasta de frutos secos de la cual se extrae el contenido de materia grasa. Adaptada de los apuntes académicos de la cátedra Análisis de alimentos del departamento de Alimentos y biotecnología de Universidad Nacional Autónoma de México (http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf, Verificado el 09/09/16)..... 30
- Figura 10.** Temperatura (°C) máxima (—●), mínima (—■) y media (—x) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el primer año de ensayo: noviembre de 2010 a enero de 2011(**A**) y febrero a abril de 2011 (**B**). Las barras superiores indican el principal estadio

fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración..... 33

Figura 11. Área transversal ecuatorial (mm^2) del fruto entero (—●), del mesocarpo (—■) y del endocarpo (- - -◆) de los frutos de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 34

Figura 12. Tasa de crecimiento absoluto ($\text{mm}^2/\text{semana}$) del fruto entero (—●), del mesocarpo (—■) y del endocarpo (- - -◆) en la variedad ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 35

Figura 13. Relación entre el área transversal final del fruto (mm^2) y el área transversal final del mesocarpo (mm^2 , **A**) y del endocarpo (mm^2 , **B**) en ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles..... 36

Figura 14. Sección transversal ecuatorial del fruto de la variedad ‘Nevadillo’ mostrando sus partes constitutivas (**A**, 1: epicarpo, 2 y 3: mesocarpo, 4 y 5: endocarpo) y estructura anatómica, desde plena floración (**B**) a cosecha (**E**). En: endocarpo, Ep: epicarpo, Es: esclerida, Hi: hipodermis, Hv: haz vascular, L: lóculo, Me: mesocarpo, SDPF: semanas desde plena floración, Se: sépalo..... 38

Figura 15. Proceso de esclerificación del endocarpo durante el desarrollo del fruto de ‘Nevadillo’ observado en cortes transversales a las 4 (**A**), 6 (**B**), 8 (**C**), 12 (**D**) y 19 (**E**) semanas desde plena floración durante el primer año de ensayo. Las flechas indican escleridas teñidas con floroglucinol en medio ácido, destacándose sus gruesas paredes secundarias..... 39

Figura 16. Área celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, **A**) y número total de células (**B**) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 40

Figura 17. Tasa absoluta de división celular ($\text{N}^\circ\text{células}/\text{semana}$, —●) y de crecimiento celular ($\mu\text{m}^2/\text{semana}$, - - -○) del mesocarpo del fruto de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 40

Figura 18. Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm^2) y el área transversal celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de nueve arboles 41

Figura 19. Temperatura (°C) máxima (—●), mínima (—■) y media (—x) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el segundo año de ensayo: noviembre de 2011 a enero de 2012 (A) y febrero a mayo de 2012 (B). Las barras superiores indican el principal estadio fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración..... 43

Figura 20. Área transversal ecuatorial (mm²) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo de los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A, C y E) y secano (líneas punteadas, B, D y F) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 46

Figura 21. Tasa de crecimiento absoluto (mm²/semana) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo en la variedad ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A, C y E) y secano (líneas punteadas, B, D y F) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 48

Figura 22. Relación entre el área transversal final del fruto (mm²) y el área transversal final del mesocarpo (mm², A y B) y del endocarpo (mm², C y D) en ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’, bajo condiciones de riego (A y C) y secano (B y D) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento..... 50

Figura 23. Área celular (µm²/célula, A y B) y número total de células (C y D) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A y C) y secano (líneas punteadas, B y D) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 51

Figura 24. Tasa absoluta de crecimiento celular (µm²/semana) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A) y secano (líneas punteadas, B) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 53

Figura 25. Tasa absoluta de división celular (N°células/semana) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A) y secano (líneas punteadas, B) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las

flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 53

Figura 26. Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm^2) y el área transversal celular (μm^2 , **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ y bajo condiciones de riego y secano durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento..... 54

Figura 27. Acumulación de materia grasa (% en base seca) en los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), bajo condiciones de riego (líneas enteras, **A**) y secano (líneas punteadas, **B**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento..... 55

Figura 28. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) máxima ($-\bullet$), mínima ($-\blacksquare$) y media ($-x$) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el tercer año de ensayo: noviembre de 2012 a enero de 2013 (**A**) y febrero a mayo de 2013 (**B**). Las barras superiores indican el principal estadio fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración..... 57

Figura 29. Área transversal ecuatorial (mm^2) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo de los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**, **C** y **E**) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**, **D** y **F**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 60

Figura 30. Tasa de crecimiento absoluto ($\text{mm}^2/\text{semana}$) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo en la variedad ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**, **C** y **E**) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**, **D** y **F**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 61

Figura 31. Relación entre el área transversal final del fruto (mm^2) y el área transversal final del mesocarpo (mm^2 , **A** y **B**) y del endocarpo (mm^2 , **C** y **D**) en ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’, bajo condiciones de riego (**A** y **C**) y secano (**B** y **D**) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento..... 63

Figura 32. Área celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, **A** y **B**) y número total de células (**C** y **D**) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A** y **C**) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B** y **D**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 64

- Figura 33.** Tasa absoluta de crecimiento celular ($\mu\text{m}^2/\text{semana}$) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 65
- Figura 34.** Tasa absoluta de división celular ($\text{N}^\circ\text{células/semana}$) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo..... 66
- Figura 35.** Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm^2) y el área transversal celular (μm^2 , **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ y bajo condiciones de riego y secano durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento..... 67
- Figura 36.** Sección longitudinal radial del fruto maduro de la variedad ‘Arbequina’ desde la epidermis (izquierda) hacia el mesocarpo, en sentido centrípeto, en la zona apical (**A** y **B**), media (**C** y **D**) y basal (**E** y **F**) del fruto bajo condiciones de riego (**A**, **C** y **E**) y secano (**B**, **D** y **F**). Escala: 200 μm 68
- Figura 37.** Sección longitudinal radial del fruto maduro de la variedad ‘Nevadillo’ desde la epidermis (izquierda) hacia el mesocarpo, en sentido centrípeto, en la zona apical (**A** y **B**), media (**C** y **D**) y basal (**E** y **F**) del fruto bajo condiciones de riego (**A**, **C** y **E**) y secano (**B**, **D** y **F**). Escala: 200 μm 69
- Figura 38.** Área celular longitudinal (AL, μm^2) en los distintos estratos de las zonas apical, media y basal del fruto maduro de las variedades ‘Arbequina’ (**A**, **C** y **E**) y ‘Nevadillo’ (**B**, **D** y **F**) en condiciones de riego (símbolos llenos) y secano (símbolos vacíos) durante el tercer año de ensayo. Análisis realizado sobre imágenes similares a las presentadas en las Figuras 36 y 37. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de tres frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) con el valor de AL más alto de los estratos observados..... 70
- Figura 39.** Acumulación de materia grasa (% en base seca) en los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento..... 73
- Figura 40.** A. Modelo de organización celular en la sección longitudinal radial de la zona media del fruto maduro del olivo. Se representa la sucesión de estratos de células desde la epidermis (células recubiertas por la cutícula, representada por sombreado gris

a la izquierda de la figura) hacia el centro del fruto, pasando por cuatro estratos de hipodermis y llegando al estrato celular número 20 del mesocarpo externo. **B.** Área celular longitudinal radial (AL, μm^2) de los primeros 20 estratos del mesocarpo de la zona media del fruto maduro del olivo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) del AL de los frutos de las variedades ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y secano..... 85

LISTA DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1. Principales características morfológicas y agronómicas de la variedad del olivo ‘Nevadillo’ (Matías <i>et al.</i> , 2010).....	17
Cuadro 2. Estadios fenológicos del cultivo del olivo según la escala BBCH descritos por Sanz-Cortés <i>et al.</i> (2002). Se detallan los estadios estudiados en esta Tesis.....	18
Cuadro 3. Principales características morfológicas y agronómicas de la variedad del olivo ‘Arbequina’ (Matías <i>et al.</i> , 2010).....	24
Cuadro 4. Clases para la clasificación de los frutos y determinación del índice de madurez (Beltrán <i>et al.</i> , 2004).....	29

Tabla 1. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ durante su desarrollo en el primer año de ensayo. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	35
Tabla 2. Contenido relativo de agua foliar ($\text{CRA}_h, \%$) durante el desarrollo del fruto bajo condiciones de riego y secano en el segundo año de ensayo. SDPF: semanas desde plena floración.....	44
Tabla 3. Contenido relativo de agua foliar ($\text{CRA}_h, \%$) durante el desarrollo del fruto de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ en el segundo año de ensayo. Para cada régimen hídrico en cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	45
Tabla 4. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el segundo año de ensayo. En cada fecha y nivel hídrico, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	49
Tabla 5. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal por árbol ($\text{kg}/\text{árbol}$) de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ al momento de cosecha en el segundo año de ensayo. Para cada régimen hídrico, valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren significativamente ($p>0,05$).....	55
Tabla 6. Contenido relativo de agua foliar ($\text{CRA}_h, \%$) bajo condiciones de riego y secano, en promedio para ambas variedades, durante el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	58
Tabla 7. Contenido relativo de agua foliar ($\text{CRA}_h, \%$) de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, en promedio para ambos regímenes hídricos, durante el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	58
Tabla 8. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Arbequina’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	62
Tabla 9. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.....	62
Tabla 10. Área longitudinal ($\text{AL}, \mu\text{m}^2$) máximo en promedio para cada zona del fruto en los frutos maduros cosechados en el tercer año de ensayo. Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p>0,05$).....	71

Tabla 11. Área longitudinal (AL, μm^2) máximo de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y seco en los frutos maduros cosechados en el tercer año de ensayo..... 71

Tabla 12. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal (kg/árbol) en promedio para cada régimen hídrico al momento de cosecha en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p>0,05$)..... 72

Tabla 13. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal (kg/árbol) en promedio para ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ al momento de cosecha en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p>0,05$)..... 72

RESUMEN

Considerando la relevancia regional de la actividad olivícola registrada en el Sudoeste bonaerense (SOB) y la incorporación del riego como tecnología alternativa de manejo, en esta Tesis se planteó como objetivo general: comparar el desarrollo del fruto del olivo (*Olea europaea* L.) creciendo en condiciones de riego y secano, analizando los cambios morfológicos y anatómicos de los mismos.

Se trabajó durante tres años consecutivos en un olivar de 50 años de edad, localizado en el partido de Coronel Dorrego (38°50'21" S; 61°06'46" O; 54 m s.n.m.). El primer año de ensayo se caracterizó el desarrollo y crecimiento del fruto en la variedad 'Nevadillo' bajo condiciones pluviométricas normales para la región. Durante el segundo y tercer año se analizaron las diferencias morfológicas y anatómicas de los frutos de las variedades 'Arbequina' y 'Nevadillo' bajo condiciones de secano y de riego.

En la segunda y cuarta semana desde plena floración (SDPF) y a partir de allí cada treinta días, se realizaron observaciones fenológicas y la recolección de muestras de frutos. En los mismos se midió el área transversal (AT) del mesocarpo (AT_m), el número total de células y el AT individual de cada célula. Asimismo se estudió la esclerificación del endocarpo. En el tercer año de ensayo se realizó además la evaluación de la variabilidad de dimensiones y formas celulares a lo largo de la sección longitudinal radial del mesocarpo.

El estado hídrico de los árboles se estimó mediante el contenido relativo de agua foliar (CRA_h , %). A partir de la décima SDPF, se determinó el contenido porcentual de humedad y de materia grasa en base seca (MG_{bs}) de los frutos. A la cosecha, se determinó el índice de madurez de los frutos y el rendimiento frutal (kg de frutos/árbol).

En los tres años de ensayo se observó un patrón similar de crecimiento del fruto de 'Arbequina' y 'Nevadillo', con aumentos lineales del AT_m , acordes con el aumento del AT del fruto (AT_f) durante todo su desarrollo. Esta observación contrastó con el modelo de crecimiento propuesto por varios autores para los frutos drupa, y en particular para el fruto de olivo, quienes sugieren que el mismo se ajustaría a una curva del tipo doble sigmoidea. En los tres años se observó una fuerte correlación entre el AT_m y el AT_f , y una débil correlación entre el AT_f y el AT del endocarpo (AT_e), probablemente debido al intervalo temporal de expansión más corto que presenta el

endocarpo, el cual mostró incrementos del AT_e entre las 2 y 12-16 SDPF, estadio en el cual la totalidad de sus células completaron la lignificación.

Tanto las variables morfológicas estudiadas como la magnitud del CRA_h , mostraron poca diferencia entre las plantas sometidas a riego y aquellas mantenidas en un régimen de secano. Ello sugiere que los árboles utilizados en este estudio habrían adquirido mecanismos de adaptación fisiológica durante sus más de 50 años de implantación, sumado a que las lluvias registradas durante las tres estaciones de desarrollo y crecimiento reproductivo estudiadas fueron suficientes como para que los frutos expresaran su tamaño potencial y producción de MG.

El ordenamiento celular en las secciones transversales del fruto respondió a previas descripciones histológicas realizadas por diversos autores. El proceso de división celular del mesocarpo fue predominante durante el período inicial de crecimiento frutal, produciéndose entre las 4 y 8 SDPF el 70-80% de la totalidad de células. No se pudieron detectar diferencias significativas entre los regímenes riego y secano ni en el total de células mesocárpicas ni en el AT celular. Por otro lado, no se observó una tendencia clara en cuanto a la relación entre el AT_m y el AT celular y número total de células.

Ni la condición hídrica del cultivo ni la variedad modificaron los parámetros de producción frutal y contenido graso del fruto.

La caracterización de diferentes regiones del fruto en el plano longitudinal radial, descritas en sentido centrípeto muestra que el mismo está estructurado de la siguiente forma: Epidermis: compuesta por una capa de células epidérmicas; Hipodermis: primeras cuatro capas de células parenquimáticas subepidérmicas; Mesocarpo externo: desde la 5° capa de células parenquimáticas a la capa 19-26 y Mesocarpo interno: siguientes capas de células parenquimáticas hasta la banda de haces vasculares.

SUMMARY

Considering the regional importance of the olive (*Olea europaea* L.) cultivation in the southwest of Buenos Aires province (SWB), and the use of irrigation as an alternative technology management, the general aim of the present work was to compare the development of the olive fruit in plants growing under irrigation and rainfed analyzing the morphological and anatomical changes thereof.

Experiment were done during three consecutive years in a 50 years old olive grove. It was located at the Coronel Dorrego district (Buenos Aires province; 38°50'21" S; 61°06'46" O; 54 m a.s.l.). In the first year, the development and growth of the fruit of the variety 'Nevadillo' growing under normal rainfall conditions was studied. During the second and third years morphological and anatomical differences of the fruits of the varieties 'Arbequina' and 'Nevadillo' were analyzed in plants growing under irrigated and rainfed conditions.

Phenological observations were made and fruits were collected in the second and fourth week after full bloom (AFB) and from there every thirty days. Mesocarp transverse area (TA_m), total number of cells in mesocarp equatorial transverse section and TA per cell were measured. The endocarp sclerification was also studied. In the third year changes of cell dimensions and shapes along the mesocarp radial longitudinal section were analyzed.

Plant water status was assessed on the plant leaves by using the relative water content (RWC_{leaf}) as estimative parameter. From the tenth week AFB the percentage moisture content and oil content (OC_{db}) on a dry basis of the fruits were determined. A harvest, fruit maturity index and fruit yield per tree were determined.

In the three years a similar pattern of fruit growth in 'Arbequina' and 'Nevadillo' was observed showing linear increases in TA_m , that coupled with the whole fruit TA (TA_f) increase throughout its whole developmental period. This observation disagrees with the growth model for a drupe proposed by several authors, and in particular for the olive fruit, who suggest that it would be adjusted to a double sigmoid curve type. In the three years a strong correlation between TA_m and TA_f and a weak correlation between endocarp TA (TA_e) and TA_f were appreciated, probably due to the shorter period of expansion presented by the endocarp, which showed increases in the TA_e between 2 and 12-16 week AFB, where all their cells completed lignification.

Both morphological variables studied as the magnitude of RWC_{leaf} , showed little difference between plants under irrigation and those kept in a dry regime. This suggests that the trees used in this study would have acquired mechanisms of physiological adaptation during its 50 years of growth, or that the rains occurred during their developmental and reproductive growth in the three seasons were enough to make the fruits to express their potential size and oil content.

The tissue organization observed in a cross-sectional area the fruit agrees with previous histological descriptions. Cell division in the mesocarp was the main activity observed during the initial period of fruit growth, yielding 70-80% of all cells between 4 and 8 week AFB the. No differences between the irrigated and rainfed condition neither mesocarp cell number nor mesocarp cell TA were observed. Also no clear response was observed in the relationship between the TA_m and total mesocarp cell number and cell TA.

Neither the water condition of the crop and nor the crop variety modified fruit production parameters and fruit FC_{db} .

In this thesis a model of cell organization in the longitudinal radial plane of the fruit olive was defined: an Epidermis: comprised of a layer epidermal cell; a Hypodermis: first four layers subepidermal parenchyma cells; an Outer mesocarp: from the layer 5 to layer 19-26 and an Internal mesocarp: following layers of parenchyma cells to the vascular bundles band.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridos por los jurados.

Dr. Luis F. Hernández



1. INTRODUCCIÓN

1.1 Breve historia del cultivo del olivo

El cultivo del olivo (*Olea europaea* L.) tiene una larga historia unida a la de la humanidad ya que, como en el caso de otros cultivos tales como el trigo (*Triticum* spp. L.) y la vid (*Vitis* spp. L.), todos han sido básicos en la alimentación de los pueblos bañados por el mar Mediterráneo (Iglesias Rodríguez, 1995; Peña-Chocarro y Zapata Peña, 1997; Alonso Martínez *et al.*, 2003; Ruiz-Alonso *et al.*, 2009; Rubio de Miguel, 2011).

El origen del olivo se sitúa en Asia Menor, en una zona comprendida entre el sur de la región del Cáucaso hasta la altiplanicie de Irán y la costa mediterránea de Siria y Palestina. El cultivo del olivo alcanzó un notable desarrollo en estas dos últimas regiones, para expandirse por la isla de Chipre hacia la península de Anatolia, y por la isla de Creta hacia Egipto (Bartolini *et al.*, 2002; Özkaya *et al.*, 2004). Desde el siglo VI a.C. se propagó por toda la cuenca del Mediterráneo extendiéndose de sur a norte. Recién en el año 1492, con el descubrimiento de América, el cultivo se propagó por fuera de la cuenca mediterránea (Romero, 2003), y en la actualidad también se cultiva en Sudáfrica, China, Japón y Australia.

Los países productores de esta especie se concentran entre las latitudes 30° y 45°, tanto en el hemisferio norte como en el sur, en regiones climáticas del tipo mediterráneo, caracterizadas por un verano seco y caluroso (Civantos, 2004). El primer productor mundial es España, que concentra el 30% de la producción, y el segundo es Italia con el 20%.

1.2 El cultivo del olivo en Argentina

La olivicultura en Argentina tiene su origen en la colonización española, siendo los valles áridos y semi-áridos de la región andina en donde se realizaron las primeras plantaciones. Sin embargo, su desarrollo no tuvo lugar hasta fines del siglo XIX, como consecuencia de la fuerte inmigración desde países europeos, principalmente España e Italia que, al no encontrar suficiente abastecimiento de aceite de oliva en el mercado argentino, comenzaron a producirlo (Searles *et al.*, 2012). En el año 1932, con la promulgación de la Ley Nacional de Fomento a la Olivicultura, y en el año 1954 con la



creación de la Conferencia Nacional de Olivicultura, el Gobierno Nacional fomentó fuertemente su producción en todo el país, permitiendo la implantación de más de 80.000 ha (Elisei *et al.*, 2007). Más adelante, en la década del '70, se produjo una campaña internacional de promoción al consumo de aceites de origen granario (girasol y maíz) y de desprestigio del aceite de oliva. Ello generó una pérdida de participación en el mercado por parte del aceite de oliva y una rentabilidad negativa en la producción del olivo, acarreando con ello el abandono de las plantaciones por parte de los productores (Gómez del Campo *et al.*, 2010). Esta situación cambió radicalmente a principios de los años '90, donde una serie de acontecimientos proporcionaron un nuevo impulso a la actividad económica y el nacimiento de la moderna olivicultura en Argentina (Gómez del Campo *et al.*, 2010).

La superficie plantada con árboles del olivo en nuestro país, registrada en los últimos años, es de aproximadamente 110.000 ha, localizadas más del 90% de ellas en las provincias que bordean la Cordillera de los Andes, en el centro-oeste y noroeste del país: Catamarca, La Rioja, San Juan y Mendoza (Searles *et al.*, 2012, Fig. 1A). De la producción obtenida a nivel nacional, se destina el 65% a la extracción de aceite y el 35% a la elaboración de aceitunas en conserva, siendo la variedad 'Arbequina' la utilizada principalmente por los productores de aceite de oliva, dado su alto rendimiento graso (Tous *et al.*, 1998; Guerrero, 2003). En general se mantiene la tendencia al aumento de las variedades destinadas a la producción de aceite de oliva, aunque la gran mayoría de los productores y empresas no integradas a la industria prefieren variedades doble propósito (Bueno, 2010).

Según el Plan Estratégico Agroalimentario y Agroindustrial (PEA) del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación se preveía que el cultivo del olivo sería el que presentara mayor crecimiento en nuestro país hacia el año 2016 (INTA, 2012). Se estimaba que en los próximos años Argentina se posicionaría en el décimo lugar a nivel mundial según la superficie dedicada a la olivicultura, y entre los primeros diez productores mundiales de aceite de oliva, con una producción anual superior a las 100.000 toneladas (INTA, 2012), ocupando el primer lugar en el continente americano. Pese a los pronósticos optimistas, aún no se ha podido registrar esos valores, debido a coyunturas políticas y económicas nacionales e internacionales. Según los datos registrados y estimados este año por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2016) y el Ministerio de Agroindustria de la Nación (2016) la producción argentina de aceite de oliva será de 20.000-25.000 toneladas.



1.3 Olivicultura en el Sudoeste bonaerense

En la región del Sudoeste bonaerense (SOB, Fig. 1B), zona semiárida, árida y subhúmeda-seca del país y tradicionalmente dedicada a la actividad agrícola-ganadera, la olivicultura comenzó a desarrollarse entre los años 1945 y 1950 (Picardi y Obiol, 2011). El centro de desarrollo se situó en el partido de Coronel Dorrego ($38^{\circ}42'00''$ S, $61^{\circ}16'00''$ O, Fig. 1B), donde casi la totalidad de los árboles del olivo fueron plantados por orden de Juan Duarte (hermano de Eva Duarte de Perón y secretario privado del ex presidente argentino Juan Domingo Perón) como parte de un ambicioso proyecto que nunca se terminó de concretar debido al abandono de las plantaciones (Picardi y Obiol, 2011). En la actualidad, después de más de 60 años, acompañando a la intensificación de la olivicultura dada en el país durante las dos últimas décadas, ha resurgido como una actividad en crecimiento, eligiendo los productores reactivar los montes del olivo existentes, así como aumentando considerablemente la superficie implantada con nuevos olivares.

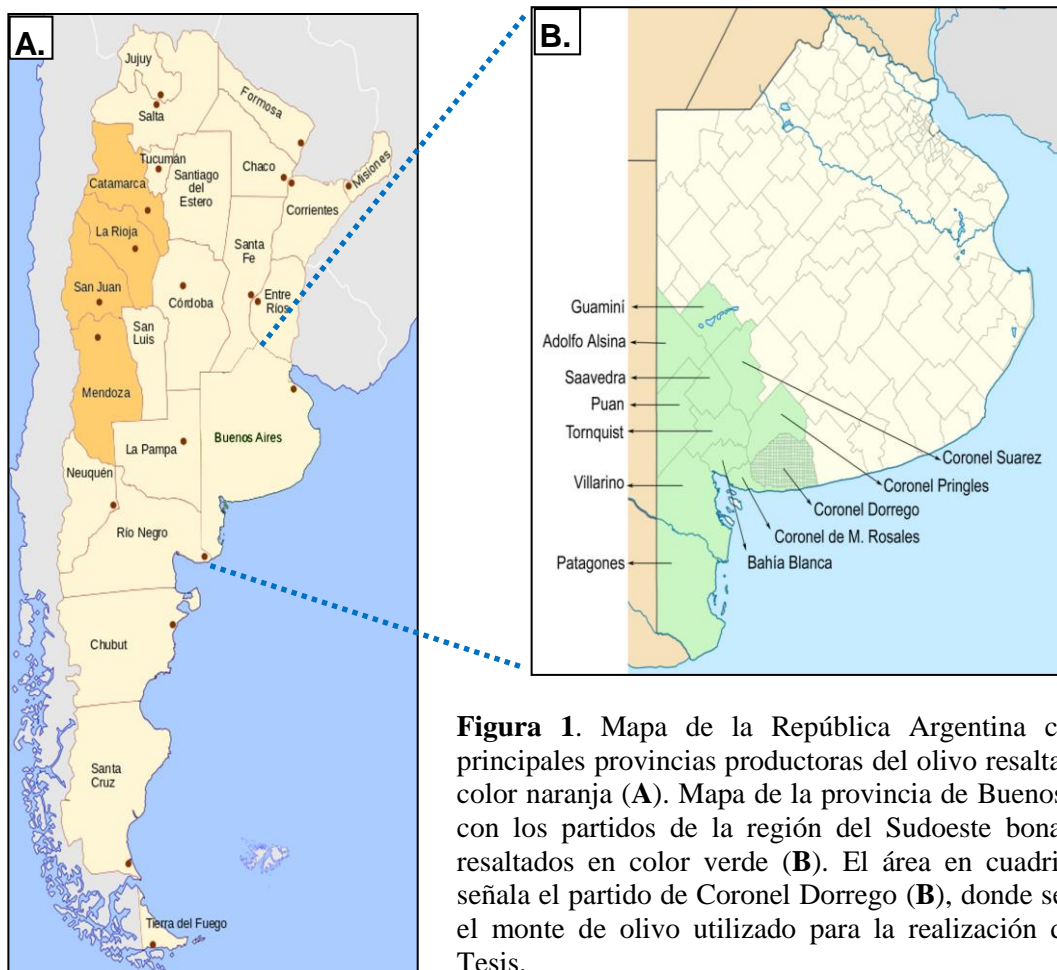


Figura 1. Mapa de la República Argentina con las principales provincias productoras del olivo resaltadas en color naranja (A). Mapa de la provincia de Buenos Aires con los partidos de la región del Sudoeste bonaerense resaltados en color verde (B). El área en cuadrículado señala el partido de Coronel Dorrego (B), donde se ubica el monte de olivo utilizado para la realización de esta Tesis.



El partido de Coronel Dorrego (Fig. 1B), presenta las condiciones edáficas y climáticas aptas para el normal desarrollo de esta especie. Con cerca de 2.500 ha de montes de olivo (Elisei y Aguirre, 2011), este partido concentra el 94,5% de la producción bonaerense. La elaboración de aceite es el principal destino de la producción de sus montes, obteniéndose productos que se encuentran entre los de mayor calidad del país (Obiol *et al.*, 2006). Asimismo, todo el proceso productivo se realiza en la zona, lo que permite a las empresas vinculadas a la olivicultura trabajar de un modo más eficiente, alcanzando esta actividad un gran impulso en los últimos años (Picardi y Obiol, 2011).

1.4 Características de la especie

El olivo es la única especie de las 600 pertenecientes a la familia botánica *Oleaceae* que posee un fruto que puede ser consumido directamente, como aceituna de mesa, o procesado, como aceite de oliva. Dentro de esta familia existen otras especies con interés agrícola u ornamental pertenecientes al género *Fraxinus*, *Jasminum*, *Ligustrum*, *Syringa* y *Phillyrea* (Fornaciari da Paisano *et al.*, 2009). El género *Olea* incluye a los olivos cultivados y a los “acebuches” u olivos silvestres (*Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris*).

El olivo cultivado es un árbol perenne, de tamaño mediano, de entre 4 y 8 m de altura. Puede permanecer vivo y productivo durante cientos de años. Las hojas son de color verde oscuro brillante con una gruesa cutícula protectora en el haz, y en el envés presenta un color grisáceo, debido a la presencia de tricomas peltados que le confieren la vellosidad característica (López, 1996). Los estomas se ubican en el envés de la hoja, en ligeras depresiones, donde se crea un microclima más húmedo (Quezada *et al.*, 2005). Caracteres del árbol como la densidad de la copa, el porte, el color de la madera y la longitud de los entrenudos varían según la variedad y prácticas agrícolas realizadas (Rapoport, 2008).

Durante el crecimiento de la planta se reconoce una fase juvenil y una adulta; estas fases se diferencian, entre otras características, por el potencial para el enraizamiento (mayor en la fase juvenil), la capacidad reproductora (solamente en la fase adulta) y características morfológicas. Tanto el crecimiento de brotes como el desarrollo de frutos en el olivo son fenómenos cíclicos. Ambos se repiten con carácter anual, pero mientras el crecimiento de brotes se completa dentro del mismo año, los



procesos que conducen a la fructificación requieren dos estaciones consecutivas. La fructificación se produce sobre las ramas del año anterior y las hojas permanecen en el árbol entre dos y tres años. El ciclo de fructificación comienza cuando las yemas axilares reciben el primer estímulo de inducción floral y termina con la maduración de los frutos (Fabbri *et al.*, 2004).

El olivo es una especie de clima templado cálido, con inviernos suaves y veranos largos, cálidos y secos (Elisei y Aguirre, 2011). Es una planta que puede resistir temperaturas de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ en reposo vegetativo profundo, pero sufre daños graves a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperaturas bajas, apenas superiores a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, pueden afectar su floración y provocar una formación incompleta de la flor. El umbral de temperatura de floración se ha establecido en $12,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. En cuanto a la tolerancia a altas temperaturas, el olivo es capaz de soportar hasta $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sin sufrir daños en sus órganos (Elisei y Aguirre, 2011).

El olivo es una especie andromonoica, con dos tipos de flores: las completas o hermafroditas y las estaminíferas o unisexuales masculinas (Ghrisi *et al.*, 1999; Cuevas y Polito, 2004). Las primeras están compuestas por los cuatro verticilos: cuatro sépalos verdes, cuatro pétalos blanquecinos, dos estambres y un gineceo de ovario súpero bicarpelar bilocular (Fabbri *et al.*, 2004). El ovario de estas flores hermafroditas presenta en cada lóculo dos óvulos (King, 1938; Rapoport, 2008). Por el contrario, las flores estaminíferas poseen un ovario rudimentario o ausente, que parece formarse debido a un fallo en el desarrollo del mismo, de manera que no darán lugar a la formación de un fruto (Rapoport, 2008).

Las flores del olivo se encuentran agrupadas en inflorescencias desarrolladas en axilas foliares, presentando un eje central del cual salen ramificaciones, las que a su vez también pueden ser ramificadas. Cada inflorescencia puede contener entre 10 y 40 flores, dependiendo del cultivar, condiciones ambientales y fisiológicas (Rapoport, 2008). Sin embargo, del total de flores formadas en el árbol, sólo llega a cuajar un 2% de ellas (Martin, 1990; Ahmed *et al.*, 2004; Rapoport, 2008; Reale *et al.*, 2009).

1.5 Características del fruto

El fruto del olivo se denomina botánicamente drupa (King, 1938). El mismo está compuesto por un fino epicarpo o exocarpo, un mesocarpo carnoso y un endocarpo leñoso que rodea a la única semilla (Fig. 2; King, 1938; Izquierdo Tamayo y Durán Grande, 1970; Roth, 1977; Lavee, 1986). Al conjunto del epicarpo, mesocarpo y



endocarpo se lo denomina pericarpo (Rapoport, 2008), y tiene su origen en la pared del ovario, por procesos de división, expansión y diferenciación celular, a partir de la fecundación del óvulo de la flor.

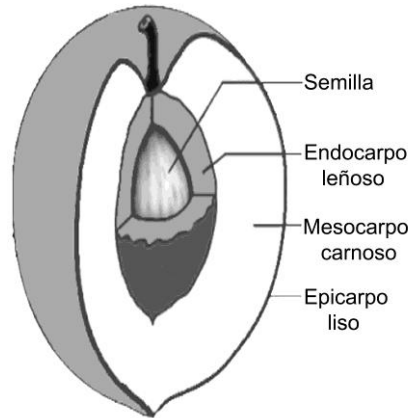


Figura 2. Corte longitudinal del fruto (drupa) del olivo, mostrando sus partes constitutivas.

El epicarpo está formado por células epidérmicas cubiertas por una cutícula gruesa impregnada de cutina que forma una capa impermeable y protectora sobre la superficie del fruto (King, 1938; Esau, 1993; Rapoport, 2008). Algunos estomas se forman en él, para luego convertirse en lenticelas, regiones que posiblemente actúan en el intercambio de gases (Rapoport, 2008).

Las células que componen al mesocarpo son parenquimáticas, isodiamétricas, poco diferenciadas pero con gran capacidad de crecimiento, y forman una malla uniforme y bastante compacta (Rapoport, 2008). Del exterior al interior del mesocarpo existe un incremento progresivo en el tamaño celular (Rapoport, 2008). El almacenamiento de aceite ocurre aquí, más precisamente en los oleoplastos de sus células (King, 1938). También se forman algunas esclereidas aisladas dentro del mesocarpo, en zonas centrales y cercanas al endocarpo, pero en número reducido y con poco grado de esclerificación (King, 1938; Izquierdo Tamayo y Durán Grande, 1970; Rallo-Morillo, 1994).

En el interior del mesocarpo, y separándose de él por una zona de haces vasculares, se encuentra el endocarpo (Fig. 2). Este último empieza a crecer a partir de la fecundación y aumenta su tamaño durante los dos meses siguientes. En su estado maduro, el endocarpo está compuesto enteramente por células esclerificadas, las cuales deben su dureza a la presencia de una gruesa pared secundaria con alto contenido de lignina (Rapoport, 2008).



De los cuatro óvulos que presenta el ovario de la flor del olivo solamente uno, probablemente el primero en ser fertilizado, se desarrolla contemporáneamente con las otras partes del fruto, llegando a formar una única semilla (Rapoport, 2008).

1.6 Desarrollo del fruto

El patrón de desarrollo del fruto del olivo fue descrito por Hartmann (1948) para la variedad ‘Manzanillo’ (Fig. 3). Se observa que el mismo sigue la dinámica característica de todos los frutos drupa (Ali *et al.*, 2011), ajustándose a una curva doble sigmoidea (Fig. 3). En ella se distinguen tres fases de crecimiento. La fase I se inicia a partir de la antesis y está caracterizada por un crecimiento exponencial del fruto. En la misma el endocarpo logra un mayor desarrollo, llegando a ocupar el 80% del volumen del fruto (Rapoport, 2008). En la fase II ocurre un detenimiento en el crecimiento del fruto, coincidiendo con el endurecimiento del endocarpo y el desarrollo del embrión de la semilla (Fig. 3). El crecimiento exponencial se reinicia en la fase III (Fig. 3), donde también comienza la biosíntesis y acumulación del aceite en las células mesocárpicas. Esta última etapa finaliza con el “envero” o cambio de color del epicarpo, de verde a morado, debido a la reducción del contenido de clorofila del mismo y a las altas concentraciones de antocianinas (Lavee, 1986). En este momento se asume que el fruto se encuentra totalmente maduro.

La tasa de crecimiento absoluto (TCA) ofrece una visión acertada de la capacidad o demanda potencial de un determinado órgano vegetal para acumular asimilados (Hunt, 1990; 2003). En el caso particular de las especies que presentan frutos con importancia comercial, es trascendente conocer los estadios del desarrollo con los valores más altos de la TCA, para hacerlos coincidir con las labores agrícolas orientadas a incrementar la acumulación de materia seca, como son la fertilización foliar o el suministro de agua por riego, dado que en esos períodos los frutos presentan una mayor sensibilidad de respuesta (Marcelis y Heuvelink, 2007; Casierra-Posada y Cardozo, 2009).

1.7 Histogénesis del mesocarpo

El mesocarpo de los frutos carnosos es por lo general la región de mayor interés y utilidad, por ser la porción comestible y el sitio donde se acumulan las sustancias



aprovechables por el hombre. En el caso del olivo, del mesocarpo se extrae el aceite acumulado en él, y en las variedades de aceitunas de mesa es la porción comestible. El número y tamaño de las células que lo constituyen, así como los procesos que intervienen en su formación, han sido objeto de muchas investigaciones (Costagli *et al.*, 2003; Rapoport *et al.*, 2004a; Gucci *et al.*, 2009; Hammami *et al.*, 2011).

