

**TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN Y DE ACORTAMIENTO DEL  
PERIODO JUVENIL EN EL PROGRAMA DE MEJORA DEL  
OLIVO**

**MILAD EL RIACHY**

**Córdoba, Julio 2007**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA**  
**E.T.S.I.AGRÓNOMOS Y MONTES**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y**  
**FORMACIÓN AGRARIA Y PESQUERA**  
**CIFA “ALAMEDA DEL OBISPO”**  
**JUNTA DE ANDALUCIA**

Tesis de Master presentada por **Milad El Riachy** en satisfacción de los requisitos necesarios para optar al título de Master en Olivicultura y Elaiotecnia. Dirigida por **D. LUIS RALLO ROMERO** Director y Catedrático del Dpto. de Agronomía de la ETSIAM de la Universidad de Córdoba y **D. Lorenzo León Moreno** Investigador del Centro IFAPA “Alameda del Obispo” de Córdoba.

Los Directores de la Tesis:

D. Luis Rallo Romero

D. Lorenzo León Moreno

El Alumno

Milad El Riachy

Dedicada a mi país, EL LÍBANO, y a mis padres.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a los directores de este trabajo Luis Rallo Romero y Lorenzo León Moreno, por su incondicional disponibilidad y por transmitirme sus conocimientos científicos e informáticos y lo mucho que contribuyeron para desarrollar mis conocimientos y por todo lo demás. Sobre todo por haber tenido paciencia conmigo y con mi español.

Al codirector de este trabajo D. Raúl de la Rosa Navarro, por su inestimable coordinación para poder llevar a cabo todos los ensayos asimismo por su incondicional disponibilidad.

Al director del Master en Olivicultura y Elaiotecnia D. Ricardo Fernández Escobar, por darme la posibilidad de realizar este trabajo.

A D. Angjelina Belaj por su cariñoso apoyo y por su animación y preocupación por mí.

A D. Diego Barranco Navero por sus consejos y por atenderme y contestar a cualquier duda que tenía a lo largo del año.

A mi amigo y compañero de Master y de piso, Sofiene, por su muy especial ayuda en mi trabajo a lo largo del año.

A los otros miembros del programa de mejora genética del olivo, especialmente a Aurelio, Conchi, David, Estrella, Inma, Julillo, Manolo, Marie Carmen, Maria por su colaboración, su ayuda y por crear tan buen ambiente de trabajo en el programa, así como por haberme tratado como miembro de su familia.

A la secretaria del Master en Olivicultura y Elaiotecnia, Carmen Vacas, por solucionar todos los trámites.

Al padre jesuita Ernesto por atenderme en momentos duros y al grupo de San Pelagio por considerarme como miembro de su familia a lo largo de mi estancia en España.

A todos mis amigos y amigas españoles y a todos mis compañeros del Master, por haber hecho mi estancia en España muy agradable y muy especial.

A mis queridos padres Gerorges y Raymonda, y mis hermanos Assaf, Charles y Elias por su amor y su cariño que me han acompañado durante toda mi vida.

“Choukran Jazilan” para todos.

## **RESUMEN**

La crianza de las plantas de semilla es un proceso clave en la mejora de especies frutales. Este proceso comienza con la germinación de la semilla, el posterior crecimiento de la planta generada y finalmente la propagación de los genotipos seleccionados. Todas estas fases son de gran importancia especialmente en el caso del olivo, especie en la que el largo periodo juvenil ha sido la principal causa del retraso de la mejora genética. En el presente trabajo se han experimentado distintos tratamientos que permitan mejorar diferentes aspectos relacionados con estas fases de crianza, con el objetivo general de mejorar la eficiencia del programa de mejora de olivo que se lleva a cabo en Córdoba desde 1991. Se han ensayado diferentes procedimientos para mejorar la germinación de las semillas de variedades cultivadas de olivo. Los mejores resultados se obtuvieron al adoptar el procedimiento general de germinación consistente en la recogida de las aceitunas, despulpado, lavado, rotura del hueso, extracción de la semilla, desinfección, siembra, estratificación y al final puesta en cámaras y germinación de las semillas. Otros resultados obtenidos como la reducción del periodo de estratificación, la germinación directa en invernadero, la elección de un sustrato adecuado o la relación entre la época de maduración y la óptima germinación de las semillas han permitido mejorar la germinación y simplificar el manejo inicial de las plantas. También se ha estudiado la germinación de las semillas de acebuches y se han obtenido elevados porcentajes de germinación que superan a los de las variedades cultivadas cuando las semillas recogidas son de buena calidad. Se ha estudiado también el efecto de la solarización durante la fase de forzado en campo como técnica para aumentar el crecimiento de las plantas de olivo y por consiguiente acortar el periodo juvenil del olivo. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento de solarización aumentó el crecimiento de las plantas de semilla observándose un mayor crecimiento en altura y en diámetro de tronco en los árboles solarizados respecto a los no solarizados. Finalmente se ha caracterizado la capacidad de enraizamiento de algunas preselecciones obtenidas previamente en el programa de mejora, observándose una alta variabilidad en las mismas. No obstante, la mayoría de ellas presentó una buena capacidad para su propagación por estaquillado semileñoso, un carácter que puede ser muy importante para la difusión de las nuevas variedades.

## **ABSTRACT**

The raising of seedlings is a key process in fruit breeding. This process begins with the germination of the seed, then the growth of the generated plant and finally the propagation of the selected genotypes. All these phases are of great importance especially in the case of the olive tree species, in which the long juvenile period has been the main cause of the delay of the genetic breeding. In the present work different treatments have been applied to cultivated cultivars with the aim to improve different aspects related to these growing phases. This will help to improve the efficiency of the olive breeding program that is carried out in Cordoba since 1991. The best results have been obtained applying the general procedure of germination, which consist in olive harvesting, dispulping, washing, breakage of the stone, extraction of the seed, disinfection, sowing, stratification and at the end seeds are placed in germination rooms for germination. Other results obtained such as the reduction of the period of stratification, the direct germination in greenhouse, the election of a suitable substrate and the study of the relation between the time of maturation and the optimal germination of the seeds, have also contributed to improve and to simplify the initial management of the plants. The germination of the seeds of wild olives has also been studied and elevated percentages of germination, that surpass those of the cultivated varieties, have been obtained when the harvested seeds are of good quality. The effect of the solarization has also been studied as a method to increase the growth of the olive seedlings and, therefore, to shorten the juvenile period of the olive tree. The results obtained indicate that the solarization treatment increased the growth of the seedlings. A higher growth in height and trunk diameter in the solarized trees with respect to not solarized was obtained. Finally the rooting ability of some genotypes previously selected in the breeding program has been characterized. A high variability between them was obtained, although. However, most of them showed good propagation capacity by semi hardwood cuttings. This character could be of paramount importance for the diffusion of the new varieties.

# ÍNDICE

	Página
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>I</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>I – INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>1</b>
<b>II – REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
<b>1. LA PROPAGACIÓN POR SEMILLA</b> .....	<b>4</b>
1.1. GERMINACIÓN .....	4
1.1.1. <i>Concepto de germinación</i> .....	4
1.1.2. <i>La germinación en el olivo</i> .....	4
1.1.3. <i>Los factores que afectan a la germinación del olivo</i> .....	5
1.1.3.1. Las Latencias .....	5
1.1.3.2. Los genitores.....	6
1.1.3.3. La época de recolección y el tiempo de conservación.....	6
1.1.3.4. La temperatura .....	7
1.1.3.5. El agua.....	7
1.1.3.6. La luz.....	8
1.1.3.7. El medio de germinación .....	8
1.1.3.8. Las hormonas .....	8
1.1.4. <i>Tratamientos que aumentan y aceleran la germinación de las semillas de olivo</i> .	9
1.1.4.1. La estratificación.....	9
1.1.4.2. La escarificación .....	10
1.1.4.3. La lixiviación .....	11
1.1.4.4. Pretratamientos térmicos.....	11
1.1.4.5. Tratamientos hormonales.....	12
1.1.4.6. Germinación <i>in vitro</i> .....	12
1.1.5. <i>Metodologías adoptadas en la germinación del olivo</i> .....	14
1.1.5.1. Metodología tradicional .....	14
1.1.5.2. Metodología propuesta por Istanbouli (1981).....	14
1.1.5.3. Metodología propuesta por Alvarado (1994):.....	15
1.2. CRIANZA DE LAS PLANTAS Y ACORTAMIENTO DEL PERIODO JUVENIL.....	16
1.2.1. <i>Introducción</i> .....	16
1.2.2. <i>Forzado de crianza de las plantas</i> .....	17
1.2.3. <i>La solarización: técnica de forzado de la crianza en el campo</i> .....	20
1.2.3.1. Definición .....	20

1.2.3.2.	Ventajas e inconvenientes de la solarización.....	20
1.2.3.3.	Efecto de la solarización sobre las propiedades del suelo.....	21
1.2.3.4.	Efecto de la solarización sobre el crecimiento de las plantas.....	22
2.	PROPAGACIÓN VEGETATIVA.....	23
2.1.	LA RIZOGÉNESIS .....	23
2.2.	FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL ENRAIZAMIENTO DE ESTAQUILLAS SEMILEÑOSAS.....	24
2.3.	MEJORA DE LAS TÉCNICAS DE ENRAIZAMIENTO.....	26
2.3.1.	<i>Mejora de las condiciones ambientales</i> .....	26
2.3.2.	<i>Aplicación de productos químicos</i> .....	28
2.4.	APTITUD AL ENRAIZAMIENTO DE DIFERENTES CULTIVARES.....	29
<b>III</b>	<b>– PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>31</b>
1.	ENSAYOS DE GERMINACIÓN.....	31
1.1.	MÉTODO GENERAL ADOPTADO EN TODOS LOS ENSAYOS DE GERMINACIÓN .....	31
1.2.	ENSAYO PRELIMINAR: INFLUENCIA DEL GENITOR, ÉPOCA DE RECOLECCIÓN Y PROCEDIMIENTO DE ESCARIFICACIÓN Y ESTRATIFICACIÓN .....	33
1.2.1.	<i>Objetivos</i> .....	33
1.2.2.	<i>Material y métodos</i> .....	33
1.2.2.1.	Material vegetal.....	33
1.2.2.2.	Protocolo experimental.....	34
1.2.2.3.	Caracteres evaluados .....	35
1.2.2.4.	Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.....	35
1.2.3.	<i>Resultados y discusión</i> .....	35
1.3.	ENSAYO DE GERMINACIÓN EN CÁMARAS E INVERNADERO .....	43
1.3.1.	<i>Introducción</i> .....	43
1.3.2.	<i>Material y métodos</i> .....	43
1.3.2.1.	Material vegetal.....	43
1.3.2.2.	Protocolo experimental.....	43
1.3.2.3.	Caracteres evaluados .....	44
1.3.2.4.	Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.....	44
1.3.3.	<i>Resultados y discusión</i> .....	44
1.4.	ENSAYO COMPARATIVO ENTRE DISTINTOS SUBSTRATOS DE GERMINACIÓN .....	46
1.4.1.	<i>Introducción</i> .....	46
1.4.2.	<i>Material y métodos</i> .....	46
1.4.2.1.	Material vegetal.....	46
1.4.2.2.	Método de germinación .....	46
1.4.2.3.	Caracteres evaluados .....	47
1.4.2.4.	Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.....	47
1.4.3.	<i>Resultados y discusión</i> .....	47
1.5.	ENSAYO COMPARATIVO DE LA GERMINACIÓN EN INVERNADERO DE SEMILLAS DE ACEBUCHES Y DE VARIEDADES CULTIVADAS.....	50



1.5.1.	<i>Introducción y objetivos</i> .....	50
1.5.2.	<i>Material y métodos</i> .....	50
1.5.2.1.	<i>Material vegetal</i> .....	50
1.5.2.2.	<i>Procedimiento de germinación</i> .....	52
1.5.2.3.	<i>Caracteres evaluados</i> .....	52
1.5.2.4.	<i>Análisis estadístico de los datos</i> .....	52
1.5.3.	<i>Resultados y discusión</i> .....	52
2.	<b>ENSAYO DE SOLARIZACIÓN</b> .....	57
2.1.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	57
2.2.	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	57
2.2.1.	<i>Área de la experimentación</i> .....	57
2.2.2.	<i>Material vegetal</i> .....	59
2.2.3.	<i>Instalación del plástico</i> .....	59
2.2.4.	<i>Medidas de humedad y de temperatura</i> .....	61
2.2.5.	<i>Medidas del crecimiento</i> .....	63
2.2.6.	<i>Diseño experimental y análisis estadístico de los datos</i> .....	63
2.3.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	65
3.	<b>ENSAYO DE ESTAQUILLADO</b> .....	73
3.1.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	73
3.2.	<b>MATERIAL VEGETAL</b> .....	73
3.3.	<b>PROTOCOLO EXPERIMENTAL</b> .....	74
3.3.1.	<i>Técnica de estaquillado</i> .....	74
3.3.2.	<i>Caracteres evaluados</i> .....	76
3.3.3.	<i>Diseño y análisis estadístico de los datos</i> .....	76
3.4.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	76
	<b>IV – DISCUSIÓN GENERAL</b> .....	<b>83</b>
	<b>V - CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>87</b>
	<b>VI – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>89</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1:</b> Método General de germinación adoptado en todos los ensayos de germinación.....	32
<b>Figura 2:</b> Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de septiembre y germinadas según los 5 tratamientos.....	36
<b>Figura 3:</b> Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de octubre y germinadas según los 5 tratamientos.....	37
<b>Figura 4:</b> Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de noviembre y germinadas según los 5 tratamientos.....	38
<b>Figura 5:</b> Semillas germinadas según el tratamiento T2 pero que salieron con deformaciones (izquierda) o que murieron antes de abrir las hojas (derecha).....	40
<b>Figura 6:</b> Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) germinadas según el tratamiento T1 en los tres periodos de recogida de las aceitunas.....	40
<b>Figura 7:</b> Aspecto de los frutos de las dos variedades ‘Arbequina’ y ‘Picual’ en Septiembre, Octubre y Noviembre.....	41
<b>Figura 8:</b> Porcentaje acumulado de germinación de semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) en cámaras de germinación y en invernadero.....	45
<b>Figura 9:</b> Porcentaje acumulado de germinación de semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) en los 4 substratos de germinación.....	48
<b>Figura 10:</b> Germinación de semillas de ‘Arbequina’ y ‘Picual’ en bandejas de alvéolos prefabricados (S4).....	49
<b>Figura 11:</b> Porcentaje acumulado medio de germinación de variedades cultivadas, de acebuches procedentes de Jaén y de acebuches procedentes de Cádiz.....	53
<b>Figura 12:</b> Los datos climáticos registrados en la estación meteorológica del Centro ‘Alameda del Obispo’ del IFAPA de Córdoba.....	58
<b>Figura 13:</b> Preparación del suelo antes de poner el plástico.....	60

<b>Figura 14:</b> Riego a capacidad de campo.....	60
<b>Figura 15:</b> Instalación del plástico.....	60
<b>Figura 16:</b> Plástico instalado en el campo de solarización.....	61
<b>Figura 17:</b> Plano del campo de solarización.....	64
<b>Figura 18:</b> Crecimiento en altura de los árboles solarizados (S) y no solarizados (NS).....	65
<b>Figura 19:</b> Crecimiento en diámetro de tronco de los árboles solarizados (S) y no solarizados (NS).....	66
<b>Figura 20:</b> Crecimiento en altura de los distintos cruzamientos.....	66
<b>Figura 21:</b> Crecimiento en diámetro de tronco de los distintos cruzamientos.....	67
<b>Figura 22:</b> Correlación entre la altura y el diámetro de tronco de los árboles.....	67
<b>Figura 23:</b> Histograma por altura e índice de crecimiento en árboles solarizados y no solarizadas .....	68
<b>Figura 24:</b> Histograma por diámetro de tronco e índice de crecimiento en árboles solarizados y no solarizadas .....	69
<b>Figura 25:</b> Temperatura media diaria del suelo a 20 cm de profundidad.....	70
<b>Figura 26:</b> Temperatura media diaria del suelo a 40 cm de profundidad.....	70
<b>Figura 27:</b> Humedad media diaria del suelo a 20 cm de profundidad.....	71
<b>Figura 28:</b> Humedad media diaria del suelo a 40 cm de profundidad.....	72
<b>Figura 29:</b> Procedimiento adoptado para el enraizamiento de las estaquillas semileñosas.....	75
<b>Figura 30:</b> Relación entre el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces.....	78
<b>Figura 31:</b> Ranking de enraizamiento de las variedades según la primera fecha (77 días), 98 y 106 días después de la puesta a enraizar con la clasificación en tres grupos (A, B y C).....	82
<b>Figura 32:</b> Procedimiento de obtención de nuevas variedades por cruzamiento..	84

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1:</b> Aptitud al enraizamiento de las variedades ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’ obtenida por diferentes autores.....	30
<b>Tabla 2:</b> Periodo medio de germinación de las semillas recogidas en las tres fechas y germinadas según los 5 tratamientos.....	39
<b>Tabla 3:</b> Periodo medio de germinación de las semillas de las dos variedades en los dos lugares de germinación.....	45
<b>Tabla 4:</b> Periodo medio de germinación de las semillas de las dos variedades en los 4 sustratos.....	49
<b>Tabla 5:</b> Listado de las variedades cultivadas y de las acebuches de cada origen puestas para germinar.....	51
<b>Tabla 6:</b> Prueba del rango múltiple de Duncan por porcentaje de germinación de las semillas de las variedades cultivadas.....	54
<b>Tabla 7:</b> Prueba del rango múltiple de Duncan por porcentaje de germinación de las semillas de acebuches de distintos orígenes.....	55
<b>Tabla 8:</b> Periodo medio de germinación de las semillas de acebuches (izquierda) y de las semillas de las variedades cultivadas (derecha).....	56
<b>Tabla 9:</b> Interpretación de las lecturas de humedad según la textura del suelo...	62
<b>Tabla 10:</b> Prueba del rango múltiple de Duncan por porcentaje de enraizamiento de las distintas preselecciones.....	77
<b>Tabla 11:</b> Comparación entre los porcentajes de enraizamiento obtenidos en nuestro ensayo y los obtenidos en el ensayo de Abazi (2000), pero en primavera, por cada genotipo.....	79
<b>Tabla 12:</b> Clasificación según el porcentaje de enraizamiento obtenido por cada genotipo, así como el número de raíces por estaquilla.....	80
<b>Tabla 13:</b> Periodo medio de enraizamiento de las estaquillas de las distintas preselecciones del programa de mejora del olivo de Córdoba.....	81

# **I – INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

## I - INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Hasta fecha reciente la mejora genética del olivo se ha basado en la selección empírica de individuos sobresalientes y resistentes a las condiciones locales limitantes y su propagación vegetativa por métodos tradicionales. Estos individuos procedían de poblaciones locales de acebuche o de híbridos espontáneos entre éstos y las primeras variedades seleccionadas. De este modo se ha originado la multitud de variedades cultivadas en toda la cuenca mediterránea (Lavee, 1998, Rallo, 1995).

Sin embargo, a pesar del elevado número de variedades seleccionadas desde el inicio de la domesticación, los profundos cambios experimentados en el cultivo del olivo en los últimos años (expansión del olivar en riego, nuevos sistemas de plantación y recolección, tendencia a la simplificación y a la mecanización para reducir los costes de producción, necesidad de conservar el suelo, creciente preocupación por la calidad, etc.) han puesto de manifiesto las importantes desventajas que presentan la mayoría de los cultivares tradicionales para esta nueva olivicultura. La mejora genética para obtener nuevas variedades adaptadas a las nuevas tendencias es por tanto una necesidad de la olivicultura moderna (Rallo, 1995).

Previamente, Coupin y Priego (VII Congreso Internacional de Oleicultura, 1926) definieron ya las etapas necesarias para llevar a cabo un programa de mejora varietal del olivo:

- Establecimiento de un inventario de las variedades existentes y determinación del valor económico de cada una de ellas,
- Estudio comparativo de dichas variedades en una región natural determinada, con el fin de conocer las mejores,
- Mejora por selección e hibridación.

Posteriormente, algunos investigadores han incidido en algunos aspectos y estrategias para la selección y la mejora del material vegetal (De Almeida, 1958; Humanes *et al.*, 1967; Rallo y Nahlawi, 1976, Ho Shan-An *et al.*, 1981; Scaramuzzi y Roselli 1986; Lavee, 1993; Rallo, 1995). La mayoría de estos estudios se basa en la mejora clásica o convencional mediante cruzamientos entre variedades existentes. Hasta la fecha este método ha sido el más utilizado para generar nueva variabilidad y obtener nuevas variedades. Establecidos los objetivos, un programa de mejora incluye las siguientes fases (Rallo, 2005):

- La elección de los genitores.
- La realización de los cruzamientos
- La germinación de las semillas
- La crianza de las plantas de semilla mediante forzado en invernadero y en campo.
- La preselección de individuos por criterios acordes con los objetivos.
- La propagación vegetativa de las preselecciones.
- La realización de ensayos comparativos en campo comparando las preselecciones con las variedades existentes como testigo.
- La selección final de las nuevas variedades.