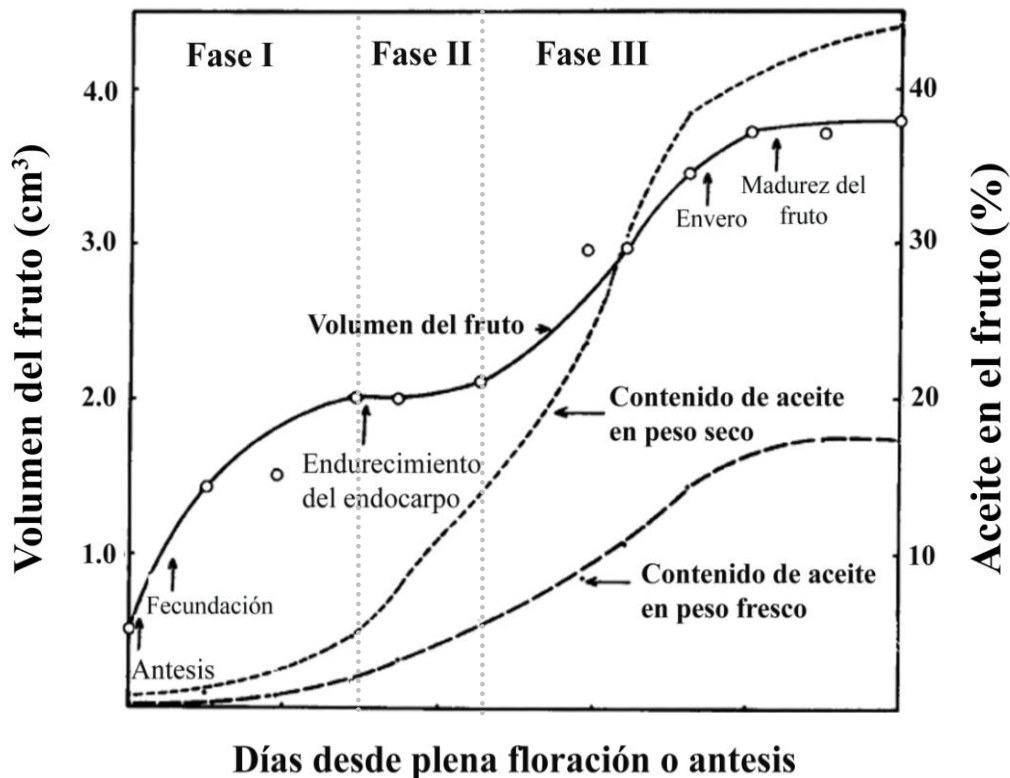


Figura 3. Crecimiento y desarrollo del fruto del olivo variedad 'Manzanillo'. Adaptada de Hartmann, 1948.

Una alternancia entre los procesos morfológicos de división (variación del número de células) y expansión celular (aumento del tamaño celular) contribuyen a la formación del mesocarpo del olivo (Coombe, 1976; Green, 1976; Esau, 1993).

En drupas como el olivo, el damasco (*Prunus armeniaca* L.), la ciruela (*Prunus domestica* L.), la cereza (*Prunus avium* L.) y el durazno (*Prunus persica* L. Batsch), se ha reportado que el tamaño final del fruto es función de la división y expansión celular en estadios tempranos de su desarrollo (Fase I, Fig. 3) y de la expansión celular en estadios finales del crecimiento (Fase III, Fig. 3) (Tukey y Young, 1939; Bradley, 1959; Coombe, 1976; Rallo-Morillo, 1994). Investigaciones realizadas en frutos del olivo,



donde se evaluó la evolución temporal del número de células, indican que aproximadamente el 75% del total de células que presentará el mesocarpo maduro se producen en las primeras ocho semanas desde plena floración (SDPF), demostrando la activa división celular durante ese primer período de desarrollo del fruto (Costagli *et al.*, 2003; Rapoport *et al.*, 2004a; Hammami *et al.*, 2011).

1.8 Esclerificación del endocarpo

La esclerificación es la deposición de lignina y otras sustancias similares sobre la pared celular secundaria, hasta el punto que el interior de la célula desaparece (Gómez del Campo y Rapoport, 2008). En el fruto del olivo, este proceso ocurre en las células del endocarpo y es el responsable del endurecimiento del mismo. Se produce de manera gradual durante el crecimiento del fruto, comenzando a los pocos días de la antesis y se completa entre las ocho y diez SDPF (Lavee, 1986; Manrique y Rapoport, 1999; Rallo-Morillo y Rapoport, 2001).

La última fase del endurecimiento del endocarpo del olivo coincide con el máximo crecimiento del embrión, cuando la semilla alcanza su tamaño definitivo. Este período es crítico, porque por un lado contribuye en la finalización de la abscisión de los frutos de la actual cosecha, y por otra parte, el desarrollo del embrión y la esclerificación parecen contemporáneos con el comienzo de la inducción floral de la cosecha posterior. Así entonces, la presencia de frutos semillados, más allá de este período, tiene un claro efecto inhibitor sobre la floración del año siguiente (Lavee y Avidan, 1994; Rallo *et al.*, 1994). Este efecto representa la causa fundamental de la “vecería” o “añerismo” del olivo (Rallo, 1994), entendiéndose por ellos la alternancia de años con alta carga floral y frutal (denominados años “on” o de carga) con años de baja carga (denominados años “off” o de descarga).

El proceso de endurecimiento del endocarpo está condicionado por factores genéticos y condiciones del cultivo. Rallo-Morillo (1994) encontró variabilidad entre variedades del olivo, en el número de días desde floración hasta el endurecimiento del endocarpo. Estudios realizados en árboles de la variedad italiana ‘Frantoio’ (Costagli *et al.*, 2003) y la española ‘Picual’ (Gómez del Campo y Rapoport, 2008), indican diferencias en el crecimiento y endurecimiento del endocarpo debido al régimen de riego.



1.9 Rendimiento graso del fruto

El aceite del olivo está constituido por un 60-85% de ácido oleico, un ácido graso monoinsaturado, y si el mismo es obtenido exclusivamente por procedimientos físicos (aceite de oliva extra virgen), presenta componentes menores tales como alfa-tocoferoles (vitamina E), polifenoles y otros compuestos fenólicos que no están presentes en otros aceites (Gimeno *et al.*, 2002; Mailer y Beckingham, 2006). Esta composición le confiere a este aceite grandes beneficios para la salud humana, como la disminución del nivel de colesterol en sangre (Martínez de Victoria y Mañas, 2001; Covas *et al.*, 2006; Waterman y Lockwood, 2007), y beneficios culinarios, como la mayor estabilidad oxidativa y resistencia al deterioro de su calidad (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996).

El rendimiento graso del olivo resulta de la combinación de diferentes componentes, incluyendo el número de frutos producidos, el tamaño y peso del fruto y el contenido porcentual de aceite en el mismo. Asimismo, influyen en menor magnitud, la relación mesocarpo-endocarpo (considerando que en el mesocarpo se encuentra más del 95% del aceite total del fruto, Beltrán *et al.*, 2004) y el contenido de humedad del fruto (Puertas, 2009).

La composición del aceite del olivo está controlada genéticamente (Bruni *et al.*, 1994; Caponio *et al.*, 1999; Salvador *et al.*, 2003; Torres y Maestri, 2006), aunque puede variar de año a año, debido al vigor del árbol, la carga frutal, el grado de madurez del fruto y el contenido de humedad del mismo.

El proceso de acumulación de aceite se inicia durante la fase de detención del crecimiento de la drupa (Fase II, Fig. 3) y concluye al inicio de la maduración (Rallo y Cuevas, 2004). Está influenciado por condiciones ambientales y de manejo del olivar, como son la densidad de plantación (León *et al.*, 2007), la aplicación de riego (Orgaz *et al.*, 2006; Iniesta *et al.*, 2009) y la variedad elegida (De la Rosa *et al.*, 2007; Tous *et al.*, 2008).

1.10 Factores que influyen en el desarrollo y el crecimiento del fruto

El desarrollo del fruto del olivo es el resultado de complejas interacciones genéticas, metabólicas, hormonales y ambientales, que determinan el tamaño, la forma y la composición del mismo (Gucci *et al.*, 2009). Está influenciado y regulado por



factores endógenos, como diferencias genéticas y la carga frutal (Corelli-Grappadelli y Lakso, 2004; Hammami *et al.*, 2011), y por factores exógenos, como la disponibilidad de agua y la temperatura ambiente.

El tamaño final de los frutos, un factor económico de gran importancia en muchos cultivos hortícolas y frutales, es resultado de la suma del crecimiento de las partes que lo componen (Coombe, 1976). En las drupas, el mesocarpo y endocarpo son las dos partes del fruto más grandes, pero las proporciones que ocupan dependen de la especie y del cultivar o variedad. En la mayoría de las drupas comerciales, como el durazno, el damasco y la cereza, el mesocarpo comprende la mayor proporción del peso fresco y del volumen del fruto maduro (Bollard, 1970).

El conocimiento de los factores que afectan al crecimiento del fruto del olivo puede resultar de gran utilidad en la selección de variedades al momento de iniciar la plantación de un olivar comercial y en el manejo del mismo.

1.10.1 Variedad

Los procesos celulares que acontecen a nivel del mesocarpo han sido considerados como responsables de las diferencias en el tamaño de los frutos entre las variedades de muchas especies. En el tomate (*Solanum lycopersicum* L.; Frary *et al.*, 2000), el durazno (Scorza *et al.*, 1991) y la frutilla (*Fragaria vesca* L.; Cheng y Breen, 1992) la cantidad de células del mesocarpo, la cual explica diferencias entre genotipos en el tamaño del fruto, queda establecida anticipadamente en el ovario durante la antesis. Mientras que en otras especies como el damasco japonés (*Prunus mume* Sieb. & Zucc.; Yamaguchi *et al.*, 2004), la pera japonesa (*Pyrus pyrifolia* Burm.f. Nakai; Zhang *et al.*, 2005; 2006), el melón (*Cucumis melo* L.; Higashi *et al.*, 1999) y el arándano (*Vaccinium sp.* L.; Johnson *et al.*, 2011) el número de células se establece durante la activa división celular luego de la antesis. En el olivo, el tamaño potencial del fruto se encuentra bajo control genético y puede diferir en gran medida entre variedades (Padula *et al.*, 2008; Barranco, 2004). Estas diferencias varietales han sido atribuidas tanto a las diferencias en el tamaño del mesocarpo (Rapoport *et al.*, 2004b) como del endocarpo, y a la cantidad de células mesocárpicas que presenta el fruto cerca de las 4 SDPF (Rapoport *et al.*, 2004b; Hammami *et al.*, 2011).



1.10.2 *Carga frutal*

En la evolución normal del crecimiento del fruto, la carga actual del árbol, es decir el número de frutos que presenta, es posiblemente el principal factor determinante de su tamaño. En el olivo existe una relación negativa entre el número de frutos por árbol y el peso de los mismos (Lavee y Wodner, 1991; Barone *et al.*, 1994; Rallo y Cuevas, 2004; Gucci *et al.*, 2007). El efecto es principalmente sobre el peso del mesocarpo, ya que el peso del endocarpo no se ve afectado por la carga (Lavee y Wodner, 2004; Rapoport *et al.*, 2004a). A su vez, altas cargas frutales reducen la tasa de crecimiento del fruto y la síntesis de antocianinas (Lavee, 1986), el contenido de sólidos solubles y almidón en las hojas y retrasa la maduración del fruto (Gucci *et al.*, 2007).

La carga frutal del olivo no afectaría directamente el rendimiento graso, ya que la capacidad de las células del mesocarpo para sintetizar y acumular aceite no está limitada a la cantidad de frutos desarrollados en el árbol (Lavee y Wodner, 2004). No obstante, los árboles que presentan baja carga frutal originarán frutos de mayor tamaño y con mayor concentración de aceite (Trentacoste *et al.*, 2010).

1.10.3 *Disponibilidad de agua edáfica*

El olivo ha sido tradicionalmente cultivado en condiciones de secano, considerándose una de las especies perennes cultivadas mejor adaptadas a los ambientes semiáridos y áridos (Giménez *et al.*, 1997; Ben Ahmed *et al.*, 2007). En el mundo, la mayor parte de la superficie destinada al cultivo se encuentra bajo condiciones de secano y menos del 10% de la misma bajo riego, aunque la tendencia actual marca un aumento en la aplicación de riego a este cultivo (Puertas, 2009).

Al ser una especie de lento crecimiento, posee mecanismos de adaptación a períodos cortos de escasez de agua donde predominan los ajustes fisiológicos por sobre los morfológicos (Lakso, 1985, citado por Giorio *et al.*, 1999). En las regiones mediterráneas se ha demostrado que algunas variedades presentan baja actividad fotosintética y baja transpiración en estaciones secas (Nogués y Baker, 2000). Se ha informado que el control estomático es el factor fisiológico más importante para optimizar el uso de agua en condiciones de sequía (Giorio *et al.*, 1999; Moriana *et al.*, 2002). En este sentido, Fernández *et al.* (1997) encontraron una disminución de las pérdidas de agua por transpiración en la hoja del olivo debido al cierre estomático



durante las primeras horas de la mañana en días de alta demanda evaporativa. Otro importante mecanismo para soportar períodos de escasez de agua por parte de la planta es la disminución de los potenciales hídricos de los tejidos, permitiéndole extraer agua de suelos con potenciales aún inferiores al punto de marchitez permanente (Dichio *et al.*, 1994).

A pesar de que el olivo tiene una gran tolerancia a períodos de sequía, la disminución en la fotosíntesis generada por el déficit hídrico produce un limitado crecimiento y producción frutal (Rallo y Cuevas, 2004). Diversos estudios demuestran que el olivo responde favorablemente a aportes de agua complementarios a la lluvia, reflejándose el efecto positivo en el crecimiento del árbol y de sus frutos, en especial en zonas y años de baja pluviometría (Lavee y Wodner, 1991; Proietti y Antognozzi, 1996; Pastor *et al.*, 1999; Patumi *et al.*, 1999; Alegre *et al.*, 2000).

En todas las fases de crecimiento del fruto del olivo hay sensibilidad al déficit hídrico. La fase I, de fecundación y división celular, ha sido descrita por varios autores como extremadamente sensible a la escasez de agua, al afectarse el crecimiento vegetativo, reducirse el número de flores, producirse una menor fecundación y frutos más pequeños (Fig. 3). Alegre *et al.* (2000) encontraron que restricciones hídricas durante la fase II (Fig. 3) producen una reducción en la velocidad de crecimiento del fruto del olivo, manifestándose en una menor producción. Durante la fase III (Fig. 3), donde se produce la maduración del fruto y la acumulación de aceite en el mismo, el déficit hídrico afectaría a la acumulación de materia grasa (Lavee y Wodner, 1991) y produciría un adelanto de la madurez (Uceda *et al.*, 2004). A pesar de ello, en montes comerciales donde utilizan riego, se recomienda que durante las semanas previas a la cosecha se disminuya o suspenda el mismo a fin de reducir la humedad del fruto (Puertas, 2009). Se ha comprobado que el rendimiento industrial de aceite se encuentra afectado por el contenido de agua del fruto, debido a que propicia la formación de emulsiones durante el proceso de extracción, dificultando la separación del aceite por centrifugación (Beltrán *et al.*, 2004; Pastor Muñoz-Cobo *et al.*, 2005).

Estudios que comparan el crecimiento de frutos en condiciones de riego y secano han demostrado que si bien la forma de los mismos no se ve afectada por el aporte extra de agua, el incremento de volumen, peso, la relación mesocarpo-endocarpo y la producción de frutos es notable (Proietti y Antognozzi, 1996; Pastor *et al.*, 1999; Patumi *et al.*, 1999).



A nivel celular se ha encontrado que el tamaño de las células del mesocarpo es más sensible al déficit hídrico que el número de células (Costagli *et al.*, 2003; Gucci *et al.*, 2009), pudiendo explicar sus variaciones las diferencias de tamaño entre los frutos crecidos bajo riego y en secano.

1.11 Fundamentos de esta investigación

En la actualidad, la olivicultura en Argentina se presenta como una actividad agrícola de suma importancia, anhelando el país recuperar el estatus que tradicionalmente había tenido como primer productor de aceitunas de conserva y aceite de oliva de Sudamérica. Junto a este proceso se han incorporado nuevas áreas de producción y nuevas tecnologías de manejo.

La actividad olivícola en el partido de Coronel Dorrego durante los últimos años ha presentado un importante incremento, sumado a que los productores realizan importantes inversiones en la implementación de riego, y que existen estudios preliminares realizados en la región que confirman que las condiciones edáficas y climáticas permiten la obtención de un aceite de oliva con alto contenido de ácido oleico, constituyendo la calidad del mismo una ventaja competitiva que distingue al aceite regional frente al de otras zonas productivas tradicionales del país (Obiol *et al.*, 2006; Picardi y Obiol, 2011).

Debido a que existe poca información sobre el desarrollo y crecimiento del fruto en la región del SOB, la presente Tesis pretende aportar una descripción detallada del proceso de formación del fruto, a nivel morfológico y anatómico, y la incidencia de las condiciones de cultivo sobre la producción de frutos y el desarrollo de las principales partes constitutivas y el contenido graso de los mismos.

1.12 Hipótesis

Para la realización de esta Tesis se establece como hipótesis que la suplementación hídrica mediante el riego controlado del árbol del olivo incide positivamente sobre el rendimiento del cultivo al modificar la dinámica histológica durante el desarrollo del fruto.



1.13 Objetivos

Se plantea como objetivo general:

Comparar el desarrollo de los frutos del olivo de distintas variedades creciendo en condiciones de riego y secano, analizando los cambios morfológicos y anatómicos de los mismos.

Y los siguientes objetivos específicos:

Evaluar la contribución relativa en cuanto a número y tamaño celular del mesocarpo y endocarpo sobre el crecimiento, desarrollo y tamaño final del fruto.

Determinar la incidencia del riego en la conformación de los frutos: fenología del desarrollo, cambios cuantitativos en el desarrollo celular del mesocarpo, lignificación del endocarpo y contenido de materia grasa.

Definir un modelo histogénico de desarrollo del fruto para las condiciones particulares de la región del SOB, bajo condiciones de riego y secano. Esto permitirá modelar procedimientos básicos de manejo del riego con el fin de incrementar la eficiencia de uso del agua del cultivo.



2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sitio experimental

Los ensayos se realizaron en la Estancia “La Susana”, localizada en el partido de Coronel Dorrego, Provincia de Buenos Aires (38°50’21” S; 61°06’46” O; 54 m s.n.m., Fig. 1B). De las 700 ha que posee la estancia, el productor destina 180 ha al cultivo del olivo bajo condiciones de riego y secano.

La zona presenta un clima templado, subhúmedo a semiárido, con marcada influencia marítima. La temperatura media anual es de 14 °C, con oscilaciones entre 41,5 °C en verano y -5 °C en invierno. El promedio anual de precipitaciones es de 669 mm, siendo otoño y primavera las estaciones húmedas (Paoloni y González Uriarte, 2005).

El suelo del monte de olivo en donde se seleccionaron las plantas para realizar esta Tesis está clasificado como Paleudol petrocálcico (Teruel y Castelli, 2007), desarrollados en pendientes suaves (menores a 0,5-1%), con limitaciones en la profundidad efectiva en las partes más altas, donde la tosca se encuentra a escasa profundidad (60 cm). La textura es franco arenosa en la superficie y franco arcillo arenosa en los horizontes más profundos.

El estudio se realizó durante tres temporadas de producción frutal consecutivas: 2010-2011, 2011-2012 y 2012-2013. Los árboles seleccionados para este trabajo se encuentran implantados desde hace 50 años en un marco de plantación de 10 x 10 m, considerada como una densidad baja (100 árboles/ha). Las labores culturales de control de plagas y enfermedades, control de malezas y fertilización por medio de la fertirrigación fueron realizadas por el productor según lo recomendado por Fernández-Escobar (2004) y Pastor *et al.* (2004) para el cultivo del olivo.

2.2 Primer año de ensayo

El primer año de trabajo consistió en un muestreo exploratorio para determinar el patrón de crecimiento del fruto del olivo de la variedad ‘Nevadillo’ en la región del SOB bajo condiciones pluviométricas normales para la misma.



2.2.1 Material experimental y manejo del cultivo

La variedad ‘Nevadillo’ es uno de los clones de la variedad ‘Picual’ pero con frutos más chicos (Matías *et al.*, 2010). Las principales características morfológicas y agronómicas de esta variedad española se presentan en el Cuadro 1.

Variedad ‘NEVADILLO’	
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Árbol	
Vigor	Medio-elevado
Porte	Abierto (tipo llorón)
Densidad de copa	Espesa
Hojas	
Forma	Elíptica-lanceolada
Longitud	Media (5-7 cm)
Anchura	Media (1-1,5 cm)
Curvatura longitudinal del limbo	Hiponástica o plana
Fruto	
Peso	Medio (2-4 gr)
Forma	Ovoidal
Simetría	Algo asimétrico
Ápice	Redondeado
Base	Redondeada
Lenticelas	Abundantes y pequeñas
Color al madurar	Negro
Endocarpo	
Peso	Medio (0,30-0,45 gr)
Forma	Ovoidal
Simetría	Ligeramente asimétrico
Ápice	Apuntado sin mucrón
Base	Redondeada
Superficie	Escabrosa
Número de surcos fibrovasculares	Medio (7-10)
Distribución de surcos fibrovasculares	Uniforme
CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS	
Propagación	Por estacas semileñosas
Entrada en producción	Precoz
Adaptación a condiciones climáticas	Rústica
Destino de producción	Aceite
Rendimiento industrial	Bajo (9%)
Calidad del aceite	Alto contenido de ácido oleico

Cuadro 1. Principales características morfológicas y agronómicas de la variedad del olivo ‘Nevadillo’ (Matías *et al.*, 2010).



2.2.2 Determinación de los estadios fenológicos

Las observaciones fenológicas se realizaron sobre nueve árboles, según la escala visual internacional estandarizada BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt y Chemische Industrie) descripta para la especie *Olea europaea* por Sanz-Cortés *et al.* (2002, Cuadro 2). La misma consiste en un sistema decimal de dos dígitos que codifica los estadios fenológicos basándose en el código desarrollado para los cereales por Zadoks *et al.* (1974). El primer dígito corresponde al principal estadio de crecimiento y el segundo a un estadio secundario (Cuadro 2).

Estadio principal 0: Desarrollo de las yemas**Estadio principal 1: Desarrollo de las hojas****Estadio principal 3: Desarrollo de los brotes****Estadio principal 5: Desarrollo de las inflorescencias****Estadio principal 6: Floración**

- 60 Apertura de las primeras flores.
- 61 Comienzo de la floración: alrededor del 10% de las flores están abiertas.
- 65 Plena floración: al menos el 50% de las flores están abiertas.
- 67 Comienza la caída de pétalos blancos.
- 68 La mayoría de los pétalos han caído o están marchitos.
- 69 Fin de la floración, fecundación del fruto y caída de ovarios no fecundados.

Estadio principal 7: Desarrollo del fruto

- 71 Tamaño de los frutos alrededor del 10% de su tamaño final.
- 75 Tamaño de los frutos alrededor del 50% de su tamaño final. Empieza a lignificarse el endocarpo.
- 79 Tamaño de los frutos alrededor del 90% de su tamaño final.

Estadio principal 8: Maduración del fruto

- 80 El color verde intenso de los frutos se vuelve verde claro-amarillento.
- 81 Comienzo de la coloración de los frutos.
- 85 Aumenta la coloración específica de los frutos.
- 89 Los frutos adquieren el color característico del cultivar, permaneciendo turgentes. Frutos aptos para la extracción de aceite.

Estadio principal 9: Senescencia

- 91 Crecimiento de brotes completo y follaje color verde.
- 93 Comienzo de senescencia y abscisión de hojas maduras.
- 97 Período de dormancia de invierno.

Cuadro 2. Estadios fenológicos del cultivo del olivo según la escala BBCH descriptos por Sanz-Cortés *et al.* (2002). Se detallan los estadios estudiados en esta Tesis.



2.2.3 Crecimiento del fruto

Desde la segunda SDPF hasta la cosecha se muestrearon cinco frutos por árbol, en un total de nueve árboles. Los frutos recogidos se encontraban ubicados en posición perimetral de la copa, a 1,5 m del nivel del suelo.

La selección de los momentos de muestreo de los frutos para su posterior estudio de crecimiento, se basó en la escala de Hartmann (1948, Fig. 3). Así entonces, se realizaron muestreos en las segunda y cuarta SDPF y a partir de allí cada treinta días.

Utilizando un calibre digital (Köln, Alemania) se midió el diámetro (d) del fruto entero y del endocarpo a nivel de la sección ecuatorial transversal. El área transversal ecuatorial (AT) del fruto entero (AT_f) y del endocarpo (AT_e) se calculó según la Ecuación 1 (Purcell y Varberg, 1993), asumiendo que las drupas del olivo tienen una sección circular en ese nivel (Fig. 4C). Con estos valores, se calculó por diferencia el AT del mesocarpo (AT_m , Manrique *et al.*, 1999; Costagli *et al.*, 2003).

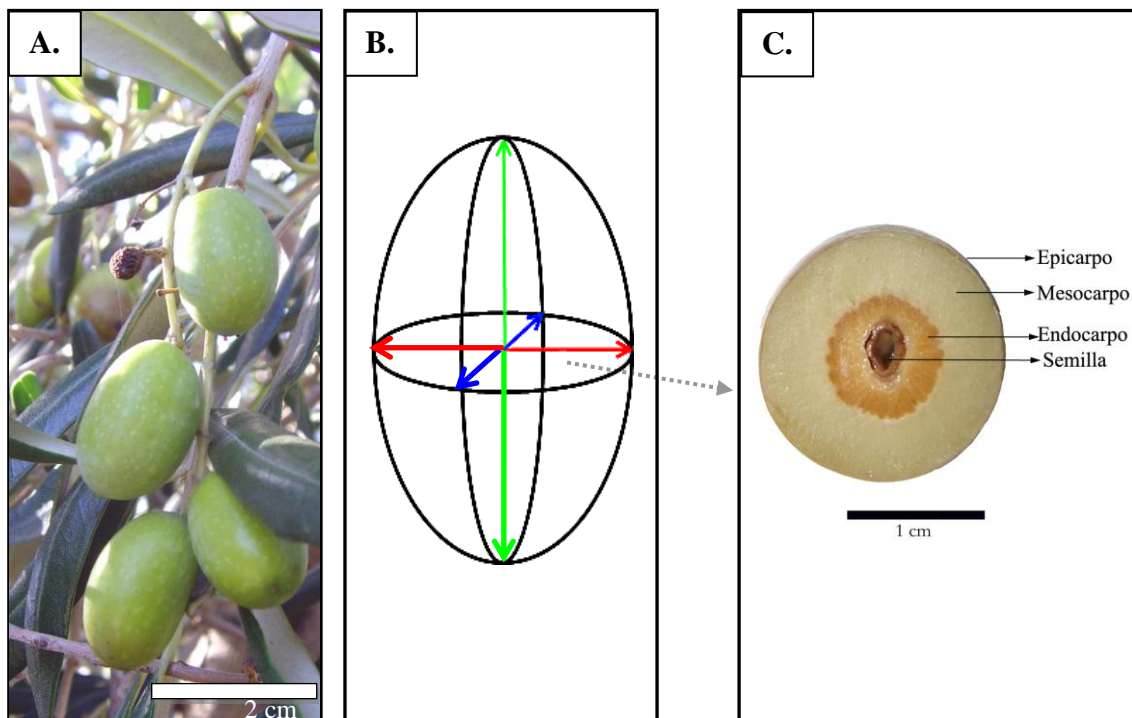


Figura 4. Frutos del olivo variedad ‘Nevadillo’ (A), los cuales presentan una forma similar a un esferoide alargado. Dibujo del fruto (B) mostrando las dimensiones del eje polar (flecha verde) y los ejes ecuatoriales (flechas roja y azul). Sección transversal del fruto a nivel ecuatorial, describiendo las partes que lo componen (C).



Asimismo se midió el largo (ℓ) del fruto, y junto con el valor del diámetro se calculó el volumen (V) del mismo utilizando la Ecuación 2 (Purcell y Varberg, 1993). Para emplear este cálculo se asumió que la drupa entera de la variedad del olivo ‘Nevadillo’ tiene forma de “esferoide alargado”, un elipsoide de revolución donde el eje polar es mayor al diámetro ecuatorial (Fig. 4A y B).

$$A \text{ (mm}^2\text{)} = \pi / 2 * d^2 \quad \text{(Ecuación 1)}$$

$$V \text{ (cm}^3\text{)} = 4 / 3 * \pi * \ell / 2 * (d/2)^2 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Las tasas de crecimiento absoluto del fruto (TCA_f), del mesocarpo (TCA_m) y del endocarpo (TCA_e) se calcularon como el incremento del AT de cada una de las partes del fruto por semana después de la floración, usando la siguiente ecuación:

$$TCA \text{ (mm}^2\text{/semana)} = (AT_2 - AT_1) / (T_2 - T_1) \quad \text{(Ecuación 3)}$$

En donde AT_2 : AT final, AT_1 : AT inicial, T_2 : tiempo final y T_1 : tiempo inicial.

2.2.4 Anatomía del fruto

Desde la segunda SDPF hasta la cosecha se recolectaron tres frutos por árbol, los cuales fueron cortados transversalmente, en la región ecuatorial, obteniendo secciones de aproximadamente 4 mm de espesor. Cuando el endocarpo se esclerificó, fue necesario removerlo previamente. Los cortes obtenidos fueron colocados en recipientes Eppendorf® de 1,8 ml de capacidad conteniendo solución fijadora FAA: 10% formol, 5% ácido acético glacial, 50% alcohol etílico (ETOH) y 35% agua destilada (Ruzin, 1999).

Las muestras fijadas fueron deshidratadas en una serie de alcoholes, comenzando con concentraciones ascendentes de ETOH: 20%, 35% y 50% ETOH; y continuada por una serie ascendente de alcohol ter-butílico (TBA) con agua destilada, ETOH 96° y ETOH absoluto, en las siguientes proporciones: TBA-1 (1:5:4:0), TBA-2 (2:3:5:0), TBA-3 (3,5:1,5:5:0), TBA-4 (5,5:0:4,5:0) y TBA-5 (7,5:0:0:2,5; Ruzin, 1999). Una vez deshidratadas, las muestras se infiltraron en parafina (Paraplast®, Leica) y se sometieron a vacío (55 cm Hg) para lograr una correcta infiltración. Las muestras



fueron incluidas en cazoletas de papel de aluminio formando un bloque rectangular; los bloques se tallaron formando un trapecio isósceles y se pegaron en un taco de madera. Luego se procedió a realizar cortes transversales de 8-10 μm de espesor con micrótomo rotatorio tipo Minot (Jung, Alemania). Los cortes se montaron en portaobjetos, se fijaron con adhesivo de Haupt (Johansen, 1940) y se estiraron en placa caliente a 45°C durante 72 h. Una vez adheridos los cortes al portaobjeto, se realizó una coloración diferencial, utilizando safranina y verde rápido (Ruzin, 1999); luego se cubrieron con bálsamo sintético (Biopur, Canadá) y cubreobjeto de vidrio.

En los cortes transversales del mesocarpo ya teñidos, se realizaron observaciones y se tomaron registros fotográficos de áreas seleccionadas al azar utilizando un microscopio Nikon modelo Labophot-2 provisto de cámara fotográfica digital Nikon Coolpix 4500. Se obtuvieron tres imágenes digitales por corte transversal del mesocarpo y en cada una de ellas se seleccionaron tres áreas en las cuales se contaron las células presentes (Fig. 5). Las dimensiones de las áreas seleccionadas fueron de 0,02 mm^2 en cortes de frutos muestreados a la segunda y cuarta SDPF (Fig. 5A y B), y de 0,06 a 0,1 mm^2 (Fig. 5C y D) en cortes de frutos muestreados desde la octava SDPF a la última fecha de muestreo. El conteo de células se realizó utilizando el software ImageJ (Rasband, 2011). Utilizando el número promedio de células y el AT_m , se estimó el número total de células en la sección transversal del mesocarpo y el AT individual de cada célula (Manrique *et al.*, 1999; Costagli *et al.*, 2003).

Asimismo se analizó la tasa absoluta de división celular (N° células/semana) y la tasa absoluta de crecimiento celular (μm^2 /semana) de las células mesocárpicas usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Tasa absoluta de división celular (N}^\circ\text{células/semana)} = (n^\circ \text{ cel}_2 - n^\circ \text{ cel}_1) / (T_2 - T_1) \quad (\text{Ecuación 4})$$

En donde $n^\circ \text{ cel}_2$: número final de células, $n^\circ \text{ cel}_1$: número inicial de células, T_2 : tiempo final y T_1 : tiempo inicial y

$$\text{Tasa absoluta de crecimiento celular } (\mu\text{m}^2/\text{semana}) = (\text{AT}_2 - \text{AT}_1) / (T_2 - T_1) \quad (\text{Ecuación 5})$$

En donde AT_2 : AT celular final, AT_1 : AT celular inicial, T_2 : tiempo final y T_1 : tiempo inicial.

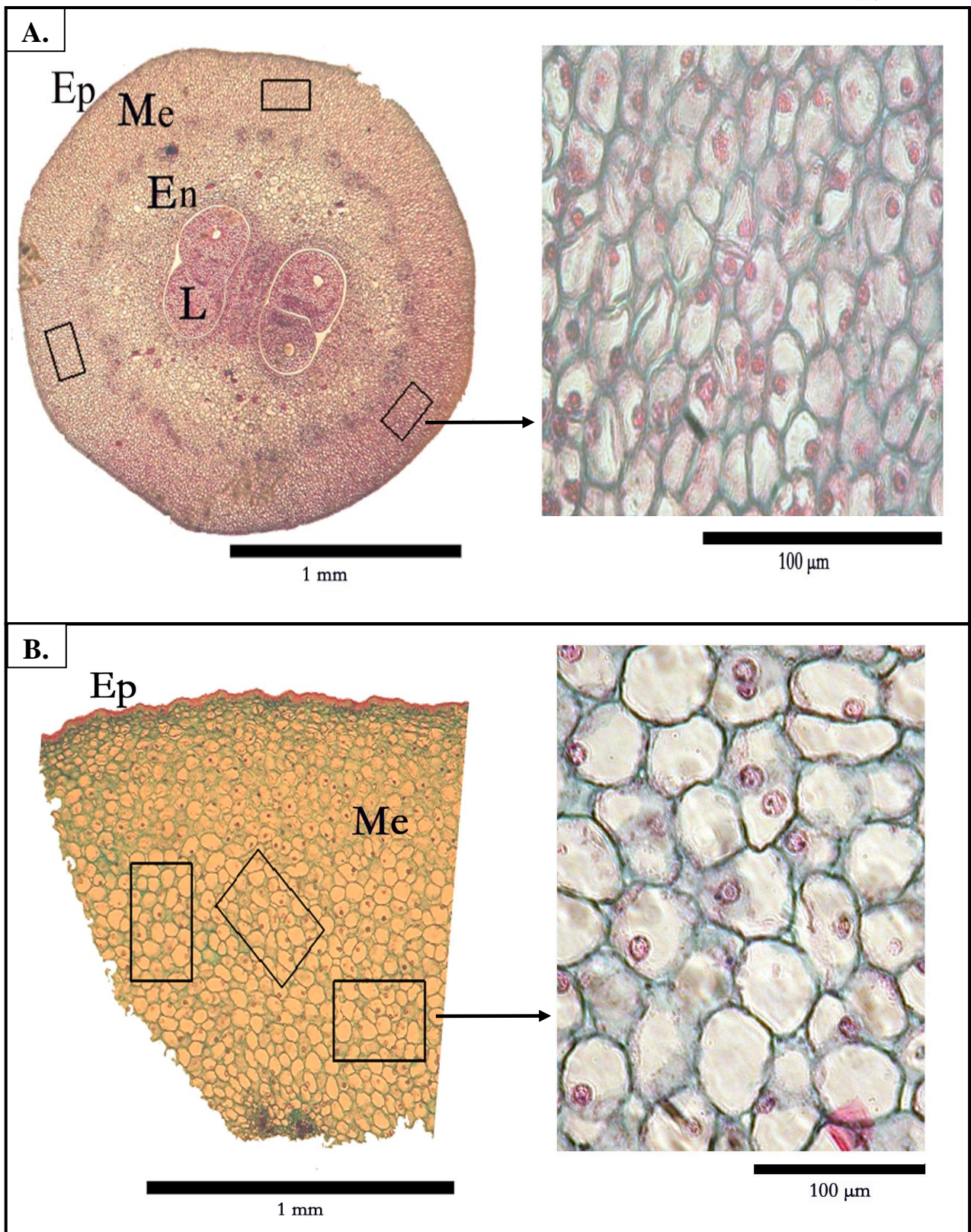


Figura 5. Criterio utilizado para el análisis celular del fruto. Corte transversal del fruto con el endocarpio aún no esclerificado, con tres áreas de 0,02 mm² seleccionadas al azar en el mesocarpio y detalle de una de las áreas elegidas para realizar el recuento celular (**A**). Corte transversal del mesocarpio con tres áreas de 0,06 mm² seleccionadas al azar y detalle de una de las áreas elegidas para realizar el recuento celular (**B**). En: endocarpio, Ep: epicarpio, L: lóculo y Me: mesocarpio.



2.2.5 Anatomía del endocarpo

Preignificación

En las muestras de frutos fijados se realizaron cortes transversales para estudiar la esclerificación de las células del endocarpo. Los cortes se realizaron con xilótomo, obteniendo secciones de 20 μm de espesor, encontrándose el endocarpo parcialmente esclerificado. Los cortes fueron posteriormente teñidos con floroglucinol en medio ácido (Ruzin, 1999) con la finalidad de identificar las esclereidas.

Postignificación

Cuando el endurecimiento del endocarpo no permitió los cortes con xilótomo, se realizaron cortes finos del mismo utilizando un disco diamantado. Los cortes se pulieron hasta obtener un espesor aproximado de 30 μm . Estos cortes fueron realizados por el Taller de Petrotomía del Departamento de Geología de la UNS (www.geologia.uns.edu.ar/laboratorio/petrotomia/petrotomia.asp). Para adherir los cortes al portaobjeto para su observación con microscopía óptica se utilizó cemento UV (dimetil metacrilato), cuyo índice de refracción es similar al del bálsamo de Canadá (1,54). Luego se procedió con la tinción de floroglucinol-HCl (Ruzin, 1999).

En ambos casos los cortes del endocarpo fueron observados y fotografiados con un microscopio Nikon modelo Labophot-2 provisto de cámara fotográfica digital Nikon Coolpix 4500.

2.3 Segundo y tercer año de ensayo

2.3.1 Material experimental y manejo del cultivo

Durante el segundo y tercer año de ensayo las variedades estudiadas fueron ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’, cuyas principales características morfológicas y agronómicas que las diferencian de otras variedades, se describen en los Cuadros 1 y 3, respectivamente.



Variedad 'ARBEQUINA'	
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Árbol	
Vigor	Bajo
Porte	Abierto (tipo llorón)
Densidad de copa	Media
Hojas	
Forma	Elíptica-lanceolada
Longitud	Corta (< 5 cm)
Anchura	Media (1-1,5 cm)
Curvatura longitudinal del limbo	Epinástica
Fruto	
Peso	Bajo (< 2 gr)
Forma	Esférica
Simetría	Simétrico
Ápice	Redondeado
Base	Truncada
Lenticelas	Escasas y pequeñas
Color al madurar	Negro
Endocarpo	
Peso	Bajo (< 0,30 gr)
Forma	Ovoidal
Simetría	Simétrico
Ápice	Redondeado
Base	Redondeada
Superficie	Rugosa
Número de surcos fibrovasculares	Medio (7-10)
Distribución de surcos fibrovasculares	Uniforme
CARACTERÍSTICAS AGRONÓMICAS	
Propagación	Por estacas semileñosas
Entrada en producción	Muy precoz
Adaptación a condiciones climáticas	Rústica
Destino de producción	Aceite
Rendimiento industrial	Bajo a medio (12%)
Calidad del aceite	Medio a bajo contenido de ácido oleico

Cuadro 3. Principales características morfológicas y agronómicas de la variedad del olivo 'Arbequina' (Matías *et al.*, 2010).

Durante estos años se definieron dos regímenes hídricos: aplicación de riego controlado y secano. Para llevar a cabo el régimen de riego se utilizó el sistema de regadío instalado por el productor. Según el marco de plantación del monte, a cada árbol le correspondió 10 m de línea de riego por goteo, presentando dos líneas de riego paralelas a cada lado de la línea de plantación (Fig. 6). Estando los goteros distanciados en cada línea a 0,7 m, se totalizaron 28 goteros por árbol. Los mismos aportaron un caudal de agua de 0,75 L.h⁻¹ cada uno, totalizando un aporte de 21 L.h⁻¹. En el lote con riego se ubicaron dos tensiómetros (Irrometer®, modelo SR) con su bulbo ubicado a 20



y 40 cm de profundidad; cuando la tensión en el manómetro indicaba entre 40 y 50 cb se procedía a habilitar el riego hasta alcanzar valores de entre 10 y 20 cb (recomendado por M.E. Aguirre, UNS, comunicación personal). El régimen de secano se realizó con árboles desprovistos de líneas de riego, recibiendo solamente agua de lluvia.

Se debe destacar que al trabajar con una implantación previa ya definida por el productor, los lotes utilizados para estudiar las plantas bajo riego estuvieron físicamente distanciados (2000 m) del lote en donde las plantas eran mantenidas en secano. Tanto el suelo de los lotes como la edad de las plantas y su estado sanitario, fueron en ambos casos iguales.



Figura 6. Árbol del olivo mantenido bajo condiciones de riego. Se aprecian las dos líneas de riego con goteros paralelas entre sí (flechas), ubicadas a cada lado de la línea de plantación.

2.3.2 Diseño experimental

El diseño experimental utilizado en el segundo y tercer año de ensayo consistió en un diseño balanceado completamente aleatorizado, con dos regímenes hídricos (Riego y Secano) y dos variedades ('Arbequina' y 'Nevadillo') como variables de clasificación, y tres-cuatro árboles (réplicas) por combinación de dichas variables.



Los datos obtenidos se analizaron mediante Análisis de la Varianza (ANDEVA) doble. En el caso de encontrarse diferencias significativas entre tratamientos, se realizaron comparaciones de medias poblacionales con la prueba de diferencia mínima significativa (DMS), con probabilidad de error $p=0,05$ (Di Rienzo *et al.*, 2010).

Para realizar dichos análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2010 (Di Rienzo *et al.*, 2010).

2.3.3 Determinación de los estadios fenológicos

Las observaciones fenológicas se realizaron a partir del estadio de plena floración según la escala visual BBCH descrita para la especie *Olea europaea* por Sanz-Cortés *et al.* (2002, Cuadro 2). Los estadios fenológicos se encuentran descritos en la sección 2.2.2.

2.3.4 Estado hídrico de los árboles

El estado hídrico de los árboles se estimó mediante el contenido relativo de agua foliar (CRA_h , Slatyer y Barrs, 1965; Slatyer, 1967; Barrs, 1968) siguiendo el procedimiento propuesto por Puertas (2009) para el cultivo del olivo. Para ello se tomaron al azar por árbol dos réplicas de cuatro hojas cada una, entre las 10 y las 12:30 h, en días con cielo totalmente despejado. Se seleccionaron hojas producidas en el año, totalmente expandidas, sanas y expuestas al sol, ubicadas a una altura de 1,5 m del suelo. Las hojas se colocaron inmediatamente en un tubo plástico con tapa y se mantuvieron refrigeradas hasta su posterior procesamiento. En el laboratorio, las hojas se pesaron en balanza analítica, obteniendo el peso foliar fresco (P_hF). Luego se colocaron en el mismo tubo junto con agua destilada, teniendo la precaución de que los pecíolos quedaran totalmente sumergidos. Así se mantuvieron durante 48 h bajo luz tenue y a 4°C. Luego de ello, las hojas se escurrieron en papel absorbente y se pesaron, obteniendo así el peso foliar turgente (P_hT). Una vez pesadas, las hojas se llevaron a estufa a 70°C durante 48 h, obteniendo el peso foliar seco (P_hS). El CRA_h se estimó de la forma:

$$CRA_h = (P_hF - P_hS / P_hT - P_hS) * 100 \quad (\text{Ecuación 6})$$



2.3.5 Crecimiento del fruto

Durante el segundo y tercer año de ensayo el procedimiento realizado para evaluar el crecimiento del fruto fue similar al descrito para el primer año de ensayo (sección 2.2.3).

El volumen de los frutos de la variedad ‘Arbequina’ se calculó utilizando la Ecuación 7, asumiendo que la drupa entera tiene forma esférica, donde el eje polar tiene las mismas dimensiones que el eje ecuatorial (Fig. 7).

$$V (\text{cm}^3) = 4/3 * \pi * (d/2)^3 \quad (\text{Ecuación 7})$$

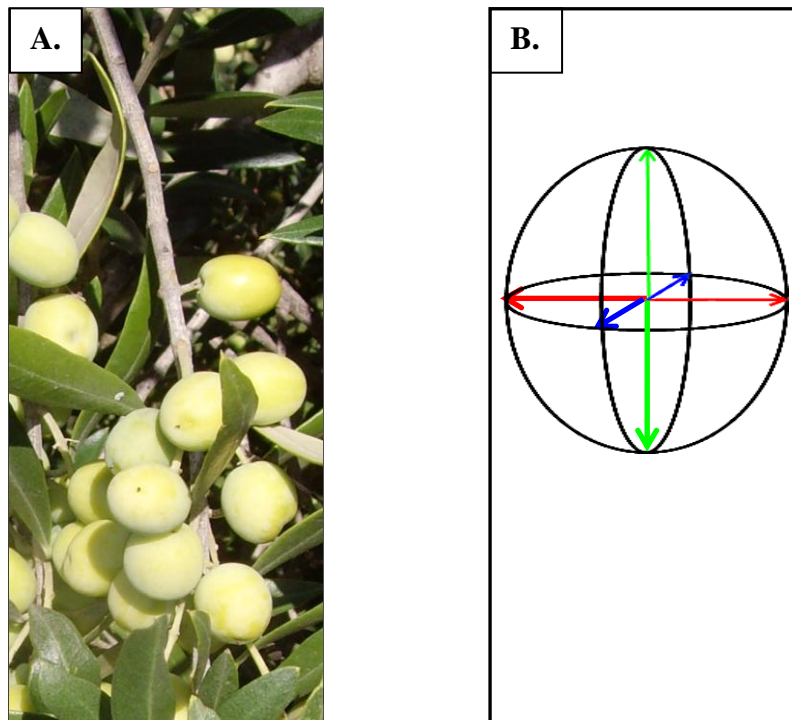


Figura 7. Frutos del olivo variedad ‘Arbequina’ (A), los cuales presentan una forma similar a una esfera. Dibujo del fruto (B) mostrando las dimensiones del eje polar (flecha verde) y los ejes ecuatoriales (flechas roja y azul).

2.3.6 Anatomía del fruto

Durante el segundo y tercer año de ensayo, se estudió la histología del mesocarpo en su sección transversal siguiendo el procedimiento descrito para el primer año de ensayo (sección 2.2.4), en ambos regímenes hídricos y variedades. En ambos



años, se determinó la tasa absoluta de división celular (N° células/semana) y la tasa absoluta de crecimiento celular (μm^2 /semana) de las células mesocárpicas usando las ecuaciones 4 y 5 (sección 2.2.4).

2.3.6.1 Anatomía de la sección longitudinal del fruto

Durante el tercer año de ensayo, el estudio de la sección transversal de los frutos se complementó con el estudio de su sección longitudinal radial. Ello se hizo para evaluar la variabilidad de las dimensiones y forma celular en tres zonas del mismo: apical, media y basal (Fig. 8). Estas observaciones se realizaron en ambos regímenes hídricos y variedades. Para ello se utilizaron frutos maduros (estadio fenológico 89, Cuadro 2) y se procedió con las técnicas convencionales de inclusión, corte y coloración (Ruzin, 1999) descritas en la sección 2.2.4.

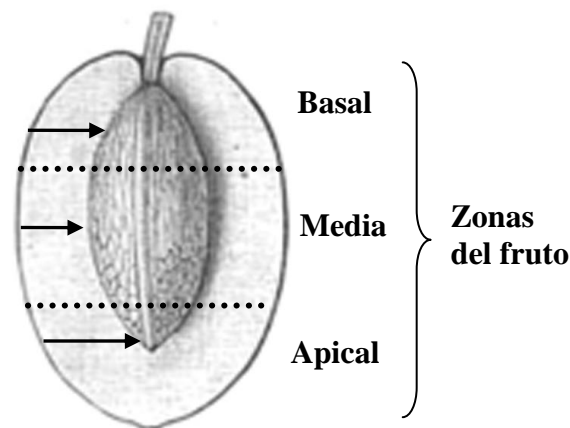


Figura 8. Sección longitudinal radial del fruto del olivo mostrando las zonas delimitadas para el análisis de la variabilidad celular en dirección centripeta desde la periferia hacia el interior, como indican las flechas.

2.3.7 Rendimiento y sus componentes

2.3.7.1 Rendimiento frutal e índice de madurez

Alcanzado el estadio fenológico 89 (frutos maduros aptos para la extracción de aceite; Cuadro 2), se procedió a la cosecha manual de todos los frutos por árbol (repetición) por tratamiento (régimen hídrico x variedad). Los frutos se pesaron en balanza de tipo industrial y se calculó así el rendimiento frutal por árbol.



En una submuestra de 100 frutos cosechados por tratamiento, se determinó el índice de madurez (IM) según la metodología propuesta para el olivo por Beltrán *et al.* (2004). La misma se basó en la observación de la pigmentación del epicarpo y del mesocarpo del fruto, clasificándolo en ocho clases (Cuadro 4).

ÍNDICE DE MADUREZ
Clase 0: Epicarpo verde intenso.
Clase 1: Epicarpo verde amarillento.
Clase 2: Epicarpo verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto. Inicio del envero.
Clase 3: Epicarpo rojizo o morado en más de la mitad del fruto. Fin del envero.
Clase 4: Epicarpo negro y mesocarpo blanco.
Clase 5: Epicarpo negro y mesocarpo morado en menos de la mitad.
Clase 6: Epicarpo negro y mesocarpo morado sin llegar al endocarpo.
Clase 7: Epicarpo negro y mesocarpo totalmente morado.
Siendo 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 el número de clase de madurez y A, B, C, D, E, F, G y H la cantidad de frutos pertenecientes a cada clase en una muestra de 100 frutos, el índice de madurez (IM) se obtiene de la forma:
$IM = (A*0 + B*1 + C*2 + D*3 + E*4 + F*5 + G*6 + H*7) / 100$

Cuadro 4. Clases para la clasificación de los frutos y determinación del índice de madurez (Beltrán *et al.*, 2004).

2.3.7.2 Humedad del fruto y rendimiento graso

A partir de la décima SDPF y hasta la madurez de cosecha se determinó el contenido porcentual de humedad (H_{bs} , %) y de materia grasa (MG_{bs} , %) en base seca de los frutos.

Para la determinación del contenido porcentual de H_{bs} se cosechó 1 kg de frutos en forma aleatoria alrededor de la copa de cada árbol y a una altura de 1,5 m del suelo. Los mismos se mantuvieron refrigerados hasta su posterior procesamiento. En el laboratorio, se determinó en balanza analítica el peso fresco de los frutos (PF_f) y el peso seco de los mismos (PS_f) luego de colocarlos en estufa a 110 °C durante 24 h. El contenido porcentual de H_{bs} de los frutos se calculó de la forma:

$$H_{bs} (\% \text{ en base seca}) = (PF_f - PS_f / PS_f) * 100 \quad (\text{Ecuación 8})$$



Para la determinación del contenido porcentual de MG_{bs} se siguió el procedimiento correspondiente al método de extracción continua de Goldfish (Guiragossian *et al.*, 1977), utilizando un equipo extractor marca LabConCo modelo S-31880 (Fig. 9).

Previo a la extracción se molieron en mortero metálico 30 frutos por árbol, hasta obtener una pasta homogénea, la cual fue posteriormente secada en estufa a $60^{\circ}C$ durante 48 h junto con un vaso de precipitado y un tubo poroso vacíos por muestra, para luego ser utilizados en el procedimiento de extracción. Transcurrido el tiempo de secado se extrajeron los materiales de la estufa, se enfriaron en desecador durante 2 min y se pesaron en balanza analítica. De la pasta se separaron 3 a 4 g de muestra (peso seco de muestra de frutos molidos, PS_m) que se colocaron en un tubo poroso, el cual se insertó en una pieza conectada al condensador del aparato de Goldfish. El vaso de precipitado conteniendo 50 ml éter etílico, se colocó en el extremo inferior del condensador y se ajustó mediante un anillo de hierro el cual tiene una junta de goma.

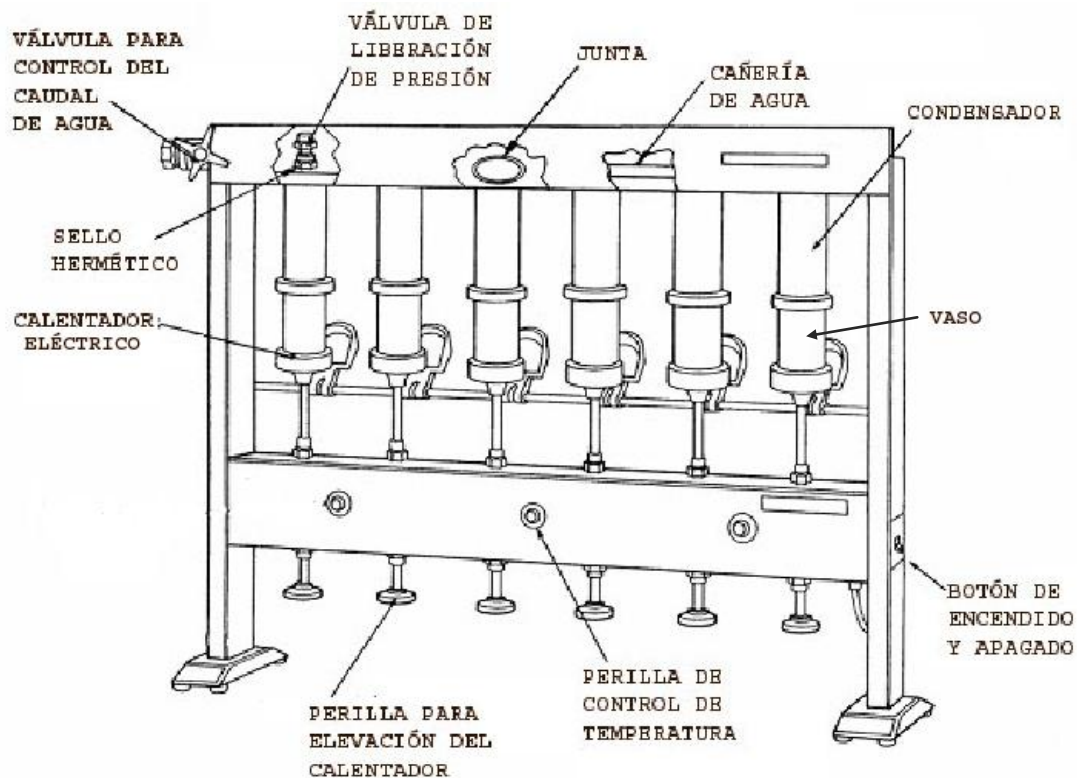


Figura 9. Equipo extractor de materia grasa Goldfish mostrando sus partes principales. Vaso: vaso de precipitado conteniendo éter etílico y tubo poroso con la muestra de la pasta de frutos secos de la cual se extrae el contenido de materia grasa. Adaptada de los apuntes académicos de la cátedra Análisis de alimentos del departamento de Alimentos y biotecnología de Universidad Nacional Autónoma de México (http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf, Verificado el 09/09/16).



Durante el funcionamiento del equipo, se reguló el caudal de agua de enfriado y la intensidad del calentador hasta lograr la temperatura de ebullición del solvente (mayor a 34,6 °C). El solvente en estado gaseoso condensó sobre el tubo poroso con la muestra, atravesándola al caer por gravedad y extrayendo los materiales solubles de la misma (materia grasa). Este proceso se repitió varias veces durante las 6 h que duró la extracción, recolectándose la materia grasa en la base del vaso de precipitado. Cuando la extracción finalizó, el tubo poroso conteniendo la muestra desgrasada se reemplazó por otro de iguales dimensiones pero no poroso. Al calentarse y evaporarse nuevamente el solvente, se logró la recuperación del mismo y la separación de la materia grasa depositada en el vaso, el cual se llevó a estufa a 60 °C por 48 h. Luego, se obtuvo el peso seco del vaso de precipitado más la materia grasa y por diferencia con respecto al vaso vacío, se obtuvo el peso seco de materia grasa de la muestra (PS_{mg}). El contenido porcentual de MG_{bs} se calculó de la forma:

$$MG_{bs} (\% \text{ en base seca}) = (PS_{mg} / PS_m) * 100 \quad (\text{Ecuación 9})$$

2.4 Registro de variables climáticas en los tres años de ensayo

Los datos de las principales variables climáticas (humedad ambiental relativa [%], lluvia [mm], temperatura ambiental diurna máxima y mínima [°C] y radiación solar horaria [MJ/m^2]), registrados durante el período de ejecución de los ensayos, fueron provistos por la estación experimental del INTA de Coronel Dorrego (38°44'21" S; 61° 06'46" O; 103 m s.n.m.). La temperatura media diaria se calculó como el promedio de las temperaturas máximas y mínimas diarias.



3. RESULTADOS

3.1 Primer año de ensayo

3.1.1 Variables climáticas

El primer año de ensayo la lluvia registrada durante el ciclo de crecimiento del olivo totalizó 360 mm, la temperatura mínima promedio fue 13,7 °C, la máxima 26 °C y la media 19,8 °C (Fig. 10).

Durante el mes de noviembre, previo a la floración, y durante la mayor parte de enero, en pleno desarrollo del fruto, las lluvias se presentaron de forma frecuente, totalizando 60 y 125 mm, respectivamente (Fig. 10A). En el resto del período productivo del cultivo (meses de diciembre, febrero, marzo y abril) el agua aportada por la lluvia se concentró en pocos días totalizando 90 mm, de los cuales 85 mm se registraron en un día del mes de marzo, a las 15 SDPF (Fig. 10).

Desde el inicio de la floración (mediados de noviembre) las temperaturas mínimas registradas fueron superiores a los 0 °C (Fig. 10A).

3.1.2 Estadios fenológicos

La floración se inició el 15 de noviembre de 2010, registrándose la plena floración el 26 de ese mismo mes. Cumplidas 2 SDPF se produjo la caída de la mayoría de los pétalos (estadio 68) y a las 4 SDPF los frutos presentaron un 10% de su AT_f final (estadio 71) (Cuadro 2). A partir de las 8 SDPF se comenzó a endurecer el endocarpo (estadio 75) y a las 12 SDPF se completó el proceso de esclerificación (estadio 77) al comprobar que esta porción de la drupa no podía ser atravesada transversalmente con la cuchilla del micrótopo. A las 16 SDPF los frutos presentaron el 90% de su máximo diámetro ecuatorial (estadio 79) y a las 20 SDPF (cosecha) se realizó el último muestreo del primer año de ensayo, encontrándose los frutos en el estadio 89 (frutos maduros aptos para la extracción de aceite).

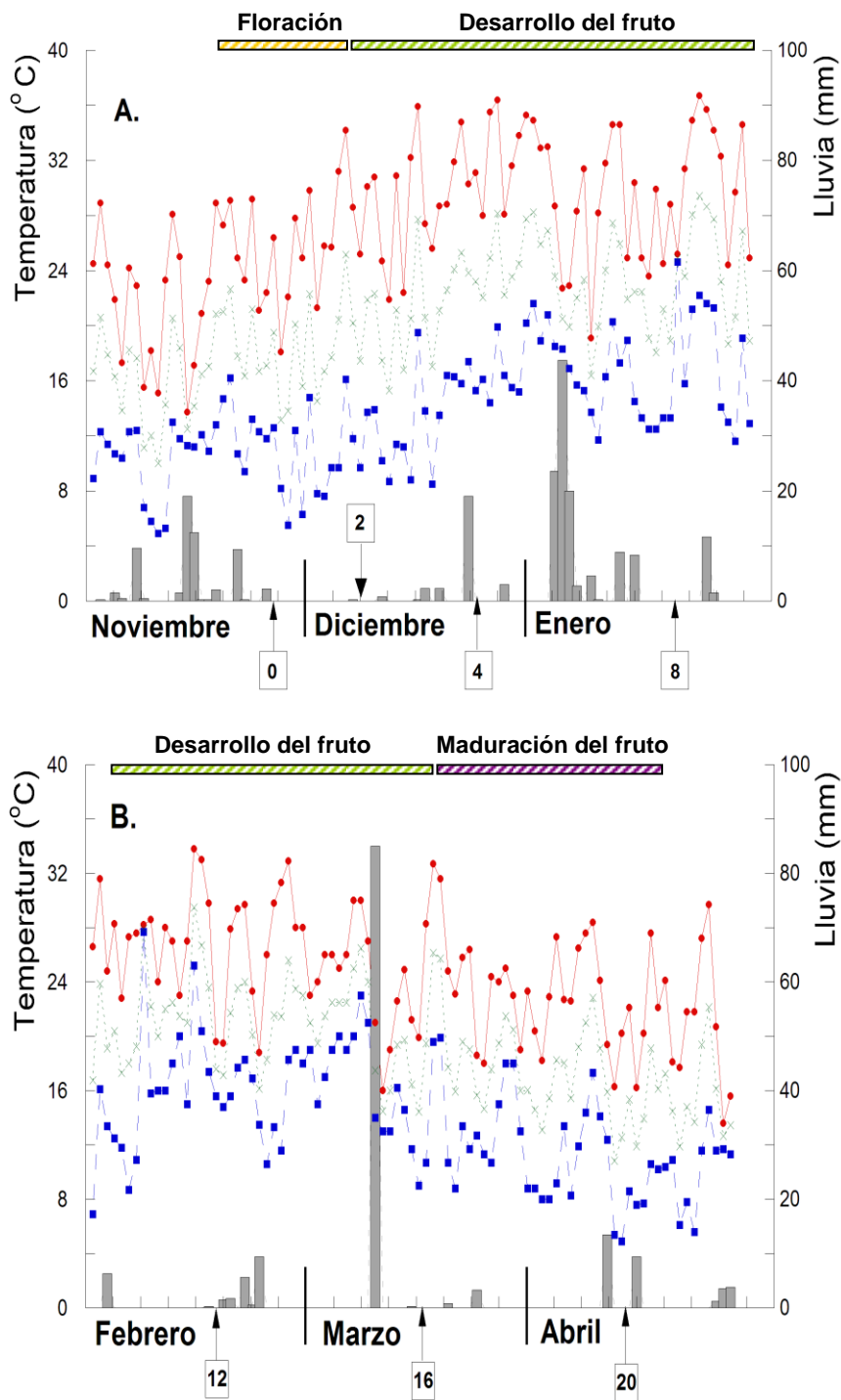


Figura 10. Temperatura (°C) máxima (—●), mínima (—■) y media (—x) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el primer año de ensayo: noviembre de 2010 a enero de 2011(A) y febrero a abril de 2011 (B). Las barras superiores indican el principal estadio fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración.



3.1.3 Cambios morfológicos del fruto

Tanto el AT_f como el AT_m mostraron un incremento casi constante en sus dimensiones desde la primera hasta la última fecha de muestreo. Los valores finales de AT_f y AT_m fueron de 214 y 174 mm^2 , respectivamente (Fig. 11). En cambio, el AT_e aumentó durante las primeras 12 SDPF, donde alcanzó su valor máximo de 40 mm^2 , y luego se mantuvo constante (Fig. 11).

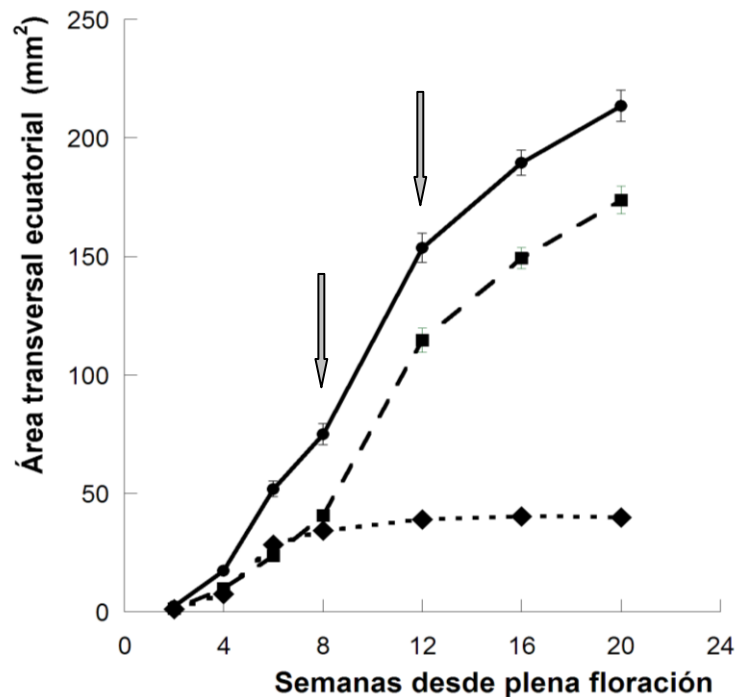


Figura 11. Área transversal ecuatorial (mm^2) del fruto entero (—●), del mesocarpo (- - -■) y del endocarpo (- - -◆) de los frutos de 'Nevadillo' durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Los mayores incrementos en el AT_f de 'Nevadillo', expresados como TCA_f , se observaron a las 6 y 12 SDPF durante el primer año de ensayo, siendo este último el estadio en el que se presentó la máxima TCA_f : 20 mm^2 /semana (Fig. 12). Estos resultados estuvieron asociados a valores máximos de la TCA_e (10,3 mm^2 /semana) a las 6 SDPF y de la TCA_m (18,5 mm^2 /semana) a las 12 SDPF (Fig. 12). A partir de las 6 SDPF, la TCA_e disminuyó notoriamente, coincidiendo con el período de esclerificación del endocarpo (Fig. 12).

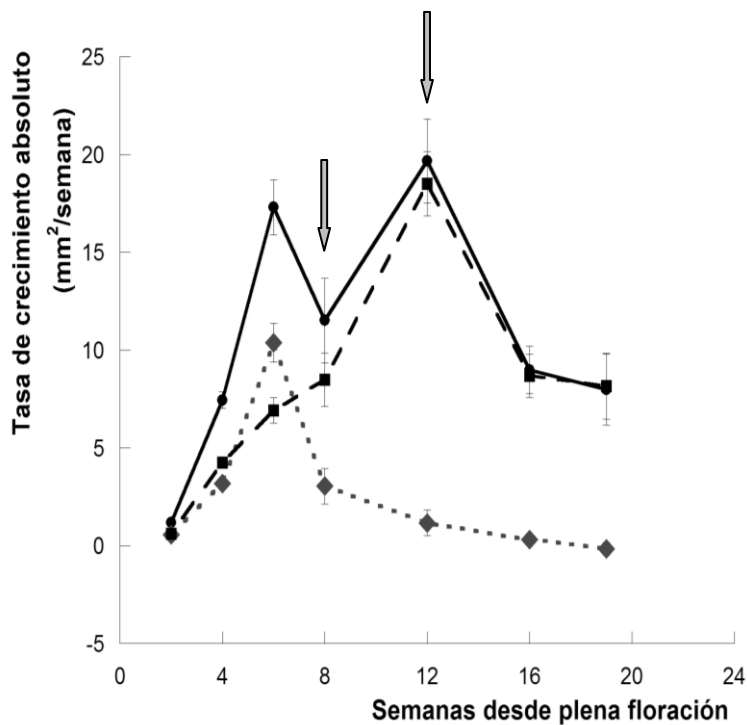


Figura 12. Tasa de crecimiento absoluto ($\text{mm}^2/\text{semana}$) del fruto entero (—●), del mesocarpio (---■) y del endocarpio (- - -◆) en la variedad ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpio.

El volumen del fruto fue variando sus dimensiones de manera creciente junto con los valores del AT_f , alcanzando $3,5 \text{ cm}^3$ a cosecha (Tabla 1).

Tabla 1. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ durante su desarrollo en el primer año de ensayo. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

SDPF	Volumen del fruto (cm^3)
2	0,003 a
4	0,090 a
6	0,562 b
8	0,938 c
12	2,267 d
16	2,957 e
20	3,471 f

3.1.3.1 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y del endocarpo

En los frutos maduros obtenidos a cosecha, se identificó claramente una relación lineal y positiva entre el AT_f y el AT_m (Fig. 13A) y el AT_e (Fig. 13B) de los frutos de ‘Nevadillo’. Sin embargo, fue el mesocarpo el tejido que mantuvo una relación significativamente mayor con el fruto entero ($r^2=0,97$) en comparación con el endocarpo ($r^2=0,46$).

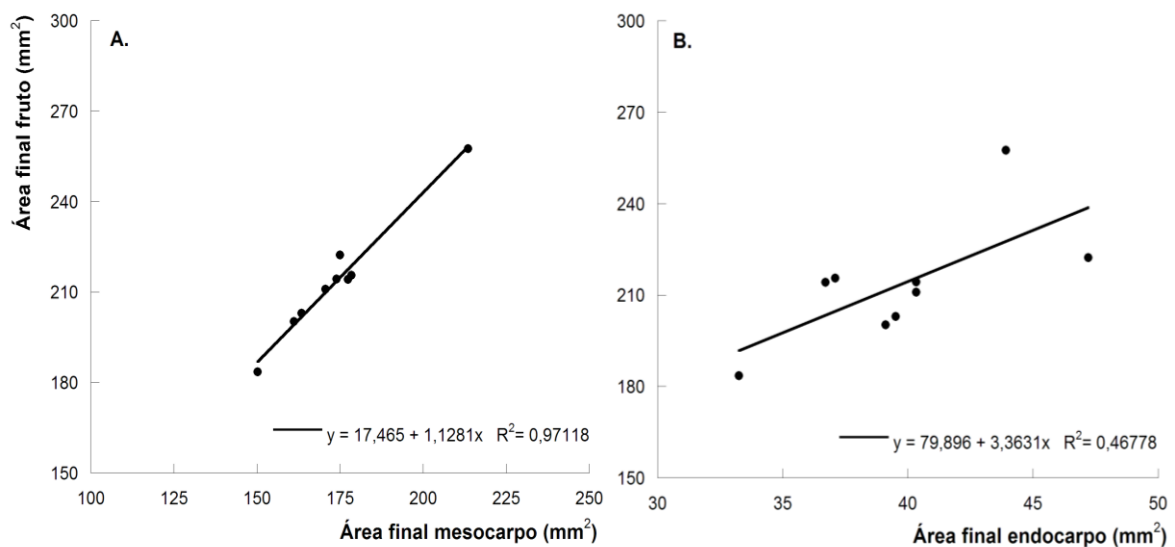


Figura 13. Relación entre el área transversal final del fruto (mm²) y el área transversal final del mesocarpo (mm², **A**) y del endocarpo (mm², **B**) en ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles.

3.1.4 Anatomía del fruto

3.1.4.1 Estructura anatómica del fruto de ‘Nevadillo’

En el plano transversal de la sección ecuatorial del fruto del olivo variedad ‘Nevadillo’ se destacaron claramente las tres regiones que lo conforman: epicarpo, mesocarpo y endocarpo (Fig. 14A).

El epicarpo, la porción más externa del fruto, estaba compuesto por células epidérmicas pequeñas y recubiertas por una capa continua de cutícula, la cual aumentó de espesor hacia la cosecha (Fig. 14B-E). Debajo de la epidermis se observó una



hipodermis compuesta por 4-5 capas de células subepidérmicas, similares a las células epidérmicas (Fig. 14B-E). Al progresar el desarrollo del fruto, estas células hipodérmicas se expandieron principalmente en el plano radial y tangencial (Fig. 14C-E).

En el estadio de plena floración, los cortes transversales de ovarios mostraron que las regiones que conformarán el mesocarpo y la zona más externa del endocarpo en el futuro fruto presentaban células de similar aspecto, pequeñas e isodiamétricas (Fig. 14B). Sólo la presencia de un anillo de haces vasculares en la parte más interna del mesocarpo permitió separar ambas regiones (Fig. 14B). En el endocarpo, además, se reconoció una zona media compuesta por células alargadas en dirección tangencial y una zona interna, constituida por un estrato de pequeñas células bordeando los lóculos (Fig. 14B). Las células del endocarpo no se encontraban lignificadas aún (Fig. 14B). En el interior del ovario se observaron dos lóculos, conteniendo cada uno de ellos dos óvulos (Fig. 14B).

A partir de plena floración y durante el desarrollo del fruto, las células que componían al mesocarpo y al endocarpo comenzaron a diferenciarse entre sí (Fig. 14C). Internamente a la hipodermis, el mesocarpo estaba constituido por células parenquimáticas de similar apariencia, con escasos espacios intercelulares y que tendían a alargarse principalmente en el plano radial hacia la cosecha (Fig. 14C-E).