No obstante, a pesar de que desde finales del siglo XX la realización de programas de mejora por cruzamiento es una realidad en la mayoría de los países oleícolas, sólo algunas variedades procedentes de estos programas de mejora han sido registradas en fecha reciente (Bellini *et al.*, 2002; Lavee, 1978; Lavee *et al.*, 1986; Lavee *et al.* 1999; Lavee *et al.*, 2003).

Para Barranco y Rallo (2006) la causa principal de los pocos programas de mejora varietal llevados a cabo hasta la fecha es la prolongada duración de la fase juvenil en el olivo (Humanes *et al.*, 1967; Natividade, 1956; Rugini, 1990). Otros factores que se han considerado relacionados con este trabajo son la dificultad de encontrar una recombinación favorable debido a la alta heterogeneidad de la descendencia, aunque se puede paliar con cruzamientos dirigidos (Ortega, 1949; Lavee, 1993) y la lenta, escalonada y baja germinación en las semillas de olivo (Lagarda *et al.*, 1983).

En España se inició en 1991 un programa de mejora de olivo por cruzamiento. Este programa, realizado conjuntamente por la Universidad de Córdoba (UCO) y el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), tiene como objetivo obtener nuevas variedades de olivo adaptadas a las nuevas tendencias de la olivicultura. Desde el punto de vista metodológico, el acortamiento del periodo juvenil y el establecimiento de criterios precoces de selección han sido también objetivos de este programa desde su inicio (Rallo, 1995). En el marco de este programa se han generado hasta la fecha más de 10000 nuevos genotipos, seleccionado 132 genotipos de los cuales 23 están en ensayo comparativo y registrado la primera variedad ('Chiquitita') en 2006 (Rallo *et al.*, 2007).

Con el objetivo de contribuir a mejorar la eficiencia del citado programa de mejora de olivo, en este trabajo se estudian diferentes técnicas de propagación. Para

ello, se evalúan algunas técnicas para la germinación de semillas y para el acortamiento del periodo juvenil. Asimismo se evalúa la aptitud al enraizamiento de algunas preselecciones, por ser éste un carácter importante para la propagación de las nuevas variedades.

En concreto, los objetivos de este trabajo son los siguientes:

- Experimentar diferentes técnicas que permitan reducir el tiempo y mejorar las condiciones de germinación de semillas de olivo.
- Comparar el poder germinativo de acebuches prospectados en dos zonas distintas de Andalucía con el de variedades utilizadas como genitores en el programa.
- Estudiar el efecto de la solarización en el crecimiento de las plantas de semilla y en el acortamiento del periodo juvenil.
- Caracterizar la capacidad de enraizamiento de las distintas preselecciones.



## **II – REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## II – REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### **1. La Propagación por semilla**

#### **1.1. Germinación**

##### **1.1.1. Concepto de germinación**

La Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH) define la germinación de la semilla como el fenómeno de activación del metabolismo del embrión que provoca el comienzo de su crecimiento y la emergencia de una nueva plántula. La germinación de semillas comprende tres etapas que se solapan: activación del metabolismo, transporte de sustancias de reserva y crecimiento de la plántula.

Se requieren tres condiciones principales para que se ocurra la germinación, estas son: la semilla debe ser viable, debe haber superado la latencia y debe encontrarse en condiciones ambientales adecuadas.

##### **1.1.2. La germinación en el olivo**

Aunque las plantas de olivo se propagan comercialmente por métodos de multiplicación vegetativa, la propagación sexual del olivo por germinación de semillas es el único método que permite la generación controlada de híbridos y, por tanto, la posibilidad de obtener nuevas variedades en programas de mejora genética (Brhadha *et al.*, 2000).

En trabajos previos, la germinación se consideraba acabada cuando la radícula alcanza 2 mm de longitud. (Istanbouli y Neville, 1977; Diamantoglou y Mitrakos, 1979 citado por Sotomayor, 1989; Lagarda *et al.*, 1983b; Crisosto y Sutter, 1985a). El porcentaje de semillas germinadas es generalmente bajo (Bini y Bellini, 1975; Diamantoglou y Mitrakos, 1979) y varía dependiendo de muchos factores internos y externos a la semilla.

### **1.1.3. Los factores que afectan a la germinación del olivo**

#### 1.1.3.1. Las Latencias

Se puede definir la latencia de las semillas como la detención temporal de la germinación de las semillas ya sea por causas internas o externas. En olivo, como en otras especies, existen distintos tipos de latencia en la semilla: física, mecánica, etc. (Hartmann *et al.*, 1990):

##### a) Latencia física y mecánica

Muchos autores coinciden en la idea de que el endocarpo de las semillas de olivo (el hueso) supone un impedimento para su germinación. Sin embargo, aunque Ruby (1916; citado por Sotomayor, 1989) atribuía la dificultad en la germinación de las semillas de olivo al retraso en la imbibición de agua por las mismas, diversos autores han observado que los endocarpos no representan una barrera ni para el agua ni para el oxígeno (Istanbouli, 1974 (citado por Sotomayor, 1989); Lagarda *et al.*, 1983c; Crisosto *et al.*, 1985b). No obstante, se ha demostrado que el endocarpo imposibilita la germinación de la semilla impidiendo la expansión del embrión (Hartmann *et al.*, 1990).

##### b) Latencia química

Los investigadores en la latencia de las semillas del olivo sugieren que hay sustancias inhibidoras de la germinación que se acumulan en el endospermo y en la cubierta de la semilla, cuando se aproxime el tiempo de cosecha o de madurez del fruto (Lagarda *et al.*, 1983a). Según Hartmann *et al.* (1990) estas sustancias inhibidoras se acumulan durante el desarrollo del fruto en las cubiertas de la semilla hasta después de la recolección.

Istanbouli (1974) sugiere que la lenta germinación es debida a la presencia de inhibidores en el endocarpo. Pero Crisosto *et al.* (1985b) descartan esta posibilidad al comprobar que las semillas de ‘Manzanillo’ estratificadas en extracto de endocarpos germinan igualmente que las semillas estratificadas en agua.

Por otro lado, la influencia inhibitoria del endospermo sobre el embrión podría ser superada por el tratamiento con el frío, que es probablemente necesario para la interrupción o la desactivación de inhibidores (Voyatzis 1995).

### c) Latencia embrionaria

La latencia embrionaria es debida a factores fisiológicos presentes dentro del embrión. Esta latencia está controlada por el embrión mismo. En efecto, la germinación de las semillas de olivo incluidas en su endocarpo se prolonga a menudo y el porcentaje final es muy bajo (Scaramuzzi, 1957; Basso, 1962; Lagarda *et al.*, 1983a); incluso después de la eliminación del endocarpo, la germinación es lenta y errática, lo que verifica la presencia de una latencia dentro del embrión (Hartmann y Kester, 1975; citados por Voyatzis y Prolingis, 1987).

La latencia embrionaria en las semillas de olivo es de gran importancia (Istanbouli *et al.*, 1977; citado por Sotomayor 1989; Mitrados *et al.*, 1984; Lagarda *et al.*, 1983b; Voyatzis *et al.*, 1987), y los embriones de olivo necesitan un periodo de estratificación de 2 a 4 semanas a 10° C para poder superar esta latencia.

#### 1.1.3.2. Los genitores

Varios autores han estudiado la influencia de ambos padres sobre el poder germinativo de las semillas de plantas leñosas (Blake, 1940; Cooper y Brink, 1940, 1941; Olmo, 1942, 1946; Avramov y Jelenkovic, 1961).

En el olivo, Bini y Bellini (1975) han demostrado que el porcentaje de germinación varía sensiblemente para cada cultivar. En efecto, la germinación de semillas de olivo es influenciada principalmente por la variedad madre y, en un grado más bajo, por la variedad padre (Santos Antunes, 1999; Adakalic, 2003).

#### 1.1.3.3. La época de recolección y el tiempo de conservación

El porcentaje de germinación de las semillas varía con la madurez de la semilla y el tiempo de almacenamiento. En efecto el óptimo porcentaje de germinación y el máximo tiempo de almacenamiento se alcanzan cuando el crecimiento del embrión se ha completado, por ejemplo el 3 de septiembre en el caso del ‘Manzanillo’ según Lagarda *et al.* (1983b).

Sotomayor-León (1989) descarta la relación entre el índice de madurez del fruto y la capacidad germinativa de su semilla, sugiriendo que tanto la maduración como la

germinación evolucionan escalonadamente y mencionando que la geminación óptima ocurre cuando el embrión alcanza su máximo peso seco.

Por su parte, Lagarda *et al.* (1983b) indican que la recogida temprana de los frutos, antes de la excesiva acumulación del aceite en la aceituna, puede tener un efecto estimulador en la germinación de las semillas.

Las semillas de olivo pueden conservar el poder germinativo hasta 3 ó 4 años (Lagarda *et al.*, 1983b; Demetrios *et al.*, 1994). Por otro lado, Scaramuzzi (1958) en 'Frantoio' y Bini y Bellini (1975) en otros cultivares observaron que el porcentaje de germinación disminuía desde el primer hasta el tercer año de conservación (ambos trabajos citados por Sotomayor, 1989).

#### 1.1.3.4. La temperatura

La temperatura representa el factor ambiental de mayor importancia para la germinación de las semillas (Hartmann *et al.*, 1990), afectando tanto al porcentaje como a la velocidad de germinación.

La germinación óptima ocurre a una temperatura de 15° C para la semilla en conjunto y a 25° C para los embriones. Los dos crecen más rápido a 25° C después de la germinación. Las semillas y los embriones geminan tanto en la luz como en la oscuridad (Lagarda *et al.* 1983b). La mayor germinación se obtuvo a 15° C y una temperatura de 35° C afectó negativamente la germinación (Lagarda *et al.*, 1983b).

Por otro lado, las temperaturas de germinación no son iguales a las del crecimiento posterior de las plantas, Hartmann *et al.* (1990) recomiendan temperaturas alternantes día/noche para una óptima germinación de las semillas. Según el mismo autor, una alternancia de 10° C suele ser la recomendada.

#### 1.1.3.5. El agua

La germinación de las semillas no se inicia con menos del 40-60% del contenido de agua en peso fresco de la semilla (Hartmann *et al.*, 1990). Lagarda *et al.* (1983b) obtuvieron una germinación después de empapar las semillas durante 1 día, siendo peor la germinación cuando este tratamiento duró dos días. Voyatzis y Prolingis (1987) obtuvieron resultados similares cuando lavaron las semillas en agua estéril y las dejaron sumergidas en agua durante 24 horas a 20-22° C en oscuridad.

1.1.3.6. La luz

La luz puede afectar a la germinación de semillas de ciertas especies (Hartmann *et al.*, 1990). En el olivo, Istanbouli y Neville (1977; citado por Lagarda *et al.*, 1983b) observaron que las semillas germinan mejor bajo luz. Por otro lado, Lagarda *et al.* (1983b) observaron la misma germinación en semillas y embriones tanto en oscuridad como bajo luz.

1.1.3.7. El medio de germinación

El medio de germinación debe permitir un buen intercambio gaseoso con el embrión, satisfaciendo sus necesidades en oxígeno (O<sub>2</sub>) por la respiración de las células y asegurando que no se acumula dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

Por otro lado el sustrato debe de asegurar que no se acumula agua para evitar problemas de asfixia y proliferación de patógenos. El sustrato debe también estar libre de patógenos.

Si se pretende germinar embriones, se recomienda colocarlos en la superficie de lechos de arena bien humedecida (Istanbouli *et al.*, 1987).

1.1.3.8. Las hormonas

Las hormonas controlan la germinación y la latencia de las semillas de olivo. En efecto, varios ensayos muestran que las hormonas endógenas específicas que aumentan el crecimiento, como por ejemplo las citoquininas, las giberelinas y el etileno, así como las hormonas inhibitoras del mismo, como principalmente el ácido abscísico, influyen sobre la germinación de las semillas (Klan y Black; citado por Hartmann *et al.*, 1987).

En el olivo, se ha demostrado que la germinación de los embriones en desarrollo está inversamente correlacionada con el contenido de los mismos en ácido abscísico (ABA), el único regulador de crecimiento aislado de las semillas (Lagarda *et al.*, 1983a).

Se ha demostrado que el contenido inicial de ABA (600ng/g de peso seco) detectado en los embriones de olivo fue desapareciendo mientras maduraban. Pero se ha demostrado también que el ABA se acumula de nuevo en las cubiertas de la semilla y en el endospermo al aproximarse la época de maduración de los frutos. La estratificación

durante más de 20 días es capaz de eliminar estos trazos de ABA (2ng/g peso seco) (Lagarda *et al.*, 1983a).

#### **1.1.4. Tratamientos que aumentan y aceleran la germinación de las semillas de olivo**

##### 1.1.4.1. La estratificación

La estratificación es el tratamiento con el frío de semillas latentes empapadas de agua para eliminar esta latencia. La estratificación representa un enfriamiento húmedo (Alvarado, 1994). En efecto, la baja temperatura se considera como el factor que acciona la iniciación o la aceleración de los procesos que conducen a la eliminación de la latencia y, por tanto, a la germinación (Lewak, 1981; citado por Voyatzis y Prolingis, 1987). El medio de estratificación debe proporcionar la aireación, retener la humedad y no contener sustancias tóxicas para las semillas. Diversos medios se han empleado con este propósito, por ejemplo: arena, vermiculita, turba con arena de lima, etc.

En el olivo, se han hecho muchos ensayos para definir la temperatura óptima de estratificación para eliminar la latencia de las semillas. Según Crisosto y Sutter (1985b) la estratificación a 15° C (durante uno, dos, tres o cuatro meses) siempre resultó en porcentajes de germinación muy altos si la semilla había sido previamente liberada del endocarpo. Asimismo, Lagarda *et al.* (1983b) germinaron semillas enteras en una serie de temperaturas de 15, 25 y 35° C y concluyeron que la temperatura óptima de germinación de las semillas es de 15° C. Por otro lado, Voyatzis y Prolingis (1987) observaron que el más alto porcentaje de germinación se observó cuando las semillas fueron sometidas a 10° C durante un mes y luego transferidas a 20° C. Es decir, la exposición de las semillas durante cuatro semanas a 10° C proporcionaba una germinación posterior óptima.

Los requisitos de temperatura para la germinación de las semillas son muy variables según los cultivares. Estas exigencias de temperatura pueden estar relacionadas, en cierta medida, con las condiciones climáticas del área de origen de cada cultivar. Por ejemplo, en contraste con el cultivar ‘Chondrolia Chalkidikis’, que es originario de la parte norte de Grecia y que necesita estratificación a 10° C, ‘Koroneiki’, originario de la parte más cálida del país, produce semillas que germinan tan fácilmente a 20° C como a 10° C (Voyatzis, 1984). Sotomayor (1989) apoyaba esta hipótesis al encontrar que la variedad ‘Arbequina’ procedente de zonas más frías tiene mayores

necesidades de frío que las variedades 'Picual' y 'Frantoio' procedentes de zonas más cálidas que 'Arbequina'.

#### 1.1.4.2. La escarificación

Se designa por escarificación cualquier proceso de romper, alterar mecánicamente, rayar o ablandar las cubiertas para hacerlas permeables al agua y a los gases. El endocarpo (el hueso) de las aceitunas inhibe la germinación de las semillas (Ruby, 1916; Sacaramuzzi, 1958; Diana y Gaetini, 1979-1980 y Sotomayor-León, 1989). Por ello, se ha sugerido la importancia de la escarificación para la eliminación del endocarpo leñoso del olivo. Se distinguen varios tipos de escarificación:

##### a) Escarificación mecánica

Consiste en romper el hueso de la aceituna mediante cortatubos, tornillos de banco, escarificador de disco, etc.

Crisosto y Sutter (1985b) probaron distintos tratamientos de rotura del hueso, el primero consistía en la germinación del hueso entero sin rotura, el segundo consistía en la eliminación total del hueso y otros tratamientos en eliminar uno o los dos extremos del endocarpo; estos autores obtuvieron un porcentaje nulo en el primer tratamiento, un porcentaje de 95% en el segundo y unos porcentajes de 76 y 80% después de 4 semanas en los otros tratamientos. Voyatzis y Prologis (1987) y Fontanazza y Baldoni (1990) aplicaron también, y con éxito, la técnica de rotura del hueso.

En 1990, Sotomayor-León y Caballero implantaron un método fácil y práctico para la rotura del hueso del olivo. En efecto, estos autores han utilizado endocarpos de 'Arbequina', 'Picual', 'Oueslati', 'Galega' y 'Manzanilla' que tenían semillas bien desarrolladas. Se procedió a la rotura del endocarpo en tres momentos diferentes: inmediatamente después de quitar la pulpa, después de ser secado en el laboratorio y después de una estratificación de un mes a 15° C (necesaria para superar la latencia). Los huesos fueron rotos presionándolos transversalmente o longitudinalmente en un tornillo de banco. Los resultados demostraron que las semillas no fueron dañadas cuando son secadas, mientras que muy pocas lo hicieron cuando estaban húmedas inmediatamente después de quitar la pulpa y el hueso. Estos resultados fueron independientes de la manera de romper los huesos (transversalmente o longitudinalmente). Por contra, la notable expansión de la semilla durante el periodo de



estratificación le permite rellenar el espacio dentro del hueso, dando lugar a un alto porcentaje de semillas dañadas solamente cuando el hueso se rompe transversalmente.

#### b) Escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y con NaOH

La utilización del ácido sulfúrico concentrado (SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>) y del NaOH tiene por objetivo debilitar el endocarpo considerablemente, permitiendo la entrada creciente del agua y la rotura posterior del hueso por el embrión durante la germinación. Crisosto y Sutter (1985) probaron el efecto del SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> y del NaOH en la germinación del olivo, ellos escarificaban las semillas en 3% NaOH durante 48 horas y en SO<sub>4</sub> H<sub>2</sub> concentrado durante 30 horas. Los resultados demostraron que el ácido sulfúrico era más eficaz que el NaOH para la escarificación, produciendo porcentajes más altos de germinación que el NaOH en las mismas duraciones de tratamientos. El uso del SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> ha dado lugar a 98% de germinación, comparado con un 89% cuando el NaOH fue utilizado, y era más eficiente que el NaOH en disminuir la resistencia mecánica del endocarpo sin dañar el embrión.

#### 1.1.4.3. La lixiviación

La lixiviación tiene por objetivo la eliminación de la latencia fisiológica de las semillas sin endocarpo sometiendo las semillas a una corriente de agua corriente o cambiándoles el agua con frecuencia (cada 12-24 horas). Sotomayor-León y Durán Altisent (1994) utilizaron un aparato de agua corriente con un caudal de 15-20l/h en el cual pusieron las semillas para germinar. Al cabo de 30 días, el 100% de las semillas habían dado una radícula. Al mismo tiempo, las semillas puestas a germinar en vermiculita como testigo no habían germinado.

#### 1.1.4.4. Pretratamientos térmicos

Loudiyi y Villemur (1976; citado por Istanbouli, 1981), estudiando el efecto de pretratamientos térmicos sobre la germinación, observaron que un pretratamiento de 15 días a 5° C aceleraba la germinación de la variedad 'Sigoise'. En contraste, Istanbouli (1981) observó la ineficacia del pretratamiento a 4° C por un periodo menor de 4 meses, concluyendo que los pretratamientos térmicos a bajas temperaturas no daban los resultados esperados.

Cuando empleó altas temperaturas, Istanbouli obtuvo una aceleración de la germinación al poner las semillas a 30° C durante menos de 2 días, lo que coincide con los resultados obtenidos por Douay (1980; citado por Istanbouli, 1981) No obstante, si se superaba este periodo, la germinación bajaba.

#### 1.1.4.5. Tratamientos hormonales

Lagarda *et al.* (1983a) experimentaron el efecto de tres hormonas (Giberelina: GA<sub>3</sub>; 6-Benzinoamino purine: BA y ácido abscísico: ABA) a distintas concentraciones sobre la capacidad germinativa de semillas de olivo. Los resultados mostraron que no se consiguió buena germinación al utilizar GA<sub>3</sub>, BA o ABA ni a 15° C ni a 25° C.

Sotomayor León y Durán Altisent (1994) hicieron ensayos utilizando distintos tipos de Giberelina (GA<sub>3</sub>, Ga<sub>4+7</sub>, GA<sub>13</sub> y GA<sub>13+14</sub>), así como un herbicida (norflurazon a concentraciones entre 1 y 50µm). Estos autores observaron que los tratamientos con Giberelinas no eran adecuados para aumentar la germinación pero el tratamiento con herbicida si que proporcionaba una buena germinación. No obstante, las plantas obtenidas fueron albinas e incapaces de sobrevivir y la mayoría murieron dentro de las 6 semanas posteriores.

#### 1.1.4.6. Germinación *in vitro*

Para estudiar los procesos de germinación, Istanbouli *et al.*, (1987) germinaron embriones aislados en un medio bacto agar al 0.7% o con una arena de Maamora desinfectada. Los resultados mostraron que la óptima temperatura de germinación de embriones *in vitro* es de 13° C, alcanzando hasta un 80% de germinación, como por ejemplo para la variedad ‘Carmelitana’. Según estos autores, estas temperaturas pueden ser sustituidas por temperaturas de 18 a 20° C con dieciséis horas de luz por día manteniendo el mismo porcentaje de germinación o incluso mejorándolo.

Lagarda *et al.*, (1983b) usaron embriones extraídos de aceitunas de la variedad ‘Manzanilla de Sevilla’ recogidas en fechas distintas desde el 12 de agosto hasta el 30 de octubre, realizando la germinación a 15 y a 25° C. Estos investigadores obtuvieron una buena germinación (90-100%) a partir del 3 de septiembre, siendo muy baja antes de esta fecha. La velocidad de germinación fue más rápida a 25° C que a 15° C lo que está de acuerdo con De Haas y Shander (1952; citado por Hartmann *et al.*, 1987) que

mantienen que cuando mayor es la temperatura, mayor es la velocidad de la germinación.

En contraste, Acebedo *et al.* (1997) probaron germinar semillas y embriones de la variedad 'Manzanilla de Sevilla' en tres fechas distintas desde mayo (después de tres semanas de la floración) hasta agosto (15 semanas de la floración). En mayo, se pusieron a germinar semillas enteras (los embriones están todavía pequeños) y luego después de unas semanas se pusieron los embriones aislados. La germinación se produjo a partir de 12 semanas de la floración (julio). Estos autores concluyeron que la germinación *in vitro* en olivo depende de las fechas y del tamaño de los embriones aislados. En efecto, el fruto y la semilla tienen que alcanzar su tamaño final, el endocarpo y el endospermo tienen que lograr su desarrollo completo y el embrión tiene que estar maduro, sano, bien formado y con una longitud mínima de 6 mm para obtener una buena germinación.

En otro ensayo, Acebedo *et al.* (1997) utilizaron embriones aislados de 10 variedades de olivo: 'Picual', 'Arbequina', 'Lechin de Sevilla', 'Lechin de Granada', 'Manzanilla de Jaén', 'Cornezuelo de Jaén', 'Chetoui', 'Jabaluna', 'Galego' y 'Cañivano'. Los frutos fueron cosechados y despulpados y los huesos fueron colocados en estratificación durante 2-3 meses a 4° C. En el momento de germinación, se desinfectaron las semillas con etanol e hipoclorito y se dejaron en agua estéril en oscuridad durante 48 horas a 24° C para que se empaparan con agua. En seguida, se aislaron los embriones de estas semillas y se pusieron a germinar en medio MS (Murashige y Skoog) dentro de una cámara con una temperatura de 23° C y con 16 horas de luz. Los resultados mostraron que el porcentaje de germinación de los embriones ha sido más alto en comparación con el de las semillas enteras germinadas en condiciones de invernadero (70-80% y 15-20% respectivamente). Además, la germinación ha sido más rápida (2 semanas para los embriones y 85-95 días para las semillas enteras).

N. Brhadda *et al.* (2000) sostiene la hipótesis de la mayor rapidez de la germinación de los embriones en comparación con la de las semillas enteras, aunque señala que las plantas procedentes de la germinación de embriones son menos vigorosas que las plantas obtenidas de semillas, atribuyendo estas diferencias al efecto nutricional del endospermo.

### **1.1.5. Metodologías adoptadas en la germinación del olivo**

En función de los diferentes factores que afectan a la germinación de las semillas de olivo y los diferentes tratamientos que se pueden emplear para aumentar y acelerar la germinación vistos en los apartados anteriores de esta revisión, diferentes autores han propuesto metodologías específicas para la germinación de semillas de olivo.

#### **1.1.5.1. Metodología tradicional**

La técnica tradicional para la obtención de plantas por semilla de olivo adoptada desde hace muchos años (Rubi, 1916; Scaramuzzi, 1958; Diana y Gaetani, 1978-1980), ha sido descrita por Sotomayor (1989; citado por Alvarado, 1994). Este método consistía en las siguientes etapas:

- Recoger los frutos en otoño
- Despulpas los frutos mediante una deshuesadora manual
- Lavar los endocarpos con agua tibia o NaOH al 1-3% para eliminar los residuos oleosos que quedan.
- Secar los endocarpos y conservarlos en ambiente fresco y húmedo.
- Antes de sembrar los huesos, se les da un baño durante 5-6 días a 30-35° C y se estratifican en arena en un lugar oscuro y húmedo durante un mes.
- La siembra se realiza durante o a fines de verano a altas densidades debido a la escasa y variable germinación de las semillas de olivo.
- El transplante ocurre aproximadamente en marzo cuando las plantas tienen 4-5 nudos.

Se puede concluir del procedimiento anterior que el periodo de obtención de las plantas es muy largo y muy escalonado. Lo que hace impensable la adopción de este procedimiento en los programas de mejora donde se pretende obtener y evaluar los nuevos genotipos obtenidos por cruzamientos lo antes posible.

#### **1.1.5.2. Metodología propuesta por Istanbuli (1981)**

Debido al problema que supone la metodología anterior, muchos investigadores han trabajado para mejorar las técnicas de germinación en vista de encontrar un método más rápido y adecuado, y que sea adoptable por los programas de mejora genética de

olivo. Istambouli en el año 1981 proponía un método concordante con todos los ensayos expuestos anteriormente. Este método consiste en:

- Escarificación (rotura del endocarpo).
- Estratificación. Las semillas se sembraron en un medio de cultivo que puede ser agua gelificada al 1% con un fungicida (euparen: 50% de dichlofluamidaal 0.1%) o arena con la misma concentración de fungicida. El medio se coloca en bandejas (germinadores) cubiertos con una lámina de plástico transparente para mantener la humedad. En seguida, se llevan las bandejas a una cámara a 13° C si se trabaja en oscuridad, o a 18-20° C si el fotoperiodo es de 16 horas. La humedad relativa debe situarse en torno al 80%.
- Transplante. El transplante se hace a macetas de plástico con un sustrato formado por una mezcla de tierra y turba. Las condiciones de crecimiento deben ser de 25° C día y 20° C noche (sin que la temperatura máxima diurna supere los 30° C), fotoperiodo de 16 horas y humedad relativa del 80-90 %.

Según el mismo autor este método podría ser adoptado para resolver el problema de la baja y escalonada germinación del olivo.

#### 1.1.5.3. Metodología propuesta por Alvarado (1994):

Los ensayos desarrollados por Alvarado *et al.* (1994) han permitido mejorar las metodologías propuestas por Istambouli (1981) y por Sotomayor (1989) estableciendo un nuevo procedimiento más rápido. El método consiste en:

- Recolección en el mes de noviembre (cuanto más avanzada esté la maduración, más lenta es la germinación)
- Despulpado con deshuesadora manual y eliminación de los restos oleosos mediante frotación con redcilla de nylon, jabón y agua.
- Escarificación según el método descrito por Sotomayor *et al.*, (1990).
- Desinfección de las semillas sumergiéndolas en una solución de Mancozeb a 1g/l durante 5 minutos.
- Estratificación a 14° C y oscuridad en bolsas de plástico con perlita humedecida a saturación. La duración es dependiente del cultivar pero no debe superar el mes y medio.
- Siembra de las semillas germinadas en macetitas de turba

Este método, con algunas variantes es el seguido en el programa de mejora de Córdoba. Hasta la fecha se ha producido más de 10000 plantas de semilla, de ellos se ha elegido 132 preselecciones de las cuales 23 están en ensayo comparativo. Esta metodología es la base de los ensayos de germinación diseñados en este trabajo.

## **1.2. Crianza de las plantas y acortamiento del periodo juvenil**

### **1.2.1. Introducción**

Durante la crianza de todas las plantas leñosas obtenidas por semilla hay un periodo denominado la fase juvenil durante el cual la planta no puede alcanzar y mantener la capacidad o el potencial para florecer (Hackett, 1985).

Esta fase se caracteriza por un crecimiento rápido, especialmente en plantas leñosas (Santos Antunes, 1999). Asimismo, según Doorenbos (1965; citado por Borchert, 1976) la fase juvenil se caracteriza, aparte de sus características morfológicas, por una mayor facilidad para formar raíces adventicias y una incapacidad para formar flores.

La fase juvenil puede durar hasta 30-40 años en algunas especies frutales (Hackett, 1985). En el caso del olivo, Bellini (1993) estimó el periodo juvenil en unos 12-13 años.

La duración de la fase juvenil, está condicionada de alguna manera por el genotipo de la planta de semilla (Santos Antunes, 1999), el ambiente en el cual crece (Visser, 1970) y las prácticas de cultivo usadas (Zimmerman, 1972, 1973; Hackett, 1985; Bagnall, 1992).

Sin embargo, muchos investigadores han demostrado que la duración del periodo juvenil es una característica heredable (Johnsson, 1940, Michurin, 1949, Teich, 1969, Zimmerman, 1972, Hackett, 1985). Asimismo, en recientes trabajos en olivo de Santos Antunes (1999), se ha podido demostrar que la floración precoz depende del genitor empleado en los cruzamientos.

Por otro lado, en diferentes especies frutales, incluyendo el olivo, se ha observado que la reproducción sexual es posible solamente cuando los árboles alcanzan una cierta altura (Hackett, 1985; Lavee *et al.*, 1996). Además, Visser (1970) demostró que el porcentaje de plantas de semilla con un período juvenil más corto que la mediana aumenta de forma lineal con el diámetro. Efectivamente, el periodo juvenil y el vigor de

las plantas están inversamente relacionados (Dennis, 1968). Esta relación puede estar influida por el ambiente alrededor de las plantas. Así, cuando las condiciones ambientales de temperatura, de luz, de agua y de nutrientes son favorables, el periodo juvenil es más corto (Visser, 1970, Zimmerman, 1972). Del mismo modo esta relación puede estar influida por las técnicas de cultivo. En efecto, las prácticas que aceleran el crecimiento de las plantas de semilla acortan, asimismo, el periodo juvenil (Zimmerman, 1973).

De acuerdo con lo anterior, se puede acortar el periodo juvenil siguiendo dos estrategias: la primera consiste en la elección de genitores que transmiten un corto periodo juvenil y la segunda en el forzado del crecimiento de las plantas.

En este capítulo se trata del acortamiento del periodo juvenil de plantas de semilla mediante el forzado de su crecimiento.

### **1.2.2. Forzado de crianza de las plantas**

El largo periodo juvenil no sólo es costoso en términos de costes de espacio y de mantenimiento de las plantas en campo sino también en términos de retardar el progreso del programa de mejora en su conjunto. Varios métodos han sido utilizados para acortar el período juvenil en árboles frutales. En todos ellos destaca como idea base la necesidad de que la planta alcance una determinada altura para poder florecer. Por ello habrá que encontrar la mejor manera para forzar el crecimiento.

Istanbouli *et al.* (1987), observaron que el crecimiento de las variedades de olivo ‘Carmelitana’, ‘Blanquette’ y ‘Picholine Marocaine’ fue mucho mayor en condiciones controladas de invernadero que en condiciones normales, aunque la variedad ‘Picholine de Languedoc’ mostró resultados opuestos. Del mismo modo, Zimmermann (1971) comparó el crecimiento de manzanos en invernadero y en vivero durante 15 meses. Los resultados mostraron que las plantas que habían crecido en invernadero alcanzaron una altura doble a las que crecieron el mismo tiempo en vivero, el diámetro del tronco fue significativamente mayor y el número de flores también fue mayor en las plantas que crecieron en el invernadero.

El método de acortamiento más utilizado es el forzado del crecimiento en invernadero. La base del éxito de este método es la particular acción sobre las plantas conseguida por la colocación de estas en condiciones adecuadas de temperatura, humedad, fotoperiodo continuo, fertirrigación acelerada, control de plagas y enfermedades, enriquecimiento de la atmósfera en CO<sub>2</sub>, poda adecuada, injertos sobre

distintos patrones, anillados, inversiones de la corteza, aplicación de reguladores de crecimiento y de hormonas, defoliación, incluso cultivos fuera del suelo ( Doorenbos, 1954, 1955; Wareing, 1959; Robinson y Wareing, 1969, Visser, 1970; Zimmerman, 1971, 1972, 1973; Hackett, 1985, Troncoso *et al.*, 1988; Lavee, 1990; Alvarado, 1994; Clavero, 1994; Mohedo, 1995; Lavee *et al.*, 1996, De la Rosa *et al.*, 2006; López, 2006).

El control de la temperatura y de la humedad ha sido utilizado para acortar el período juvenil en algunas plantas de semilla de manzano debido a la influencia de estos factores en diversos fenómenos biológicos y fisiológicos dentro de la planta tal como la fotosíntesis, la respiración, la transpiración, la división celular, etc. Se ha demostrado que las temperaturas de 20-26° C durante el día y de 7° C durante la noche permitieron la floración, pero las altas temperaturas del día (29° C-38° C) la previnieron aunque las temperaturas de la noche fueran bajas (Hield *et al.*, 1966; citado por Zimmerman, 1972).

Siendo la luz una fuente energética para todos los mecanismos fisiológicos de las plantas, muchos trabajos dan cuenta del efecto del fotoperiodo continuo en la continuidad del crecimiento (Zimmermann, 1971; Clavero, 1994; Alvarado *et al.*, 1995; Whitman *et al.*, 1996). En efecto, Troncoso *et al.*, (1988) compararon el efecto de 3 fotoperiodos, 6, 12 y 18 horas de iluminación diaria, sobre el crecimiento y la composición mineral de plantas jóvenes de olivo. Estos autores concluyeron que el fotoperiodo de 12 horas originaba mayores tasas de crecimiento y mayor contenido de clorofila en las hojas, seguido por el de 18 horas que conducía a resultados intermedios. Mientras que el fotoperiodo de 6 horas proporcionó el peor desarrollo. Asimismo Clavero (1994) encontró que las plantas sometidas a un fotoperiodo continuo proporcionan un mayor crecimiento respecto a los controles, sin apuntar diferencias entre el fotoperiodo estándar y el de 12 horas. Alvarado (1994) alcanzó las mismas conclusiones, observando que un 62% de la variación del crecimiento fue debida a la radiación PAR nocturna.

La fertilización, particularmente con nitrógeno, ha sido utilizada por su importante contribución a un crecimiento más rápido de las plantas de semilla y en consecuencia a un inicio temprano de la floración (Zimmerman, 1972). Además, el riego es considerado como una práctica común indispensable cuando se quiere intensificar el crecimiento (Santos Antunes, 1999).

Al contrario de Fontanazza y Baldoni (1990), que aconsejaban no podar las plantas, Alvarado (1994) hizo crecer plantas de olivo en invernadero aplicando un pinzamiento sistemática de los brotes laterales para favorecer el crecimiento en altura.



En condiciones controladas de luz, temperatura, riego y fertilización las plantas alcanzaron una altura de 1,7 a 2 m al cabo de 9 meses desde la germinación. Del mismo modo, Lavee (1990) ha desarrollado un método de forzado del crecimiento en campo basado en la crianza de las plantas de semilla a un solo eje principal, eliminando el 75% de los brotes laterales juveniles, dejando el 25% restantes bien repartidos a lo largo del eje central y usando el riego por goteo con alta frecuencia. Esta distribución dio lugar a la brotación de nuevos brotes juveniles, por lo que resultaba necesaria la eliminación de estos brotes 3-4 veces a lo largo del primer año. Los resultados mostraron que el 50% de los árboles jóvenes expresaron hojas maduras durante el segundo año después de la germinación y las primeras inflorescencias se obtuvieron al tercer año después de la germinación en el 12% de las plantas y al cuarto año en el 63%. En otros trabajos se ha considerado el efecto de la superficie foliar en el crecimiento. Santos Antunes (1999), en condiciones de forzado de crecimiento de las plantas en invernadero bajo condiciones controladas de temperatura (18-30° C), de humedad (70-80%), de fotoperiodo continuo, de fertirrigación y de control de plagas y enfermedades, comprobó el efecto del pinzamiento de los brotes laterales cuando alcanzaban una longitud de más de 10 cm hasta dos alturas del eje central (1m y 1,6m). Las plantas con brotes pinzados hasta 1,6 m alcanzaron mayor altura y porcentajes de floración de 4-22% a los 26 meses y del 47-55% 12 meses más tarde.

Una vez que las plantas son llevadas a campo, Lavee *et al.*, (1996) intentaron forzar el crecimiento en el campo mediante un cultivo intensivo y fertirrigación con N, P y K. Se eligieron 3 ó 4 brotes en la parte superior del tronco, por encima de 1,3m, para formar la copa. Bajo estas condiciones, las plantas mostraron una copa verdaderamente adulta al final del segundo año.

Otros intentos de forzar el crecimiento aplicando reguladores de crecimiento y otras prácticas de cultivo como poda, injerto y inversión de la corteza han fallado tanto económica como prácticamente, presentando muchas desventajas (Zimmerman, 1972, 1973; Sherman y Lyrene, 1983).

Algunos investigadores han empleado la micorrización para acelerar el crecimiento (Santos Antunes, 1999; Adakalic, 2003; Porrás-Soriano *et al.*, 2002-2006). Las micorrizas son unas asociaciones simbióticas entre las raíces de las plantas y ciertas especies de hongos que residen en el suelo. Una vez inoculadas a la planta, estas micorrizas reducen el estrés provocado por el trasplante, incrementan la absorción de agua y nutrientes y aumentan la tolerancia a agentes bióticos y abióticos del medio ambiente (Porrás-Soriano *et al.*, 2006). Fajardo (1985) han indicado que el olivo, en

condiciones naturales de cultivo, no solo forma micorrizas sino que su grado de dependencia de éstas llega al 60% según el nivel de fósforo (P) en el suelo. Santos Antunes (1999) aplicó esta técnica en el olivo utilizando dos especies de hongo: *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices*. Los primeros meses del ensayo, las plantas inoculadas mostraron una tasa de crecimiento inferior al testigo pero después de un cierto tiempo, las plantas inoculadas superaron los testigos. Al final del ensayo, la altura de las plantas inoculadas fue significativamente mayor y el contenido en K, Mg, P y clorofila fue también mayor en las plantas micorrizadas.

### **1.2.3. La solarización: técnica de forzado de la crianza en el campo**

#### 1.2.3.1. Definición

La solarización es un término usado para describir la calefacción hidrotermal del suelo. Más concretamente, la solarización es un método que se basa fundamentalmente en el aprovechamiento de la energía solar que se transfiere al suelo mediante una lámina de plástico tras un riego abundante (Stapleton *et al.*, 1984).

#### 1.2.3.2. Ventajas e inconvenientes de la solarización

La solarización es conocida como un método de desinfección del suelo que permite, debido a la alta temperatura alcanzada en el mismo, eliminar o al menos controlar diversos patógenos del suelo como hongos, nematodos y bacterias (Katan, 1981,1987; Borges, 1990; Stapleton *et al.*, 1998).

Además de su uso para desinfectar el suelo, este método ha demostrado grandes ventajas para el cultivo como la eliminación de las malas hierbas, la conservación del agua del suelo y el forzado del crecimiento de las plantas ayudando a la mejor absorción de los nutrientes (Stapleton *et al.*, 1985; Duncan *et al.*, 1992).

A pesar de estas incuestionables ventajas, la solarización presenta también algunos inconvenientes por su efecto sobre el medio ambiente. En efecto esta técnica produce unas perturbaciones en el equilibrio biológico del ecosistema vegetal, al destruir la micro fauna y flora a distintas profundidades del suelo donde llega su efecto. Sin embargo, a pesar de este inconveniente, este método de desinfección sigue siendo mucho más ecológico en comparación con otros métodos (fumigación, vapor de agua...).

### 1.2.3.3. Efecto de la solarización sobre las propiedades del suelo

Muchos ensayos de solarización han mostrado distintos cambios en las concentraciones y en la solubilidad de los nutrientes minerales del suelo (Baker y Cook, 1974).

Stapleton *et al.* (1985) estudiaron el efecto de la solarización sobre las propiedades físico-químicas de 4 tipos diferentes de suelo. Los resultados mostraron que la temperatura del suelo durante el tratamiento alcanzaba valores de 44-46° C, siendo hasta 10-12° C mayor en los suelos solarizados que en los testigos. Además la concentración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fue mayor en los 4 suelos solarizados, la concentración de P fue mayor en 3 suelos solarizados, las concentraciones de Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> fue también mayor en dos suelos solarizados. Por el contrario, las concentraciones de K<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup> no fueron diferentes en los 4 suelos y las concentraciones de Cu<sup>2+</sup> y de Fe<sup>3+</sup> fueron menores en suelos solarizados que en los testigos. Además, se notaba un empobrecimiento en materia orgánica en uno de los tres suelos solarizados. Estos resultados son contradictorios con los resultados obtenidos en Israel por Chen y Katan (1980) donde no se han observado diferencias en las concentraciones de varios nutrientes (K<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> y Cl<sup>-</sup>) entre suelos solarizados y suelos no solarizados.