Por su parte, en el endocarpo aparecieron las primeras células esclerificadas a las 4 SDPF, constituyendo un 30% del total de células endocárpicas (Fig. 15A). A las 6 SDPF, aumentó el grado de esclerificación de las esclereidas y su nivel de ocupación alcanzó un 50% (Fig. 15B). A las 8 semanas de desarrollo frutal, el endocarpo mostró esclereidas con paredes secundarias más gruesas, alcanzando un nivel de ocupación de 66% (Fig. 15C). En esta misma fecha, la capa de células que constituía la zona interna del endocarpo, presentó células con diámetro radial mayor al tangencial (Fig. 14C). Finalmente, a las 12 y 19 SDPF se observó una esclerificación masiva de las células endocárpicas (Fig. 15D y E).

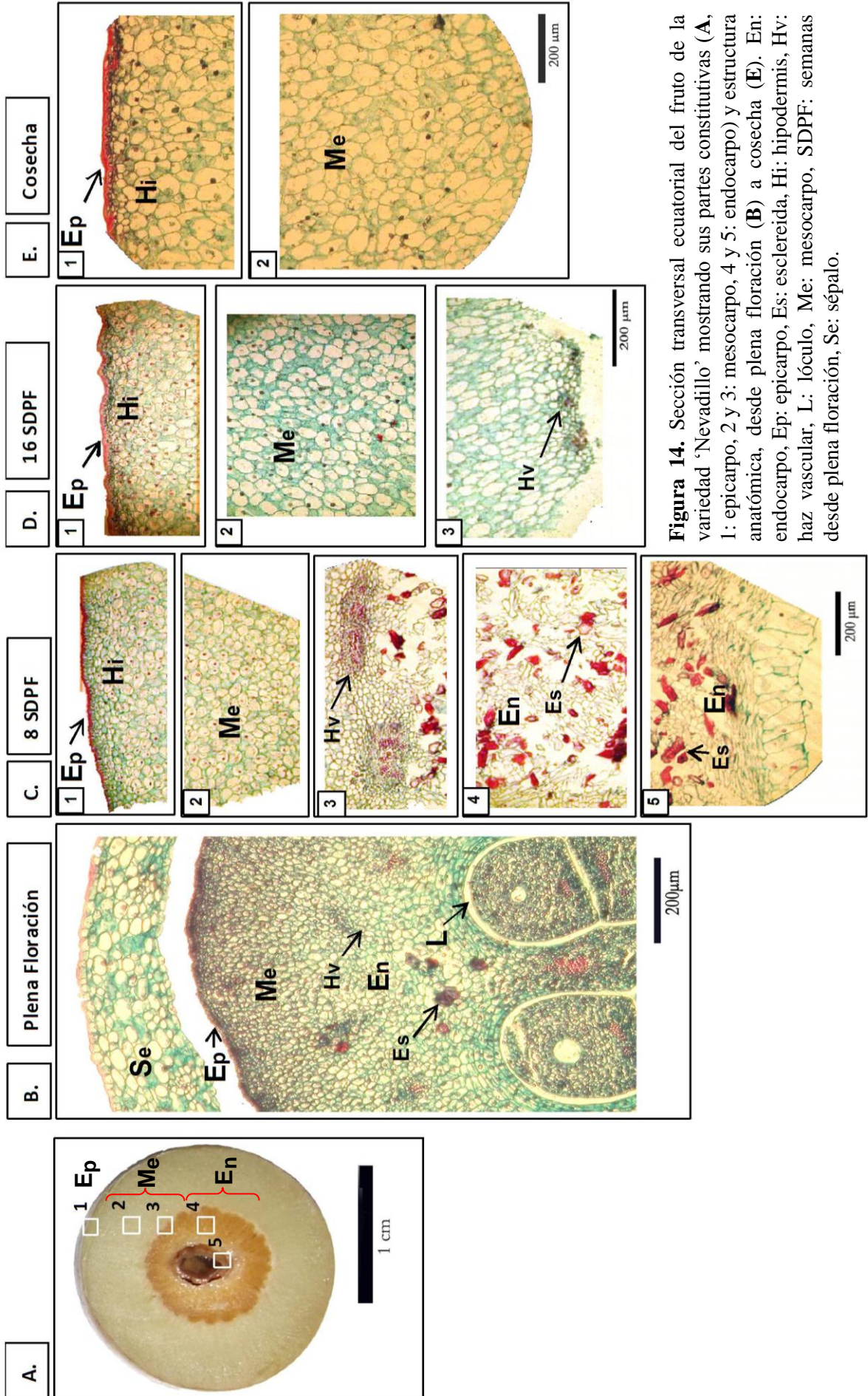


Figura 14. Sección transversal ecuatorial del fruto de la variedad 'Nevadillo' mostrando sus partes constitutivas (A), 1: epicarpo, 2 y 3: mesocarpo, 4 y 5: endocarpo) y estructura anatómica, desde plena floración (B) a cosecha (E). En: endocarpo, Ep: epicarpo, Es: esclerida, Hi: hipodermis, Hv: haz vascular, L: lóculo, Me: mesocarpo, SDPF: semanas desde plena floración, Se: sépalo.

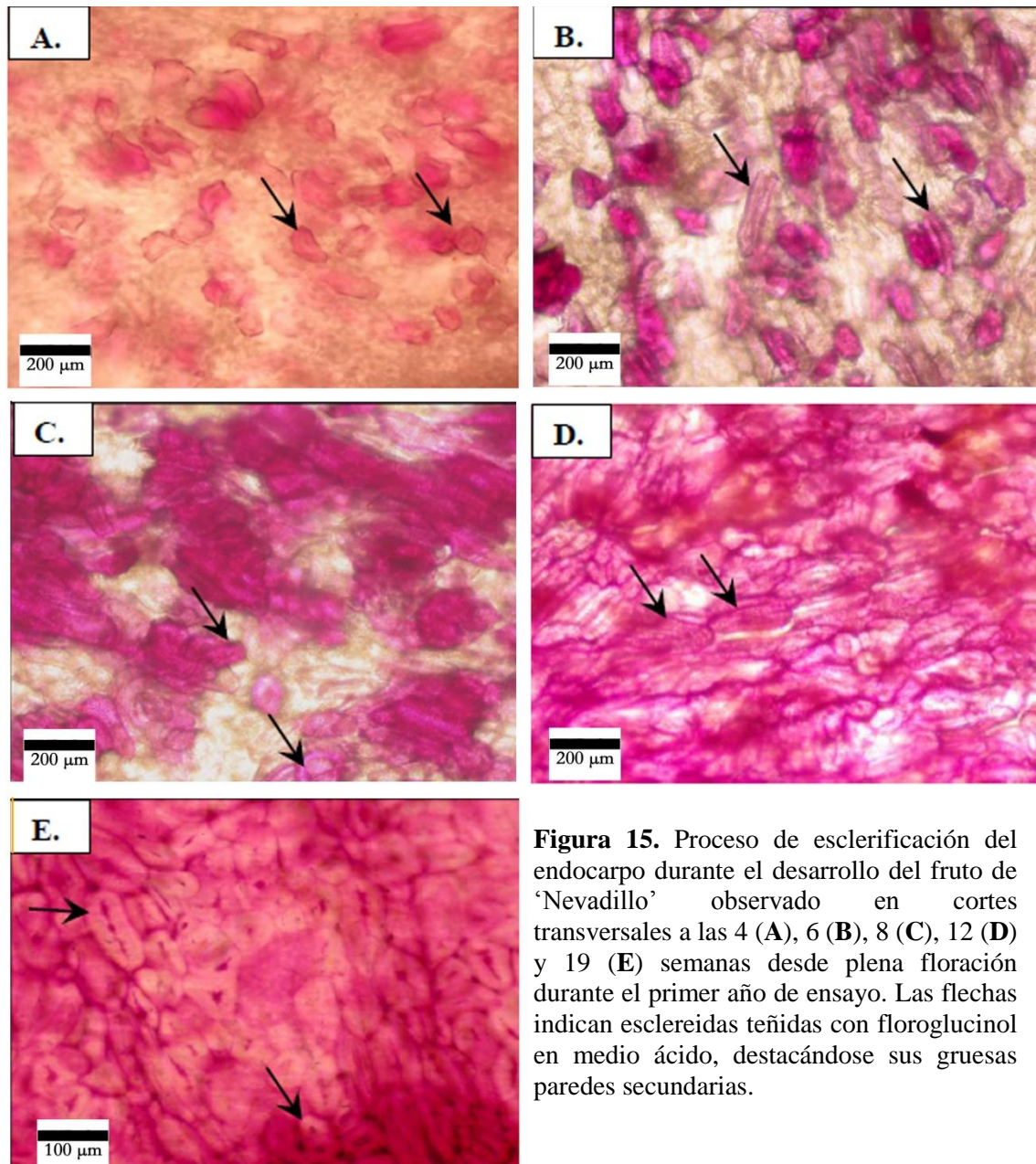


Figura 15. Proceso de esclerificación del endocarpo durante el desarrollo del fruto de ‘Nevadillo’ observado en cortes transversales a las 4 (A), 6 (B), 8 (C), 12 (D) y 19 (E) semanas desde plena floración durante el primer año de ensayo. Las flechas indican esclereidas teñidas con floroglucinol en medio ácido, destacándose sus gruesas paredes secundarias.

3.1.4.2 Área celular y número de células del mesocarpo

El análisis histológico realizado sobre las secciones transversales del mesocarpo, mostró que tanto el AT celular como el número de células aumentaron de manera continua desde las 2 hasta las 20 SDPF, último muestreo del primer año (Fig. 16). En los primeros estadios el aumento fue moderado, acelerándose entre las 8 y 12 SDPF (de 453 a 1125 μm^2 /semana, Figs. 16A y 17). También se observó un incremento constante en el número de células mesocárpicas, aunque más regular durante la mayor parte del desarrollo del fruto (Fig. 16B).

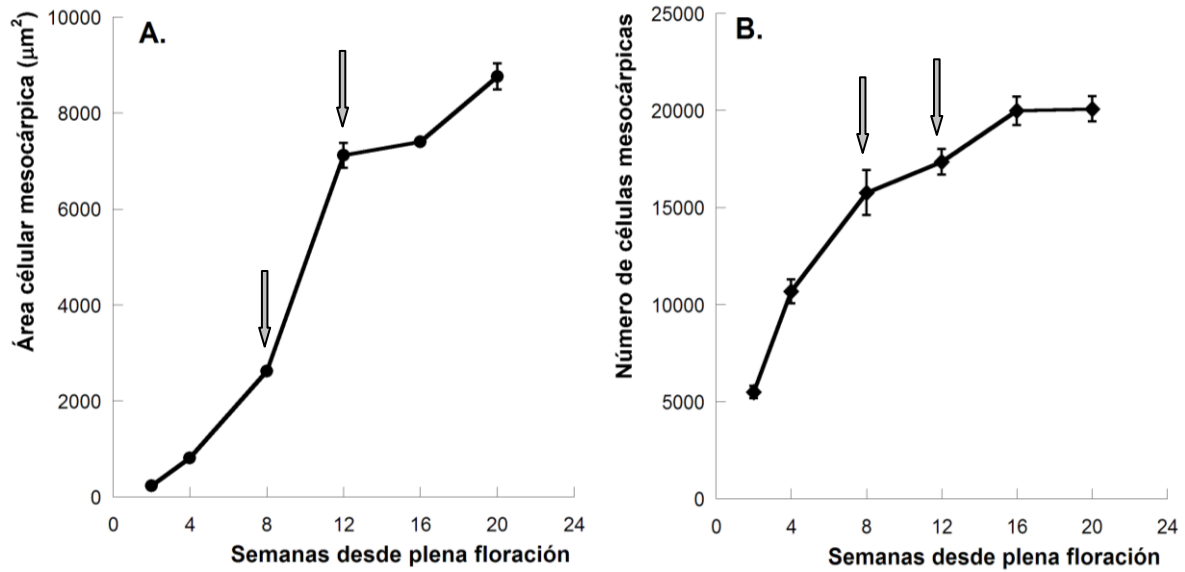


Figura 16. Área celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, **A**) y número total de células (**B**) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

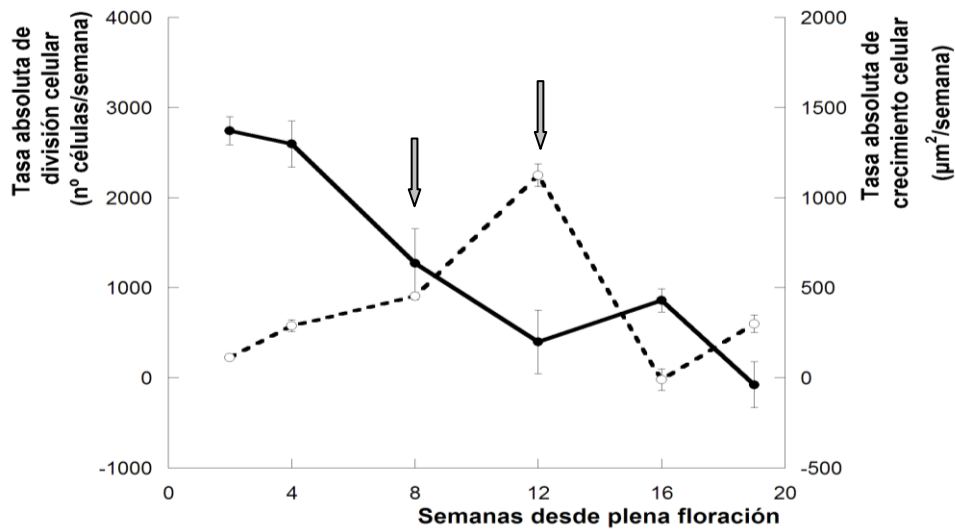


Figura 17. Tasa absoluta de división celular (Nº células/semana, —●) y de crecimiento celular ($\mu\text{m}^2/\text{semana}$, - -○) del mesocarpo del fruto de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Los valores máximos de la tasa absoluta de división celular del mesocarpo se registraron durante las primeras 4 SDPF, con un promedio de 2669 células/semana (Fig. 17). Luego esta tasa decayó de manera gradual hasta alcanzar un tasa de 0 células/semana en la última fecha de muestreo (19 SDPF, Fig. 17). Por su parte, la tasa absoluta de crecimiento celular aumentó de manera constante desde las 2 SDPF hasta las 12 SDPF, donde se registró el valor máximo (1125 μm^2 /semana, Fig. 17).

3.1.4.3 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular

Se observó una fuerte relación lineal entre AT_m de los frutos de ‘Nevadillo’ a cosecha y el AT de las células mesocárpicas ($r^2=0,46$), mientras no se encontró relación con el número final de células ($r^2=0,006$, Fig. 18).

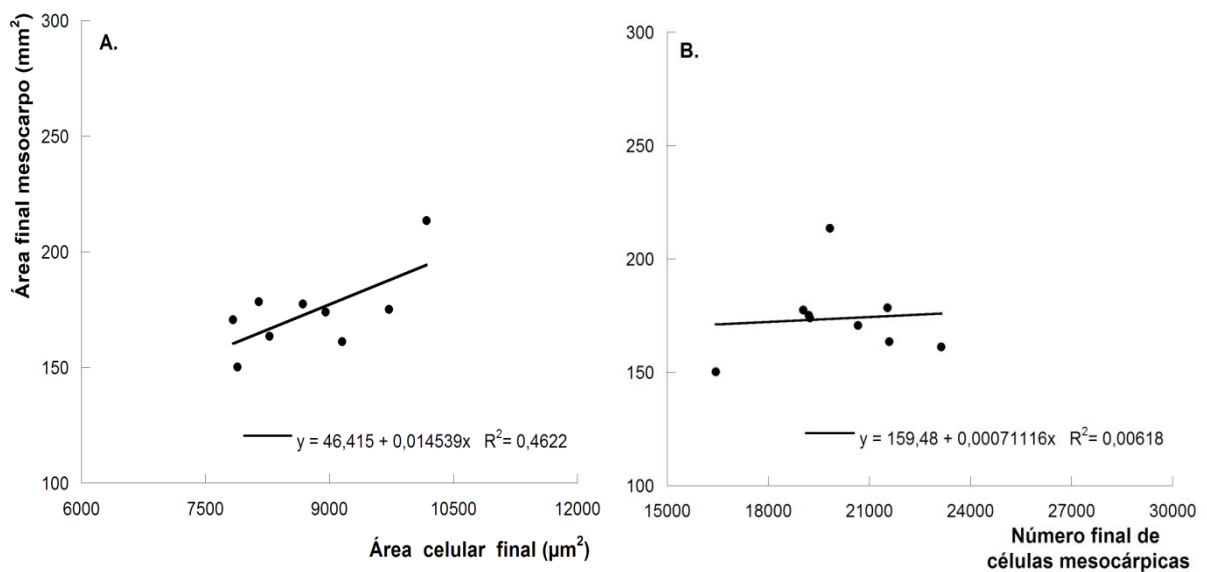


Figura 18. Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm²) y el área transversal celular (μm²/célula, **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ durante el primer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de nueve árboles.

3.2 Segundo año de ensayo

3.2.1 Variables climáticas

La lluvia registrada durante el ciclo de crecimiento del olivo durante el segundo año de ensayo totalizó 540 mm, la temperatura mínima promedio fue 13,5 °C, la máxima 26 °C y la media 19,7 °C (Fig. 19).

El régimen de riego, definido por el productor, se estableció en los meses de diciembre y enero cuando las lluvias fueron insuficientes, totalizando 53 mm, y existió una gran demanda hídrica debido a las altas temperaturas (30 °C de temperatura máxima promedio) (Fig. 19A). También durante el mes de abril fue necesaria la aplicación del riego, al presentarse escasez de precipitaciones (21,7 mm mensuales, Fig. 19B). El aporte de agua de riego durante todo el ensayo totalizó 222 mm por árbol.

3.2.2 Estadios fenológicos

En el segundo año de ensayo, la floración inició diez días antes en los árboles de la variedad ‘Arbequina’ que en los de ‘Nevadillo’, siendo una diferencia no relevante desde el punto de vista productivo. Por tal motivo, se fijó el día 17 de noviembre de 2011 como fecha promedio de plena floración para ambas variedades. Cumplidas las 2 SDPF se produjo la caída de los pétalos (estadio 68) y se hicieron visibles los frutos recién fecundados, llegando al estadio 72 a las 4 SDPF, donde los frutos presentaron el 20% de su tamaño final. El proceso de esclerificación del endocarpo se detectó en el período comprendido entre las 8 y 12 SDPF, al comprobar que esta porción de la drupa no podía ser atravesada transversalmente con una cuchilla de micrótopo. A las 16 SDPF los frutos se encontraban con el 60% de su tamaño final (estadio 76), el período de envero se produjo pasadas las 20 SDPF y el estadio 89 (frutos maduros con epicarpo de color característico de la variedad, aptos para la extracción de aceite) se logró a las 26 SDPF. En este momento se realizó la cosecha manual de los frutos.

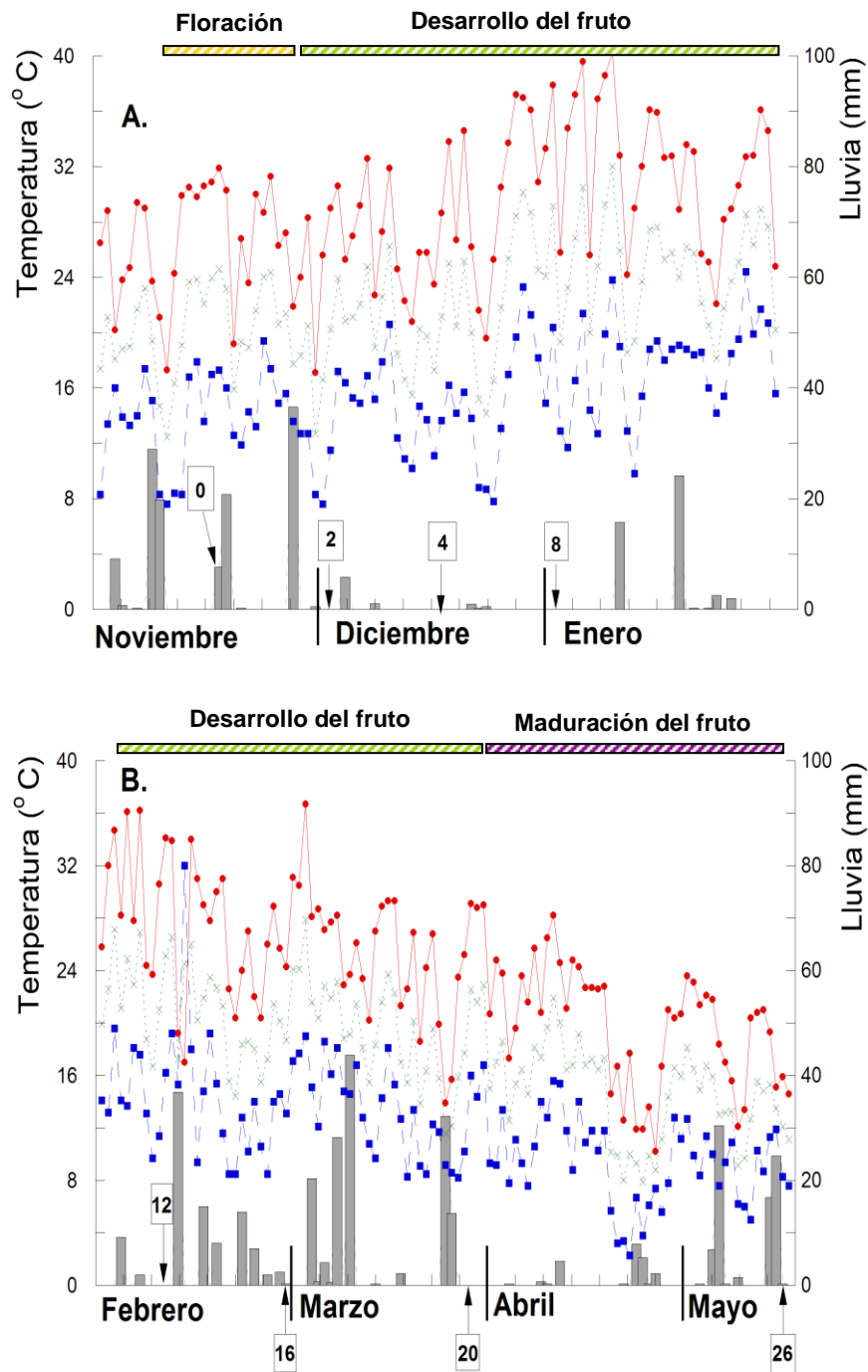


Figura 19. Temperatura (°C) máxima (—●), mínima (—■) y media (—x) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el segundo año de ensayo: noviembre de 2011 a enero de 2012 (A) y febrero a mayo de 2012 (B). Las barras superiores indican el principal estadio fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración.

Durante el segundo año de ensayo, de las plantas en floración disponibles para realizar los muestreos, los árboles bajo condiciones de riego se encontraban en un año de alta carga floral (año “on”) y aquellos bajo condiciones de secano en uno de descarga (año “off”). Esto, se interpretó como un desfase entre ambos tratamientos, producto de la diferente disponibilidad hídrica entre los lotes elegidos. Ante esta diferencia, no fue factible comparar los cambios morfológicos y anatómicos del fruto entre los regímenes hídricos planteados, de manera que se estudió solo el desempeño de las variedades creciendo en cada una de las condiciones hídricas por separado.

3.2.3 Estado hídrico del cultivo

Aún cuando se presentaron diferencias en el estado reproductivo de los árboles de ambos regímenes hídricos (árboles en estado “on” y “off”), de la observación de la magnitud del índice CRA_h , surge que los valores estimados fueron similares en cada fecha de muestreo, mostrando en general valores más bajos a mitad del ciclo de crecimiento (12 y 16 SDPF) y oscilando entre 62 y 79% durante toda la temporada evaluada (Tabla 2).

Tabla 2. Contenido relativo de agua foliar (CRA_h ,%) durante el desarrollo del fruto bajo condiciones de riego y secano en el segundo año de ensayo. SDPF: semanas desde plena floración.

Régimen hídrico	CRA_h (%)				
	4 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	26 SDPF
Riego	77,10	62,24	67,95	70,61	70,84
Secano	79,75	63,02	69,32	72,60	71,30

Bajo condiciones de riego no se apreciaron diferencias ($p > 0,05$) en el CRA_h de las variedades durante todo el periodo de muestreo (Tabla 3). En los árboles de ‘Nevadillo’ bajo secano, a las 26 SDPF, sí se observó que el índice de CRA_h fue 6,9 % mayor ($p \leq 0,05$) que ‘Arbequina’ (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido relativo de agua foliar (CRA_h ,%) durante el desarrollo del fruto de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ en el segundo año de ensayo. Para cada régimen hídrico en cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

Régimen hídrico	Variedad	CRA_h (%)				
		4 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	26 SDPF
Riego	Arbequina	73,75 a	62,72 a	67,92 a	69,08 a	70,56 a
	Nevadillo	80,45 a	61,75 a	67,97 a	72,14 a	71,12 a
Secano	Arbequina	77,66 a	64,97 a	68,73 a	70,75 a	67,84 a
	Nevadillo	81,85 a	61,06 a	69,91 a	74,46 a	74,76 b

3.2.4 Cambios morfológicos del fruto

Las plantas de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ presentaron frutos con un AT_f y AT_m similar desde el primer muestreo hasta las 12 SDPF en ambos regímenes hídricos (Fig. 20A-D). A partir de allí, se observó un aumento diferencial ($p\leq 0,01$) del AT_f y del AT_m de los frutos de ‘Nevadillo’ con respecto a los de ‘Arbequina’, alcanzando una diferencia al momento de cosecha de 30-35 y 31 mm^2 en riego y en secano, respectivamente (Fig. 20A-D).

El AT_e de los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ presentó un incremento acelerado desde las 2 a las 8 SDPF, momento en el cual comenzó a ser más lento, hasta estabilizarse entre las 12 y 16 SDPF (Fig. 20E y F). Esta estabilización del AT_e coincidiría con el proceso de esclerificación del endocarpo, detectado entre las 8 y 12 SDPF.

A cosecha, se observó una tendencia a una mayor AT_f (Fig. 20B) y del mesocarpo (Fig. 20D) en ambas variedades bajo condiciones de secano. La baja carga frutal que presentaron los árboles bajo estas condiciones (sección 3.2.6.1) podría haber favorecido un mayor desarrollo de esos escasos frutos con respecto a los frutos cosechados de árboles bajo riego, con alta carga frutal (Fig. 20A y C).

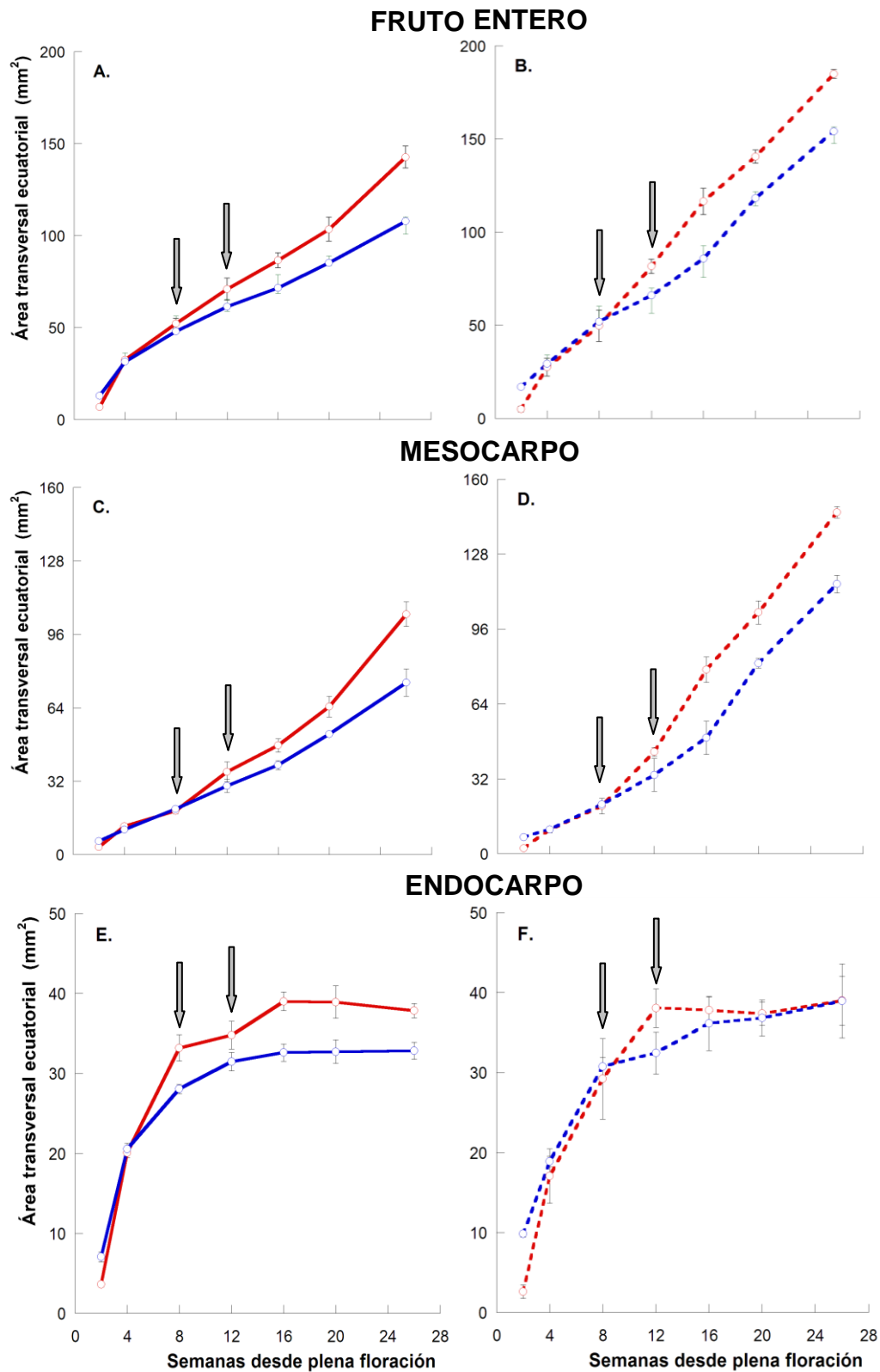


Figura 20. Área transversal ecuatorial (mm^2) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo de los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A, C y E) y seco (líneas punteadas, B, D y F) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Las variaciones observadas en el AT_f estuvieron asociadas, en general, a mayores TCA_f y TCA_e a las 2 y 4 SDPF y a mayores TCA_m en las últimas semanas de muestreo (Fig. 21).

Las TCA_f bajo condiciones de riego alcanzaron su valor máximo las 4 SDPF siendo de 9 y 13 mm^2 /semana en ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, respectivamente (Fig. 21A). Las máximas TCA_e bajo estas condiciones y en esta fecha de muestreo, fueron de 7 y 8 mm^2 /semana en ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, respectivamente (Fig. 21E).

Bajo condiciones de secano, las máximas TCA_f y TCA_e de los frutos de ‘Nevadillo’ se observó a las 4 SDPF, al igual que los frutos crecidos bajo riego, alcanzando valores de 11 y 7 mm^2 /semana, respectivamente (Fig. 21B y F). En cambio, en los frutos de ‘Arbequina’ bajo secano las mayores TCA_f y TCA_e se observaron a las 2 SDPF, siendo de 8 y 5 mm^2 /semana, respectivamente (Fig. 21B y F).

Las máximas TCA_m de los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ observadas bajo condiciones de riego se presentaron en la última semana de desarrollo, 4 y 7 mm^2 /semana, respectivamente (Fig. 21C). Bajo secano, la TCA_m de ‘Nevadillo’ fue máxima a las 16 SDPF (9 mm^2 /semana, Fig. 21D) y la de ‘Arbequina’, a las 20 SDPF (8 mm^2 /semana, Fig. 21D).

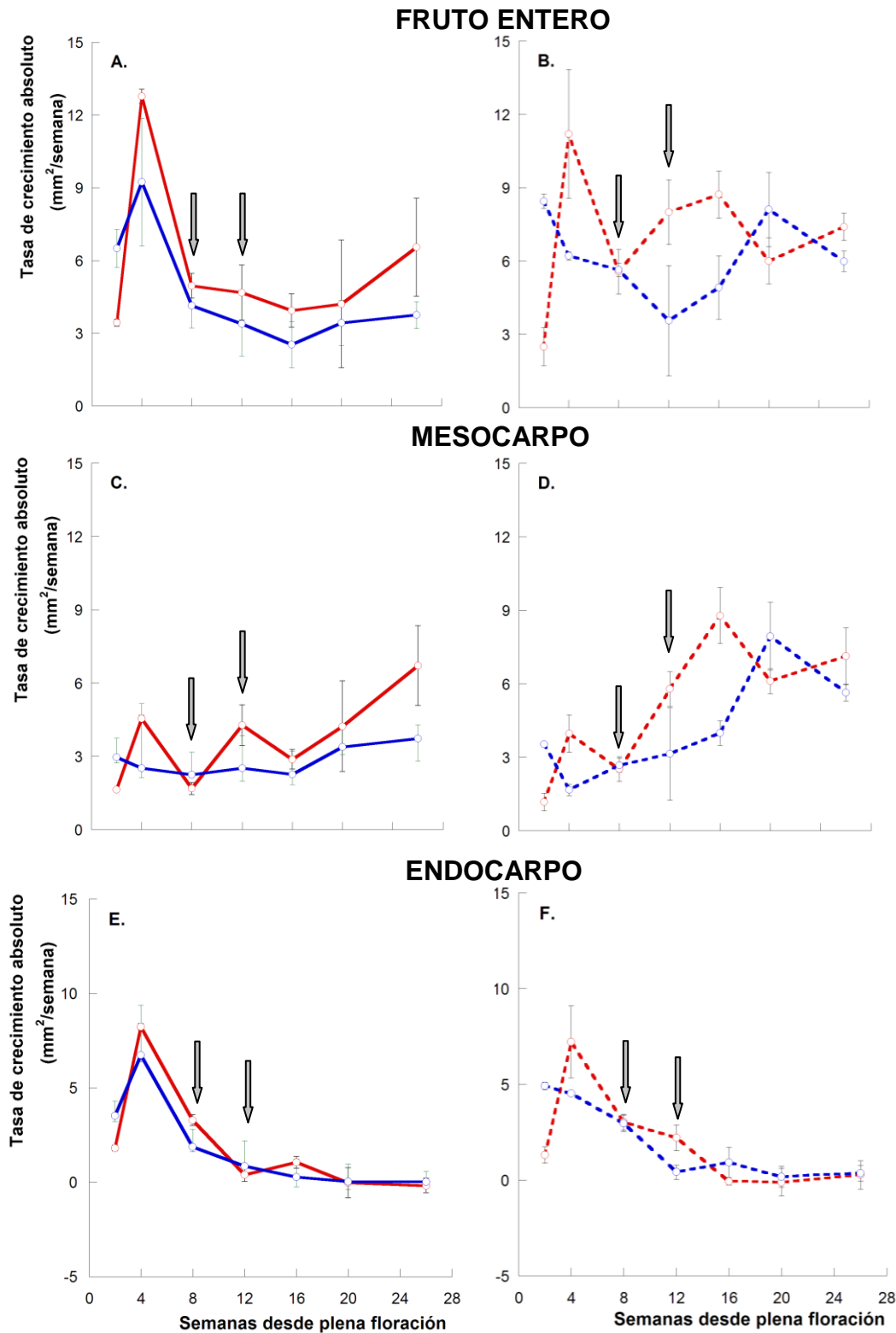


Figura 21. Tasa de crecimiento absoluto (mm²/semana) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo en la variedad ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, A, C y E) y seco (líneas punteadas, B, D y F) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Al igual que lo observado en el primer año, el volumen del fruto en ambas variedades aumentó en sincronía con el AT_f (Tabla 4). Excepto en las primeras fechas de muestreo bajo condiciones de secano, el volumen de los frutos fue significativamente menor ($p \leq 0,05$) en ‘Arbequina’ que en ‘Nevadillo’ (Tabla 4), poniendo en evidencia las diferencias morfológicas características entre estas variedades. Al momento de la cosecha (26 SDPF), el volumen de los frutos de ‘Arbequina’ fue un 51 y 37% menor ($p \leq 0,05$) que en ‘Nevadillo’, bajo riego y en secano, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el segundo año de ensayo. En cada fecha y nivel hídrico, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

SDPF	Volumen del fruto (cm^3)			
	Riego		Secano	
	Nevadillo	Arbequina	Nevadillo	Arbequina
2	0,02 a	0,04 b	0,01 a	0,05 b
4	0,27 a	0,20 b	0,21 a	0,18 a
8	0,59 a	0,39 b	0,53 a	0,43 a
12	0,86 a	0,49 b	0,99 a	0,58 a
16	1,10 a	0,60 b	1,48 a	0,79 b
20	1,31 a	0,73 b	1,89 a	1,15 b
26	2,12 a	1,03 b	2,73 a	1,71 b

3.2.4.1 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo

Se observó una relación lineal y positiva entre el AT_f y el AT_m de los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ al momento de la cosecha y crecidos bajo condiciones de riego y secano durante el segundo año de ensayo ($r^2=0,99$ y $r^2=0,89$, respectivamente, Fig. 22A y B). Sin embargo, la relación entre el AT_f y el AT_e solamente fue significativa bajo condiciones de riego (Fig. 22C, $r^2=0,92$).