Otros trabajos de Santos Antunes (1999) también mostraron un incremento de temperatura de alrededor de 10° C, a 5 cm de profundidad en suelos solarizados en comparación con el testigo. Esta diferencia disminuye con el aumento de la profundidad, siendo significativamente mayores en los tratados que en los testigos hasta más de 40 cm. Asimismo, en los ensayos de Duncan (1992), las temperaturas han superado los 40° C durante 5-6 horas al día en suelos solarizados. Las temperaturas a 30 cm de profundidad fueron de 5° C a 15° C mayores en los suelos solarizados respecto al control durante el periodo desde junio hasta agosto.

Otro efecto de la solarización que ha sido estudiado es la conservación del agua de riego. Una reducción del 90% del agua de riego fue conseguida aplicando la solarización durante el verano (Stapleton *et al.*, 1988 y 1989). Duncan *et al.* (1992) observaron que el porcentaje de humedad en el nivel de las raíces baja mucho más rápido en suelos no solarizados en comparación con los suelos solarizados debido a la reducción de la evaporación del agua del suelo impedida por la lámina de plástico y debido a la inhibición de la salida de las malas hierbas que también consumen una gran cantidad de agua del suelo. En efecto, la humedad bajaba el 50% cerca de la superficie

y de 35-40% más en profundidad en los suelos no solarizados comparados a valores de 10 y 22% respectivamente en suelos solarizados.

#### 1.2.3.4. Efecto de la solarización sobre el crecimiento de las plantas

La alta temperatura y humedad del suelo, junto a un alto nivel de nutrientes, son condiciones fundamentales para acelerar el crecimiento de las plantas. La solarización, que nos permite alcanzar a distintos niveles estas condiciones, ha mostrado también un gran efecto en aumentar el crecimiento de muchos cultivos herbáceos y leñosos (Stapleton *et al.*, 1985; Duncan *et al.*, 1992, Santos Antunes, 1999).

Stapleton *et al.* (1985), en ensayos de solarización en cultivos de pimiento y de col china, observaron un incremento del crecimiento en suelos solarizados en comparación con el control. Este mayor crecimiento podría estar parcialmente debido a un incremento de las concentraciones de los nutrientes minerales para las plantas y un aumento de la población de microorganismos beneficiosos para los cultivos, unido a una reducción del número de patógenos y plagas del suelo.

En melocotón, Duncan *et al.* (1992) obtuvieron un incremento del crecimiento en suelos solarizados con plástico negro, que puede ser debido al efecto de la solarización en la eliminación de las malas hierbas y a un aumento de la masa de las raíces causada probablemente por la alta humedad en el suelo. Stapleton *et al.* (1993), comprobaron el efecto en el crecimiento de melocotonero y almendros de dos tipos de solarización: el primero con plástico negro y el segundo con plástico transparente. El crecimiento fue significativamente mayor en plástico negro que en transparente. Según el mismo autor, este resultado puede ser debido al daño provocado a los raíces por la muy alta temperatura alcanzada en suelos solarizados con plástico transparente.

En el olivo, Santos Antunes (1999) estudió la aplicación de la solarización para acortar el periodo juvenil. En dos ensayos de solarización con plástico transparente, realizados en 1996 y en 1997, el crecimiento de los ramos fue significativamente mayor en suelos solarizados respecto a los no solarizados. La longitud de los ramos en suelos solarizados fue de 53,1 cm y en no solarizados de 36,2 cm en 1996; resultados análogos fueron obtenidos en 1997, con una longitud de 21,8 cm en suelos solarizados y 16,4 cm en suelos no solarizados. En la primavera del 1997 y en la del 1998 se evaluó la floración de los dos ensayos (1996 y 1997 respectivamente). Aunque se observó una mayor floración en los suelos solarizados, las diferencias no fueron significativas en los dos años. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en el diámetro del

tronco en los dos años. Por contra, en 2001, López Escudero *et al.*, si observaron una diferencia significativa en el diámetro del tronco de las plantas de olivo en suelos solarizados al aplicar la solarización durante dos años consecutivos.

## **2. Propagación vegetativa**

### **2.1. La rizogénesis**

El olivo tiene la capacidad de emitir fácilmente, a partir de sus tejidos leñosos, nuevas raíces adventicias (Polanco, 2004). Esta facilidad de propagación vegetativa por métodos sencillos fue uno de los principales criterios considerados para la selección de las variedades cultivadas de olivo (Del Río y Caballero, 2003) y permitió su estaquillado por procedimientos diversos (Rallo, 2005). Este tipo de propagación por métodos tradicionales, requiere propágalos de gran tamaño (estacas, garrotes, zuecas, etc.), lo que ha restringido la difusión geográfica de las variedades seleccionadas (Rallo, 2005).

De hecho, en 1946, Hartmann desarrolló una nueva técnica para la propagación vegetativa del olivo, esta técnica es el estaquillado semileñoso bajo nebulización. Este método de propagación está basado en la aplicación de productos que estimulan la formación de raíces adventicias en la base de estaquillas pequeñas de 14-16 cm (4-6 nudos) con 2-3 pares de hojas conservadas en la parte superior (Fernández Serrano *et al.*, 2002).

La fase más importante de este proceso es la formación de las raíces adventicias. En concreto, la formación de éstas consta en tres fases: formación de iniciales de raíces a partir de células ya diferenciadas, división de dichas células y formación de primordios radicales y finalmente desarrollo de tales primordios y establecimiento de conexiones entre los tejidos vasculares de las nuevas raíces y los del callo (Del Río y Caballero, 2003; Pampa, 2004).

El éxito del enraizamiento por estaquillado reside en mantener las estaquillas vivas a lo largo del periodo necesario para el desarrollo de las 3 fases anteriormente citadas, normalmente 2 meses (Hartmann *et al.* 1997). Para ello es imprescindible, mantener las estaquillas en un ambiente fresco (21-23°C) y con alto grado de humedad (80-90%) para evitar que las hojas se sequen y caigan. Igualmente, es primordial favorecer la división celular en la zona basal de las estaquillas mediante la aplicación de

hormonas de enraizamiento y el calentamiento del sustrato alrededor de la base de las estaquillas hasta una temperatura de 23-25° C (Caballero y Del Río, 1994).

El estaquillado presenta distintas ventajas e inconvenientes (Polanco, 2004; Del Río y Caballero, 2003). Por un lado, el estaquillado es un método sencillo, rápido, económico, no necesita gran espacio y permite la obtención, a lo largo del año, de un gran número de plantas homogéneas a partir de la planta madre conservando sus propias características. Por otro lado, este método presenta algunos inconvenientes tal como la dificultad de enraizamiento de algunos cultivares, la producción limitada al material vegetal disponible para cada cultivar, la imposibilidad de una resistencia especial de la raíz a condiciones desfavorables (Caballero y Del Río, 1999).

## **2.2. Factores que influyen sobre el enraizamiento de estaquillas semileñosas**

El estaquillado puede ser influenciado por múltiples factores genéticos, fisiológicos, hormonales y ambientales (Calderón, 1990 y Fontanazza, 1996; ambos citados por Polanco, 2004).

En efecto, Fontanazza (1996) señaló que el potencial rizogénico está fuertemente influido por factores genéticos, variando entre el 100% hasta un enraizamiento escaso o nulo. Esta variabilidad parece residir en el particular equilibrio endógeno que cada variedad tiene entre auxinas, hormonas responsables de la iniciación radical, y cofactores promotores e inhibidores del enraizamiento (Avidan y Lavee, 1978, Del Río, 1988, Del Río y Caballero, 2005).

Por otra parte, factores fisiológicos tal como la edad del árbol y de la estaquilla intervienen en el porcentaje de enraizamiento. En efecto, se ha observado una relación inversa entre la capacidad de enraizamiento y la edad ontogénica en numerosas especies leñosas (Hartmann *et al.*, 1990; citado por Abazi, 2000). En el olivo, Berenguer (1991) constató una pérdida de la capacidad de enraizamiento del material procedente de la copa del árbol respecto al material procedente de la base y al material juvenil cuando, se cultivaban *in vitro*. Sin embargo, Wareing (1987) señaló que es posible mejorar la capacidad de enraizamiento al mantener las estacas en un ambiente más caluroso con la aplicación de reguladores del crecimiento.

Otro factor fisiológico que afecta al enraizamiento de las estaquillas, es un adecuado nivel de hidratos de carbono (Polanco, 2004). Durante el proceso de enraizamiento se producen continuas pérdidas de almidón y de azúcares solubles en la

base de la estaquilla, que se comporta como fuerte sumidero de asimilados. Así, la existencia de frutos en la estaquilla durante la fase de enraizamiento establece un tipo de competencia por los asimilados entre los frutos y la base de la estaquilla lo que anula la capacidad de enraizamiento de la estaquilla (Rallo y Del Río, 1990).

Además, en el olivo, se ha comprobado que el estado fisiológico de la planta madre determina la variación estacional del enraizamiento (Del Río, 1986a). En concreto, ello es atribuido tanto a la variación de los niveles de reservas en el ramo a lo largo del año (Del Río *et al.*, 1991) como a la modificación del equilibrio hormonal favorable para la rizogénesis (Caballero, 1979). Inicialmente, se ponía de manifiesto que el enraizamiento era mejor cuando se preparaban las estaquillas en primavera-verano que en otoño-invierno (Hartmann y Loreti, 1965). Ulteriormente, la mayoría de los autores coincidieron en que el mejor enraizamiento se alcanza cuando se toman las estaquillas al final de cada uno de los dos periodos de crecimiento, es decir, en finales de primavera y comienzos del otoño (Fady y Charlet, 1972; Casini, 1973; Filipucci, 1974; Prolingis y Therios, 1976 citados por Abazi, 2000).

Los reguladores de crecimiento como las auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico, y etileno pueden influir en el enraizamiento. Más concretamente, la auxina juega el papel más importante en el enraizamiento por su manifiesta función en el transporte de azúcares hacia los lugares de diferenciación de los primordios radicales. Otro factor hormonal muy importante en el enraizamiento es la concentración de la auxina a aplicar. En el olivo, varios investigadores recomendaron una concentración de 2000-4000 ppm (Ruiz, 1998 y Caballero y Del Río, 1999). Los mismos señalaron que si la concentración supera los 7000 ppm la auxina puede causar intoxicaciones a las estaquillas y provocar unas clorosis y una caída de las hojas. Igualmente la manera de aplicar la auxina juega también un papel importante en el enraizamiento. En efecto, altos porcentajes de enraizamiento fueron obtenidos al aplicar la auxina por inmersión de las estaquillas en una solución concentrada de auxina durante 5 segundos o al aplicarla como polvo junto al talco (Doménech *et al.*, 2000).

Por último, los factores ambientales tienen una gran influencia sobre el enraizamiento de las estaquillas por su efecto sobre la planta madre como sobre la estaquilla. Los principales factores ambientales implicados en este proceso son: la luz que influye por su calidad y por su periodo, la temperatura y la humedad ambiental, la temperatura y la humedad al nivel de la base de las estaquillas. Se aconseja utilizar un sistema de nebulización intermitente para mantener las estaquillas vivas hasta la formación y el desarrollo de las raíces (Rallo y Del Río, 1990; Hartmann *et al.*, 1997).

Este sistema permite mantener el ambiente más fresco (18-20° C) y más húmedo (90-95%) en la cama de estaquillado, lo que determina un menor ritmo de respiración, una disminución de la transpiración y no dificulta la fotosíntesis necesaria para la formación de las raíces. Junto a la nebulización conviene utilizar un sistema de calefacción al nivel de la base de las estaquillas para alzar la temperatura del sustrato (20-24° C), lo que favorece la formación de las raíces. Es necesario que la temperatura del sustrato sea siempre superior a la temperatura ambiente para dificultar la brotación de las yemas axilares, lo que compite con el enraizamiento (Del Río *et al.*, 1991).

### **2.3. Mejora de las técnicas de enraizamiento**

La baja capacidad de enraizamiento, la variabilidad entre ensayos y la baja calidad de las raíces obtenidas en algunos cultivares representan factores limitantes en la propagación por enraizamiento de estaquillas semileñosas.

La superación de la incapacidad de enraizamiento o el aumento del porcentaje de enraizamiento, por lo tanto, aumentará fuertemente las ventajas comerciales del uso del método de estaquillado y acelera, de hecho, el ciclo de producción de los viveros de olivo (Sebastiani y Tognetti, 2004).

Por ello, varios estudios han intentado mejorar la capacidad del enraizamiento de las estaquillas semileñosas mediante la mejora de las condiciones ambientales, y la aplicación de productos químicos tales como los reguladores del crecimiento y las poliaminas.

#### **2.3.1. Mejora de las condiciones ambientales**

Varios ensayos han tratado de mejorar las condiciones ambientales tal como temperatura, humedad, luz y nivel de CO<sub>2</sub> para el aumento de la capacidad de enraizamiento de estaquillas semileñosas.

En efecto, Özkaya y Çelik (1994) utilizaron un sistema SPT (Shaded Polyethylene Tunnel) en el cual se ponían las estaquillas para disponer de un ambiente óptimo para el enraizamiento. El SPT se construyó como un túnel plástico ordinario con anchura de 150 cm, altura de 150 cm y longitud de 500 cm, pero el exterior se colocó con un foso de anchura 25 cm y de profundidad 20 cm. La base del SPT y el foso se regaron hasta saturar el suelo con agua. La base del SPT también se cubrió con una altura de 3-4 cm de perlita usada previamente. Las estaquillas se plantaron en bolsas de plástico



rellenadas de perlita y las bolsas se colocaron en la base. Después, el SPT se cubrió por el polietileno transparente. El sombreado se hizo solamente con un tejido blanco grueso, mientras que durante la parte más calurosa del día se substituyó por un paño negro mojado. El SPT se mantuvo cerrado a lo largo del periodo de enraizamiento, regando con 20 intervalos al día. Los resultados mostraron altos porcentajes de enraizamiento indicando la posibilidad de considerar el sistema SPT como una alternativa en la producción de estaquillas de olivo en viveros, debido a sus ventajas prácticas y económicas comparadas al sistema de nebulización. Por otra parte, el sistema SPT tiene la capacidad de controlar la temperatura y la humedad incluso en el período caliente del verano, lo que es más difícil de manipular con el sistema de nebulización normal.

La luz como factor que influye en el enraizamiento de las estaquillas ha despertado el interés de muchos investigadores. Mencuccini (2003) estudió el efecto de obscurecer el medio de enraizamiento para eliminar el efecto estacional sobre el enraizamiento de estaquillas de olivo de las variedades 'Frantoio', 'Moraiolo' y 'Dolce Agogia' recogidas en enero, mayo y septiembre. El experimento se realizó usando 4 concentraciones de tintes (0, 10, 100 y 200 mg/l de Brilliant Black BN-SIGMA) agregadas al medio de enraizamiento para obtener un efecto de obscurecimiento. Al final del ensayo, mientras que el porcentaje de enraizamiento obtenido fue de cerca del 100% en medios oscuros con una concentración del tinte de 100-200 mg/l independientemente del período y del cultivar, las estaquillas no sometidas al obscurecimiento mantuvieron una variabilidad estacional en el enraizamiento con porcentajes bajos en enero (12-28%) en comparación con mayo y septiembre (56-96%).

Otro efecto de la luz fue estudiado por Morini *et al.* (1990). Estos investigadores compararon luces de varios colores: blanco, rojo, amarillo, verde y azul. La luz amarilla, particularmente, proporcionó los porcentajes más altos de enraizamiento. Además, El mayor número de hojas persistentes y de yemas abiertas así como la mayor longitud de los nuevos brotes formados por las estaquillas confirmaron el efecto beneficioso de la calidad de la luz amarilla.

Por otro lado, Rallo y Del Río (1990) intentaron mejorar el enraizamiento de estaquillas con y sin frutos mediante la aplicación de CO<sub>2</sub> por inyección durante 2 veces al día (11:30 y 14:00h). El enriquecimiento con el CO<sub>2</sub> (400-1800ppm) durante el periodo de enraizamiento aumentó el porcentaje de enraizamiento así como la acumulación de hidratos de carbono en las bases de las estaquillas sin fruto, pero no afectaba el porcentaje nulo de enraizamiento en estaquillas con frutos presentes.

### 2.3.2. Aplicación de productos químicos

En la práctica de la propagación a gran nivel solamente las auxinas se utilizan para estimular el enraizamiento, aunque varios informes indican una mejora posible por tratamientos con cofactores como: componentes fenólicos (Bartolini *et al.*, 1986), captan, vitaminas, etc., o lavando las estaquillas (Caballero y Nahlawi, 1979).

El efecto a largo plazo de reguladores del crecimiento de las plantas sobre el estaquillado fue investigado por varios autores. En efecto, Sebastiani y Tognetti (2004) utilizaron el IBA 4000 (Ácido Indol Butírico) con un tratamiento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0%-control o 3.5%-v/v). A los 57 días, se observó un aumento significativo del porcentaje de enraizamiento en el tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> respecto al control. No obstante, observaciones a los 88 días mostraron que el efecto positivo del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue disminuyendo gradualmente con el tiempo hasta esta fecha, cuando no se observó ninguna diferencia en el porcentaje de enraizamiento entre el control y el tratamiento. Se notó también un número más alto de raíces en las estaquillas tratadas con IBA 4000 + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Mancuccini (2003) obtuvo un mejor enraizamiento por pulverización aérea de Paclobutrazol y Uniconazol. Estos dos retardadores del crecimiento retardaron o incluso inhibieron considerablemente el crecimiento durante un cierto tiempo durante el cual se produciría la formación de las raíces y luego lo aceleraron. Otros investigadores utilizaron el IBA mezclado con Tween-20 o con Paclobutrazol (Petridou y Voyiatzis, 1994) o el IBA con Urea-fosfato (Wiesmann y Lavee, 1995) y obtuvieron igualmente un aumento en la velocidad y en el porcentaje de enraizamiento. Asimismo, Wiesmann *et al.* (2002) mejoraron el enraizamiento y promovieron el desarrollo del sistema radical mediante la aplicación, en el medio de enraizamiento, de cápsulas formadas por una formulación de IBA, Paclobutrazol, N, P, K y oligoelementos.

El tratamiento de las estaquillas de olivo con IBA y putrescina aumentó igualmente el porcentaje y la velocidad del enraizamiento (Rugini *et al.*, 1990 y 1993). En este ensayo las estaquillas de 3 cultivares recogidas en octubre y marzo fueron tratadas con 1 mM de poliaminas (putrescina.HCl, spermine o spermidine) mezcladas con talco o en una solución alcohólica (1:1 v/v). Los porcentajes de enraizamiento fueron mayores en las estaquillas recogidas en octubre mientras que no había ninguna diferencia respecto al control en las estaquillas recogidas en marzo. La aplicación de las poliaminas mezcladas con talco ha dado mejores resultados que las aplicadas en solución alcohólica (Rugini *et al.*, 1990). Özkaya y Çelik (1994) obtuvieron resultados similares al aplicar también la putrescina.HCl.

Por otro lado, y debido a la reglamentación vigente en la Agricultura Ecológica (Reglamento CEE nº2092/91) que indica la obligación del uso de sustancias naturales en la obtención de nuevas plántulas, se realizaron pruebas con productos naturales con el fin de sustituir la auxina sintética (IBA) como enraizante. De hecho, Suarez *et al.* (1998) aplicaron distintos compuestos orgánicos naturales (Auxym Oligo, Roots y Micor + AA) para mejorar el enraizamiento de las variedades ‘Manzanilla’, ‘Picual’ y ‘Picudo’. Los tratamientos testigos con auxinas sintéticas han resultado mucho más efectivos que los productos ecológicos ensayados. Contrariamente, Centeno y Gómez-del-Campo (en prensa), obtuvieron un mejor enraizamiento de las estaquillas de olivo de la variedad ‘Cornicabra’ sumergiendo las estaquillas en un extracto natural de algas marinas secas (Sm-6 Organico<sub>TM</sub>) a 30% durante 1h 20 min., o en un extracto natural de semillas maceradas (Terrabal Organico<sub>TM</sub>) durante 1h 20 min. El porcentaje de enraizamiento con Terrabal Organico<sub>TM</sub> y con Sm-6 Organico<sub>TM</sub> era mucho mayor que con IBA. Estos productos demostraban por tanto una buena capacidad para sustituir posiblemente la IBA para la obtención de nuevas plantas ecológicas de olivo aunque este extracto podría producir un efecto tóxico sobre las estaquillas cuando la duración del tratamiento aumenta (Centeno y Gómez-del-Campo, en prensa).

#### **2.4. Aptitud al enraizamiento de diferentes cultivares**

Uno de los objetivos de interés agronómico general en un programa de mejora varietal es la evaluación de la capacidad de enraizamiento de las preselecciones de este programa (Rallo, 2005). Esta evaluación representa una primera aproximación a la elección del método de propagación vegetativa a emplear para la multiplicación comercial de estas preselecciones.