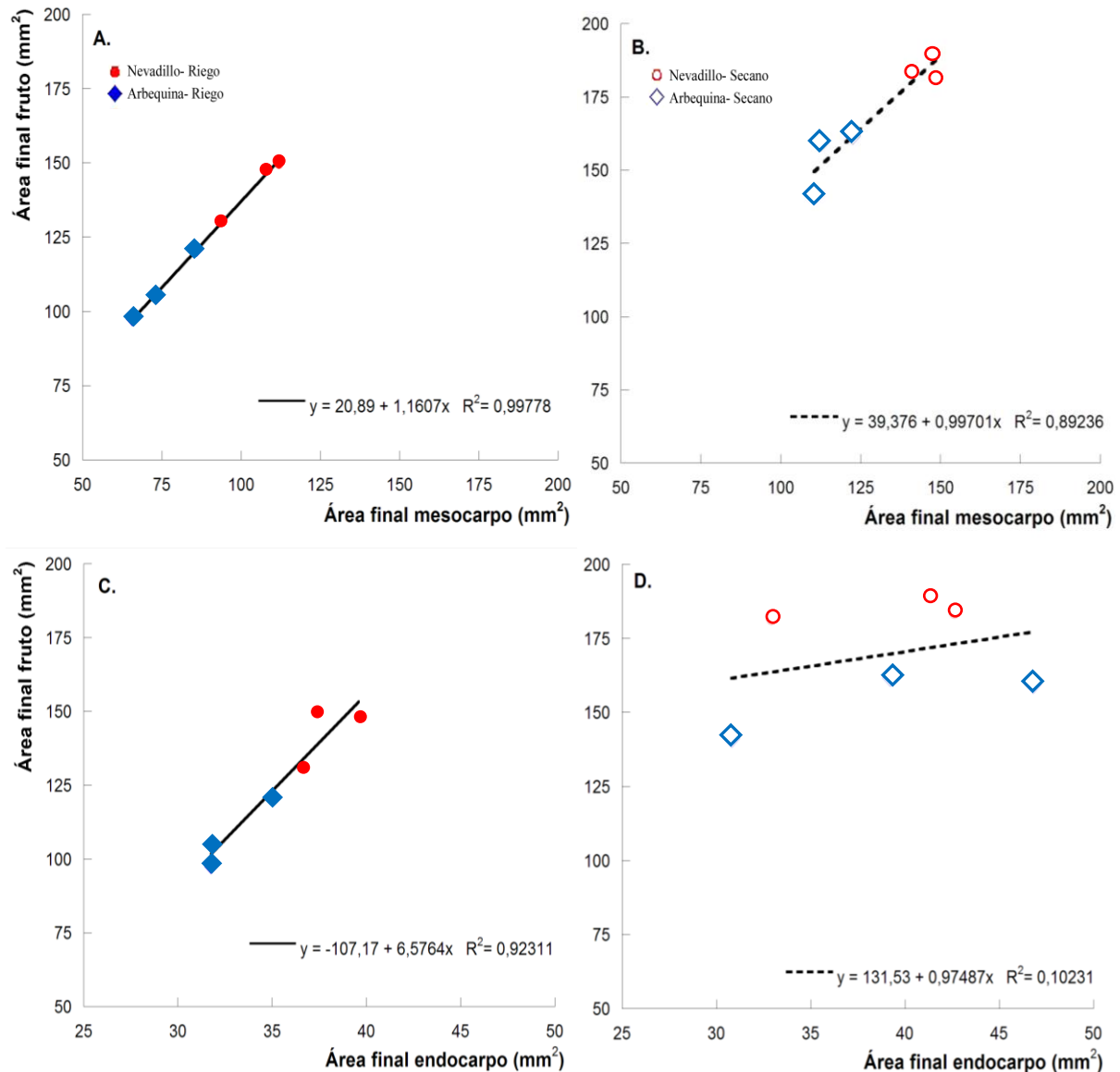


Figura 22. Relación entre el área transversal final del fruto (mm^2) y el área transversal final del mesocarpo (mm^2 , **A** y **B**) y del endocarpo (mm^2 , **C** y **D**) en ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’, bajo condiciones de riego (**A** y **C**) y secano (**B** y **D**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento.

3.2.5 Anatomía del fruto

3.2.5.1 Área celular y número de células del mesocarpo

El análisis histológico realizado en secciones transversales del mesocarpo de los frutos de las dos variedades estudiadas, creciendo bajo los dos regímenes hídricos, mostró que el AT de las células mesocárpicas se incrementó de manera continua desde

los días posteriores a la fecundación hasta la maduración del fruto (Fig. 23A y B). Al comparar las variedades, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en el AT de las células del mesocarpo durante todo el período de crecimiento estudiado (Fig. 23A y B).

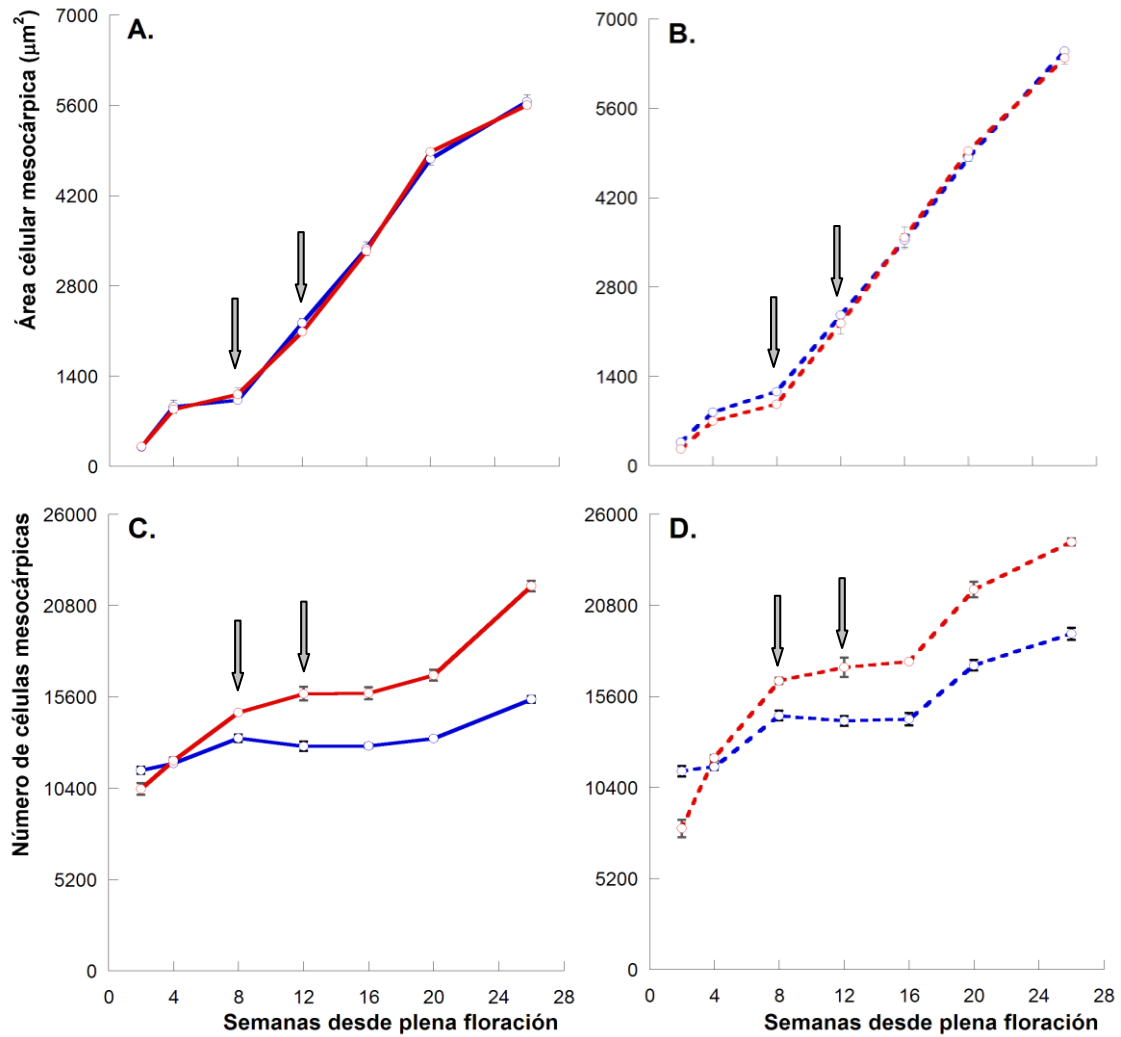


Figura 23. Área celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, **A** y **B**) y número total de células (**C** y **D**) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, **A** y **C**) y secano (líneas punteadas, **B** y **D**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Las mayores tasas absolutas de crecimiento celular se observaron a las 4, 12, 16 y 20 SDPF (Fig. 24A y B). En cambio, la menor tasa absoluta de crecimiento celular se registró a las 8 SDPF en todos los tratamientos (Fig. 24A y B), momento en que los frutos se encontraban con un 20-30% de AT_f final (Fig. 20A y B) y había comenzando el endurecimiento del endocarpo. Las máximas tasas, observadas a las 20 SDPF, fueron de 348 y 323 $\mu\text{m}^2/\text{semana}$ en los frutos de ‘Arbequina’, bajo riego y seco, respectivamente, y de 383 y 339 $\mu\text{m}^2/\text{semana}$ en los frutos de ‘Nevadillo’, bajo riego y seco, respectivamente (Fig. 24A y B).

En contraste con el incremento del AT celular, el número de células del mesocarpo se incrementó rápidamente en la primera fase de desarrollo del fruto y luego de las 16 SDPF (Fig. 23C y D). Estos incrementos fueron más marcados en ‘Nevadillo’ que en ‘Arbequina’ (Fig. 23C y D).

La tasa absoluta de división celular fue máxima a las 2 SDPF, registrándose valores de 5708 y 5660 células/semana bajo riego y seco, respectivamente en ‘Arbequina’, y de 5176 y 4023 células/semana bajo riego y seco, respectivamente en ‘Nevadillo’ (Fig. 25). A partir de allí, hubo una abrupta disminución de la tasa absoluta de división celular, reduciéndose a valores de entre 0 y 1000 células/semana a partir de las 4 SDPF (Fig. 25).

Excepto a las 2 SDPF, los frutos de ‘Nevadillo’ presentaron un mayor ($p \leq 0,01$) número de células en la sección transversal del mesocarpo que los frutos de ‘Arbequina’ durante todo el desarrollo del mesocarpo (Fig. 23C y D). Al momento de la cosecha (26 SDPF), esa diferencia fue de 6460 y 5249 células bajo condiciones de riego y seco, respectivamente (Fig. 23C y D).

Los frutos de ‘Arbequina’ tuvieron un 60-75% del total de células del fruto maduro a las 2 SDPF, mientras que los frutos de ‘Nevadillo’ presentaron esa proporción del total de células a las 8-12 SDPF (Fig. 23C y D).

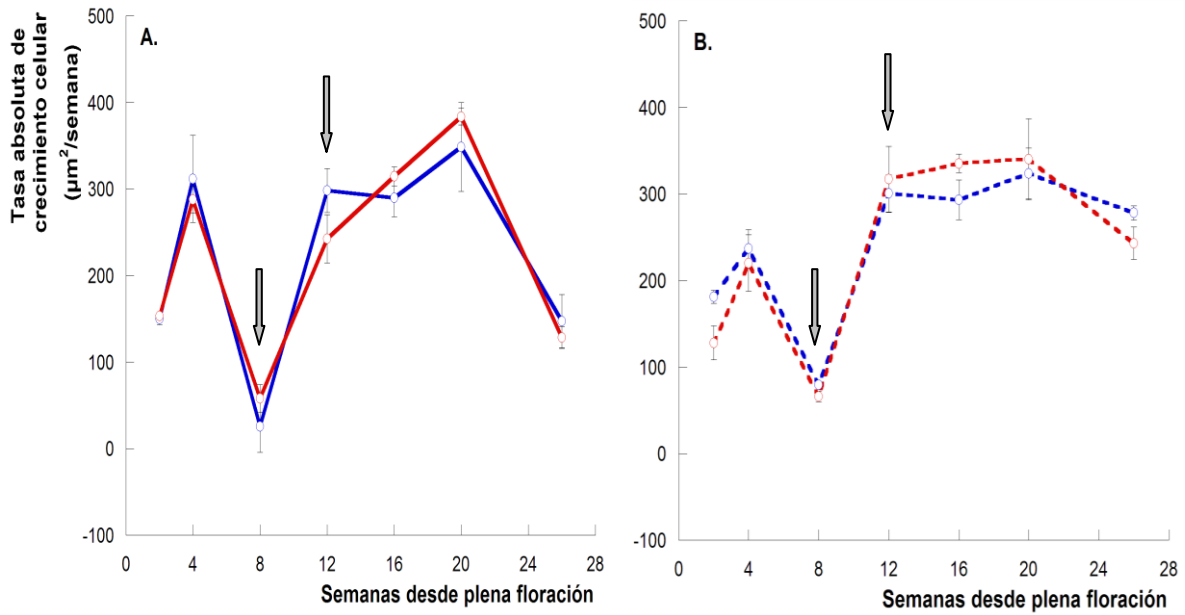


Figura 24. Tasa absoluta de crecimiento celular ($\mu\text{m}^2/\text{semana}$) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, **A**) y secano (líneas punteadas, **B**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

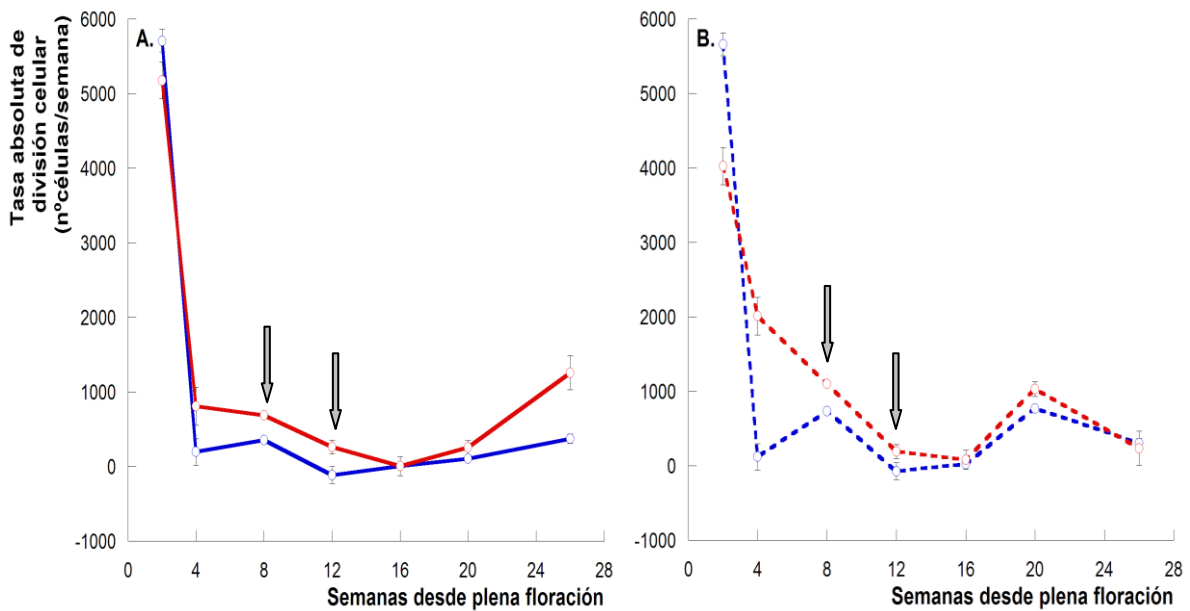


Figura 25. Tasa absoluta de división celular ($\text{N}^\circ\text{células}/\text{semana}$) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras, **A**) y secano (líneas punteadas, **B**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de tres árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

3.2.5.2 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular

El análisis de regresión lineal no mostró una correspondencia clara entre el AT_m final y el AT de las células del mismo en el segundo año de ensayo, tanto en el tratamiento de riego como en seco ($r^2=0,04$ y $r^2=0,33$ respectivamente, Fig. 26). En cambio, se observó una relación lineal y positiva entre el AT_m y el número de células mesocárpicas producidas ($r^2=0,71$ y $r^2=0,78$ bajo riego y seco respectivamente, Fig. 26).

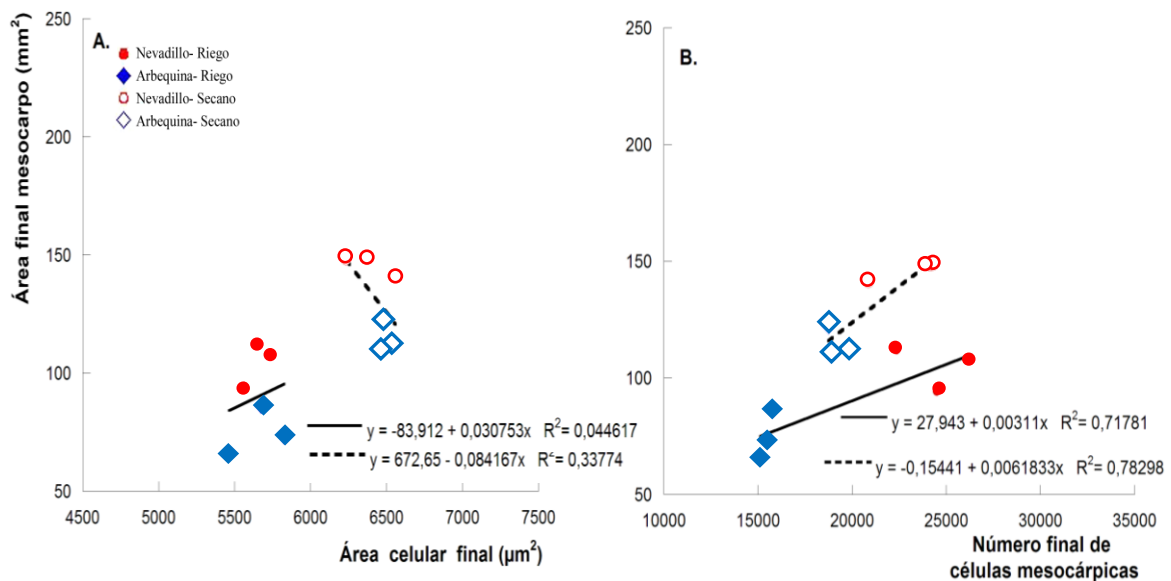


Figura 26. Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm²) y el área transversal celular (µm², **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ y bajo condiciones de riego y seco durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento.

3.2.6 Rendimiento y sus componentes

3.2.6.1 Rendimiento frutal e índice de madurez

El IM al momento de la cosecha mostró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre las variedades bajo condiciones de riego, siendo mayor en ‘Nevadillo’ (Tabla 5). El mismo adelanto madurativo en los frutos de ‘Nevadillo’ se observó bajo condiciones de seco, aunque sin diferencias significativas ($p > 0,05$; Tabla 5).

El contenido porcentual de H_{bs} y el rendimiento frutal por árbol fueron similares ($p > 0,05$) entre las variedades en ambos regímenes hídricos (Tabla 5). El rendimiento

frutal promedio de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ fue de 125 kg/árbol en el monte con riego suplementario y 18,5 kg/árbol en el monte bajo secano (Tabla 5), dejando en evidencia la diferencia de carga frutal entre los árboles de ambos montes (sección 3.2.2).

Tabla 5. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal por árbol (kg/árbol) de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ al momento de cosecha en el segundo año de ensayo. Para cada régimen hídrico, valores seguidos por las mismas letras en cada columna no difieren significativamente ($p>0,05$).

Régimen hídrico	Variedad	Índice de madurez	Humedad (% en base seca)	Rendimiento frutal (kg/árbol)
Riego	Arbequina	1,83 a	51,52 a	117 a
	Nevadillo	3,08 b	50,46 a	133 a
Secano	Arbequina	3,24 a	45,76 a	21 a
	Nevadillo	3,68 a	48,79 a	16 a

3.2.6.2 Rendimiento graso

Desde las 12 SDPF hasta la madurez del fruto se observó un patrón similar en la acumulación de MG_{bs} entre ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ creciendo en ambos regímenes hídricos; llegando a cosecha con un valor promedio de 35 y 45% bajo condiciones de riego y secano, respectivamente (Fig. 27).

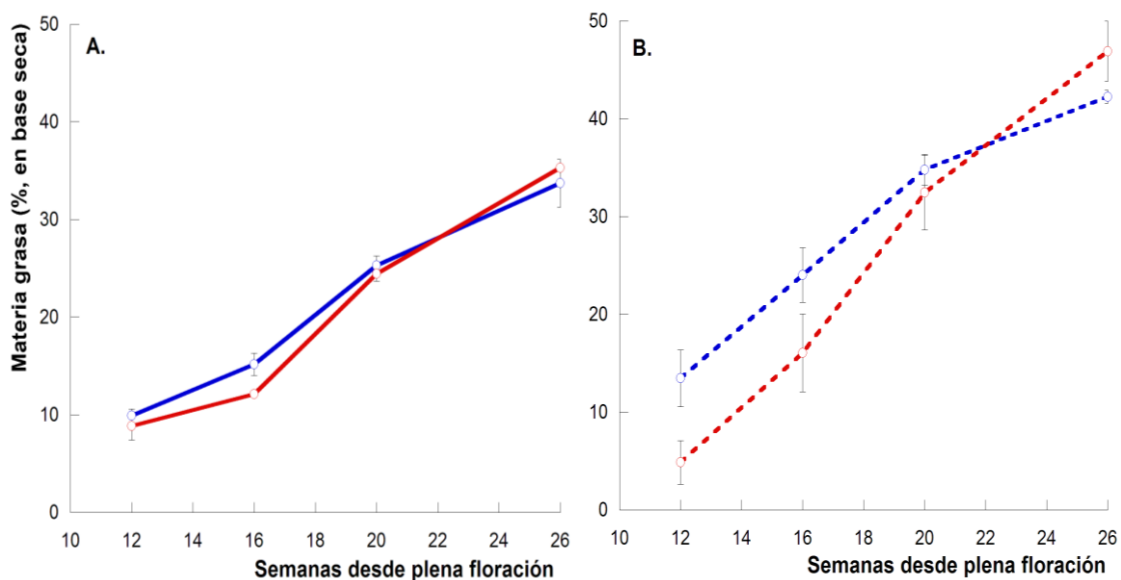


Figura 27. Acumulación de materia grasa (% en base seca) en los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas), bajo condiciones de riego (líneas enteras, **A**) y secano (líneas punteadas, **B**) durante el segundo año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de tres árboles por tratamiento.

3.3 Tercer año de ensayo

3.3.1 Variables climáticas

La lluvia recibida sobre el monte de olivo en estudio durante el tercer año de ensayo totalizó 420 mm, la temperatura mínima promedio fue 12,7 °C, la máxima 23,6 °C y la media 18,2 °C (Fig. 28). Durante el período de floración (1 a 25 de noviembre) se registraron temperaturas mínimas inferiores o iguales a 8 °C (Fig. 28).

El aporte de agua de riego durante todo el tercer año de ensayo totalizó 184 mm por árbol.

3.3.2 Estadios fenológicos

La fecha promedio de plena floración para los árboles de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ fue el 5 de noviembre de 2012. A las 2 SDPF ocurrió la fecundación de los frutos y la caída de pétalos, y a las 4 SDPF los frutos se encontraban en el estadio 74, con el 40% de su tamaño final. Coincidiendo con los años anteriores, el endocarpo completó el proceso de lignificación de sus células en el intervalo comprendido entre las 8 y 12 SDPF. A las 16 SDPF los frutos alcanzaron el 80% de su tamaño final (estadio 78), llegando al estadio 89 (fruto maduro con el epicarpo del color característico de la variedad) a las 28 SDPF.

3.3.3 Estado hídrico del cultivo

No hubo evidencia de interacción ($p > 0,05$) entre los tratamientos variedad y régimen hídrico en ninguna de las fechas de muestreo.

En promedio para ambas variedades, el agua suplementaria aportada por el riego no se reflejó en diferencias significativas ($p > 0,05$) de los valores de CRA_h entre las plantas creciendo bajo riego y secano, excepto a las 28 SDPF (Tabla 6). Se observó una constante disminución del CRA_h hacia el final del ciclo del crecimiento del fruto bajo condiciones de secano alcanzando diferencias altamente significativas ($p \leq 0,001$) al momento de la cosecha, con un 5,61% de diferencia a favor de los árboles bajo riego (Tabla 6). Los valores de CRA_h oscilaron entre 66 y 79% (Tabla 6).

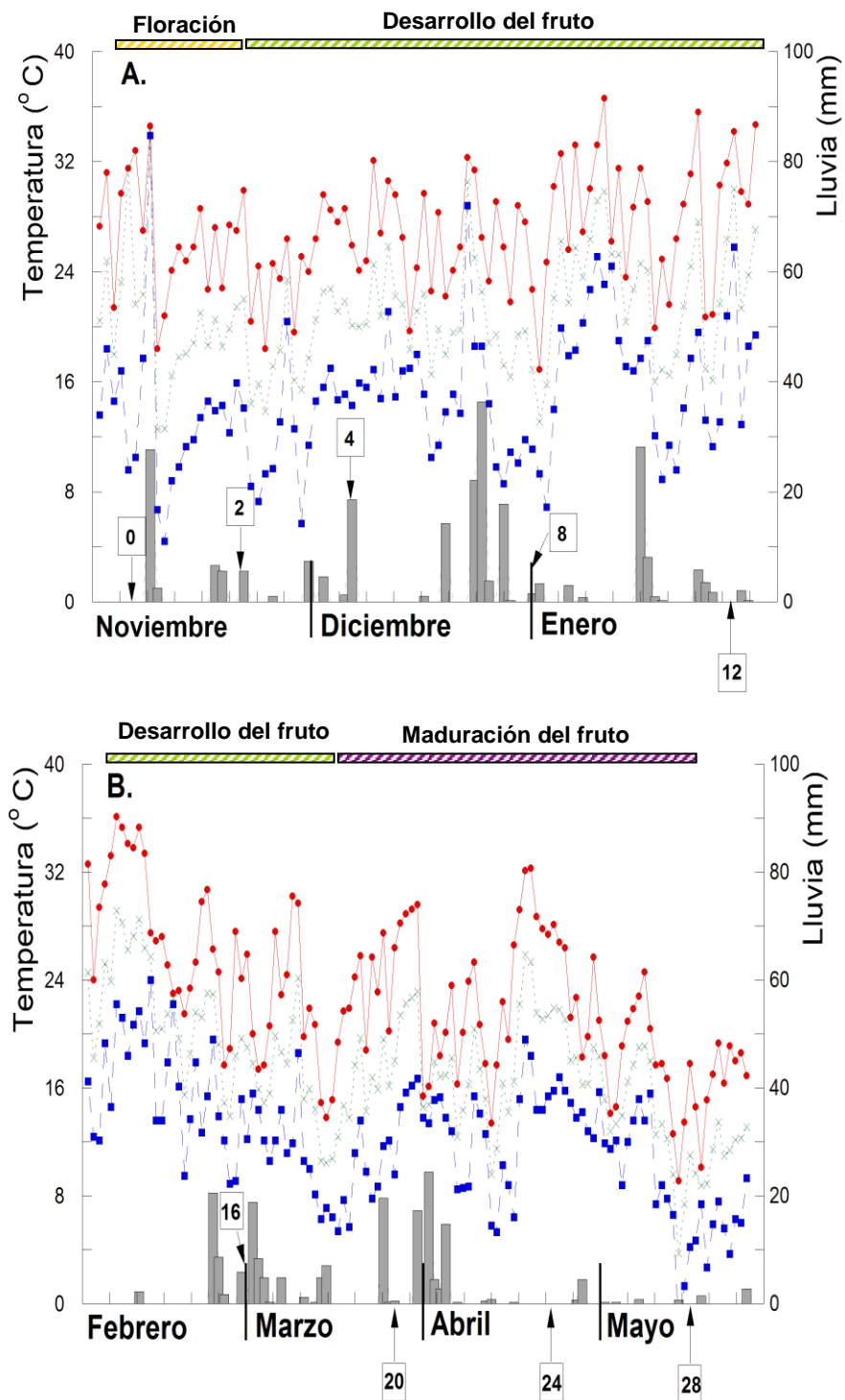


Figura 28. Temperatura (°C) máxima (—●), mínima (—■) y media (—x) y lluvia (mm, barras grises) diarias durante el tercer año de ensayo: noviembre de 2012 a enero de 2013 (A) y febrero a mayo de 2013 (B). Las barras superiores indican el principal estadio fenológico del cultivo. Las flechas indican las fechas de muestreo de frutos y los números dentro de los recuadros las semanas desde plena floración.

Tabla 6. Contenido relativo de agua foliar (CRA_h , %) bajo condiciones de riego y secano, en promedio para ambas variedades, durante el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

Régimen hídrico	CRA_h (%)					
	8 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	24 SDPF	28 SDPF
Riego	75,23 a	71,46 a	74,72 a	73,29 a	75,02 a	72,34 a
Secano	79,48 a	76,48 a	75,35 a	70,85 a	73,03 a	66,73 b

En promedio para ambos regímenes hídricos, el CRA_h fue similar ($p>0,05$) entre las variedades utilizadas durante el tercer año de ensayo, excepto a las 24 SDPF donde las hojas de ‘Nevadillo’ presentaron un CRA_h un 3,75% mayor ($p\leq 0,03$) que ‘Arbequina’ (Tabla 7).

Tabla 7. Contenido relativo de agua foliar (CRA_h , %) de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, en promedio para ambos regímenes hídricos, durante el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p>0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

Variedad	CRA_h (%)					
	8 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	24 SDPF	28 SDPF
Arbequina	78,54 a	74,96 a	75,76 a	70,61 a	72,15 a	70,52 a
Nevadillo	76,17 a	73,08 a	74,32 a	73,53 a	75,90 b	68,55 a

3.3.4 Cambios morfológicos del fruto

Los frutos producidos en los dos regímenes hídricos y en ambas variedades, presentaron un AT_f similar hasta las 8 SDPF, siendo en promedio de $52,41 \text{ mm}^2$ (Fig. 29A y B). Entre las 12 y 24 SDPF, tanto en riego como en secano, fue ‘Arbequina’ la variedad que presentó frutos de mayor AT_f ($p\leq 0,08$; Fig. 29A y B). Sin embargo, al momento de cosecha, no se alcanzó una diferencia significativa ($p=0,5$) entre variedades, alcanzando valores promedios de AT_f de 165 y 158 mm^2 en ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, respectivamente (Fig. 29A y B).

Los frutos de ‘Arbequina’ crecidos en árboles que recibieron riego suplementario presentaron mayor AT_f que los producidos en secano (Fig. 29A). Lo contrario se observó en ‘Nevadillo’, donde los frutos bajo secano desarrollaron mayor AT_f que los desarrollados bajo riego, aunque las diferencias sólo fueron significativas ($p < 0,003$) a las 12 y 16 SDPF (Fig. 29B).

La evolución del AT_f estuvo más relacionada con el aumento en el AT_e durante las primeras 8 SDPF, y con el AT_m a partir de las 12 SDPF (Fig. 29).

Las diferencias a favor de una mayor ($p \leq 0,04$) AT_m en ‘Arbequina’ se hicieron evidentes a partir de las 16 SDPF, tanto bajo secano como bajo riego (Fig. 29C y D). Sin embargo en la última fecha de muestreo no se encontraron diferencias entre el AT_m de las variedades ($p = 0,5$) ni entre los tratamientos hídricos ($p = 0,9$), obteniéndose un promedio de $127,5 \text{ mm}^2$ (Fig. 29C y D).

Desde la segunda a la octava SDPF se observó un incremento acelerado del AT_e en los frutos de ambas variedades y condiciones hídricas, siendo la tasa absoluta de crecimiento promedio de $5 \text{ mm}^2/\text{semana}$ (Fig. 30E y F). A partir de las 12 SDPF el endocarpo alcanzó la máxima AT_e (Fig. 29E y F), con un valor promedio de $34,3 \text{ mm}^2$ (Fig. 29E y F).

Las TCA calculadas en función a los cambios del AT_f y del AT_m durante el tercer año de ensayo evolucionaron de manera diversa según la variedad del olivo estudiada. El máximo valor de las TCA_f y TCA_m de los frutos de ‘Nevadillo’ fue de $10 \text{ mm}^2/\text{semana}$, se registró a las 28 SDPF y fue similar ($p = 0,5$) entre regímenes hídricos (Fig. 30B y D). Los frutos de ‘Arbequina’, por otro lado, presentaron máximos valores de TCA_f bajo riego a las 16 SDPF (Fig. 30A) y bajo condiciones de secano a las 4 SDPF (Fig. 30A), siendo en promedio de $12,03 \text{ mm}^2/\text{semana}$. Y las máximas TCA_m de los frutos de esta variedad ocurrieron a las 16 SDPF, con valores de $12,70$ y $9,92 \text{ mm}^2/\text{semana}$ bajo condiciones de riego y secano, respectivamente (Fig. 30C).

Las máximas TCA_e producidas durante el tercer año de ensayo, tanto en condiciones de riego y secano como en las dos variedades, ocurrieron a las 4 SDPF, previo al inicio del endurecimiento del endocarpo (Fig. 30E y F).