Durante los últimos años, la técnica de propagación vegetativa por estaquillado semileñoso ha sido la más difundida (Caballero y Del Río, 1994, 2001; Cimato y Fiorino, 1980, Fontanazza y Rugini, 1981, Hartmann y Loretti, 1965) y ha apoyado a la mejora de la olivicultura así como del sector viverística en general, principalmente, gracias a la buena calidad de plantas que ofrece (Del Río y Caballero, 2005).

Por definición, la capacidad de enraizamiento por estaquillado semileñoso de cada variedad será determinada por el porcentaje de estaquillas enraizadas, el número y la longitud media de las raíces formadas, después de un periodo mínimo de 60 días bajo nebulización (Caballero y Del Río, 1994; 1997).

Sin embargo, en el olivo, se ha observado una alta variabilidad de enraizamiento entre las distintas variedades (Rugini y Fedeli, 1990; Sarmiento *et al.*, 1990; Ozkaya y Çelik, 1999, Sebastiani y Tognetti, 2004). Esta variabilidad puede ser atribuida a factores fisiológicos y anatómicos entre las variedades.

En función de la variabilidad observada por distintos autores, se establecen las siguientes categorías (Del Río y Caballero, 2005):

- 1 – Enraizamiento muy alto: 80-100%
- 2 – Enraizamiento alto: 60-80%
- 3 – Enraizamiento medio: 40-60%
- 4 – Enraizamiento bajo: 20-40%
- 5 – Enraizamiento muy bajo: 1-20%

Varios trabajos intentaron evaluar la aptitud de enraizamiento de los distintos cultivares de olivo. Pero como se ha mencionado antes, hay un gran número de factores fisiológicos y ambientales que pueden influir sobre el porcentaje de enraizamiento y sobre la longitud y el número de raíces. De hecho, conviene seguir comprobando en ensayos experimentales, aunque se trate del mismo genotipo, pero en distintas condiciones y en distintas fechas para llegar a caracterizar más precisamente su capacidad de enraizamiento. Resultados obtenidos por otros autores sobre la aptitud de enraizamiento de algunos genotipos de interés en este trabajo muestran claramente la dificultad de la evaluación de cultivares para esta característica (tabla 1).

<b>Cultivar</b>	<b>Nahlawi <i>et al.</i> (1975)</b> (Otoño)	<b>Abazi (2000)</b> (Primavera)	<b>Abazi (2000)</b> (Otoño)	<b>Del Río y Caballero (2005)</b> (Primavera)	<b>Media</b>
‘Arbequina’	75,0	41,6±10,9	45,0±9,5	78,0±9,5	60,0
‘Frantoio’	50,0	35,0±16	51,0±10,6	65,8±9,6	45,3
‘Picual’	79,0	38,3±14,9	48,8±5,8	79,2±1,8	79,1

**Tabla 1:** Aptitud al enraizamiento de las variedades ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’ obtenida por diferentes autores.

## **III – PARTE EXPERIMENTAL**

## III – PARTE EXPERIMENTAL

### 1. Ensayos de germinación

#### 1.1. Método general adoptado en todos los ensayos de germinación

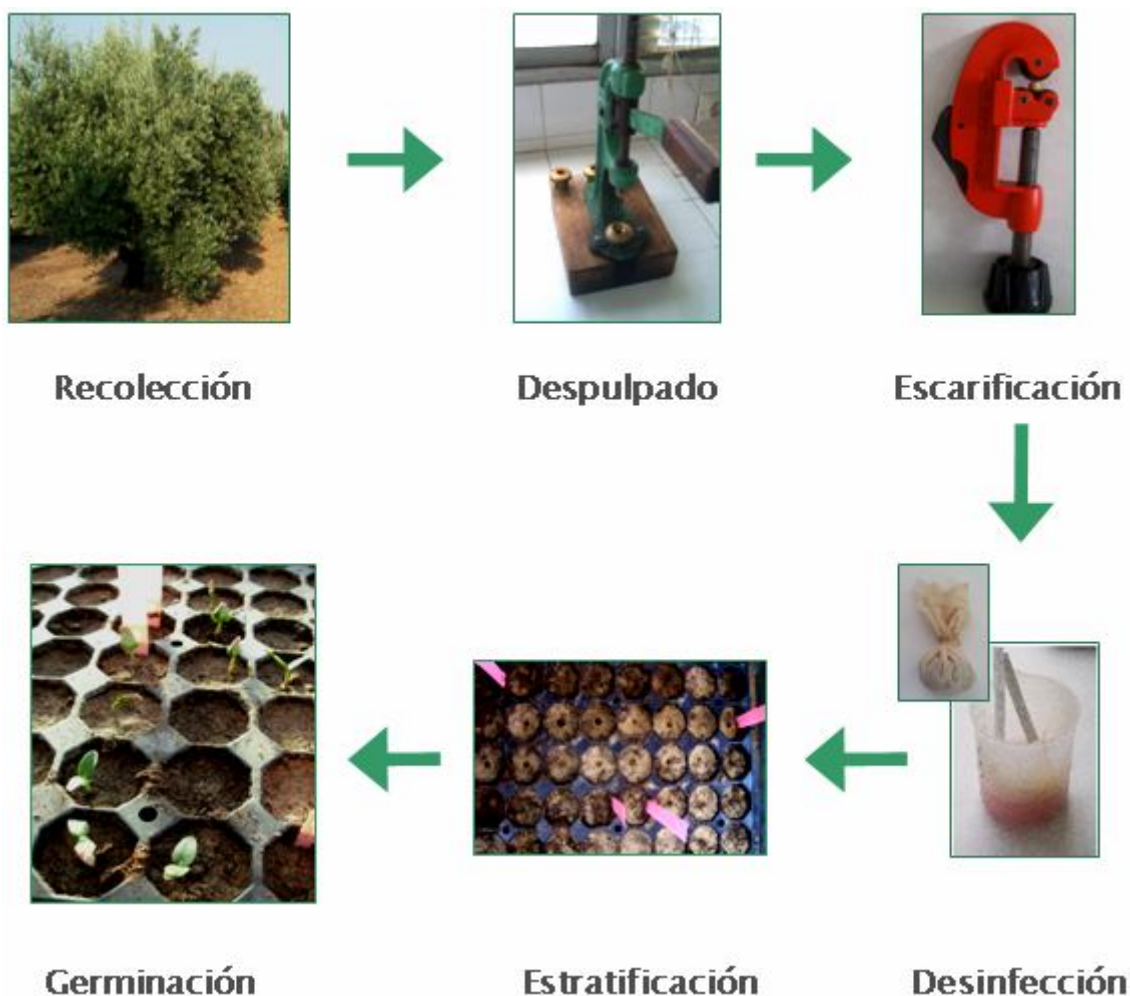
Este método es el procedimiento propuesto por Alvarado (1994) pero con algunas modificaciones (figura 1). El procedimiento consistió en lo siguiente:

- 1) Recogida de los frutos.
- 2) Deshuesado del fruto con deshuesadora, eliminación de los restos oleosos del hueso por lavado con agua y frotación con una redcilla de nylon y desecación de los huesos durante 48 horas a temperatura ambiente.
- 3) Rotura del endocarpo con cortatubos y extracción de la semilla, según el método descrito por Sotomayor y Caballero (1990).
- 4) Desinfección de la semilla en una solución de fungicida (80% de Tiram) a 2g/l durante 5 minutos.
- 5) Siembra de la semilla en bandejas de germinación, en un substrato compuesto de una mezcla al 50% de turba y de lima.
- 6) Estratificación en cámara durante 30 días.

Durante el periodo de estratificación, las bandejas fueron regadas cada 10 días. La temperatura fue fijada a 14° C con una variación de +/- 0.5° C, la humedad se mantuvo a 90-95 % y con oscuridad total.

Transcurridos los 30 días de estratificación, se sacaron las bandejas y se colocaron a germinar en invernadero o en cámaras de germinación.

Se consideraban las semillas germinadas cuando se extendían los dos cotiledones.



**Figura 1:** Método General de germinación adoptado en todos los ensayos de germinación

Con el fin de mejorar la germinación obtenida mediante la aplicación de este método, se realizaron diversos ensayos estudiando los siguientes factores y condiciones generales que afectan a la dicha germinación. En concreto se trató de:

- Determinar la época óptima de recolección de los frutos para la obtención del máximo porcentaje de germinación.
- Evaluar diferentes procedimientos de escarificación/estratificación que permitan eliminar las latencias de las semillas de olivo.
- Experimentar la posibilidad de llevar a cabo el proceso directamente en invernadero con control climático que permite condiciones (de temperatura y de luz continua) parecidas a las existentes en las cámaras.
- Experimentar el efecto de cuatro tipos de substrato sobre el porcentaje y la velocidad de germinación.

## **1.2. Ensayo preliminar: influencia del genitor, época de recolección y procedimiento de escarificación y estratificación**

### **1.2.1. Objetivos**

Son muchos los factores que afectan a la germinación de las semillas de olivo, habiéndose desarrollado diferentes metodologías para acelerar y aumentar la germinación de las semillas (Apartado I de la bibliografía).

De todos ellos, en el presente ensayo se pretende determinar la influencia del genitor, de la época de recolección de los frutos y de diversos procedimientos de escarificación/estratificación en la germinación de semillas de olivo. Se trata en suma de simplificar el procedimiento. En particular, los objetivos perseguidos han sido:

- 1) Determinar la época óptima de recolección para la obtención del máximo porcentaje de germinación en 2 variedades con distintas épocas de maduración: 'Arbequina' y 'Picual' y que son genitores recurrentes en el programa de mejora.
- 2) Mejorar el proceso de germinación evaluando diferentes procedimientos de escarificación/estratificación que permitan eliminar la latencia física con menos daños para la semilla y reducir el espacio ocupado en las cámaras de estratificación.

### **1.2.2. Material y métodos**

#### **1.2.2.1. Material vegetal**

Se recogieron frutos del campo de preselecciones del programa de mejora del olivo de Córdoba. Este campo, establecido en el año 2001 en marco intensivo (6 x 5 m, 333 árboles/ha), consta en 15 preselecciones elegidas por presentar características agronómicas y metodológicas interesantes, tales como alta producción, alto rendimiento graso, alto contenido en ácido oleico, precocidad de entrada en producción, adaptación a la recolección mecanizada, resistencia a repilo (*Spilocaea oleagina* (Cast) Hugues), etc. (Léon *et al.*, 2005; Trapero y López-Doncel, 2005). Se trata de un diseño experimental



en bloques al azar con 16 repeticiones y un árbol por parcela experimental. Se distribuyeron, en cada bloque, los 18 genotipos (15 preselecciones más 3 genitores) de forma aleatoria. Las plantas tuvieron la primera producción en el año 2003 por lo que los frutos utilizados en este trabajo corresponden a la cuarta producción en muchas de los árboles de 'Arbequina' y 'Picual'.

#### 1.2.2.2. Protocolo experimental

Se recogieron los frutos en tres fechas distintas: 15 de septiembre, 16 de octubre y 14 de noviembre; Y se experimentaron 5 tratamientos (T1, T2, T3, T4 y T5) que incluyen variantes respecto al método general anteriormente descrito con 4 repeticiones y 20 aceitunas por repetición. Por tanto, en cada fecha, se recogieron en total: 2 variedades x 5 tratamientos x 4 repeticiones x 20 aceitunas = 800 aceitunas.

##### A) Tratamientos:

Los 5 tratamientos experimentados son los siguientes:

- Tratamiento T1: este tratamiento es el método general de germinación descrito en el apartado I.1 del material y métodos.
- Tratamiento T2: consistió en el método general de germinación descrito en el apartado I.1 del material y métodos con los siguientes variantes:
  - 1) Rotura del endocarpo con cortatubos.
  - 2) Desinfección del endocarpo roto que tiene por dentro la semilla en la solución fungicida (80% de Tiram) a 2g/l.
  - 3) Siembra del endocarpo roto.
  - 4) Estratificación en cámara durante 30 días.
- Tratamiento T3 consistió en el método general de germinación descrito anteriormente pero modificado de la manera siguiente:
  - 1) Estratificación de los huesos en placas Petri durante 30 días en cámara.
  - 2) Rotura del endocarpo con cortatubos y extracción de las semillas.
  - 3) Desinfección de la semilla.
  - 4) Siembra de la semilla en las mismas bandejas de germinación.
- Tratamiento T4 consistió en el método general de germinación con las siguientes modificaciones:
  - 1) Estratificación de los huesos.
  - 2) Rotura de los huesos con cortatubos.

3) Desinfección de los endocarpos rotos.

4) Siembra de los huesos rotos en las bandejas de germinación.

- Tratamiento T5 consistió en el método general de germinación descrito anteriormente con la siguiente variante:

1) Estratificación de los huesos, desinfección y siembra en bandejas de germinación.

Las condiciones de estratificación de los tratamientos T2, T3, T4 y T5 son las mismas que en el método general de germinación (T1).

Después de la estratificación y la siembra de todas las semillas según los procedimientos mostrados arriba, las bandejas se sacaron y se pusieron a germinar en invernadero.

#### 1.2.2.3. Caracteres evaluados

Para saber el efecto de los distintos tratamientos sobre el poder germinativo de las semillas de cada variedad se calculó el porcentaje y el periodo medio de germinación (semanas desde la recolección) y se estableció la curva de germinación.

#### 1.2.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

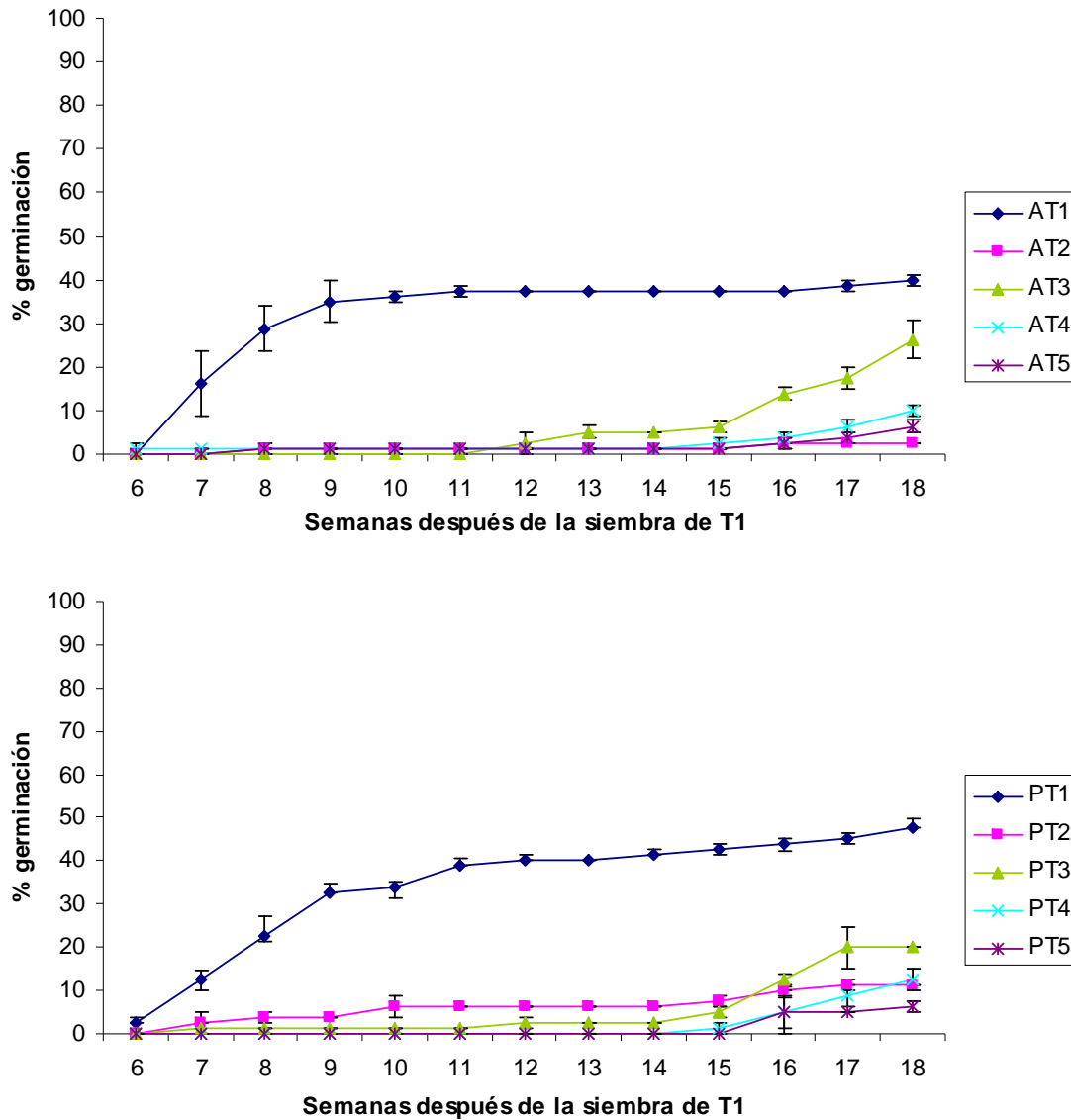
Los tratamientos fueron repartidos en las bandejas de alvéolos al azar. El ensayo se realizó en Split-Plot con las variedades como factor principal y los tratamientos como factor secundario.

Para el análisis de los datos se utilizó el programa STATISTIX 8.0, realizando la comparación de las medias mediante  $LSD_{0,05}$ .

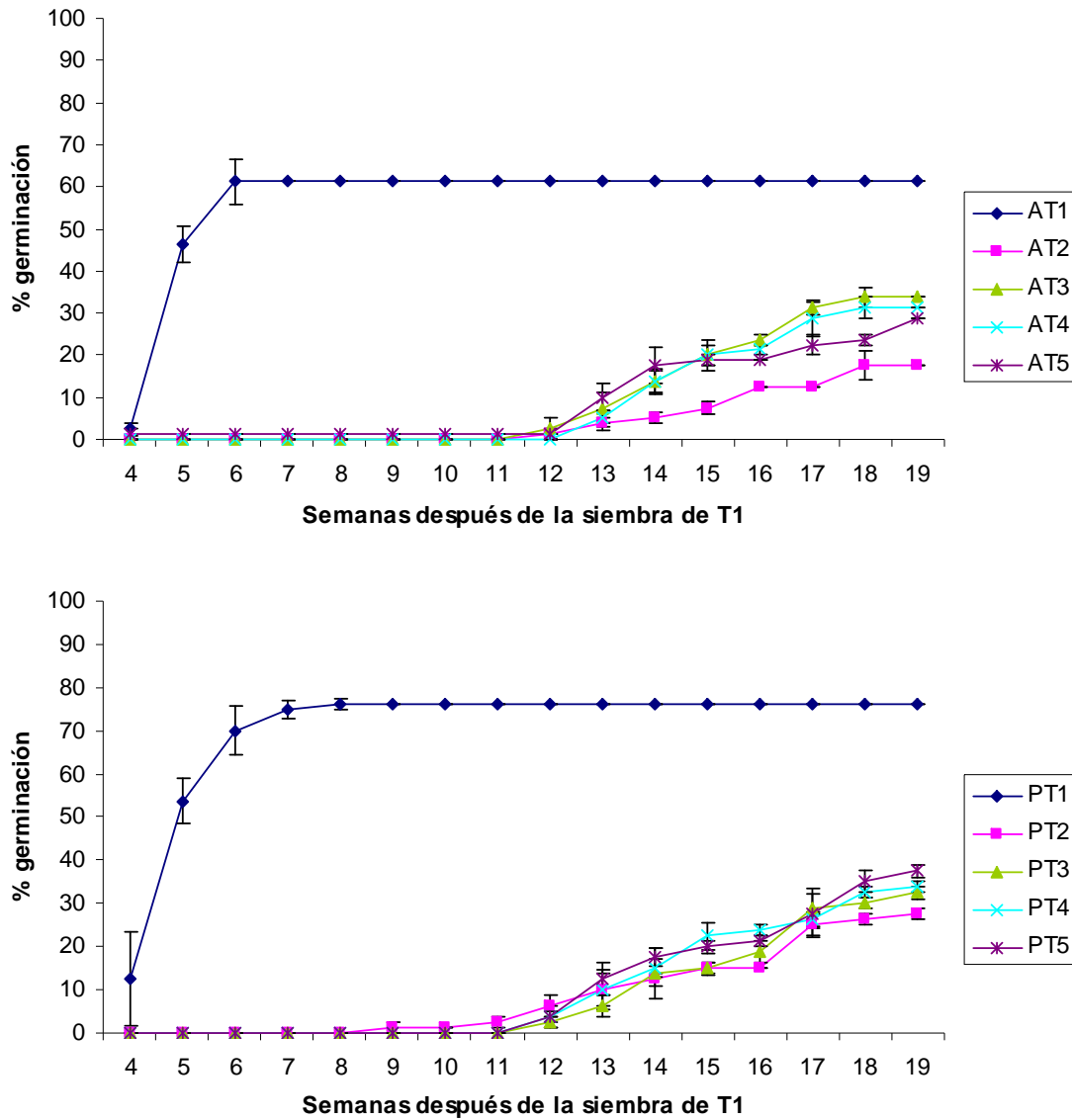
### **1.2.3. Resultados y discusión**

El método general de germinación, descrito en el apartado 1.1 del material y métodos, consistente en rotura del hueso, extracción de las semillas, siembra y estratificación (T1) ha dado los mejores porcentajes de germinación en las dos variedades 'Arbequina' (AT1) y 'Picual' (PT1). La germinación fue significativamente mayor ( $P < 0,001$ ) en T1 respecto a los otros tratamientos (T2 consistente en: rotura del hueso, siembra y estratificación, T3: estratificación, rotura del hueso, extracción de las