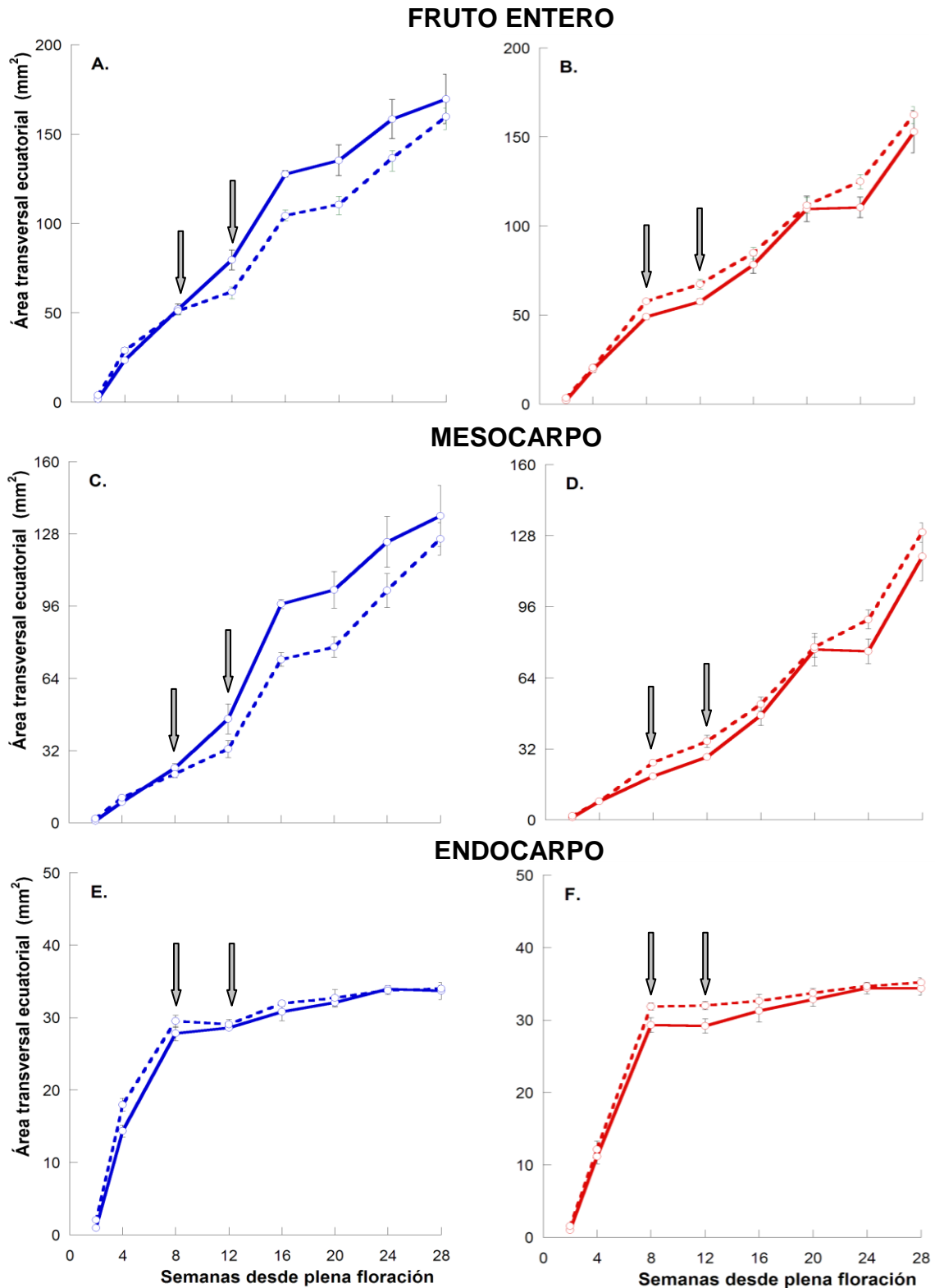


Figura 29. Área transversal ecuatorial (mm^2) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo de los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules, A, C y E) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, B, D y F), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

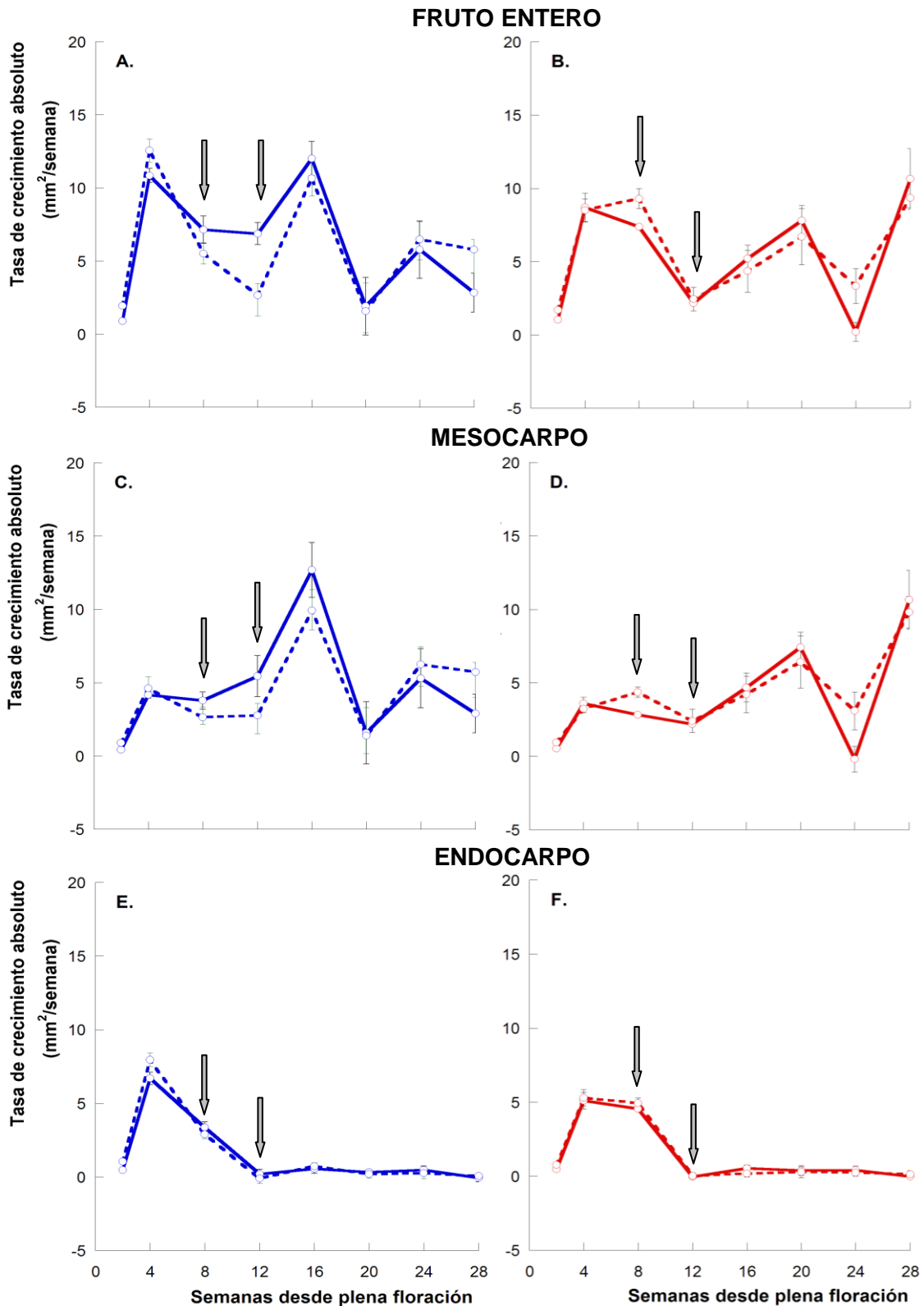


Figura 30. Tasa de crecimiento absoluto ($\text{mm}^2/\text{semana}$) del fruto entero, del mesocarpo y del endocarpo en la variedad ‘Arbequina’ (líneas azules, A, C y E) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, B, D y F), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y seco (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

Se observó interacción entre el factor variedad y régimen hídrico ($p < 0,05$) en el volumen del fruto, en las fechas de muestreo: 8, 12, 16 y 24 SDPF.

La respuesta observada en el volumen del fruto de ‘Arbequina’ a partir de las 12 SDPF durante el tercer año de ensayo (Tabla 8), al igual que lo observado para el AT_f de los mismos (Fig. 29 A), sugiere un efecto positivo del agua aportada a través del riego con respecto a los frutos producidos bajo secano, aunque las diferencias no fueron siempre significativas (Tabla 8). Al contrario, cuando el volumen de los frutos de ‘Nevadillo’ mostró diferencias significativas entre regímenes hídricos, estas diferencias fueron a favor de los frutos bajo condiciones de secano (Tabla 9). Sin embargo, a la cosecha, las diferencias observadas entre regímenes hídricos en cada una de las variedades no fueron significativas ($p > 0,05$, Tablas 8 y 9).

Si comparamos las variedades, los frutos de ‘Nevadillo’ producidos en ambos regímenes hídricos presentaron un volumen final promedio un 29% mayor ($p \leq 0,05$) con respecto a los frutos de Arbequina (Tablas 8 y 9).

Tabla 8. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Arbequina’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

Régimen hídrico	Volumen del fruto (cm^3)							
	2 SDPF	4 SDPF	8 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	24 SDPF	28 SDPF
Riego	0,002 a	0,12 a	0,41 a	0,73 a	1,33 a	1,46 a	1,81 a	1,96 a
Secano	0,006 b	0,16 b	0,38 a	0,50 b	0,96 b	1,04 a	1,40 a	1,76 a

Tabla 9. Volumen del fruto (cm^3) de ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y secano durante el desarrollo del fruto en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$). SDPF: semanas desde plena floración.

Régimen hídrico	Volumen del fruto (cm^3)							
	2 SDPF	4 SDPF	8 SDPF	12 SDPF	16 SDPF	20 SDPF	24 SDPF	28 SDPF
Riego	0,003 a	0,12 a	0,48 a	0,63 a	0,94 a	1,42 a	1,43 a	2,32 a
Secano	0,005 b	0,13 b	0,60 b	0,76 b	0,99 a	1,43 a	1,66 a	2,47 a

3.3.4.1 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo

El análisis de regresión lineal mostró un fuerte ($r^2 > 0,91$) relación positiva entre el AT_f y el AT_m en ambos regímenes hídricos durante el tercer año de ensayo (Fig. 31A y B). En cambio, la relación entre el AT_f y el AT_e fue débil ($r^2 = 0,12 - 0,16$).

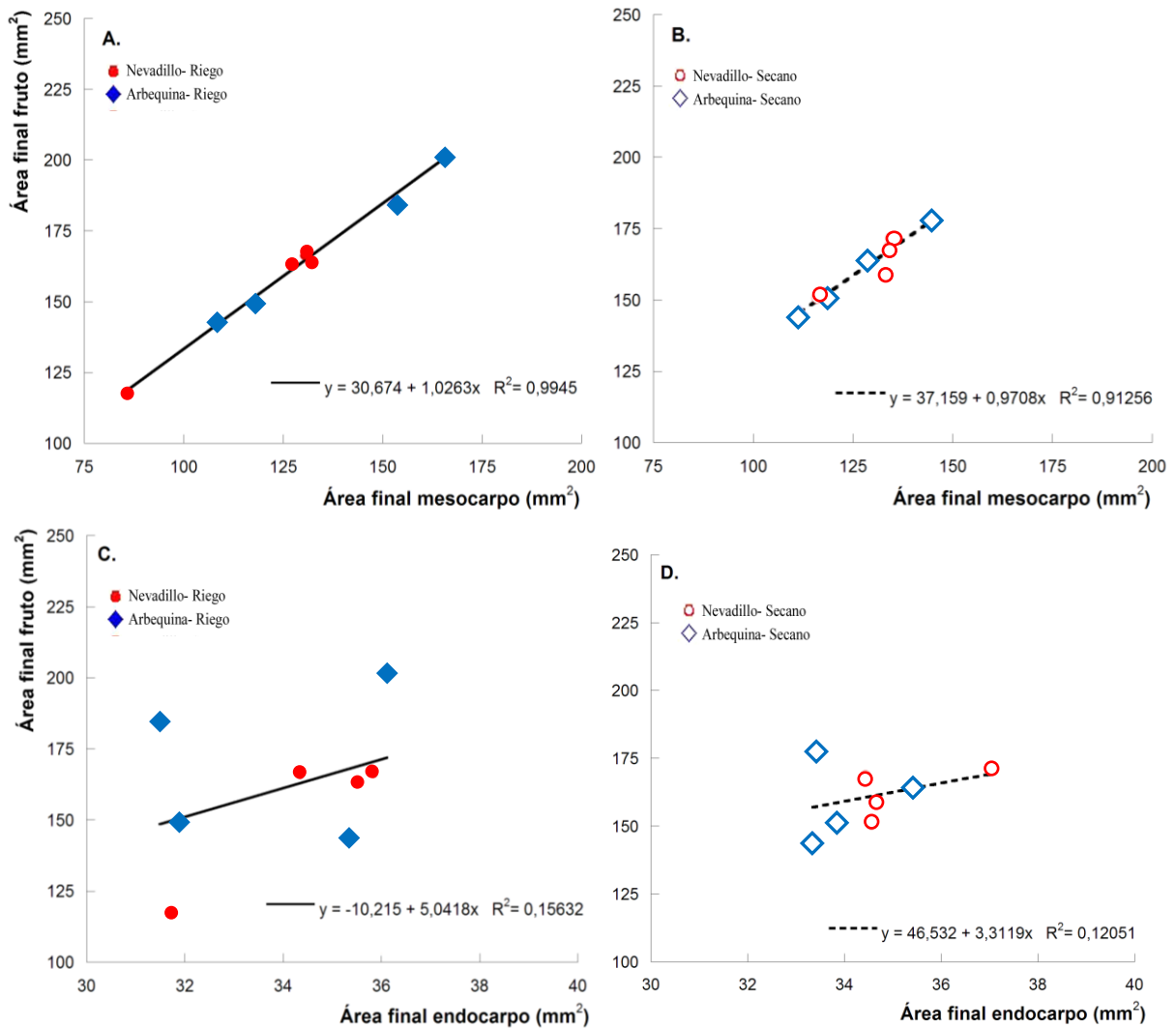


Figura 31. Relación entre el área transversal final del fruto (mm^2) y el área transversal final del mesocarpo (mm^2 , **A** y **B**) y del endocarpo (mm^2 , **C** y **D**) en ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’, bajo condiciones de riego (**A** y **C**) y secano (**B** y **D**) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento.

3.3.5 Anatomía del fruto

3.3.5.1 Área celular y número de células del mesocarpo

El análisis histológico realizado en las secciones transversales de los frutos de ambas variedades mostró que el AT de las células mesocárpicas se incrementó constante y significativamente hasta las 20 SDPF (Fig. 32A y B). Esto estuvo asociado a la tasa absoluta de crecimiento celular, con valores mayores a $100 \mu\text{m}^2/\text{semana}$ y sus máximos a las 20 SDPF (Fig. 33). En esta fecha, la tasa absoluta de crecimiento celular de los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ no presentaron diferencias significativas ($p>0,11$) entre regímenes, alcanzando un valor promedio de 453 y $432 \mu\text{m}^2/\text{semana}$ (Fig. 33B), respectivamente.

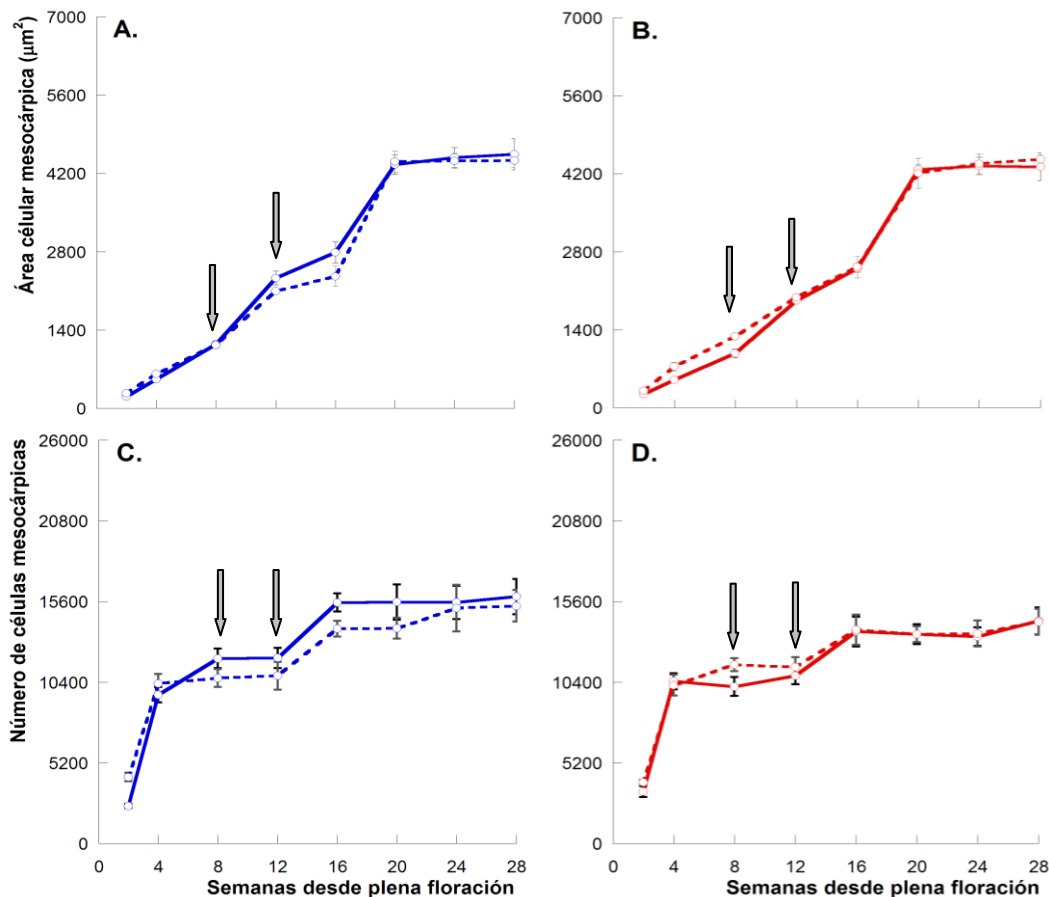


Figura 32. Área celular ($\mu\text{m}^2/\text{célula}$, A y B) y número total de células (C y D) del mesocarpo estimados en la sección transversal ecuatorial del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, A y C) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, B y D), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

A partir de allí, el AT celular se mantuvo constante hasta la maduración de los frutos, tanto en ‘Arbequina’ como en ‘Nevadillo’ (Fig. 32), a una tasa absoluta de crecimiento celular entre 0 y $40 \mu\text{m}^2/\text{semana}$ (Fig. 33).

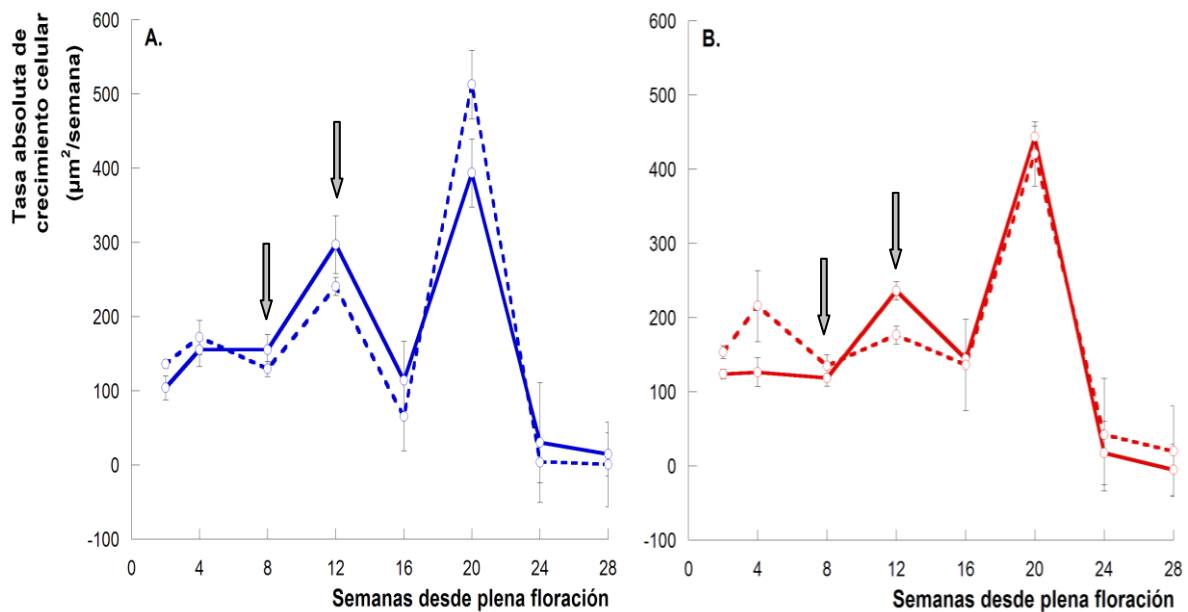


Figura 33. Tasa absoluta de crecimiento celular ($\mu\text{m}^2/\text{semana}$) del mesocarpio del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpio.

El número de células del mesocarpio mostró una respuesta del tipo doble sigmoidea y fue similar ($p > 0,5$) entre variedades y regímenes hídricos en todas las fechas de muestreo, sin presentar interacción entre los tratamientos (Fig. 32C y D). Se observó un aumento exponencial del número de células del mesocarpio en las primeras 4 SDPF (Fig. 32C y D) debido a las máximas tasas de división celular (3320 células/semana) observadas en dicha fecha (Fig. 34). A las 16 SDPF, se observó un segundo incremento, aunque de menor magnitud, en el número de células (Fig. 32 C y D) y en la tasa de división celular (740 células/semana, Fig. 34).

A partir de las 16 SDPF el número de células totales que presentó el mesocarpio se estabilizó en los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ y bajo condiciones de riego y secano, llegando a 14201 células (Fig. 32C y D).

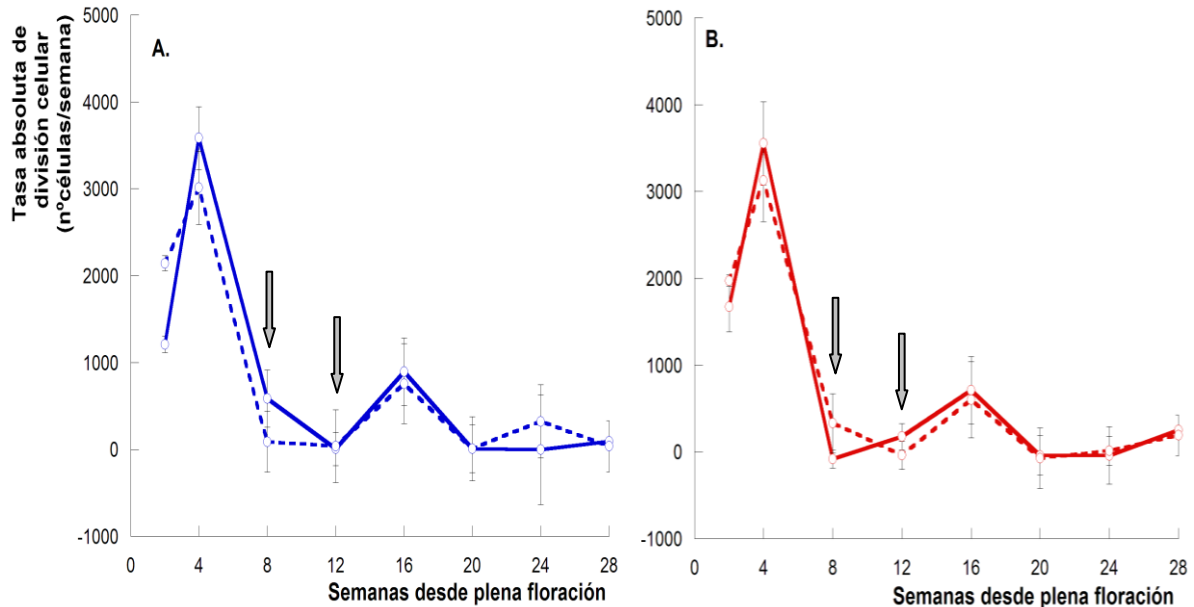


Figura 34. Tasa absoluta de división celular (N°células/semana) del mesocarpo del fruto de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y de ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), creciendo bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol (± 1 ES) en un total de cuatro árboles por tratamiento. El período comprendido entre las flechas corresponde a las semanas en las que ocurrió el proceso de endurecimiento del endocarpo.

3.3.5.2 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular

De los frutos cosechados durante la última fecha de muestreo en el tratamiento de riego se observó una relación lineal entre el AT_m y AT de las células del mismo ($r^2=0,72$, Fig. 35A). No sucedió lo mismo con los cosechados bajo secano ($r^2=0,008$, Fig. 35A), aunque la relación con el número final de células mesocárpicas tampoco fue altamente significativa ($r^2=0,37$, Fig. 35B).

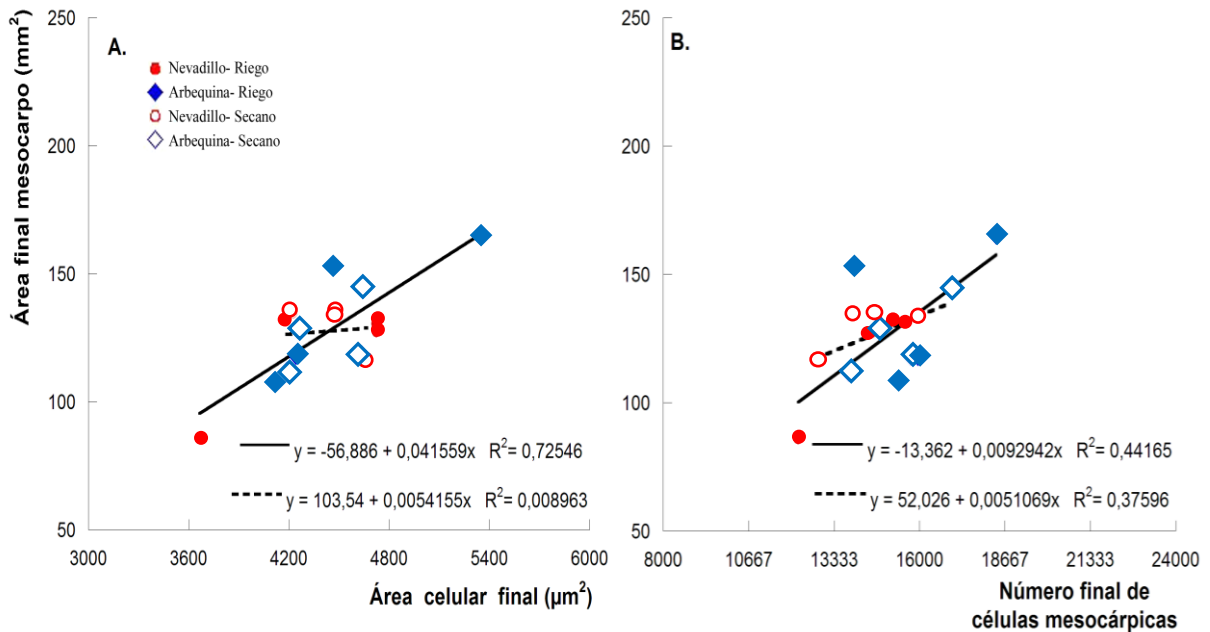


Figura 35. Relación entre el área transversal final del mesocarpo (mm^2) y el área transversal celular (μm^2 , **A**) y número de células mesocárpicas (**B**) a cosecha en frutos de ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ y bajo condiciones de riego y secano durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento.

3.3.5.3 Anatomía de la sección longitudinal del fruto

Las células del mesocarpo observadas en secciones longitudinales radiales del fruto maduro aumentaron de tamaño desde la periferia hacia el centro del mismo en las tres zonas estudiadas: apical, media y basal, en ambas variedades: ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, y regímenes hídricos: secano y riego (Figs. 36 y 37). Este gradiente de aumento quedó reflejado en el análisis del área longitudinal radial de las células (AL, Fig. 38), donde se presentó un incremento constante desde la epidermis hacia el interior del fruto (Fig. 38). Las magnitudes observadas fueron significativamente menores ($p < 0,05$) al valor de AL más elevado, el cual se encontró entre los estratos 19 a 26 del mesocarpo, dependiendo la zona el fruto analizada, la variedad y el régimen hídrico. A partir de allí, no se apreciaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el AL de las células de los restantes estratos evaluados y el máximo valor alcanzado en cada caso (Fig. 38).

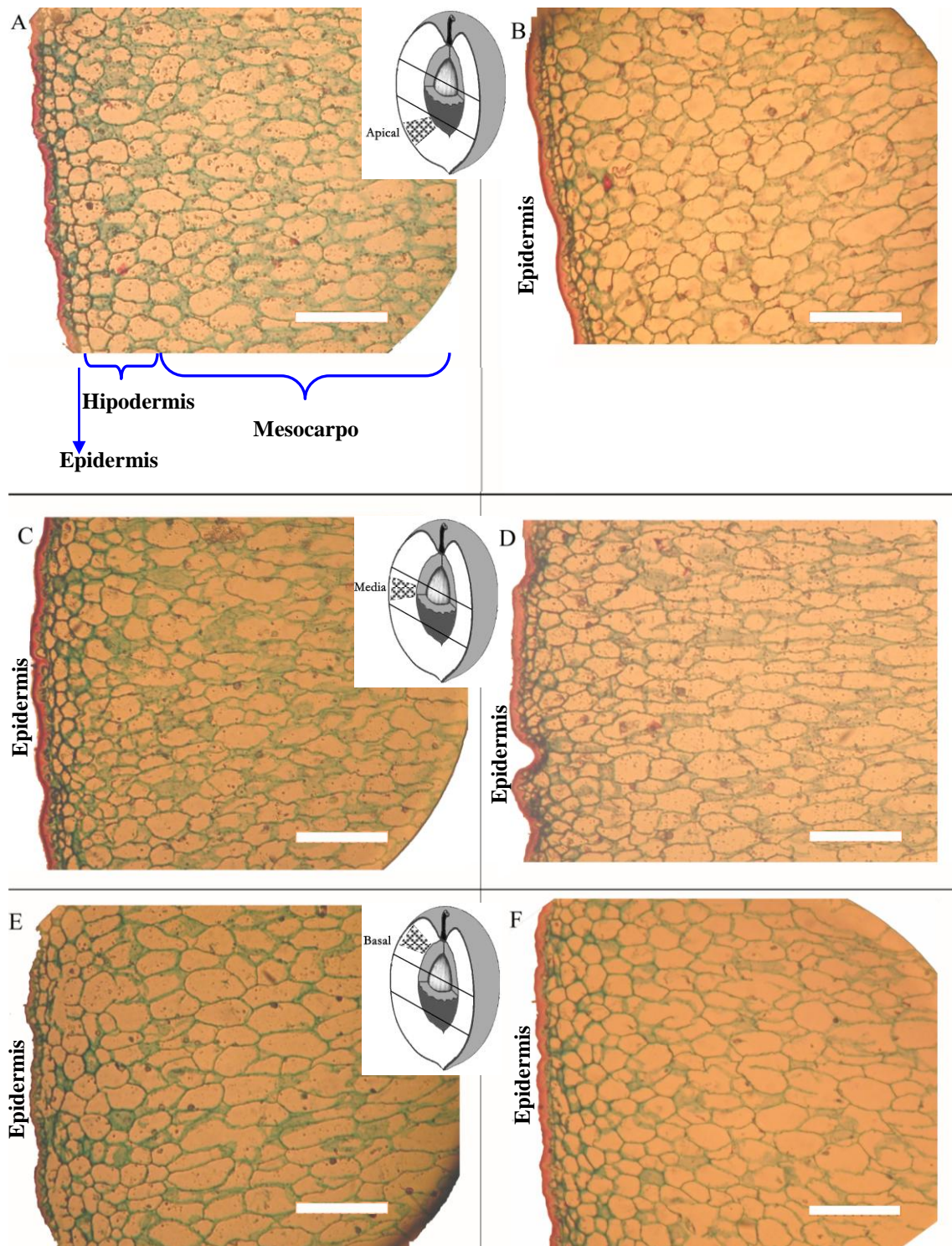


Figura 36. Sección longitudinal radial del fruto maduro de la variedad ‘Arbequina’ desde la epidermis (izquierda) hacia el mesocarpo, en sentido centripeto, en la zona apical (A y B), media (C y D) y basal (E y F) del fruto bajo condiciones de riego (A, C y E) y seco (B, D y F). Escala: 200 μ m.

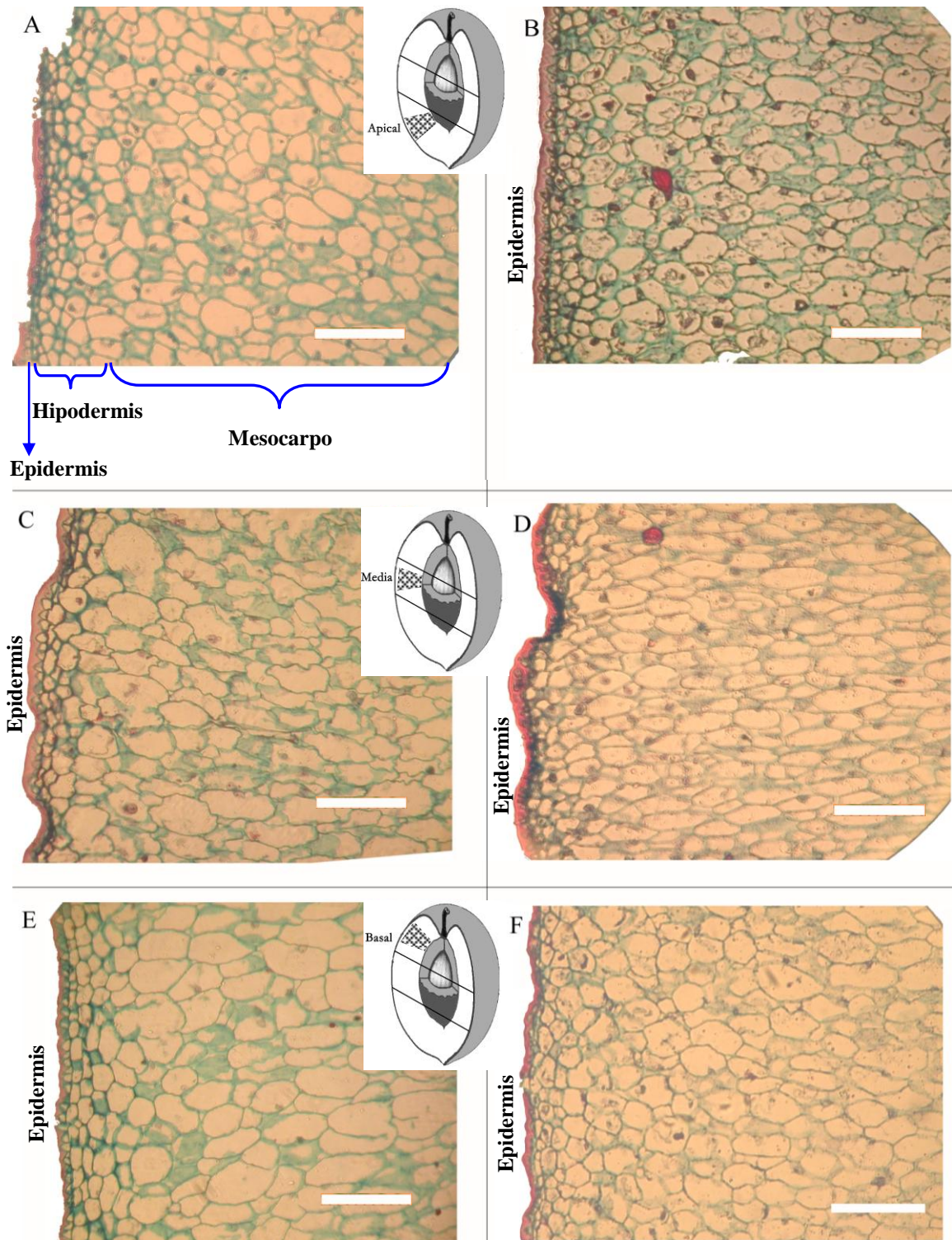


Figura 37. Sección longitudinal radial del fruto maduro de la variedad ‘Nevadillo’ desde la epidermis (izquierda) hacia el mesocarpo, en sentido centrípeto, en la zona apical (A y B), media (C y D) y basal (E y F) del fruto bajo condiciones de riego (A, C y E) y secano (B, D y F). Escala: 200 μm .

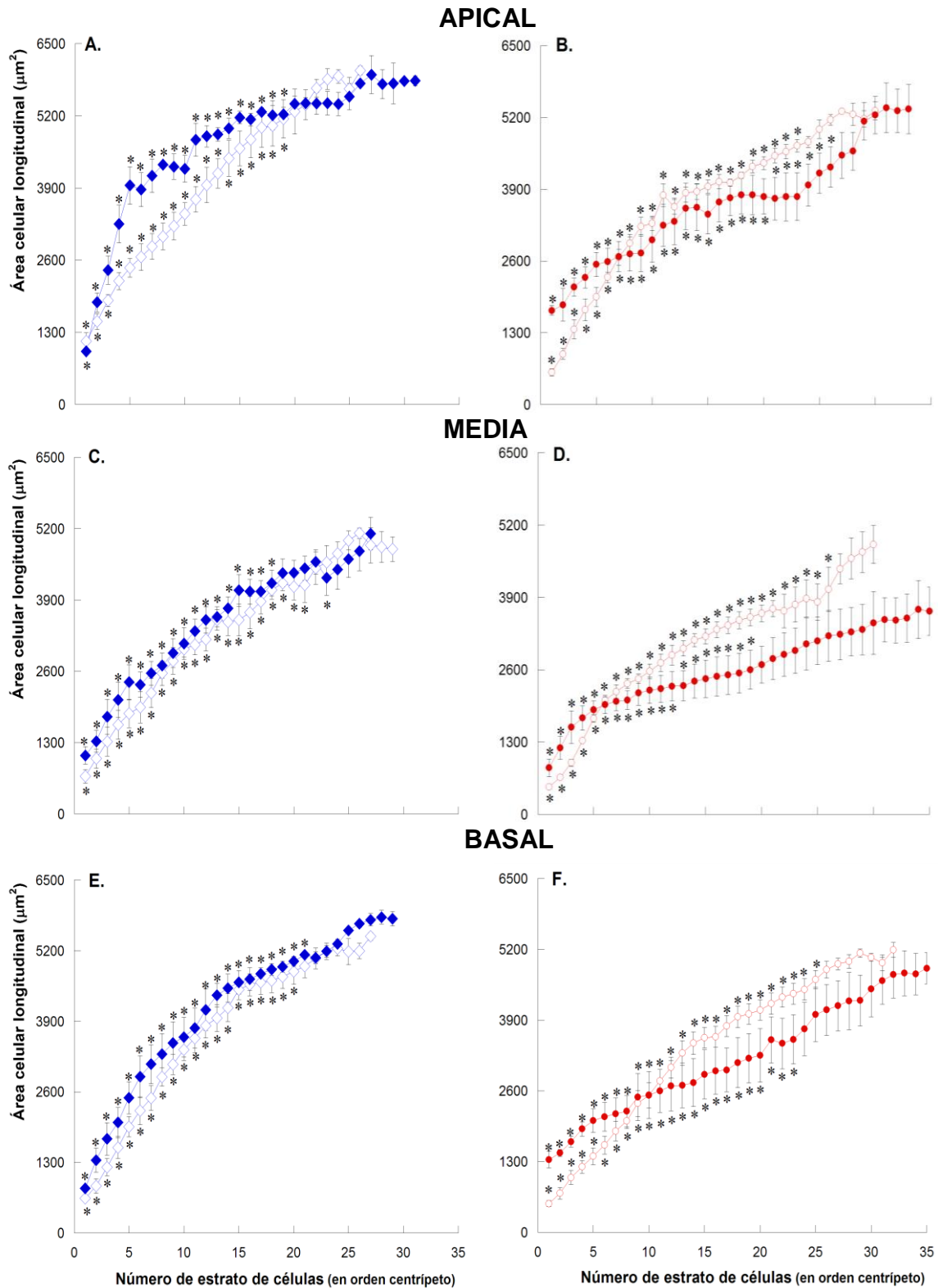


Figura 38. Área celular longitudinal (AL, μm^2) en los distintos estratos de las zonas apical, media y basal del fruto maduro de las variedades ‘Arbequina’ (A, C y E) y ‘Nevadillo’ (B, D y F) en condiciones de riego (símbolos llenos) y seco (símbolos vacíos) durante el tercer año de ensayo. Análisis realizado sobre imágenes similares a las presentadas en las Figuras 36 y 37. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de tres frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas ($p < 0,05$) con el valor de AL más alto de los estratos observados.