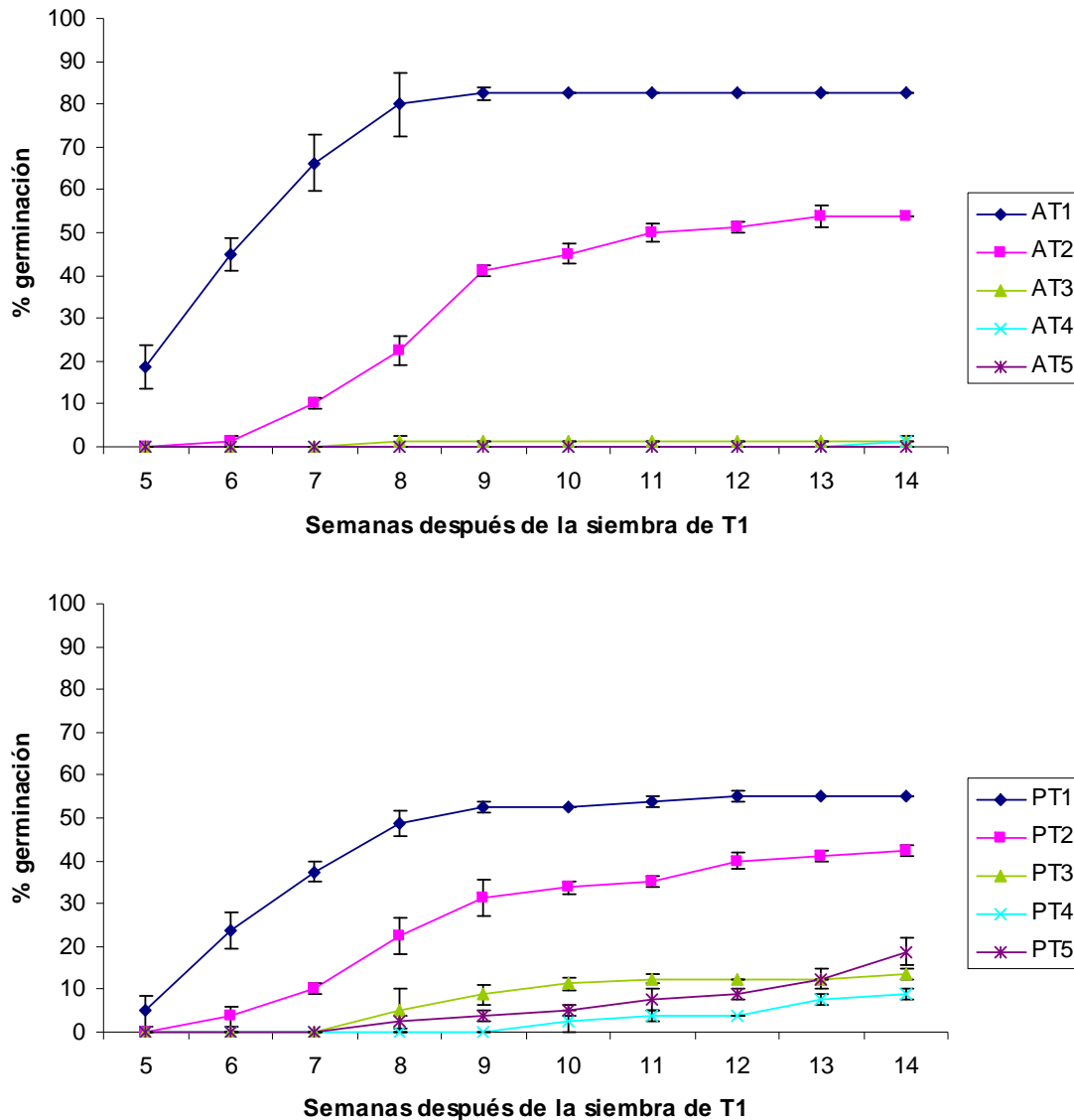
semillas y siembra, T4: estratificación, rotura del hueso y siembra, T5: estratificación y siembra de los endocarpos enteros) en las tres fechas de recolección de las aceitunas: septiembre (figura 2), octubre (figura 3) y noviembre (figura 4).



**Figura 2:** Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de septiembre y germinadas según los 5 tratamientos (T1: siembra y estratificación semilla, T2: rotura endocarpo, siembra y estratificación, T3: estratificación y siembra semilla, T4: estratificación, rotura endocarpo y siembra, T5: Estratificación y siembra endocarpo entero).



**Figura 3:** Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de octubre y germinadas según los 5 tratamientos (T1: siembra y estratificación semilla, T2: rotura endocarpo, siembra y estratificación, T3: estratificación y siembra semilla, T4: estratificación, rotura endocarpo y siembra, T5: Estratificación y siembra endocarpo entero).



**Figura 4:** Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P), recogidas en el mes de noviembre y germinadas según los 5 tratamientos (T1: siembra y estratificación semilla, T2: rotura endocarpo, siembra y estratificación, T3: estratificación y siembra semilla, T4: estratificación, rotura endocarpo y siembra, T5: Estratificación y siembra endocarpo entero).

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Crisosto y Sutter (1985b). Ya que obtuvieron la mejor germinación eliminando enteramente el hueso. El mismo resultado también fue obtenido por Alvarado *et al.* (1994). Además estos resultados apoyan la hipótesis propuesta por Sotomayor-Léon y Caballero (1990), la cual insiste en la importancia de la eliminación de los huesos antes del periodo de estratificación

puesto que durante este periodo se produce un aumento del volumen de la semilla obstaculizando la eliminación del hueso.

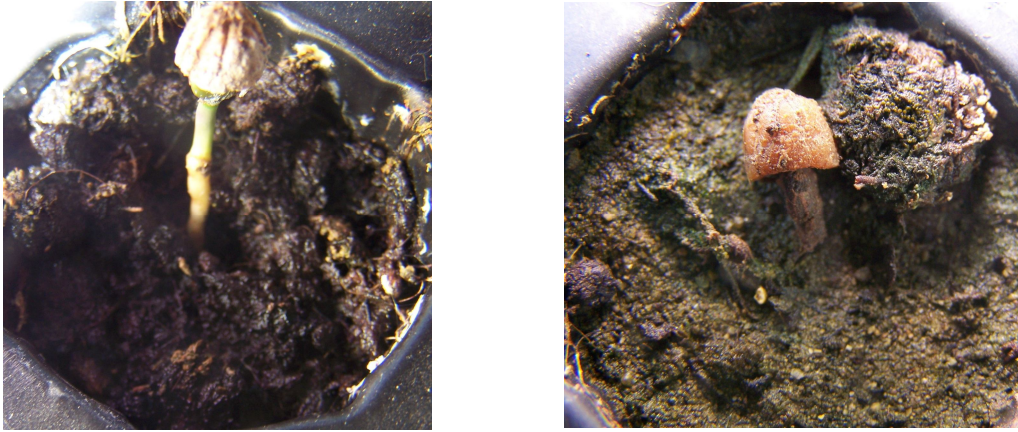
La interacción entre tratamientos y variedades no ha sido significativa en los meses de septiembre ( $p=0,64$ ) y de octubre ( $p=0,44$ ), pero ha sido significativa en el mes de noviembre ( $p=0,0005$ ).

Además, las semillas de las dos variedades germinaron antes (52 días) en las tres fechas de recogida cuando se aplicó el tratamiento T1 que cuando se aplicaron los otros tratamientos (Tabla 2).

	Septiembre (Días desde la siembra de T1)		Octubre (Días desde la siembra de T1)		Noviembre (Días desde la siembra de T1)	
Variedad Tratamiento	'Arbequina'	'Picual'	'Arbequina'	'Picual'	'Arbequina'	'Picual'
T1	62,5±3,8	68,9±7,4	36,4±0,6	37,1±0,7	45,1±1,8	49,5±2,2
T2	84,0±0,0	97,2±26,5	107,9±5,2	108,3±5,2	62,0±1,8	62,2±0,6
T3	113,3±4,8	108,8±2,5	108,4±4,0	110,4±2,8	56,0±0,0	67,4±1,9
T4	113,2±6,3	117,6±29,5	106,2±1,3	106,8±3,4	98,0±0,0	85,3±3,5
T5	112,0±7,6	119,0±34,5	103,5±1,4	107,6±3,6	0,0±0,0	83,0±4,0

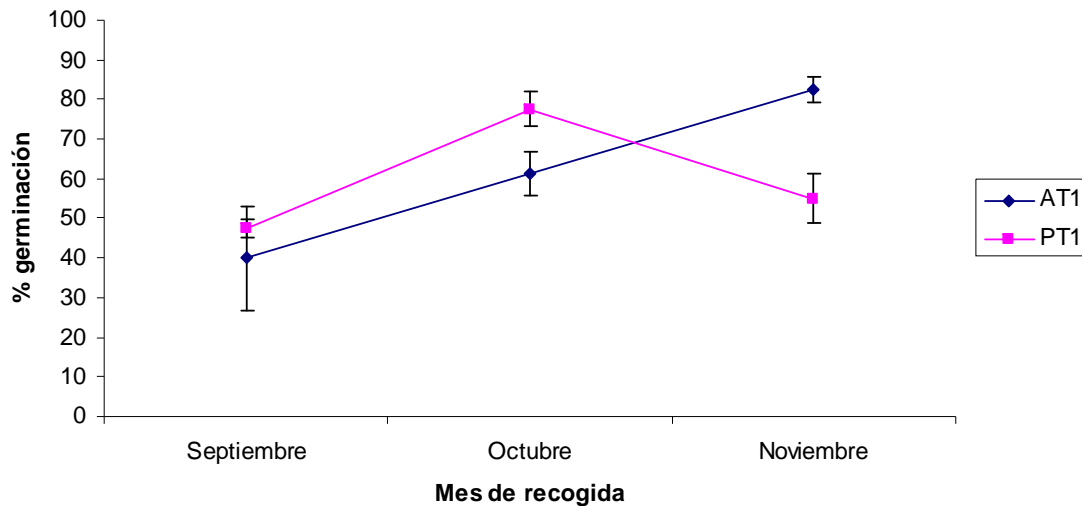
**Tabla 2:** Periodo medio de germinación de las semillas recogidas de las dos variedades 'Arbequina (A) y 'Picual' (P), en las tres fechas (Septiembre, Octubre y Noviembre), y germinadas según los 5 tratamientos (T1: siembra y estratificación semilla, T2: rotura endocarpo, siembra y estratificación, T3: estratificación, y siembra semilla, T4: estratificación, rotura endocarpo y siembra, T5: Estratificación y siembra endocarpo entero).

También el tratamiento T2 ha proporcionado buenos resultados de germinación en el mes de noviembre aunque con una germinación significativamente menor que la proporcionada por T1 en las dos variedades y con un periodo medio de germinación más largo (62,2 días en las dos variedades). Además las plantas de este tratamiento presentaron algunas deformaciones debido a la presencia de una parte del hueso sobre la plántula durante un largo tiempo. También se ha observado que algunas de estas plántulas murieron antes de la expansión de los cotiledones (figura 5).



**Figura 5:** Semillas germinadas según el tratamiento T2 (rotura endocarpo, siembra y estratificación) pero que salieron con deformaciones (izquierda) o que murieron antes de la expansión de los cotiledones (derecha).

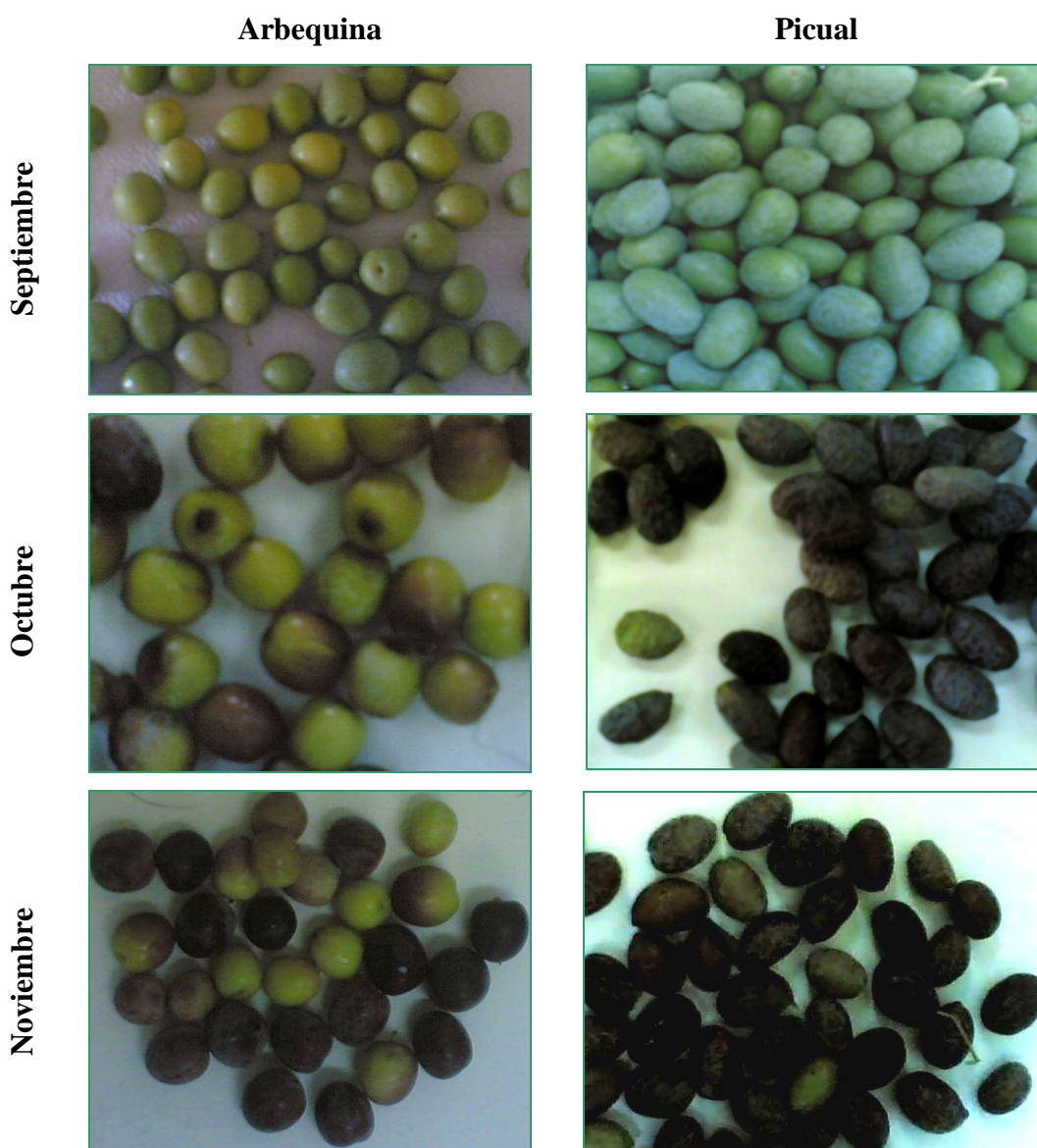
El porcentaje de germinación de la variedad ‘Picual’ ha sido mayor que el de la variedad ‘Arbequina’ en septiembre y en octubre, pero en el mes de noviembre este porcentaje ha bajado en ‘Picual’ pero ha aumentado en ‘Arbequina’ (figura 6).



**Figura 6:** Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) germinadas según el tratamiento T1 (siembra y estratificación semilla) en los tres periodos de recogida de las aceitunas.

Este resultado puede ser debido a una posible relación entre la maduración de los frutos y la germinación máxima de las semillas. En efecto, los frutos de ‘Picual’ (variedad de maduración precoz) recogidos en el mes de noviembre estaban más maduros que los frutos de ‘Picual’ recogidos en el mes de octubre. Mientras que en las

mismas fechas, los frutos de 'Arbequina' (variedad de maduración tardía) estaban todavía menos maduros (figura 7).



**Figura 7:** Aspecto de los frutos de las dos variedades 'Arbequina' y 'Picual' en Septiembre, Octubre y Noviembre.

Por otro lado, este resultado puede ser debido al hecho de que las semillas estaban puestas a germinar en un invernadero que carecía de un control térmico preciso, y se ha registrado temperaturas muy bajas en los meses de diciembre y enero (periodo durante lo cual las semillas estaban germinando) (Cfr. Figura 12). Estas bajas temperaturas podrían haber afectado la germinación de las semillas de 'Picual' que



según Sotomayor (1989) tiene menos necesidades de frío para germinar ya que es una variedad originaria de zonas cálidas mientras que la variedad 'Arbequina', originaria de zonas más frías, ha podido aguantar. También, este resultado puede ser debido a la calidad de los frutos recogidos en cada fecha. En efecto, los frutos de 'Picual' mostraron síntomas de estrés debido a la sequía en el mes de octubre. Estos síntomas se agravaron en el mes de noviembre (figura 7).

Los altos porcentajes de germinación obtenidos en los siguientes ensayos de germinación (*Cfr.* apartado 1.3 y 1.4 de la parte experimental) con frutos de 'Arbequina' y de 'Picual' recogidos en el mes de diciembre, ponen en entredicho la hipótesis de la relación entre el periodo de recolección y el porcentaje de germinación de las semillas. Estos resultados concuerdan con los señalados por Sotomayor-León (1989) y por Adakalic (2003) que no encontraron relación entre el índice de madurez de los frutos y la germinación. Por contra, estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Lagarda *et al.* (1983b) que indican la importancia de la recogida temprana de los frutos antes de la excesiva acumulación del aceite en la aceituna.

### **1.3. Ensayo de germinación en cámaras e invernadero**

#### **1.3.1. Introducción**

Los factores ambientales tales como la temperatura, la luz y la humedad pueden afectar la germinación de las semillas (Diamantoglou y Mitrakos, 1979).

Para disponer de un ambiente favorable para la germinación, las semillas se deben colocar en cámaras de germinación. No obstante, la necesidad de un gran espacio para poner las bandejas de germinación en cámaras durante el periodo de germinación (los dos meses después del fin de la estratificación) y el alto coste necesario para establecer grandes cámaras de germinación puede suponer un gran obstáculo en programas de mejora. Por todo ello, se realizó este ensayo cuyo objetivo es experimentar la posibilidad de adoptar, en el lugar de las cámaras, invernaderos con control climático que permiten condiciones (de temperatura y de luz continua) parecidas a las existentes en las cámaras.

#### **1.3.2. Material y métodos**

##### 1.3.2.1. Material vegetal

Para la realización de este ensayo se recogieron frutos de polinización libre de árboles de las 2 variedades 'Arbequina' y 'Picual', del mismo campo de preselecciones descrito anteriormente.

##### 1.3.2.2. Protocolo experimental

Se realizó la germinación en dos condiciones distintas, con 4 repeticiones por tratamiento. Por ello se recogieron en total: 25 aceitunas x 2 variedades x 1 procedimiento x 4 repeticiones x 2 condiciones de germinación. Se recogieron en total 400 aceitunas

Los frutos se recogieron en el 20 de diciembre y fueron manejados conforme al método general de germinación descrito antes (en el apartado I.1 del material y

métodos). La única diferencia con el ensayo anterior consistió en que el periodo de estratificación fue reducido a 20 días en el lugar de 30 días.

Una vez acabada la estratificación, se pusieron las bandejas cada una en su destino:

- 4 bandejas en la cámara de germinación donde se fijaba la temperatura alrededor de 25° C.
- 4 bandejas en invernadero donde se intentó mantener los valores medios de temperatura lo más cerca posible de 25° C. Para mantener esos valores, se utilizó un sistema automatizado de calefacción y de refrigeración que se ponía en marcha dependiendo de los valores de la temperatura en el interior del invernadero.

#### 1.3.2.3. Caracteres evaluados

Durante el periodo de germinación, se tomaron datos, tres veces a la semana, para el cálculo del porcentaje y de la velocidad de germinación por variedad en cada lugar y se estableció la curva de germinación.

#### 1.3.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

Los tratamientos fueron repartidos en bandejas de alvéolos al azar. Se diseñó un ensayo factorial en bloques con 25 semillas por parcela elemental.

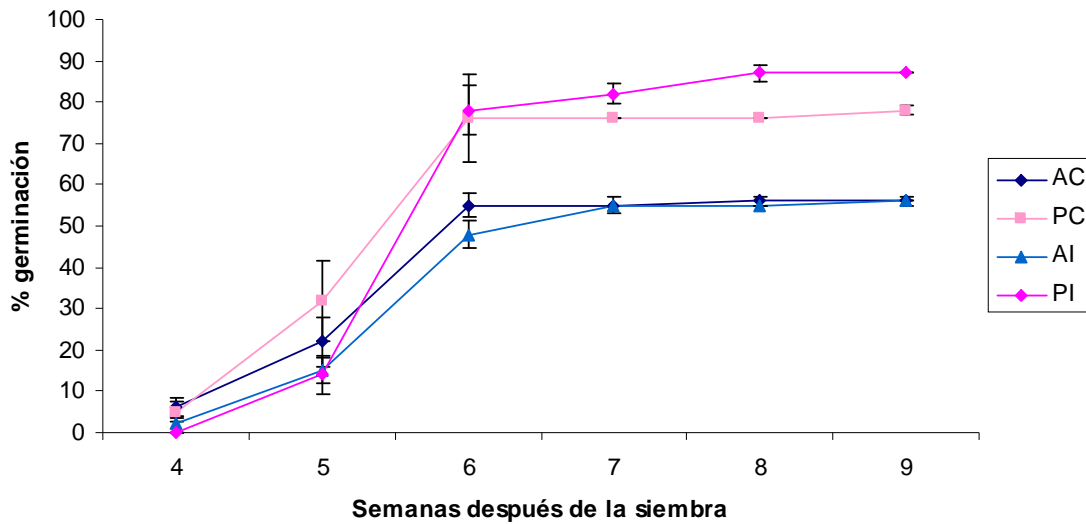
Los datos se analizaron mediante el uso del STATISTIX 8.0 considerando los factores en estudio y su interacción. En su caso, la comparación de las medias se llevó a cabo mediante el estadístico  $LSD_{0,05}$ .

### **1.3.3. Resultados y discusión**

Las plántulas procedentes de semillas estratificadas durante 3 semanas iniciaron su emergencia después de una semana aproximadamente de la puesta de las bandejas en cámara y en invernadero (4 semanas desde la siembra).

No se han observado diferencias significativas ( $p=0,079$ ) en el porcentaje de germinación de las semillas de las dos variedades, 'Arbequina' y 'Picual', puestas a germinar en condiciones controladas en cámaras de germinación o en condiciones

parecidas en invernadero. Este resultado coincide con los resultados de Lagarda *et al.*, (1983b) que descartan el efecto de la luz sobre la germinación de la semilla y señalan la importancia de la temperatura ambiente sobre la germinación. Además, la interacción entre lugar de germinación y variedad no ha sido significativa ( $p=0,24$ ).



**Figura 8:** Porcentaje acumulado de germinación de semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) en cámaras de germinación (C) y en invernadero (I).

Por otra parte, no se observó una gran diferencia en el periodo medio de germinación de las semillas en los dos lugares (tabla 3). Sin embargo, se puede apuntar que la germinación de ‘Picual’ ha sido inicialmente más lenta en invernadero que en cámara, aunque luego se aceleró hasta igualar la germinación en cámara.

Lugar de germinación \ Variedad	Periodo medio de germinación (Días desde la siembra)	
	‘Arbequina’	‘Picual’
Cámara	38,7±0,7	39,3±1,0
Invernadero	41,3±0,8	42,0±0,3

**Tabla 3:** Periodo medio de germinación de las semillas de las dos variedades en los dos lugares de germinación.

## **1.4. Ensayo comparativo entre distintos sustratos de germinación**

### **1.4.1. Introducción**

Varios tipos de sustratos han sido utilizados en la germinación de semillas de olivo: Crisotso y Sutter (1985a) usaron la vermiculita, Istanbouli *et al.* (1987) germinaron las semillas en arena de Maamora desinfectada con fungicida, Voyiatzis y Prolingis (1987) usaron perlita húmeda.

En este ensayo se pretendió experimentar el efecto de cuatro tipos de sustrato sobre el porcentaje y la velocidad de germinación.

### **1.4.2. Material y métodos**

#### **1.4.2.1. Material vegetal**

Para la ejecución de este ensayo se recogieron frutos de las variedades ‘Arbequina’ y ‘Picual’ del mismo campo de preselecciones del programa de mejora de olivo de Córdoba descrito anteriormente.

#### **1.4.2.2. Método de germinación**

En este ensayo se compararon 2 variedades (‘Arbequina’ y ‘Picual’) y cuatro sustratos (S1, S2, S3 y S4) con cuatro repeticiones que incluían 25 semillas por repetición. En total se recogieron 800 frutos.

Los sustratos estudiados fueron:

- S1: Turba
- S2: Turba+lima (50/50)
- S3: Turba+Fibra de coco (50/50)
- S4: Bandejas prefabricadas con sustrato formado por una mezcla de fibra de coco, turba y una sustancia que ayuda a su aglomeración.

Los frutos fueron recogidos como en el ensayo anterior en el 20 de diciembre, y se llevó a cabo el método general de germinación descrito antes (en el apartado I.1 del

material y métodos). El periodo de estratificación fue reducido a 20 días en el lugar de 30 días.

#### 1.4.2.3. Caracteres evaluados

Aproximadamente después de 30 días de la siembra, las plántulas empezaron a emerger. A partir de este momento se anotaron las plántulas emergidas en cada sustrato tres veces a la semana. Al final del ensayo, se calculó el porcentaje y la velocidad de la germinación y se estableció la curva de germinación.

#### 1.4.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

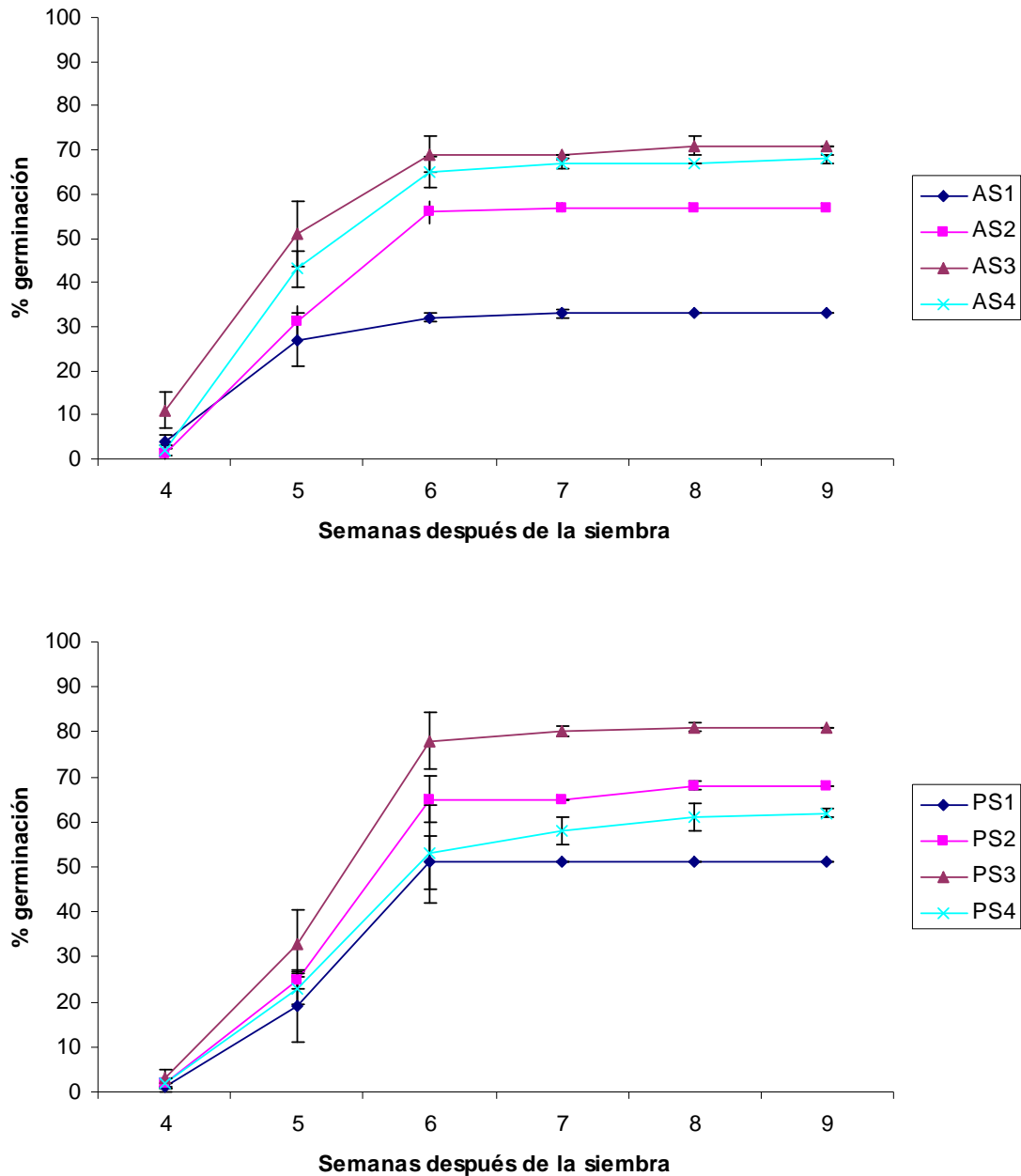
Los tratamientos fueron repartidos en bandejas de alvéolos al azar. El ensayo se diseñó en Split-Plot con las variedades factor principal y el sustrato como factor secundario.

Los datos se analizaron mediante el uso del STATISTIX 8.0 considerando los factores en estudio y su interacción. En su caso, la comparación de las medias se llevó a cabo mediante el estadístico  $LSD_{0,05}$ .

### **1.4.3. Resultados y discusión**

Transcurridas 4 semanas desde la siembra, las semillas empezaron a emerger en los distintos sustratos. Excepto el sustrato S1 que ha proporcionado un bajo porcentaje de germinación en ‘Arbequina’ (33%), los otros sustratos han proporcionado buenos porcentajes de germinación oscilando entre 50 y 81% en las dos variedades: ‘Arbequina’ y ‘Picual’.

Los máximos porcentajes de germinación obtenidos en ‘Arbequina’ y ‘Picual’ (71% y 81% respectivamente) se obtuvieron cuando se utilizó el sustrato S3, compuesto de una mezcla de turba y de fibra de coco (50/50), como sustrato de germinación (figura 9). La diferencia fue significativa al 0,05 ( $p=0,0208$ ). Además, no hubo interacción significativa en el porcentaje de germinación entre variedad y sustrato ( $p=0,2195>0,05$ ).



**Figura 9:** Porcentaje acumulado de germinación de semillas de ‘Arbequina’ (A) y de ‘Picual’ (P) en los 4 substratos (S1: Turba; S2: 50% Turba + 50% lima; S3: 50% Turba + 50% Fibra de coco y S4: Placas prefabricadas).

Comparando ambas variedades, se ve que el substrato S4 (placas de germinación prefabricadas) se comportó de forma diferente en las mismas. En ‘Arbequina’ (68%) ha proporcionado la segunda mejor germinación mientras que en ‘Picual’ (62%) solo ocupó el tercer lugar. También para el substrato S2 (mezcla al 50% de turba y de lima) en ‘Arbequina’ (57%) ocupó el tercer lugar y en ‘Picual’ (68%) el segundo. Sin embargo, el substrato T1 (100% turba) ha dado los peores resultados de germinación en las dos variedades (33% en ‘Arbequina’ y 51% en ‘Picual’).

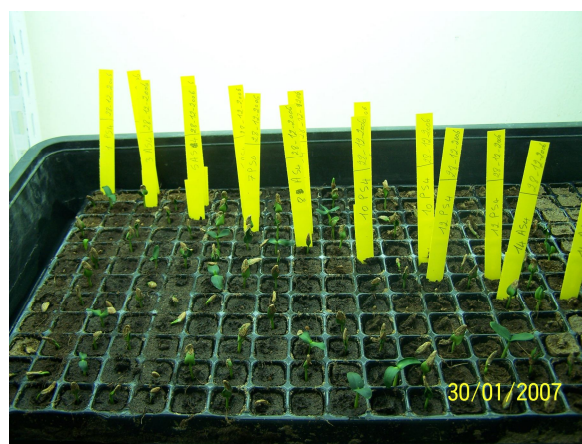
No se ha observado una gran diferencia en el periodo medio de germinación de las semillas de las dos variedades en los 4 sustratos (tabla 4).

		Periodo medio de germinación (Días desde la siembra)	
		‘Arbequina’	‘Picual’
Substrato	Variedad		
	S1	35,9±0,7	39,5±0,7
	S2	38,2±0,2	39,7±0,6
	S3	36,5±1,5	39,3±0,6
S4	37,8±0,7	40,5±0,8	

**Tabla 4:** Periodo medio de germinación de las semillas de las dos variedades

‘Arbequina’ (A) y ‘Picual’ (P) en los 4 sustratos (S1: Turba; S2: 50% Turba + 50% lima; S3: 50% Turba + 50% Fibra de coco y S4: Placas prefabricadas).

En resumen, los sustratos S2, S3, S4 han dado buenos porcentajes de germinación y la diferencia en el periodo de germinación no ha sido muy grande. Por ello, el criterio para la selección del sustrato debe ser su fácil manejo. El sustrato S4 (figura 10) es muy fácil de manejar ya que viene preparado y en bandejas, mientras que los otros dos hay que prepararlos y luego rellenar las bandejas antes de la siembra de las semillas. La única desventaja de S4 es que necesita un riego con más frecuencia que S2 y S3.



**Figura 10:** Germinación de semillas de ‘Arbequina’ y ‘Picual’ en bandejas de alvéolos prefabricados (S4).



## **1.5. Ensayo comparativo de la germinación en invernadero de semillas de acebuches y de variedades cultivadas**

### **1.5.1. Introducción y objetivos**

La gran variabilidad genética de los acebuches encontrados en la cuenca mediterránea (Mulas, 1999) y de las variedades cultivadas de olivo (Rallo et al, 2005) sugieren la importancia de estos materiales como fuente de genes en un programa de mejora genética de olivo.

Además, los acebuches presentan una gran adaptabilidad a las condiciones ambientales (particularmente sequía) y una considerable resistencia a las enfermedades (Mulas y Francesconi, 2000), lo que podría ser de gran interés para su cruzamiento con variedades cultivadas con el objetivo de mejorar la resistencia y la adaptabilidad de las mismas.

Otro aspecto de importancia en los acebuches es su valor ecológico. En efecto, estos acebuches tienen un valor forestal muy importante debido a su extraordinaria rusticidad y su rápido crecimiento, representando un medio de lucha contra la erosión y la desertización (Mulas *et al.* 2004).

Tanto el valor genético de los acebuches como su importancia ecológica han promovido este ensayo cuyos objetivos son los siguientes:

- Comparar el porcentaje y la velocidad de germinación de 30 Acebuches de distintos orígenes y de 28 variedades cultivadas en el mundo.
- Comparar el porcentaje de germinación de acebuches procedentes de dos orígenes diferentes (Cádiz y Jaén).

### **1.5.2. Material y métodos**

#### **1.5.2.1. Material vegetal**

Se recogieron frutos de 28 variedades cultivadas del banco mundial de germoplasma de olivo situado en el Centro “Alameda del Obispo” de Córdoba del IFAPA. Asimismo, se recogieron frutos de 30 acebuches, 15 de la provincia de Cádiz y 15 de la provincia de Jaén, procedentes de la prospección en curso de estos materiales

(Belaj y Muñoz, Comunicación personal). El listado de variedades y de acebuches junto al número de frutos por variedad y por acebuche se muestra en la tabla siguiente (tabla 5):

VARIETADES	GENITOR	Nº DE SEMILLA	ACEBUCHES	GENITOR	Nº DE SEMILLA	Coordenadas N	Coordenadas W	Elev (m)
	8-7	96		Jaen-01	84	38° 11 069'	3° 35 355'	542
9-67	96	Jaen-03	82	38° 10 689'	3° 35 406'	487		
Arbequina	96	Jaen-04	96	38° 10 668'	3° 35 524'	?		
Blanqueta	96	Jaen-05	93	38° 15 078'	3° 21 104'	393		
Canetera	96	Jaen-08	19	38° 15 769'	3° 21 448'	509		
Chalkidiki	96	Jaen-09	96	38° 17 072'	3° 21 486'	497		
Changlot Real	96	Jaen-16	47	38° 05 397'	3° 58 933'	372		
Chorrúo de Castro del Río	95	Jaen-17	21	38° 10 346'	4° 00 772'	352		
Empeltre	96	Jaen-18	82	38° 10 521'	4° 00 587'	459		
Frantoio	96	Jaen-20	91	38° 09 802'	3° 59 662'	254		
Gordal Sevillana	49	Jaen-21	91	38° 09 831'	3° 59 740'	248		
Hojiblanca	96	Jaen-24	29	38° 09 725'	3° 59 903'	248		
Kelb el terr	96	Jaen-26	62	38° 15 058'	3° 21 126'	385		
Koroneiki	91	Jaen-27	35	38° 11 035'	3° 35 443'	520		
Lección	96	Jaen-28	69	38° 10 038'	3° 59 688'	293		
Lechin de Granada	103	Jerez-01	96	36° 35 032'	5° 36 258'	297		
Lechón de Sevilla	96	Jerez-02	96	36° 35 059'	5° 36 206'	304		
Manzanilla de Sevilla	104	Jerez-07	95	36° 34 934'	5° 36 232'	277		
Manzanilla del Piquito	96	Jerez-08	96	36° 34 925'	5° 36 232'	291		
Meski	96	Jerez-09	96	36° 34 912'	5° 36 231'	291		
Morona	96	Madre-01	96	36° 30 584'	5° 44 647'	201		
Negrillo de Arjona	77	Madre-02	96	36° 30 541'	5° 44 656'	208		
Ocal	96	Madre-03	88	36° 30 541'	5° 44 686'	210		
Picual	96	Madre-04	96	36° 30 510'	5° 44 654'	206		
Picudo	96	Madre-05	96	36° 30 520'	5° 44 622'	199		
Tanche	92	San José-01	96	36° 39 639'	5° 47 167'	88		
Toffahi	96	San José-03	96	36° 39 689'	5° 47 156'	98		
Trylia	96	San José-18	96	36° 39 747'	5° 47 166	?		
		San José-19	96	36° 39 717'	5° 47 194	119		
		San José-20	96	36° 39 723'	5° 47 182'	?		
<b>Total semillas de variedades</b>	<b>2627</b>	<b>Total semillas de acebuches</b>	<b>2428</b>					
<b>Numero total de semillas de variedades cultivadas y de acebuches</b>							<b>5055</b>	

**Tabla 5:** Listado de las variedades cultivadas y de los acebuches de cada origen puestas para germinar.

#### 1.5.2.2. Procedimiento de germinación

Las semillas fueron repartidas en 4 repeticiones con un número de semillas por repetición igual al número total dividido por cuatro. Se aplicaron a los frutos recogidos el método general de germinación descrito en el apartado I.1 del material y métodos.

#### 1.5.2.3. Caracteres evaluados

Las plántulas empezaron a emerger unas 2 semanas después de la salida de la cámara de estratificación. Desde entonces, se tomaron datos de germinación una vez a la semana. Al finalizar el ensayo se calcularon el porcentaje de germinación y la velocidad de germinación y se establecieron las curvas de germinación de cada genotipo y de cada acebuche según los orígenes.

#### 1.5.2.4. Análisis estadístico de los datos

Los tratamientos fueron repartidos en bandejas de alvéolos al azar. El ensayo se ejecutó en un diseño en bloques completamente al azar con 4 repeticiones y con número variable de semillas por parcela elemental en función del número de semillas recogidas por cada genotipo y acebuche.

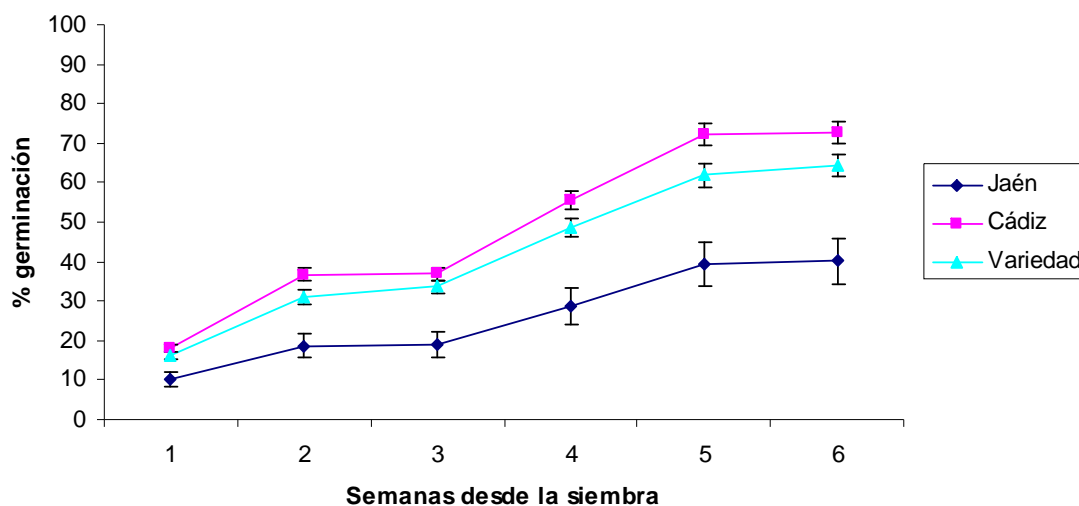
Los datos se analizaron mediante el uso del STATISTIX 8.0. La comparación de las medias se llevó a cabo mediante el estadístico  $LSD_{0,05}$ .