El máximo valor de AL de las células, calculado como el promedio del AL de las células de los últimos estratos del mesocarpo, no mostró interacción entre el factor zona del fruto analizada y el tratamiento régimen hídrico y la variedad ($p=0,10$). El máximo AL celular fue mayor ($p<0,0001$) en las zonas del ápice y base del fruto que en la zona media (Tabla 10).

Tabla 10. Área longitudinal (AL, μm^2) máximo en promedio para cada zona del fruto en los frutos maduros cosechados en el tercer año de ensayo. Valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p>0,05$).

Zona	AL máximo (μm^2)
Apical	5331 a
Media	4355 b
Basal	5023 a

Se observó interacción entre el factor variedad y régimen hídrico ($p<0,05$). Bajo condiciones de riego, los frutos de ‘Arbequina’ presentaron células con mayor ($p<0,001$) AL, mientras que bajo seco no se presentaron diferencias entre las variedades ($p=0,11$, Tabla 11). Al comparar los regímenes hídricos en cada variedad, se observó que las células mesocárpicas de ‘Arbequina’ obtuvieron igual ($p=0,6$) AL bajo riego y seco, y mientras que las células de ‘Nevadillo’ mostraron mayor AL ($p<0,02$) bajo condiciones de seco fueron mayores (Tabla 11).

Tabla 11. Área longitudinal (AL, μm^2) máximo de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y seco en los frutos maduros cosechados en el tercer año de ensayo.

Variedad	AL máximo (μm^2)	
	Riego	Seco
Arbequina	5297	5201
Nevadillo	4209	4904

3.3.6 Rendimiento y sus componentes

3.3.6.1 Rendimiento frutal e índice de madurez

No hubo interacción entre los tratamientos variedad y regímenes hídricos ($p > 0,05$) en los parámetros frutales IM y contenido porcentual de H_{bs} ni en el rendimiento frutal por árbol en la última fecha de muestreo del tercer año de ensayo.

Comparando los regímenes hídricos, se observó un mayor ($p \leq 0,01$) IM y un menor ($p \leq 0,01$) contenido porcentual de H_{bs} en los frutos producidos por los árboles en condiciones de secano que en aquellos producidos bajo riego, siendo esa diferencia de 2,9% (Tabla 12). Sin embargo, el rendimiento frutal fue similar ($p = 0,5$) entre regímenes hídricos (Tabla 12).

Tabla 12. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal (kg/árbol) en promedio para cada régimen hídrico al momento de cosecha en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p > 0,05$).

Régimen hídrico	Índice de madurez	Humedad (% en base seca)	Rendimiento frutal (kg/árbol)
Riego	3,55 a	50,39 a	140,75 a
Secano	3,98 b	47,52 b	132,50 a

Con respecto a las variedades, los frutos de ‘Arbequina’ presentaron mayor ($p \leq 0,01$) IM y contenido porcentual de H_{bs} de 9,22% mayor ($p \leq 0,01$) que los de ‘Nevadillo’, aunque el rendimiento frutal por árbol fue similar entre ellas ($p = 0,5$; Tabla 13).

Tabla 13. Índice de madurez y contenido de humedad (% en base seca) del fruto y rendimiento frutal (kg/árbol) en promedio para ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ al momento de cosecha en el tercer año de ensayo. En cada columna, valores seguidos por las mismas letras no difieren significativamente ($p > 0,05$).

Variedad	Índice de madurez	Humedad (% en base seca)	Rendimiento frutal (kg/árbol)
Arbequina	4,17 a	53,56 a	133,50 a
Nevadillo	3,36 b	44,34 b	139,75 a

3.3.6.2 Rendimiento graso

Durante el tercer año de ensayo hubo interacción ($p \leq 0,05$) entre las variedades y los regímenes hídricos en el parámetro contenido porcentual de MG_{bs} , excepto a las 12 SDPF.

El contenido porcentual de MG_{bs} de los frutos se incrementó constantemente a partir de las 12 SDPF, alcanzando los valores máximos a las 28 SDPF (Fig. 39).

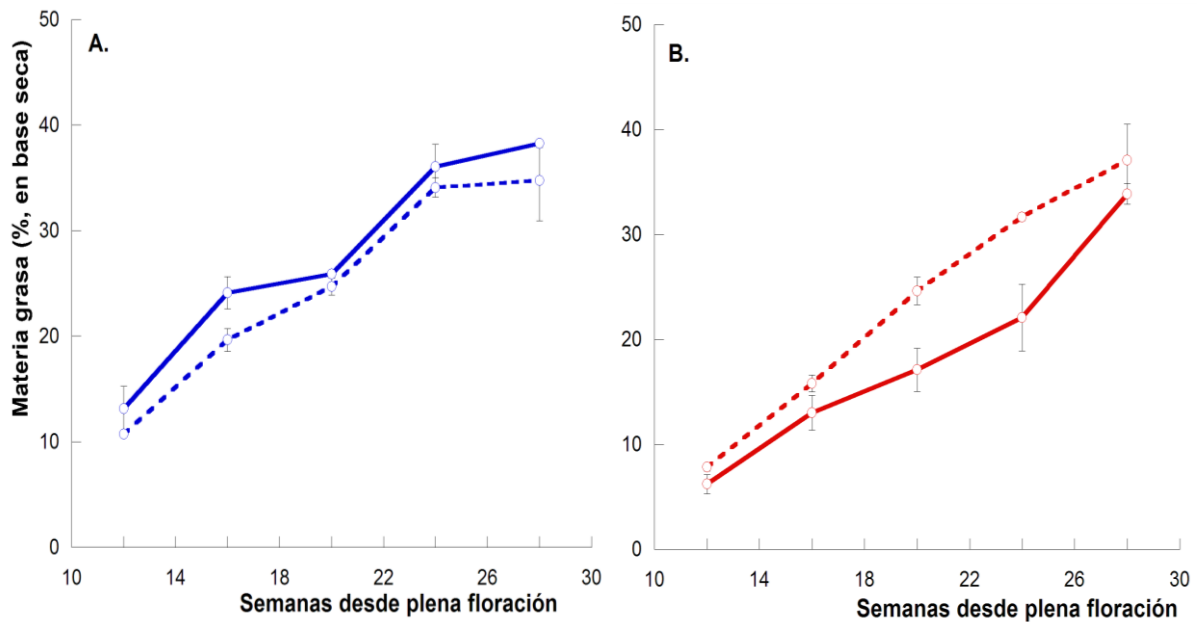


Figura 39. Acumulación de materia grasa (% en base seca) en los frutos de ‘Arbequina’ (líneas azules, **A**) y ‘Nevadillo’ (líneas rojas, **B**), bajo condiciones de riego (líneas enteras) y secano (líneas punteadas) durante el tercer año de ensayo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) de cinco frutos por árbol en un total de cuatro árboles por tratamiento.

Bajo condiciones de riego y durante todo el período de acumulación de MG_{bs} , los frutos de ‘Arbequina’ presentaron mayor ($p \leq 0,01$) contenido graso que los frutos de ‘Nevadillo’, alcanzando al momento de cosecha un 38 y 34% de MG_{bs} , respectivamente (Fig. 39).

Las diferencias varietales no se evidenciaron de igual manera bajo condiciones de secano. Sólo se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ a las 12, 16 y 24 SDPF (Fig. 39). El contenido de MG_{bs} de los frutos en la última fecha fue de 36% en promedio para ambas variedades.

Los frutos de ‘Arbequina’ producidos bajo ambos regímenes hídricos no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,5$) en el contenido de MG_{bs} a lo largo del período de acumulación de materia grasa (Fig. 39A). En ‘Nevadillo’, se observó una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) a favor del contenido de MG_{bs} acumulada bajo secano a las 20 y 24 SDPF, aunque al momento de la cosecha no se encontraron diferencias ($p \geq 0,5$) entre regímenes hídricos (Fig. 39B).



4. DISCUSIÓN

4.1 Regímenes hídricos

El olivo es considerada una especie resistente a la sequía y, tradicionalmente, se lo cultiva en zonas marginales de secano. A pesar de ello, varios estudios previos realizados en plantaciones de esta especie, han demostrado un efecto positivo del riego en el desarrollo y en la producción de las plantas (Proietti y Antognozzi, 1996; Nuzzo *et al.*, 1997; Rapoport *et al.*, 2004a). En esta Tesis, no fue factible definir diferencias en el desarrollo morfológico y anatómico del fruto entre regímenes hídricos durante el segundo año de ensayo debido a la desigualdad de carga floral y posterior carga frutal registrada entre los árboles bajo condiciones de riego y de secano.

Durante el tercer año de ensayo, las plantas bajo riego recibieron un aporte de agua un 44 % mayor que aquellas bajo condiciones de secano. Sin embargo, el estado hídrico de las plantas, estimado a través del índice CRA_h , fue similar entre regímenes hídricos y variedades durante la mayor parte del ciclo de desarrollo del fruto. Sólo a cosecha (28 SDPF) se observó un efecto positivo del riego sobre el estado hídrico de las plantas las cuales presentaron un CRA_h 5,61 % mayor bajo riego que bajo condiciones de secano. Dada la similitud en el estado hídrico de las plantas bajo riego y secano, se podría inferir que los árboles estudiados desarrollaron mecanismos de adaptación a la sequía, no evaluados en esta Tesis (alta densidad radical, raíces profundas y gran espesor de cutícula foliar), durante los 50 años que llevaban implantados en el olivar bajo estudio. Asimismo, la diferencia en el volumen de agua recibido por los árboles bajo secano, por el aporte del agua de lluvia, y bajo riego, por el aporte de agua de lluvia más el riego, no fue suficiente para afectar diferencialmente el estado hídrico de las plantas.

4.2 Cambios morfológicos del fruto

El crecimiento de los frutos carnosos ha sido definido por modelos ajustados a la dinámica de cambio en el tiempo de variables como el tamaño y el peso del mismo. Son ejemplos concretos los frutos pertenecientes a la subfamilia Pomoídeas (por ejemplo *Malus sp.* Mill. y *Pyrus sp.* L.) y los del grupo botánico de los cítricos (por ejemplo *Citrus sp.* L.), donde el patrón de desarrollo de los frutos se ajusta a una curva simple



sigmoidea (Davies y Albrigo, 1994; Casierra-Posada *et al.*, 2003). En cambio, el patrón de los frutos carnosos como las bayas de la vid y las drupas (frutos con carozo), por ejemplo el olivo, se ajustan a una curva doble sigmoidea, con tres fases de crecimiento bien definidas (Hartmann, 1948; Bollard, 1970; Coombe, 1976; 1992; Corelli-Grappadelli y Lakso, 2004). La fase I comienza en la antesis y se caracteriza por el crecimiento exponencial del fruto, la fase II presenta un detenimiento en el crecimiento, coincidiendo con el endurecimiento del endocarpo y en la fase III se reinicia el crecimiento exponencial. En lo hallado en este trabajo, el patrón de crecimiento de los frutos de dos variedades del olivo desarrollados en el SOB, tanto en la variedad ‘Nevadillo’ como en ‘Arbequina’, contrastó con el clásico modelo de crecimiento propuesto para los frutos drupa. Así entonces, el crecimiento del fruto, expresado como evolución del AT_f , mostró expansiones continuas en sus dimensiones desde las 2 SDPF hasta la fecha de cosecha, 20, 26 y 28 SDPF en el primer, segundo y tercer año de ensayo, respectivamente. Un comportamiento similar se observó en el AT_m . La particularidad observada en el ritmo de crecimiento del AT_f estuvo asociada, en general, a máximas TCA_e a las 4 y 6 SDPF y a máximas TCA_m en las últimas semanas de muestreo. En los tres años de ensayo y en ambas variedades, la TCA_e se estabilizó a partir de las 8 SDPF coincidiendo con el momento en que las células endocárpicas iniciaban el proceso de lignificación, el cual se completó a las 12 SDPF.

El crecimiento continuo en las dimensiones de los frutos concuerda con lo observado por otros autores, como Hammami *et al.* (2011), Martín-Vertedor *et al.* (2011) y Rapoport *et al.* (2013), que han demostrado que el desarrollo y crecimiento del fruto del olivo no se ajustaría claramente a la clásica curva doble sigmoidea, sugiriendo que la fase II de la misma, donde se describe una latencia en la expansión de las dimensiones del fruto, debería ser reexaminada.

4.3 Relación entre el área transversal del fruto y el área transversal del mesocarpo y el área transversal del endocarpo

Las partes constitutivas principales del fruto del olivo que intervienen en el crecimiento del mismo son el mesocarpo y el endocarpo. En los tres años de ensayo y bajo condiciones de riego y secano, los frutos de ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ presentaron una relación lineal y positiva entre el AT_f y el AT_m . En general, el tamaño del endocarpo no presentó esta misma relación positiva con el tamaño del fruto. Una



respuesta similar fue observada en estudios recientes realizados por Hammami *et al.* (2011) en olivo y en trabajos previos realizados con otras drupas de alto valor comercial, como el durazno, la cereza y el damasco (Bollard, 1970; Yamaguchi *et al.*, 2002, 2004; Olmstead *et al.*, 2007). Así entonces, se corrobora la relevante contribución del tejido mesocárpico en la generación del tamaño final del fruto. En cambio, la relación débil entre el AT_e y el AT_f se debería al período mucho más corto de expansión celular de las células endocárpicas en comparación con las mesocárpicas, y a la proporción mucho menor que ocupa el endocarpo en el volumen total del fruto (Hammami *et al.*, 2011).

4.4 Anatomía del fruto

Al igual que lo demostrado por estudios previos realizados en durazno, cereza y ciruela (Bollard, 1970), y otros frutos carnosos como el tomate (Bohner y Bangerth, 1988; Gillaspay *et al.*, 1993) y la pera japonesa (Zhang *et al.*, 2005; 2006), el proceso de división celular de las células del mesocarpo de los frutos analizados en este trabajo es predominante durante el período inicial de crecimiento frutal. Con esta dinámica de división celular, entre las 4 y 8 SDPF se produjeron entre el 70 y 80% del total de las células mesocárpicas contabilizadas hacia el final de la madurez del pericarpo en ambas variedades. Sin embargo, los cambios observados en el tamaño celular demostraron que las células mesocárpicas aumentaron su AT constantemente desde el estadio de floración hasta las 20-26 SDPF. Coincidiendo con estos resultados, Hammami *et al.* (2011) concluyeron que los frutos de seis variedades del olivo producen la mayor parte de sus células mesocárpicas en los dos primeros meses después de la floración, y que la expansión celular cumple un rol fundamental a lo largo de todo el desarrollo y crecimiento del fruto, y en particular sobre el mesocarpo.

Otros investigadores, observaron que en el olivo tanto el AT_f y el AT_m (Proietti y Antognozzi, 1996; Rapoport *et al.*, 2004a) como el AT de sus células (Costagli *et al.*, 2003; Rapoport *et al.*, 2004a; Gucci *et al.*, 2009) son sensibles al déficit hídrico sufrido por la planta. En esta Tesis, la similitud en el estado hídrico de las plantas se tradujo en falta de diferencias significativas en el número y en el AT de las células del mesocarpo entre los frutos desarrollados bajo condiciones de riego y secano.

Durante los dos años en los que se comparó el desarrollo frutal de las variedades ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, las diferencias encontradas en el AT_f y el AT_m a partir de las



8 a 12 SDPF coincidieron con diferencias a nivel anatómico en el número de células mesocárpicas y no en el AT de las mismas. Una relación similar fue demostrada por otros autores que realizaron ensayos comparativos entre diversas variedades del olivo, entre las que se encontraba ‘Arbequina’, a partir de las 4 SDPF (Manrique y Rapoport, 1999; Rapoport *et al.*, 2004b; Hammami *et al.*, 2011). El número de células también ha sido el principal factor determinante de las diferencias entre variedades de otras especies frutales como la manzana (Harada *et al.*, 2005), así como en drupas de durazno (Scorza *et al.*, 1991; Yamaguchi *et al.*, 2002), damasco (Jackson y Coombe, 1966) y cereza (Olmstead *et al.*, 2007).

El ordenamiento celular observado en las secciones transversales del fruto de las variedades ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’, responde a previas descripciones histológicas realizadas por diversos autores en esta especie (Izquierdo Tamayo y Durán Grande, 1970; Roth, 1977; Lavee, 1986; Rapoport, 2008). La epidermis del olivo muestra una estructura similar a la de otras drupas, con células de pequeñas dimensiones cubiertas de una cutícula. De igual manera, la forma de las células mesocárpicas y endocárpicas, el gradiente de expansión celular del mesocarpo y la presencia de bandas de haces vasculares se asemeja a lo descrito en el damasco y la cereza (Tukey y Young, 1939; Roth, 1977; Archibald y Melton, 1987).

4.5 Relación entre el área transversal del mesocarpo y el número de células y el área celular

En esta Tesis, se observó que, a partir de un determinado estadio fenológico, cuando el AT_f y el AT_m de una variedad comenzaban a diferenciarse de los frutos de la otra variedad también ocurrían diferencias en el número de células del mesocarpo. Sin embargo, estos resultados no pudieron ser corroborados mediante un análisis de regresión en todo el ensayo. Solo en el segundo año se observó una relación lineal y positiva entre el AT_m y el número total de células, relación esperada en función a la bibliografía existente, en la cual se postula que las diferencias en el tamaño de las variedades de olivo se deben principalmente a diferencias en el número de células del mesocarpo. La ausencia de relación lineal en los tres años de ensayo pudo deberse a que el análisis se realizó solamente con los datos de los frutos a cosecha y no durante todo el período de desarrollo y crecimiento frutal, o a cuestiones de muestreo y metodológicas, ya que al realizar esta relación se está extrapolando un parámetro evaluado a una escala



macrométrica, como es el AT_m con parámetros evaluados a una microescala, como son el número de células y AT celular.

4.6 Anatomía de la sección longitudinal del fruto

En esta Tesis se describe, por primera vez, el ordenamiento celular en la sección longitudinal radial del fruto maduro del olivo. El análisis histológico realizado reveló un gradiente de AL celular que va aumentando desde la epidermis hacia el centro del fruto. Tanto en ‘Nevadillo’ como en ‘Arbequina’, bajo riego y secano y en las tres zonas del fruto analizadas, se determinó que las células epidérmicas son pequeñas (con aproximadamente $480 \mu m^2$ de AL), con la cara tangencial más ancha que la radial, y se encuentran cubiertas por una continua capa de cutícula. Todas las células mesocárpicas son parenquimáticas y de similar apariencia entre sí. Las células más externas presentan, al igual que las células epidérmicas, un diámetro tangencial mayor que el radial. A partir del cuarto estrato de células, en orden centrípeto desde la epidermis hacia el endocarpo, la forma de las mismas tiende a alargarse gradualmente en sentido radial. Este incremento de tamaño celular observado entre las capas 1 y 4, resultante de la expansión celular tanto en sentido tangencial como radial, y el incremento celular en las capas restantes por expansión en sentido radial, también fue observado por Hammami y Rapoport (2012) en el plano transversal del fruto del olivo maduro de plantas jóvenes. En el plano longitudinal radial del fruto se observó que el incremento de AL ocurre hasta la capa 19-26 de las células mesocárpicas. Hammami y Rapoport (2012) estimaron que el AT cesa su incremento en la capa 9 de la sección transversal del fruto.

4.7 Anatomía del endocarpo

Una de las herramientas utilizadas para la planificación del calendario de prácticas de manejo en montes de producción de frutales de carozo es la identificación del estadio de endurecimiento del endocarpo. La esclerificación del endocarpo indica el inicio de acumulación del aceite en el fruto (Conde *et al.*, 2008) y el momento a partir del cual la presencia de frutos en desarrollo inhibe la floración del siguiente año (Stutte y Martin, 1986; Fernández-Escobar *et al.*, 1992; Andreini *et al.*, 2008; Dag *et al.*, 2010). De manera que esta herramienta es utilizada en la programación del riego en durazno, cereza y pelón (Papenfuss y Black, 2010; Domingo *et al.*, 2011; Thakur y Singh, 2012),



en el raleo de los frutos (durazno: Drogoudi *et al.*, 2009; olivo: Dag *et al.*, 2010; damasco: Roussos *et al.*, 2011) y para la determinación del momento adecuado para la aplicación de reguladores del crecimiento (ciruela: Stern *et al.*, 2007; cereza: Zhang y Whiting, 2011; durazno: Dagar *et al.*, 2012) y productos fitosanitarios (olivo: Lykouressis *et al.*, 2004).

En este trabajo, las características observadas en la sección transversal del endocarpo coincidieron con lo definido previamente por Gómez del Campo y Rapoport (2008).

En ‘Nevadillo’ y ‘Arbequina’ bajo las condiciones estudiadas, la esclerificación y el endurecimiento del endocarpo fueron progresivos desde las 8 SDPF hasta el endurecimiento total a las 12 SDPF, sin detectar diferencias genéticas ni de condiciones de cultivo como sí fueron encontradas por otros autores (Rallo-Morillo, 1994; Costagli *et al.*, 2003; Gómez del Campo y Rapoport, 2008). Este proceso de diferenciación de las esclereidas coincidió con los cambios morfológicos del fruto, en particular con el AT del mismo, el cual quedó definido a las 12 SDPF, alcanzando un área máxima entre 33 y 40 mm². Otros estudios sobre el desarrollo del pericarpo del olivo, ubican el fin de la expansión del endocarpo entre las 4 y 6 SDPF (Lavee, 1986), entre las 7 y 9 SDPF (Rallo y Cuevas, 2004) y entre las 8 y 10 SDPF (Rapoport *et al.*, 2004a). Esta variabilidad en el estadio en que se alcanza la esclerificación del endocarpo y la ausencia de coincidencia con lo apreciado en esta Tesis podría deberse a las diversas variedades del olivo con las que se ha trabajado, a las condiciones de crecimiento del cultivo o a la frecuencia con la que se han tomado las muestras.

4.8 Rendimiento frutal y sus componentes

Estudios previos indican que el máximo contenido de MG en el fruto del olivo se alcanza en el mesocarpo cuando el IM del fruto llega a valores próximos a 3,5, momento en que la mayoría de los frutos del árbol están en envero, pocos presentan coloración externa negra y algunos verde (Beltrán *et al.*, 2004). Los frutos de ‘Arbequina’ producidos bajo el régimen de riego durante el segundo año de ensayo tuvieron al momento de la cosecha un IM de 1,83, inferior al valor de referencia. Sin embargo, el contenido de MG_{bs} no mostró disminución alguna comparado con el contenido de MG_{bs} producido por ‘Nevadillo’, con un IM significativamente mayor, hipótesis que se presumía ante la cosecha de frutos con un IM tan bajo (Beltrán *et al.*,



2004). Tampoco se encontraron diferencias varietales en el contenido de H_{bs} del fruto y en el rendimiento frutal por árbol durante el segundo año de ensayo. El rendimiento promedio de las dos variedades mantenidas bajo secano, las cuales se encontraban en un año de baja carga frutal, fue de 18,5 kg/árbol. En cambio, el riego suplementario dio como resultado un rendimiento promedio de 125 kg/árbol, representando un rendimiento esperado de 12.500 kg/ha. Teniendo en cuenta que los árboles bajo riego se encontraban en un año de alta carga frutal, el rendimiento promedio fue superior a los 7.207 kg/ha definidos por los productores del SOB para montes de más de 10 años de edad en función a la experiencia previa (Picardi y Obiol, 2011).

En el segundo año de ensayo, la diferencia en la carga frutal entre los árboles de los montes bajo riego y secano no solamente se vio reflejada en la brecha del rendimiento (kilogramos de frutos) entre ambos tratamientos, sino también en el contenido de MG_{bs} de los frutos. Los árboles bajo secano, con baja carga frutal, desarrollaron frutos con mayor AT_f y, en consecuencia, con mayor contenido de MG_{bs} . Esta relación positiva entre el año de carga o descarga de los árboles del olivo y el contenido porcentual de MG_{bs} de sus frutos coincide con trabajos previos (Lavee y Wonder, 1991; Gucci *et al.*, 2007; Barone *et al.*, 1994), en donde se observó un 10-15 % de aumento en el contenido graso de los frutos ante una diferencia de carga frutal del 50%.

Las diferencias varietales durante el tercer año se apreciaron en el IM y el contenido de H_{bs} de los frutos a favor de ‘Arbequina’, encontrándose valores dentro de los rangos esperados para las dos variedades estudiadas (Barranco, 2004; Beltrán *et al.*, 2004). En cuanto a las diferencias entre los regímenes hídricos, se observó un leve adelanto de la madurez y un menor contenido de H_{bs} en los frutos bajo secano. Una tendencia similar se ha observado en la mayoría de trabajos realizados en olivo, en donde se comparó el estado de madurez del fruto entre distintos regímenes de riego (Alegre *et al.*, 2000; Faci *et al.*, 2002; Uceda *et al.*, 2004).

Diversos ensayos de riego en olivo han demostrado que el rendimiento graso de algunas variedades aumenta a medida que disminuye la cantidad de agua aplicada al monte frutal (Alegre *et al.*, 2000; Girona *et al.*, 2002; Grattan *et al.*, 2006). Coincidiendo con estos resultados, el contenido de MG_{bs} observado durante el desarrollo de los frutos de ‘Nevadillo’ fue en general mayor bajo secano que con la aplicación de riego. Sin embargo, a la cosecha, el contenido de MG_{bs} fue similar entre regímenes hídricos en ambas variedades (Puertas *et al.*, 2008).



El rendimiento frutal por árbol durante el tercer año fue similar entre variedades y regímenes hídricos (promedio: 13.662 kg/ha), y, de manera semejante al segundo año, superó la media esperada para la región del SOB. Es decir que, el estado hídrico levemente menos favorable (menor CRA_h) observado en los árboles mantenidos bajo secano en los días cercanos a la última fecha de muestreo no afectó su productividad con respecto a aquellos árboles bajo riego.

Varios autores han estudiado la relación entre el rendimiento frutal del olivo y el abastecimiento de agua en el cultivo. Claros ejemplos son los trabajos presentados por Alegre *et al.* (1999), Selles van Sch *et al.* (2006) y Puertas (2009), en donde, si bien trabajaron con varios tratamientos de restricciones hídricas y en algunos casos realizados únicamente durante la última fase de crecimiento del fruto, también encontraron una similitud en el contenido de MG_{bs} respecto al tratamiento sin restricción hídrica. En el caso de Alegre *et al.* (2000), al aplicar riego deficitario controlado durante los meses de verano, no sólo no encontraron diferencias entre los regímenes hídricos, sino que la cantidad de aceite extraído de los frutos mantenidos bajo secano fue mayor, atribuyendo este resultado a que el mayor contenido de H_{bs} de los frutos en los regímenes de riego obstaculizó el proceso de extracción de aceite.



5. CONCLUSIONES

Conforme a los objetivos específicos planteados en esta Tesis y a los resultados obtenidos durante la ejecución de la misma, se concluye que:

- A nivel morfológico del fruto, considerando distintos años de ensayo, variedad estudiada y régimen hídrico, el mesocarpo es el tejido con mayor contribución (entre 70 y 80%) en la generación del AT_f final alcanzada. Tanto el mesocarpo como el fruto entero, aumentan su AT durante toda la estación de crecimiento reproductivo, incluyendo el estadio en el que el endocarpo todavía se está desarrollando.
- Los cambios anatómicos del mesocarpo en el tiempo, definieron una fase inicial de activa división celular hasta las 8 SDPF, produciéndose en ese período el 70-80% de las células mesocárpicas que tendría el fruto a la madurez. En cambio, la expansión en el AT celular fue importante durante todos los estadios fenológicos del desarrollo del fruto.
- Las diferencias varietales observadas en el AT_f y el AT_m estuvieron asociadas a diferencias en el número de células mesocárpicas, siendo mayor en ‘Nevadillo’ durante el segundo año y en ‘Arbequina’ durante el tercer año de estudio.
- La ausencia de diferencias significativas entre regímenes hídricos del índice CRA_h durante la mayor parte del ciclo de crecimiento del tercer año de ensayo sugiere que: 1) los árboles tendrían mecanismos de adaptación a las condiciones de secano, no evaluados en esta Tesis, o 2) que la diferencia en la cantidad de agua recibida por los árboles bajo secano (aporte de agua de lluvia) y bajo riego (aporte de agua de lluvia más riego) no fue suficiente para afectar diferencialmente el estado hídrico de las plantas.

En base a lo expuesto, y dado que la aplicación de riego no fue suficiente para generar diferencias en el estado hídrico de los árboles con respecto a aquellos bajo secano, no se pudo comprobar la hipótesis planteada en esta Tesis, en la que se establecía que la suplementación hídrica mediante el riego controlado del árbol del



olivo incide positivamente sobre el rendimiento del cultivo al modificar la dinámica histológica durante el desarrollo del fruto.

- A semejanza de lo realizado por muchos productores olivícolas en otras regiones del mundo, la adecuación del programa de riego en la región del SOB podría realizarse en función al estadio de esclerificación y endurecimiento del endocarpo, el cual en este trabajo se identificó entre las 8 y 12 SDPF, etapa que es considerada una de las más sensibles al déficit hídrico debido a que a partir de allí comienza la acumulación de materia grasa en el fruto y la acumulación de reservas a nivel de la planta.
- La magnitud del rendimiento de frutos por árbol y del contenido de MG_{bs} de los mismos observadas en esta Tesis, sugieren que las condiciones agrometeorológicas del SOB la caracterizan como una región altamente productiva, en la cual se deben aprovechar las potencialidades de la olivicultura como actividad agrícola principal y no sólo complementaria a las actividades agropecuarias tradicionales.
- En esta Tesis, se describe por primera vez el patrón de organización celular a lo largo del plano longitudinal radial del fruto maduro del olivo, desde la periferia hacia el centro del fruto. Este patrón, junto con el diagrama de organización en el plano transversal, permitirá diseñar un modelo tridimensional de la anatomía del fruto, el cual servirá para interpretar los procesos celulares (división y expansión) involucrados tanto en su crecimiento y morfogénesis como en el almacenamiento del aceite.

Tomando como referencia la delimitación de las regiones del fruto maduro del olivo en el plano transversal del mismo realizada por Hammami y Rapoport (2012), surge de esta Tesis la caracterización de las siguientes regiones en el plano longitudinal radial, descritas en sentido centrípeto (Fig. 40): Epidermis, compuesta por una capa de células epidérmicas; Hipodermis, primeras cuatro capas de células parenquimáticas subepidérmicas; Mesocarpo externo: desde la 5^o capa de células parenquimáticas a la capa 19-26, Mesocarpo interno: siguientes capas de células parenquimáticas hasta la banda de haces vasculares.

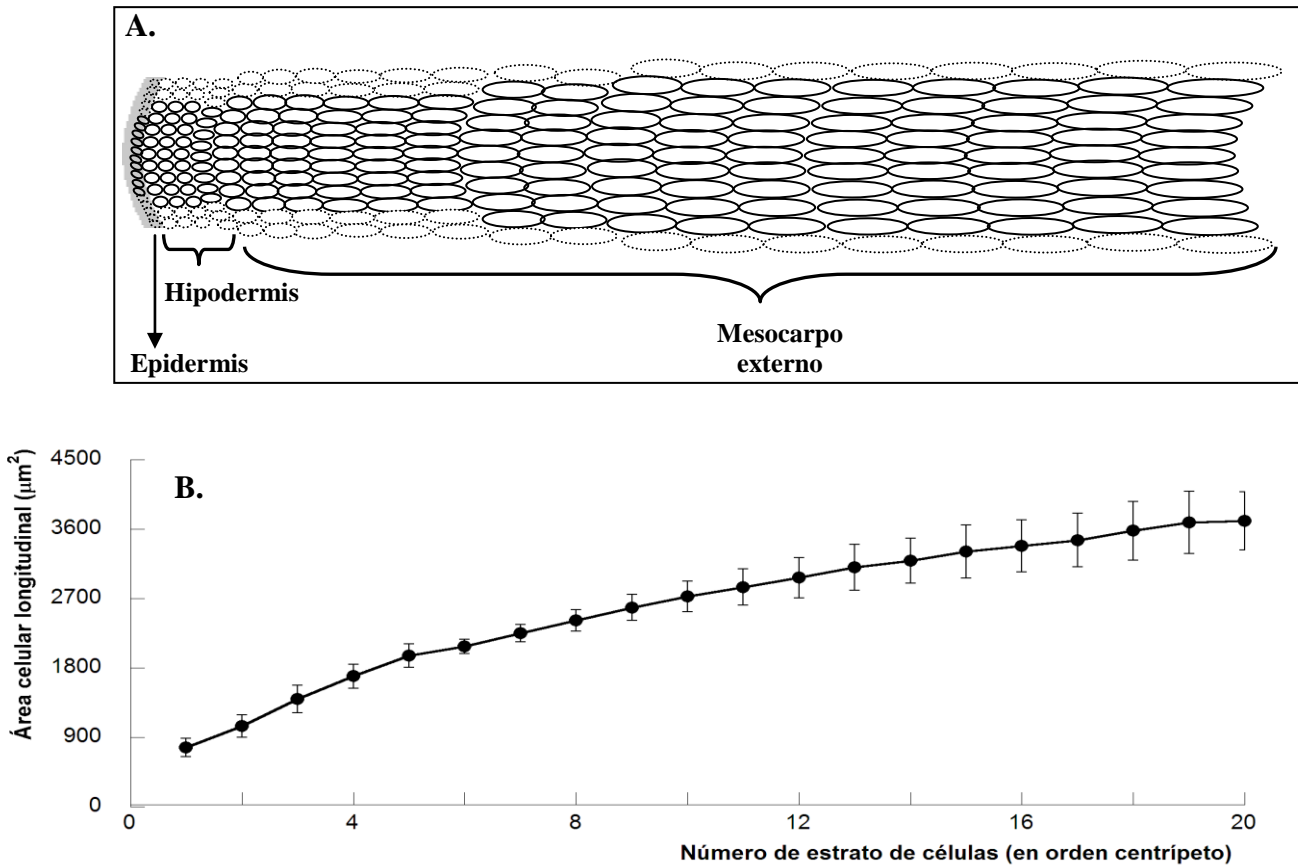


Figura 40. A. Modelo de organización celular en la sección longitudinal radial de la zona media del fruto maduro del olivo. Se representa la sucesión de estratos de células desde la epidermis (células recubiertas por la cutícula, representada por sombreado gris a la izquierda de la figura) hacia el centro del fruto, pasando por cuatro estratos de hipodermis y llegando al estrato celular número 20 del mesocarpio externo. B. Área celular longitudinal radial (AL, μm^2) de los primeros 20 estratos del mesocarpio de la zona media del fruto maduro del olivo. Cada punto representa el promedio (± 1 ES) del AL de los frutos de las variedades ‘Arbequina’ y ‘Nevadillo’ bajo condiciones de riego y secano.



6. PERSPECTIVAS A FUTURO

- El hecho de no haber encontrado diferencias significativas en el estado hídrico de las plantas bajo las condiciones hídricas estudiadas, abre la posibilidad de continuar estudiando la evolución del fruto en un monte frutal con árboles más jóvenes, que no presenten una historia de manejo en seco tan notoria, o de establecer una mayor diferencia en la cantidad de agua aportada por el riego.
- Sería positivo agregar otros parámetros de estudio del árbol y de los frutos del olivo creciendo en el SOB, como el análisis de calidad de aceite y anatomía foliar (por ej., densidad estomática), así como estudiar otras variedades que pudieran presentar una respuesta positiva al aporte diferencial de agua de riego aumentando el rendimiento de frutos por árbol y su contenido de aceite.
- Para realizar una comparación representativa entre los años de estudio, es recomendable que trabajando con árboles del olivo se eviten las diferencias en las cargas frutales entre los árboles sometidos a distintos tratamientos, prestando atención en que la elección de árboles para muestreo contemple la igualdad de carga floral y frutal entre ellos.



7. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, M., Ahmed, I., Ur-Rahman, H., Khokhar, K.M. y Mahmood T. 2004. Studies on floral biology and fruit setting in olive cultivars. *Sarhad Journal of Agriculture*, 20: 377-379.
- Alegre, S., Girona, J., Marsal, J., Arbonés, A., Mata, M., Montagut, D., Teixidó, F., Motilva, M.J. y Romero, M.P. 1999. Regulated deficit irrigation in olive trees. *Acta Hortic.*, 474: 373-376.
- Alegre, S., Marsal, J., Mata, M., Arbones, A., Girona, J. y Tovar, M. 2000. Regulated deficit irrigation in olive trees (*Olea europaea* L. cv Arbequina) for oil production. *Acta Hortic.*, 586: 259-262.
- Ali, K., Maltese, F., Fortes, A.M., Pais, M.S., Choi, Y.H. y Verpoorte, R. 2011. Monitoring biochemical changes during grape berry development in Portuguese cultivars by NMR spectroscopy. *Food Chem.*, 124: 1760-1769.
- Alonso Martínez, N., Juan Tresserras, J., Rodríguez Ariza, M.O. y Rovira Buendía, N. 2003. Muestreo arqueobotánico de yacimientos al aire libre y en medio seco. En: Buxó, R. y R. Piqué (Eds.), *La recogida de muestras en Arqueobotánica: objetivos y propuestas metodológicas. La gestión de los recursos vegetales y la transformación del paleopaisaje en el Mediterráneo occidental*. Museu d'Arqueologia de Catalunya, Barcelona, p. 29-46.
- Andreini, L., Bartolini, S., Guivarc'h, A., Chriqui, D. y Vitagliano, C. 2008. Histological and immunohistochemical studies on flower induction in the olive tree (*Olea europaea* L.). *Plant Biol.*, 10: 588-595.
- Archibald, R.D. y Melton, L.D. 1987. The anatomy of the fleshy pericarp of maturing Moorpark apricots, *Prunus armeniaca*. *New Zeal. J. Bot.*, 25: 181-184.
- Barone, E., Gullo, G., Zappia, R. e Inglese, P. 1994. Effect of crop load on fruit ripening and olive oil (*Olea europaea* L.) quality. *J. Hortic. Sci.*, 69: 67-73.



- Barranco, D. 2004. Variedades y patrones. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), El Cultivo del Olivo. Mundi-Prensa, Madrid, p. 63-92.
- Barrs, H.D. 1968. Determination of water deficits in plant tissues. In: Kozlowski, T.T. (Ed). Water Deficits and Plant Growth, Vol. 1. Academic Press. New York, p. 235-368.
- Bartolini, R., Petruccelli, H.D., Tindall, U.G. y Menini. 2002. Classification, origin, diffusion and history of the olive. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 74 pp.
- Beltrán, G., Uceda, M., Hermoso, M. y Frias, L. 2004. Maduración. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), El Cultivo del Olivo. Mundi-Prensa, Madrid, p. 125-158.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B. y Boukhris, M. 2007. Effects of water deficit on olive trees cv. Chemlali under field conditions in arid region in Tunisia. *Sci. Hortic.*, 113: 267-277.
- Bohner, J. y Bangerth, F. 1988. Cell number, cell size and hormone level in semi-isogenic mutants of *Lycopersicon pimpinellifolium* differing in fruit size. *Physiol. Plantarum*, 72: 316-320.
- Bollard, E.G. 1970. The physiology and nutrition of developing fruits. En: Hulme, A.C. (Ed.). The biochemistry of fruits and their products. London, Academic Press, p. 387-425.
- Bradley, M.V. 1959. Mean cell size in the mesocarp of mature peaches of different sizes. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 73:120-124.
- Bruni, U., Cortesi, N. y Fiorino, P. 1994. Influence of agricultural techniques, cultivation and origin area on characteristics of virgin olive oil and levels of some of its minor components. *Olivae*, 53: 28-34.



- Bueno, L. 2010. Análisis de los cambios estacionales y efecto de las diferentes zonas sobre la concentración de nutrientes en hojas de olivo (*Olea europaea* L.) en San Juan. Tesis de Magister de la Universidad de Buenos Aires, área Producción Vegetal. Buenos Aires. Argentina. 72 pp.
- Caponio, F., Alloggio, V. y Gomes, T. 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chem.*, 64: 203-209.
- Casierra-Posada, F., Hernández, D.I., Lüdders P. y Ebert, G. 2003. Crecimiento de frutos y ramas de manzano ‘Anna’ (*Malus domestica* Borkh) cultivado en los altiplanos colombianos. *Agronomía Colombiana*, 21: 69-74.
- Casierra-Posada, F. y Cardozo, M.C. 2009. Análisis básico del crecimiento en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill, cv. “Quindío”) cultivados a campo abierto. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 62: 4815-4822.
- Cheng, G.W. y Breen, P.J. 1992. Cell count and size in relation to fruit size among strawberry cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 117: 946-950.
- Civantos, L. 2004. La olivicultura en el mundo y en España. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), *El cultivo del olivo*. Mundi-Prensa, Madrid, p. 19-24.
- COI. 2016. Mercado oleícola. Revista digital Newsletter, 105. http://www.internationaloliveoil.org/news/view/686-year-2016-news/712-market-newsletter-may-2016?lang=es_ES (Verificado el 09/09/16).
- Conde, C., Delrot, S. y Geros, H. 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *J. Plant. Physiol.*, 165: 1545-1562.
- Coombe, B.G. 1976. The development of fleshy fruit. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27: 207-228.



- Coombe, B.G. 1992. Research on development and ripening of the grape berry. *Am. J. Enol. Viticult.*, 43: 101-110.
- Corelli-Grappadelli, L. y Lakso, A.N. 2004. Fruit development in deciduous tree crops as affected by physiological factors and environmental conditions. *Acta Hortic.*, 636: 425-441.
- Costagli, G., Gucci, R. y Rapoport, H.F. 2003. Growth and development of olive fruits (cv. 'Frantoio') under irrigated and rainfed conditions. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 78: 119-124.
- Covas, M.I., Ruiz-Gutiérrez, V., de la Torre, R., Kafatos, A., Lamuela-Raventós, R.M., Osada, J., Owen, R.W. y Visioli, F. 2006. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutr. Rev.*, 64: S20-S30.
- Cuevas, J. y Polito, V.S. 2004. The role of staminate flowers in the breeding system of *Olea europaea* (Oleaceae): an andromonoecious, wind-pollinated taxon. *Ann. Bot.*, 93: 547-553.
- Dag, A., Bustan, A., Avni, A., Tzipori, I., Lavee, S. y Riov, J. 2010. Timing of fruit removal affects concurrent vegetative growth and subsequent return bloom and yield in olive (*Olea europaea* L.). *Sci. Hortic.*, 123: 469-472.
- Dagar, A., Weksler, A., Friedman, H. y Lurie, S. 2012. Gibberellic acid (GA3) application at the end of pit ripening: Effect on ripening and storage of two harvests of 'September Snow' peach. *Sci. Hortic.*, 140: 125-130.
- Davies, F.S. y Albrigo, L.G. 1994. *Citrus*. CAB International, Wallingford. 254 pp.
- De la Rosa, R., León, L., Guerrero, N., Rallo, L. y Barranco, D. 2007. Preliminary results of an olive cultivar trial at high density. *Aust J. Agr. Res.*, 58: 392-395.
- Dichio, B., Xiloyannis, G., Celano, G. y Angelopoulos, K. 1994. Response of olive trees subjected to various levels of water stress. *Acta Hortic.*, 356: 211-214.



- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. 2010. InfoStat, versión 2010, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Domingo, X., Arbonés, A., Rufat, J., Pascual, M. y Villar, J.M. 2011. Four years of RDI during Stage-II versus stage-III in peaches for processing: yield and quality. *Acta Hortic.*, 889: 213-220.
- Drogoudi, P.D., Tsipouoridis, C.G. y Pantelidis, G. 2009. Effects of crop load and time of thinning on the incidence of split pits, fruit yield, fruit quality, and leaf mineral contents in 'Andross' peach. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 84: 505-509.
- Elisei, V., Aguirre, M.E. y Santamaría, R. 2007. El desafío de la olivicultura en el sudoeste bonaerense. *AgroUNS*, 7: 11-14.
- Elisei, V. y Aguirre, M.E. 2011. Variables meteorológicas de dos sitios de interés olivícola de Coronel Dorrego. *AgroUNS*, 15: 17-20.
- Esau, K., 1993. Anatomía de las plantas con semilla. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. 512 pp.
- Fabbri, A., Bartolini, G., Lambardi, M. y Kailis, S. 2004. Olive Propagation Manual. Landlinks Press, Collingwood. 141 pp.
- Faci, J., Berenguer, M., Espada, J. y Gracia, S. 2002. Effect of variable water irrigation supply in olive (*Olea europaea* L.) cv. Arbequina in Aragon (Spain). I. Fruit and oil production. *Acta Hortic.*, 586: 341-344.
- Fernández, J.E., Moreno, F., Giron, I.F., Blozquez, O.M. 1997. Stomatal control of water use in olive tree leaves. *Plant Soil*, 190: 179-192.
- Fernández-Escobar, R., Benlloch, M., Navarro, C. y Martín, G.C. 1992. The time of floral induction in the olive. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 117: 304-307.



- Fernández-Escobar, R. 2004. Fertilización. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.). El Cultivo del Olivo. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, p. 287-320.
- Fornaciari da Paisano, M., Barone, E. y Romano, R. 2009. Caratteristiche botaniche. En: L'ulivo e l'olio. Colección Cultura y cultura. Bayer CropScience, p. 1-24.
- Frary, A., Nesbitt, T.C., Frary, A., Grandillo, S., Knaap, E.V.D., Cong, B., Liu J., Meller, J., Elber, R., Alpert, K.B. y Tanksley, S.D. 2000. A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science*, 289: 85-88.
- Gillaspy, G., David, H. y Gruissem, W. 1993. Fruits: a developmental perspective. *The Plant Cell*, 5: 1439-1451.
- Giménez, C., Fereres, E., Ruiz, C. y Orgaz, F. 1997. Water relations and gas exchange of olive trees: Diurnal and seasonal patterns of leaf water potential, photosynthesis and stomatal conductance. *Acta Hort.*, 449: 411-415.
- Gimeno, E., Fitó, M., Lamuela-Raventós, R.M., Castellote, A.I., Covas, A.I., Farré, M., de la Torre, M.C. y López-Sabater, M.C. 2002. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 56: 114-120.
- Giorio, P., Soventino, G. y d'Andria, R. 1999. Stomatal behaviour, leaf water status and photosynthetic response in field-grown olive trees under water deficit. *Agric. Water Manag.*, 42: 95-104.
- Girona, J., Luna, M., Arbones, A., Mata, M., Rufat, J. y Marsal, J. 2002. Young olive trees responses (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) to different water supplies. Water function determination. *Acta Hort.*, 586: 277-280.
- Ghrisi, N., Boulouha, B., Benichou, M., Hilali, S., 1999. Agro-physiological evaluation of the phenomenon of pollen compatibility in olive. Case of the Mediterranean collection at the Menara Station, Marrakech. *Olivae*, 79: 51-59.



- Gómez del Campo, M. y Rapoport, H. 2008. Descripción de la iniciación floral, floración, cuajado, caída de frutos y endurecimiento del hueso. *Agricultura*, 907: 400-406.
- Gómez del Campo, M., Morales-Sillero, A., Vita Serman, F., Rousseaux, M.C. y Searles, P.S. 2010. El olivar en los Valles áridos del noroeste de Argentina (provincias de Catamarca, La Rioja y San Juan). *Olivae*, 114: 23-45.
- Grattan, S.R., Berenguer, M.J., Connell, J.H., Polito, V.S. y Vossen, P.M. 2006. Olive oil production as influenced by different quantities of applied water. *Agr. Water Manage.*, 85: 133-140.
- Green, P.B., 1976. Growth and cell pattern formation on an axis: critique of concepts, terminology and modes of study. *Botanical Gazette*, 137:187-202.
- Gucci, R., Lodolini, E.M. y Rapoport, H.F. 2007. Productivity of olive trees with different water status and crop load. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 82: 648-656.
- Gucci, R., Lodolini, E.M. y Rapoport, H.F. 2009. Water deficit-induced changes in mesocarp cellular processes and the relationship between mesocarp and endocarp during olive fruit development. *Tree Physiol.*, 29: 1575-1585.
- Guerrero, A. 2003. *Nueva Olivicultura*. (5a ed.) Mundi-Prensa. Madrid, España. 304 pp.
- Guiragossian, V.Y., Van Scoyoc, S.W. y Axtell, J.D. 1977. Chemical and biological methods for grain and forage sorghum. Dept. of Agronomy, Agric. Exp. Sta., Purdue Univ., West Lafayette, Indiana. 232 pp.
- Hammami, S.B.M., Manrique, T. y Rapoport, H.F. 2011. Cultivar- based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. *Sci. Hortic.*, 130: 445-451.
- Hammami, S.B.M., y Rapoport, H.F. 2012. Quantitative analysis of cell organization in the external region of the olive fruit. *Int. J. Plant Sci.*, 173: 993-1004.



- Harada, T., Kurahashi, W., Yanai, M., Wakasa, Y. y Satoh, T. 2005. Involvement of cell proliferation and cell enlargement in increasing the fruit size of *Malus* species. *Sci. Hortic.*, 105: 447-456.
- Hartmann, H. 1948. Growth of olive fruit: Follows three-period growth pattern of other stone fruits. *Calif. Agr.*, 2: 7-12.
- Higashi, K., Hosoya, K. y Ezura, H. 1999. Histological analysis of fruit development between two melon (*Cucumis melo* L. *reticulatus*) genotypes setting a different size of fruit. *J. Exp. Bot.*, 50: 1593-1597.
- Hunt, R. 1990. Basic growth analysis. *Plant growth analysis for beginners*. Unwin Hyman, Boston. 112 pp.
- Hunt, R. 2003. Growth analysis, individual plants. En: Thomas, B., Murphy, D.J. and Murray, B.G. (Eds). *Encyclopaedia of applied plant sciences*. Academic Press, London, p. 579-588.
- Iglesias Rodríguez, J.J. 1995. *Historia y cultura del vino en Andalucía*. Universidad de Sevilla. Sevilla. 220 pp.
- Iniesta, F., Testi, L., Orgaz, F. y Villalobos, F.J. 2009. The effects of regulated and continuous deficit irrigation on the water use, growth and yield of olive trees. *Eur. J. Agron.*, 30: 258-265.
- INTA. 2012. Perlas cultivadas. *Revista mensual INTA Informa*. Año XI, 123. http://intainforma.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2012/02/Inta_Informa_123.pdf (Verificado el 09/09/16).
- Izquierdo Tamayo, A. y Durán Grande, M. 1970. Estudios sobre la estructura histológica del fruto de *Olea europaea* L. II Variedad "manzanilla" (*Olea europaea pomiformis* Clem.). *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural (Biología)*, 68:167-9.



- Jackson, D.I. y Coombe, B.G. 1966. The growth of apricot fruit. I. Morphological changes during development and the effects of various tree factors. *Aust. J. Agr. Res.*, 17: 465-477.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw- Hill Book Company. London. 523 pp.
- Johnson, L K., Malladi, A. y NeSmith, D.S. 2011. Differences in cell number facilitate fruit size variation in rabbiteye blueberry genotypes. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 136: 10-15.
- Kamal-Eldin, A. y Appelqvist, L.A. 1996. The Chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31: 671-701.
- King, J.R. 1938. Morphological development of the fruit of the olive. *Hilgardia*, 11: 437-458.
- Lavee, S. 1986. Olive. En: *Handbook of fruit set and development* (Monselise, S.P., Ed.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida USA, p. 261-276.
- Lavee, S. y Avidan, N. 1994. Protein content and composition of leaves and shoot bark in relation to alternate bearing of olive trees (*Olea europaea* L.). *Acta Hortic.*, 356: 143-147.
- Lavee, S. y Wodner, M. 1991. Factors affecting the nature of oil accumulation in fruit of olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *J. Hortic. Sci.*, 66: 583-591.
- Lavee, S. y Wodner, M. 2004. The effect of yield, harvest time and fruit size on the oil content in fruits of irrigated olive trees (*Olea europaea*), cvs. Barnea and Manzanillo. *Sci. Hortic.*, 99: 267-277.
- León, L., De La Rosa, L., Rallo, L., Guerrero, N. y Barranco, D. 2007. Influence of spacing on the initial production of hedgerow 'Arbequina' olive orchards. *Span. J. Agric. Res.*, 5: 554-558.



- Lykouressis, D., Kapsaskis, A., Perdikis, D., Vatos, A. y Fantinou, A. 2004. Rates of population increase, abundance and life stage distribution of *Rhynchites cribripennis* (Coleoptera: Attelabidae) on trees and in soil in an olive grove. J. Econ. Entomol., 97: 316-320.
- López, F.C. 1996. El cultivo del olivo. El campesino, 127: 50-59.
- Mailer, R.J. y Beckingham, C. 2006. Testing olive oil quality: chemical and sensory methods. Primefact 231. NSW DPI-Australia. <http://spartacos.be/Testing-olive-oil-quality.pdf> (Verificado el 09/09/16).
- Manrique, T., Castro, J., Pastor, M. y Rapoport, H.F. 1999. Mesocarp cell division and expansion in the growth of olive fruits. Acta Hortic., 474: 301-304.
- Manrique, T. y Rapoport, H.F. 1999. Crecimiento del mesocarpo en seis variedades de aceituna. VIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, Murcia, España, p. 126-131.
- Marcelis, L.F.M. y Heuvelink, E. 2007. Concepts of modelling carbon allocation among plant organs. Frontis, 22: 103-111.
- Martin, G.C. 1990. Olive flower and fruit population dynamics. Acta Hortic., 286: 141-153.
- Martín-Vertedor, A.I., Rodríguez, J.M.P., Losada, H.P., Castiel, E.F., 2011. Interactive responses to water deficits and crop load in olive (*Olea europaea* L., cv. Morisca). II: Water use, fruit and oil yield. Agric. Water Manage., 98: 941-949.
- Martínez de Victoria, E. y Mañas, M. 2001. El aceite de oliva en la dieta y salud humana. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), El Cultivo del Olivo. Mundi-Prensa, Madrid, p. 663-684.



- Matías, A.C., Toro, A.A., Montalván, L.D. y Molina, M.S. 2010. Variedades de olivo cultivadas en las provincias de Catamarca y La Rioja, Argentina. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. 70 pp.
- Ministerio de Agroindustria de la Nación. 2016. Producción, aceite de oliva, total país, (toneladas), anual. <http://www.siiia.gov.ar> (Verificado el 09/09/16).
- Moriana, A., Villalobos, F.J. y Fereres, E. 2002. Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficit. *Plant Cell Environ.*, 25: 395-405.
- Nogués, S. y Baker, R.N. 2000. Effects of drought on photosynthesis in mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *J. Exp. Bot.*, 51: 1309-1317.
- Nuzzo, V., Xiloyannis, C., Dichio, G., Montanaro, G. y Celano, G. 1997. Growth and yield in irrigated and non-irrigated olive trees cultivar Corantina over four years after planting. *Acta Hortic.*, 449: 75-82.
- Obiol, L., Pirillo, M.C., Bostal, F. y Sarro, L. 2006. Sudoeste bonaerense: potencialidad para el desarrollo de un cluster olivícola. En: Cernadas de Bulnes, M. y Marcilese, J. (Eds.), *Cuestiones políticas, socioculturales y económicas del sudoeste bonaerense*, Bahía Blanca. UNS Archivo de la Memoria, p. 487-495.
- Olmstead, J.W., Iezzoni, A.F., Whiting, M.D. 2007. Genotypic differences in sweet cherry fruit size are primarily a function of cell number. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 132: 697-703.
- Orgaz, F., Testi, L., Villalobos, F.J. y Fereres, E. 2006. Water requirements of olive orchards. II: determination of crop coefficients for irrigation scheduling. *Irrigation Sci.*, 24: 77-84.
- Özkaya, M.T., Ergülen, E., Ulger, S. y Ozilbey, N. 2004. Genetic and biologic characterization of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars grown in Turkey. *Tarim Bilim. Derg.*, 10: 231-236.



- Padula, G., Giordani, E., Bellini, E., Rosati, A., Pandolfi, S., Paoletti, A., Pannelli, G., Ripa, V., De Rose, F., Perri, E., Buccoliero, A. y Mennoce, C. 2008. Field evaluation of new olive (*Olea europaea* L.) selections and effects of genotype and environment on productivity and fruit characteristics. *Advances in Hortic. Sci.*, 22: 87-94.
- Paoloni, J.D. y González Uriarte, M. 2005. Geoambiente y evaluación de las aguas freáticas del partido de Coronel Dorrego (provincia de Buenos Aires). EdiUNS. 107 pp.
- Papenfuss, K.A. y Black, B.L. 2010. Regulated deficit irrigation of 'Montmorency' Tart Cherry. *HortScience*, 45: 1437-1440.
- Pastor, M., Castro, J., Mariscal, M.J., Vega, V., Orgaz, F., Fereres, E., Hidalgo, J. 1999. Respuestas del olivar tradicional a diferentes estrategias y dosis de agua de riego. *Investigación Agraria: Producción Vegetal*, 14: 393-404.
- Pastor, M., Castro, J., Vega, V. y Humanes, M. 2004. Sistemas de manejo del suelo. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.). *El Cultivo del Olivo*. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, p. 205-244.
- Pastor Muñoz-Cobo, M., Macias, V., Moya, J. y Girona, J. 2005. Influencia del riego sobre la calidad del aceite y sobre el comportamiento de la aceituna en el proceso industrial de extracción. En: *Cultivo del olivo con riego localizado*. Pastor Muñoz-Cobo, M. (Ed.). Coedición Junta de Andalucía y Mundi-Prensa, Madrid, p. 165-184.
- Patumi, M., d'Andria, R., Fontanazza, G., Morelli, G., Giorio, P. y Sorrentino, G. 1999. Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olives (*Olea europaea* L.) under different irrigation regimes. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 74: 729-737.



- Peña-Chocarro, L. y Zapata Peña, L. 1997. El *Triticum dicoccum* (ezkandia) en Navarra: de la agricultura prehistórica a la extinción de un trigo arcaico. *Zainak*, 14: 249-262.
- Picardi, M.S. y Obiol, L. 2011. Desarrollo territorial sostenible: la olivicultura en el sudoeste de Buenos Aires, Argentina. *Trayectorias*, 32: 94-117.
- Proietti, P. y Antognozzi, E. 1996. Effect of irrigation on fruit quality of table olives (*Olea europaea* L.), cultivar 'Ascolana tenera'. *New Zeal. J. Crop Hort.*, 24: 175-181.
- Puertas, C.M., Trentacoste, E.R., Morabito, J.A. y Perez Peña, J.E. 2008. Efecto del riego deficitario controlado en el rendimiento y calidad de aceite de olivos (*Olea europaea* L.) cv. Arbequina. *Jornadas de actualización en Riego y Fertirriego*, Mendoza, Argentina.
- Puertas, C.M. 2009. Efecto del riego deficitario controlado sobre el rendimiento y calidad de aceite en olivo (*Olea europaea* L.) cv. Arbequina. Tesis en Maestría de Riego y Drenaje. Facultad de Ciencias Agrarias de Universidad Nacional de Cuyo, Argentina. 71 pp.
- Purcell, E. y Varberg, D. 1993. Cálculo con geometría analítica. Sexta edición. Prentice Hall Hispanoamericana, México. 924 pp.
- Quezada, L.C., Venegas, V.A., García, A. y Ocampo, J.H. 2005. Frecuencia de reposición hídrica en olivos (*Olea europaea* L.) bajo riego por goteo en un suelo franco arcilloso. *Agro Sur*, 33: 74-86.
- Rallo, L. 1994. Fructificación y producción en olivo. *Agricultura*, 746: 13-16.
- Rallo, L., Torreño, P., Vargas, A., y Alvarado, J. 1994. Dormancy and alternate bearing in olive. *Acta Hortic.*, 356:127-136.



- Rallo, L. y Cuevas, J. 2004. Fructificación y producción. En: Barranco D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), El Cultivo del Olivo. Mundi-Prensa, Madrid, p. 125-158.
- Rallo-Morillo, P. 1994. El papel de los procesos celulares en el crecimiento del fruto en cinco cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Trabajo Fin de Carrera. Universidad de Córdoba. 105 pp.
- Rallo-Morillo, P. y Rapoport, H.F. 2001. Early growth and development of the olive fruit mesocarp. *J. Hortic. Sci. Biotech.*, 76: 408-412.
- Rapoport, H.F., Costagli, G. y Gucci, R. 2004a. The effect of water deficit during early fruit development on olive fruit morphogenesis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 129: 121-127.
- Rapoport, H.F., Manrique, T. y Gucci, R. 2004b. Cell division and expansion in the olive fruit. *Acta Hortic.*, 636: 461-465.
- Rapoport, H.F. 2008. Botánica y morfología. En: Barranco D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (Eds.), El Cultivo del Olivo (6º ed.), Junta de Andalucía-Mundi-Prensa, Madrid, p. 37-62.
- Rapoport, H.F., Pérez-López, D., Hammami, S.B.M., Agüera, J. y Moriana, A. 2013. Fruit pit hardening: physical measurement during olive fruit growth. *Ann. Appl. Biol.*, 163: 200-208.
- Rasband, W.S. 2011. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/> (Verificado el 09/09/16).
- Reale, L., Sgromo, C., Ederli, L., Pasqualini, S., Orlandi, F., Fornaciari, M., Ferranti, F. y Romano, B. 2009. Morphological and cytological development and starch accumulation in hermaphrodite and staminate flowers of olive (*Olea europaea* L.). *Sex. Plant Reprod.*, 22:109-119.



- Romero, S.A. 2003. Efectos económicos de la aplicación de la agricultura de precisión en una explotación de olivar en la provincia de Jaén. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España. 425 pp.
- Roth, I. 1977. Fruits of angiosperms. En: Encyclopedia of Plant Anatomy. K. Linsbauer, F. G. Tischler y A. Pascher (Ed.). Gebrüder Borntraeger, Berlin. 675 pp.
- Roussos, P.A., Sefferou, V., Denaxa, N.K., Tsantili, E. y Stathis, V. 2011. Apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruit quality attributes and phytochemicals under different crop load. *Sci. Hortic.*, 129: 472-478.
- Rubio de Miguel, I. 2011. Domesticación y modelos para la Neolitización de la Cuenca Mediterránea. Cuadernos de Prehistoria y Arqueología, Universidad Autónoma de Madrid, 37-38: 139-152.
- Ruiz-Alonso, M., Martínez Torrecilla, J.M. y Zapata, L. 2009. Macrorrestos vegetales del yacimiento arqueológico de Las Eras de San Martín (Alfaro, La Rioja). *Kobie (Serie Paleoantropología)*, Bilbao, 28: 153-170.
- Ruzin, S.E. 1999. *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. 322 pp.
- Sanz-Cortés, F., Martínez-Calvo, J., Badenes, M.L., Bleiholder, H., Hack, H., Llácer, G., y Meier, U. 2002. Phenological growth stages of olive trees (*Olea europaea* L.). *Ann. Appl. Biol.*, 140: 151-157.
- Salvador, M.D., Aranda, F., Gómez-Alonso, S. y Fregapane, G. 2003. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*, 80: 359-366.
- Scorza, R., May, L.G., Purnell, B. y Upchurch, B. 1991. Differences in number and area of mesocarp cell between small- and large-fruited peach cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 116: 861-864.



- Searles, P.S., Rousseaux, M.C., Ladux, J.L., Trentacoste, E., Arjona, C., Cólica, J., Matias, C., Bueno, L. y Vita Serman, F. 2012. Following olive footprints in Argentina. En: El-Kholy, M., Avanzato, D., Caballero, J. M., Chartzoulakis, K. S., Vita Serman F. y Perri, E. (Eds.). Following olive footprints (*Olea europaea* L.)- Cultivation and culture, folklore and history, traditions and uses. Association of Agricultural Research Institutions in the Near East and North Africa, International Olive Council and International Society of Horticultural Science Scripta Series, Córdoba, España, p. 13-23.
- Selles van Sch, G., Ferreyra, R., Selles M.I. y Lemus, S. 2006. Efecto de diferentes regímenes de riego sobre la carga frutal, tamaño de fruta y rendimiento del olivo cv. Sevillana. Agric. Téc., 66:48-56.
- Slatyer, R.O. y Barrs, H.D. 1965. Modifications to the relative turgidity technique with notes on its significance as an index of the internal water status of leaves. In: Methodology of plant eco- physiology, F. E. Eckardt, ed. UNESCO Paris, p. 331-341.
- Slatyer, R.O. 1967. Plant-water relationships. Academic Press, New York. 366 pp.
- Stern, R.A., Flaishman, M. y Ben-Arie, R. 2007. Effect of synthetic auxins on fruit size of five cultivars of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). Sci. Hortic., 112: 304-309.
- Stutte, G.W. y Martin, G.C. 1986. Effect of killing the seed on return bloom of olive. Sci. Hortic., 29: 107-113.
- Teruel, E.M. y Castelli, L.E. 2007. Caracterización de tres suelos y determinación de parámetros para riego por goteo en el partido de Coronel Dorrego. Trabajo final de Carrera. Universidad Nacional del Sur. Argentina. 89 pp.
- Thakur, A. y Singh, Z. 2012. Responses of ‘Spring Bright’ and ‘Summer Bright’ nectarines to deficit irrigation: fruit growth and concentration of sugars and organic acids. Sci. Hortic., 135: 112-119.



- Torres, M. y Maestri, D. 2006. The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chem.*, 96: 507-511.
- Tous, J., Romero, A. y Plana, J. 1998. Comportamiento agronómico y comercial de cinco variedades de olivo en Tarragona. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.*, 13: 97-109.
- Tous, J., Romero, A., Plana, J. y Hermoso, J.F. 2008. Olive oil cultivars suitable for very high-density planting conditions. *Acta Hortic.*, 791: 403-408.
- Trentacoste, E.R., Puertas, C.M. y Sadras, V.O. 2010. Effect of fruit load on oil yield components and dynamics of fruit growth and oil accumulation in olive (*Olea europaea* L.). *Eur. J. Agron.*, 32: 249-254.
- Tukey, H.B. y Young, J.O. 1939. Histological study of the developing fruit of the sour cherry. *Bot. Gaz.*, 100: 723-749.
- Uceda, M., Hermoso, M. y Aguilera, M.P. 2004. La calidad del aceite de oliva. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (Eds.), *El cultivo del Olivo*. Junta de Andalucía-Mundi-Prensa, Madrid, p. 657-684.
- Waterman, E. y Lockwood, B. 2007. Active components and clinical applications of olive oil. *Altern. Med. Rev.*, 12: 331-342.
- Yamaguchi, M., Haji, T., Miyake, M. y Yaegaki, H. 2002. Varietal differences in cell division and enlargement periods during peach (*Prunus persica* Batsch) fruit development. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 71: 155-163.
- Yamaguchi, M., Haji, T. y Yaegaki, H. 2004. Differences in mesocarp cell number, cell length, and occurrence of gumming in fruit of Japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) cultivars during their development. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 73: 200-207.



-
- Zadoks, J.C., Chang, T.T. y Konzac, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.*, 14: 415-421.
- Zhang, C., Tanabe, K., Tamura, F., Itai, A. y Wang, S. 2005. Partitioning of ^{13}C -photosynthate from spur leaves during fruit growth of three Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* L.) cultivars differing in maturation date. *Ann. Bot.*, 95: 685-693.
- Zhang, C., Tanabe, K., Tamura, F., Wang, S., Yoshida, A. y Matsumoto, K. 2006. The impact of cell división and cell enlargement on the evolution of fruit size in *Pyrus pyrifolia*. *Ann. Bot.*, 98: 537-543.
- Zhang, C. y Whiting, M.D. 2011. Improving 'Bing' sweet cherry fruit quality with plant growth regulators. *Sci. Hortic.*, 127: 341-346.



8. APÉNDICE

Producción científica emergente de esta Tesis:

PUBLICACIONES en REVISTAS INTERNACIONALES

- **Rosetti, M.V.**, Flemmer, A.C. y Hernández, L.F. 2014. Morphological and anatomical development of fruits of two varieties of olive (*Olea europaea* L.) grown under irrigated and rainfed conditions in Southwestern Buenos Aires province. *Acta Hortic.*, n° 1057, p. 107-111.

PUBLICACIONES en REVISTAS NACIONALES

- **Rosetti, M.V.**, Cantamutto, M.A. y Hernández, L.F. 2013. Propagación sexual del olivo. *AgroUNS*, n° 20, p. 10-14.

COMUNICACIONES en REUNIONES CIENTÍFICAS INTERNACIONALES

- **Rosetti, M.V.**, Flemmer, A.C. y Hernández, L.F. 2012. Morphological and anatomical development of fruits of two varieties of olive (*Olea europaea* L.) grown under irrigated and rainfed conditions in Southwestern Buenos Aires Province. International Symposium on Olive Growing, septiembre de 2012, San Juan. Book of abstracts, VII P-68.

COMUNICACIONES en REUNIONES CIENTÍFICAS NACIONALES

- **Rosetti, M.V.**, Flemmer, A.C, Lindström, L.I., Elisei, V.R., Aguirre, M.E. y Hernández, L.F. 2011. Desarrollo y esclerificación del endocarpo de frutos de olivo (*Olea europaea* L.) bajo secano y riego. XXXIII Jornadas Argentinas de Botánica, octubre 2011, Posadas. p. 118.
- **Rosetti, M.V.**, Flemmer, A.C, Lindström, L.I., Elisei, V.R., Aguirre, M.E. y Hernández, L.F. 2011. Desarrollo y esclerificación del endocarpo de frutos de olivo (*Olea europaea* L.) bajo secano y riego. Segunda jornada de intercambio



- de producción científico-tecnológica (CONICET), noviembre 2011, Bahía Blanca. p. 56.
- **Rosetti, M.V.**, Flemmer, A.C. y Hernández, L. F. 2012. Desarrollo morfológico y anatómico de frutos de dos variedades de olivo (*Olea europaea* L.) crecidas bajo riego y seco en el sudoeste bonaerense. XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, septiembre de 2012, Mar del Plata. p. 229. res. EC 9.
 - **Rosetti, M.V.** y Hernández, L.F. 2013. Desarrollo de los frutos del olivo (*Olea europaea* L.) cultivado en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, creciendo bajo condiciones de seco y riego. Tercera jornada de intercambio de producción científico-tecnológica (CONICET), diciembre 2013, Bahía Blanca. p. 49-50.
 - **Rosetti, M.V.** y Hernández, L.F. 2014. Distribución celular tridimensional en el fruto maduro del olivo (*Olea europaea* L.). I Reunión Argentina de Jóvenes Botánicos, agosto de 2014, Corrientes. p.60.
 - Anderson, J. C., **Rosetti, M.V** y Hernández, L.F. 2015. Estudio comparativo de la densidad estomática abaxial en hojas de seis variedades de olivo (*Olea europaea* L.). XXXV Jornadas Argentinas de Botánica, septiembre de 2015, Salta. p.33.
 - Anderson, J. C., **Rosetti, M.V** y Hernández, L.F. 2015. Estudio comparativo de caracteres morfológicos foliares en seis variedades de olivo (*Olea europaea* L.). 38° Congreso Argentino de Horticultura, septiembre de 2015, Bahía Blanca.