### **1.5.3. Resultados y discusión**

Al cabo de las 6 semanas desde la siembra, tanto las semillas de las variedades cultivadas como las de los acebuches empezaron a emerger.

Las semillas de las variedades cultivadas alcanzaron un porcentaje medio acumulado de germinación significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) que el de las semillas de los acebuches procedentes de Jaén. Mientras que las semillas de los acebuches procedentes de la provincia de Cádiz germinaron significativamente mejor que las de las variedades cultivadas ( $p = 0,007$ ) y que las de los acebuches procedentes de la provincia de Jaén ( $p < 0,001$ ) (figura 11).

El bajo porcentaje de germinación de las semillas de los acebuches procedentes de la provincia de Jaén puede ser debido a la escasez y la mala calidad de las acebuchinas recogidas en esta zona.



**Figura 11:** Porcentaje acumulado medio de germinación de variedades cultivadas, de acebuches procedentes de Jaén y de acebuches procedentes de Cádiz.

La comparación entre la germinación de las semillas de las variedades cultivadas y la germinación de las semillas extraídas de las acebuchinas de buena calidad (por ejemplo las recogidas en la provincia de Cádiz) muestra mejor germinación en las segundas. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Lopez (2006), que no encontró diferencias significativas entre la germinación de acebuches y de la variedad 'Picual'. También, los datos obtenidos son contrarios a los obtenidos por autores como Milella (1960) y Bandino *et al.* (1999), los cuales consideraban difícil la germinación de las semillas de acebuches, pero apoyan las conclusiones de Voyiatzis y Protingis (1987) que pusieron en manifiesto la importancia de la estratificación en frío de las semillas para resolver el problema de la irregular germinación de los acebuches.

Los resultados mostraron una gran variabilidad en el porcentaje final de germinación en las variedades cultivadas como en los acebuches. En efecto, el análisis estadístico de los datos mediante la tabla de Duncan muestra una gran variabilidad en el porcentaje medio de germinación de las variedades cultivadas (tabla 6) como en el de los acebuches (tabla 7) extendiéndose en un intervalo de 93% ('Manzanilla del Piquito') a 36% ('Blanqueta') en las variedades cultivadas con una media de 64,41%. Mientras

que en acebuches los porcentajes de germinación variaron entre 90% (San José-19) y 9% (Jaén-17) en los acebuches con una media de 56,43%. Estos resultados muestran el gran efecto de la variedad y de la calidad del fruto sobre el poder germinativo de las semillas.

<b>Genotipo</b>	<b>Media</b>	<b>Significación estadística</b>
'Manzanilla del Piquito'	92,7	a
'Toffahi'	88,5	ab
'Frantoio'	86,5	abc
'Tanche'	83,3	abcd
'Kelb el terr'	82,3	abcd
'Trylia'	82,3	abcd
'9-67'	82,3	abcd
'Negrillo de Arjona'	76,6	abcde
'Manzanilla de Sevilla'	72,9	abcdef
'Empeltre'	69,8	abcdef
'Meski'	68,7	abcdef
'Changlot Real'	66,7	bcdefg
Chorrúo de Castro del Río'	65,2	bcdefg
'Leccino'	62,5	cdefgh
'Picual'	62,5	cdefgh
'Arbequina'	60,4	defgh
'8-7'	59,4	defgh
'Picudo'	58,3	defgh
'Hojiblanca'	55,2	efgh
'Lechin de Sevilla'	53,1	efgh
'Ocal'	53,1	efgh
'Morona'	51,0	efgh
'Lechin de Granada'	50,7	efgh
'Canetera'	50,0	fgh
'Koroneiki'	49,4	fgh
'Chalkidiki'	41,7	gh
'Gordal Sevillana'	41,6	gh
'Blanqueta'	36,5	h
<b>Media variedades cultivadas</b>	<b>64,4</b>	

**Tabla 6:** Prueba del rango múltiple de Duncan por porcentaje de germinación de las semillas de las variedades cultivadas. Las diferencias entre los genotipos son significativas cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $p < 0,05$ ).

<b>Genotipo</b>	<b>Media</b>	<b>Significación estadística</b>
San José-19	89,6	a
Jerez-08	85,4	ab
Jerez-07	84,1	abc
Jerez-09	80,2	abcd
San José-03	79,2	abcd
San José-01	76,0	abcd
Madre-01	75,0	abcd
San José-18	75,0	abcd
Madre-03	73,6	abcd
Jaén-04	72,9	abcd
Madre-05	70,8	abcde
Jaén-05	69,9	abcde
San José-20	64,6	abcdef
Madre-04	63,5	bcdef
Madre-02	61,5	bcdef
Jaén-26	61,1	bcdef
Jaén-28	60,9	bcdef
Jaén-21	59,2	cdef
Jaén-09	57,3	def
Jerez-01	56,2	defg
Jerez-02	55,2	defg
Jaén-16	46,2	efg
Jaén-27	40,8	fgh
Jaén-18	33,2	ghi
Jaén-24	21,9	hi
Jaén-03	21,5	hi
Jaén-20	20,6	hi
Jaén-01	16,6	i
Jaén-08	11,2	i
Jaén-17	9,4	i
<b>Media acebuches</b>	<b>56,4</b>	

**Tabla 7:** Prueba del rango múltiple de Duncan por porcentaje de germinación de las semillas de acebuches de distintos orígenes. Las diferencias entre los genotipos son significativas cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $p < 0,05$ ).

Aunque se observó una alta variabilidad en el periodo medio de germinación dentro de los acebuches como dentro de las variedades cultivadas, no se encontró diferencia significativa en el periodo medio de germinación de todas las semillas de acebuches (44,09 días) y de variedades cultivadas (47,50 días) (tabla 8).

Acebucho	Periodo medio de germinación	Variedad	Periodo medio de germinación
Jaen-01	44,6±1,1	8-7	44,9±0,4
Jaen-03	44,2±1,0	9-67	45,5±1,2
Jaen-04	43,7±0,4	Arbequina	44,8±1,9
Jaen-05	43,0±0,7	Blanqueta	42,8±0,6
Jaen-08	42,0±0,0	Canetera	44,5±1,4
Jaen-09	44,2±0,5	Chalkidiki	49,0±1,9
Jaen-16	44,0±1,3	Changlot Real	45,4±1,2
Jaen-17	47,2±3,7	Chorrúo de Castro del Rio	49,8±1,3
Jaen-18	43,1±1,1	Empeltre	48,8±2,1
Jaen-20	51,0±6,6	Frantoio	44,2±0,8
Jaen-21	44,1±0,3	Gordal Sevillana	56,4±1,2
Jaen-24	47,7±1,9	Hojiblanca	45,4±1,2
Jaen-26	44,5±1,5	Kelb el terr	48,7±1,1
Jaen-27	44,0±1,2	Koroneiki	46,3±0,6
Jaen-28	44,5±0,4	Lección	50,0±2,1
Jerez-01	45,3±1,8	Lechin de Granada	43,9±0,5
Jerez-02	43,9±0,9	Lechin de Sevilla	50,6±3,6
Jerez-07	42,6±0,2	Manzanilla de Sevilla	43,4±0,7
Jerez-08	43,7±1,0	Manzanilla del Piquito	46,7±0,6
Jerez-09	43,8±0,3	Meski	55,3±2,9
Madre-01	42,7±0,3	Morona	56,3±4,3
Madre-02	42,8±0,6	Negrillo de Arjona	48,7±1,4
Madre-03	44,1±0,8	Ocal	53,2±5,2
Madre-04	42,9±0,3	Picual	46,4±2,2
Madre-05	42,2±0,1	Picudo	43,1±0,4
San José-01	42,6±0,4	Tanche	43,3±0,5
San José-03	42,2±0,1	Toffahi	44,8±0,6
San José-18	43,0±0,1	Trylia	47,5±0,9
San José-19	43,3±0,3		
San José-20	45,7±1,8		
<b>Media</b>	44,1	<b>Media</b>	47,5

**Tabla 8:** Periodo medio de germinación de las semillas de acebuches (izquierda) y de las semillas de las variedades cultivadas (derecha).

## **2. Ensayo de solarización**

### **2.1. Introducción**

La solarización es fundamentalmente una técnica de desinfección del suelo, que permite la eliminación o el control de diversos agentes patógenos (hongos, nematodos y bacterias). Además, la solarización impide la infestación del suelo por un número apreciable de malas hierbas (Katan, 1981; 1987; Borges, 1990; Stapleton *et al.*, 1998) y ayuda a la conservación de la humedad en el suelo (Stapleton *et al.*, 1993).

Esta técnica se basa exclusivamente en el aprovechamiento de la energía solar mediante la cobertura del suelo del terreno de cultivo con una lámina de plástico tras un riego abundante (Santos Antunes, 1999).

Además de estos efectos, parece que la solarización produce cambios en las propiedades físicas y químicas del suelo, lo que origina una mayor concentración de los elementos minerales  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Mg}_2^+$ ,  $\text{Cl}^-$  (Chen y Katan, 1980).

La aplicación de esta metodología ha asegurado buenos resultados en la desinfección del suelo (Katan, 1987; Borges, 1990); Asimismo, este método ha producido un mayor crecimiento en distintas plantas (Santos Antunes, 1999).

A pesar de estas ventajas, se ha mostrado que la solarización aplicada con plástico transparente puede provocar un estrés a la planta debido a la alta temperatura ( $>42^\circ\text{C}$ ) que puede alcanzar el suelo en el verano con este tipo de plástico. En algunas especies frutales se ha probado la solarización con plástico negro y ha dado mejores resultados que la solarización con plástico transparente (Stapleton *et al.*, 1993).

En este ensayo se pretendió evaluar el efecto de la solarización con plástico negro en el crecimiento de plantas de semilla de olivo.

### **2.2. Material y métodos**

#### **2.2.1. Área de la experimentación**

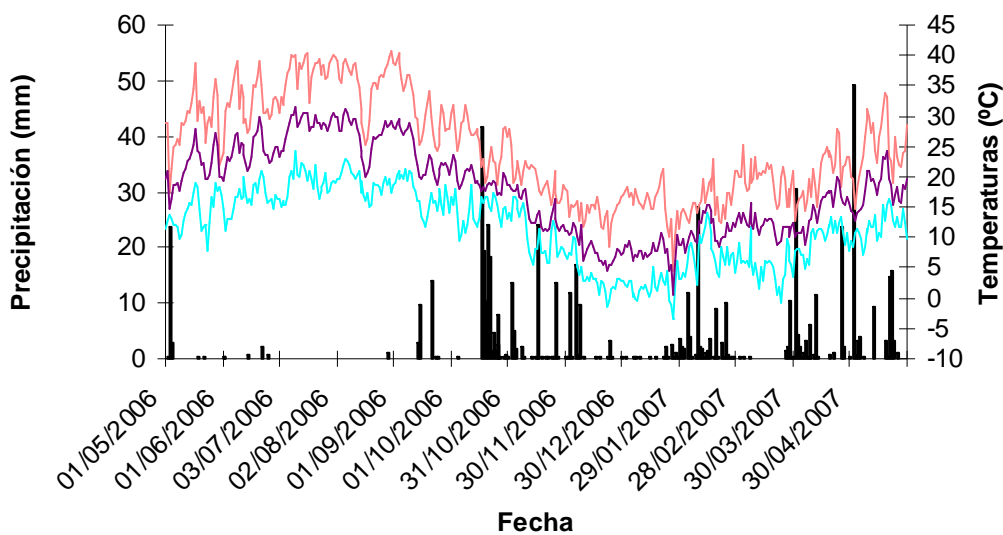
El presente ensayo se llevó a cabo en una parcela experimental situada en el Centro “Alameda del Obispo” del IFAPA de Córdoba. Este centro está localizado en una zona caracterizada por un clima mediterráneo subtropical, con una temperatura



media anual de 17,9° C, una temperatura media mínima de 4,5° C y una temperatura media máxima de 39,9° C.

El balance entre la precipitación media (620 mm) y la ETP media (947 mm) de la zona indican un déficit estival típico de las zonas mediterráneas húmedas.

Más precisamente, los datos climáticos registrados en la estación meteorológica del centro a lo largo del periodo del ensayo, desde el inicio de mayo 2006 hasta finales de mayo del 2007, registraron una temperatura media de 17,7° C, una temperatura media mínima de 11,5° C y una temperatura media máxima de 24,7° C. Asimismo la precipitación fue de 603,2 mm (figura 12).



**Figura 12:** Los datos climáticos registrados en la estación meteorológica del Centro 'Alameda del Obispo' del IFAPA de Córdoba (las barras representan las precipitaciones y las líneas las temperaturas mínimas, medias y máximas).

El suelo de la parcela se caracteriza por pertenecer al orden Entisol, siendo Tepic Xerofluent los más recientes y Tepic Xerechrepf los más evolucionados. Los suelos son de textura franca y alto contenido en carbonato cálcico. En concreto, el suelo de la parcela del ensayo es un suelo de depósito fluvial (fluviasol) con una profundidad suficiente.

### **2.2.2. Material vegetal**

Se seleccionaron aleatoriamente olivos de semilla de los siguientes cruzamientos:

- Polinización libre de la variedad ‘Manzanilla de Sevilla’,
- Cruzamiento ‘Arbequina’ x ‘Arbosana’,
- Cruzamiento ‘Picual’ x ‘Koroneiki’.

Los cruzamientos se hicieron en la primavera de 2004, las semillas se germinaron en noviembre de 2005 y las plantas obtenidas se habían criado en invernadero hasta mayo de 2006, fecha en que se llevaron al campo. Una vez en campo, las plantas se podaron hasta 1 m formándose la copa libremente a partir de esta altura.

En el campo, las plantas se plantaron a un marco de 4 x 1.5m, se ataron y fueron regadas por goteo según la disponibilidad del agua de riego y las necesidades del cultivo.

### **2.2.3. Instalación del plástico**

Antes de extender los plásticos, el terreno fue muy bien preparado (libre de vegetales y muy bien desmenuzado con el fin de proporcionar una superficie la más lisa posible), y con un sistema de riego por goteo bien instalado.

En junio de 2006, y justo después de un riego a capacidad de campo (figura 13 y 14) el suelo se cubrió con una lámina de polietileno negro (figura 15), siendo importante que la lámina quede tensada, y que todos los bordes de la misma queden bien enterrados para evitar cualquier renovación del aire, lo que disminuiría la temperatura y resecaería el terreno. La lámina de polietileno fue de 3m de ancho y 600 galgas de espesor. El área cubierta fue de aproximadamente 22 m<sup>2</sup> por parcela elemental (figura 16).

Se aplicó un riego de 1500m<sup>3</sup>/ha repartidos desde mayo hasta septiembre en unos intervalos predeterminados según la pluviometría y la evapotranspiración.



**Figura 13:** Preparación del suelo antes de poner el plástico.



**Figura 14:** Riego a capacidad de campo



**Figura 15:** Instalación del plástico



**Figura 16:** Plástico instalado en el campo de solarización.

#### **2.2.4. Medidas de humedad y de temperatura**

Para la medición de la humedad y de la temperatura se usaron sensores de humedad, sensores de temperatura y monitores automáticos ‘Watermark’.

Para la medición de la humedad del suelo se ha utilizado un sensor ‘Watermark’ modelo SEN-W5SS. Este sensor es un sensor granular (granular matrix sensor) tipo resistencia eléctrica, que se adapta a casi todos los tipos de suelos. Dicho sensor está formado por dos electrodos concéntricos empotrados en un conglomerado especial sujetado por una membrana sintética y encapsulado en una funda de acero inoxidable. Los sensores SEN-W5SS pueden reflejar tensiones comprendidas entre 10 y 200cbars, no precisan calibración ni ajuste, se adaptan fácilmente a la temperatura del suelo y pueden dejarse en el suelo durante temporadas enteras ya que no son sensibles al frío y no requieren mantenimiento.

La interpretación, según la textura del suelo, de los resultados registrados por este sensor se muestra en la tabla siguiente (tabla 9):

Valor	Interpretación
0 – 10 centibares	Suelo saturado.
10 - 30 centibares	Suelo con suficiente humedad. Excepto los suelos de arena gruesa que empiezan a secarse.
30 - 60 centibares	Margen normal para iniciar el riego excepto en los suelos muy arcillosos.
60 - 80 centibares	Margen normal para iniciar el riego en los suelos muy arcillosos.
> 80 centibares	El suelo se está secando peligrosamente.

**Tabla 9:** Interpretación de las lecturas de humedad según la textura del suelo.

Para la medida de la temperatura se usaron sensores externos de temperatura del suelo tipo WDDL-3667. Estos sensores pueden utilizarse para medir la temperatura del suelo, del aire y del agua. Dichos sensores tienen un rango de medición de  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta  $100^{\circ}\text{C}$ , con una precisión de  $\pm 0.6^{\circ}\text{C}$ .

Para efectuar las lecturas de los sensores de humedad y de temperatura se usaron los monitores automáticos ‘Watermark’ que son unidades autónomas que funcionan con pilas con autonomía de un año y que son suministrados con el software de utilización ‘Watergraph’. Este software permite de efectuar las medidas de los sensores conectados a intervalos predeterminados de 1 minuto a 8 horas, y descargar estas lecturas a un ordenador portátil. Estos monitores tienen capacidad de 8 sensores de temperatura y de humedad.

En el campo del ensayo se colocaron dos monitores automáticos ‘Watermark’ cada uno de ellos a media distancia entre los 2 tratamientos (solarizado y no solarizado) y se conectaron a cada monitor 8 sensores repartidos de la siguiente manera:

- Un sensor de humedad a 20 cm y otro a 40 cm en el medio de cada tratamiento,
- Un sensor de temperatura a 20 cm y otro a 40 cm en el medio de cada tratamiento.

Las lecturas de los 8 sensores fueron registradas cada 15 minutos en el monitor a lo cual estaban conectadas y se descargaron a un ordenador portátil una vez al mes.

### **2.2.5. Medidas del crecimiento**

Se evaluó el crecimiento midiendo:

- La altura y el diámetro de tronco de las plantas cada dos meses: en junio, septiembre y noviembre del 2006 y en enero, marzo y mayo del 2007.
- El crecimiento de los brotes de manera cualitativa al final del ensayo (0= crecimiento nulo; 1= crecimiento bajo; 2= crecimiento medio; 3= crecimiento alto).

### **2.2.6. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos**

Se ha diseñado un ensayo en Split-Plot con tres cruzamientos como factor principal y dos sistemas de cubierta del suelo (solarización con plástico negro y suelo sin cubierta) como factor secundario. El ensayo incluye 8 bloques. Cada parcela elemental incluye 6 (figura 17).


Los datos se analizaron mediante el uso del STATISTIX 8.0 considerando los factores en estudio y su interacción. En su caso, la comparación de las medias se llevó a cabo mediante el estadístico  $LSD_{0,05}$ .

ARBOL	54	AxAo NS	AxAo S	PxK S	PxK NS	M libre S	M libre NS	BLOQUE VIII					
	53												
	52												
	51												
	50												
	49												
	48	M libre S	M libre NS	PxK NS	PxK S	AxAo S	AxAo NS	BLOQUE VII					
	47												
	46												
	45												
	44	M libre S	M libre NS	AxAo NS	AxAo S	PxK NS	PxK S	BLOQUE VI					
	43												
	42												
	41												
	40	PxK NS	PxK S	M libre S	M libre NS	AxAo NS	AxAo S	BLOQUE V					
	39												
	38												
	37												
	36	M libre NS	M libre S	AxAo S	AxAo NS	PxK S	PxK NS	BLOQUE IV					
	35												
	34												
	33												
	32	AxAo NS	AxAo S	PxK S	PxK NS	M libre NS	M libre S	BLOQUE III					
	31												
	30												
	29												
	28	PxK S	PxK NS	AxAo NS	AxAo S	M libre S	M libre NS	BLOQUE II					
	27												
	26												
	25												
	24	M libre NS	M libre S	AxAo S	AxAo NS	PxK S	PxK NS	BLOQUE I					
	23												
	22												
	21												
	20												
	19												
18													
17													
16													
15													
14													
13													
12													
11													
10													
9													
8													
7													
		1		2		3		4		5		6	
		FILA											

Figura 17: Plano del campo de solarización.

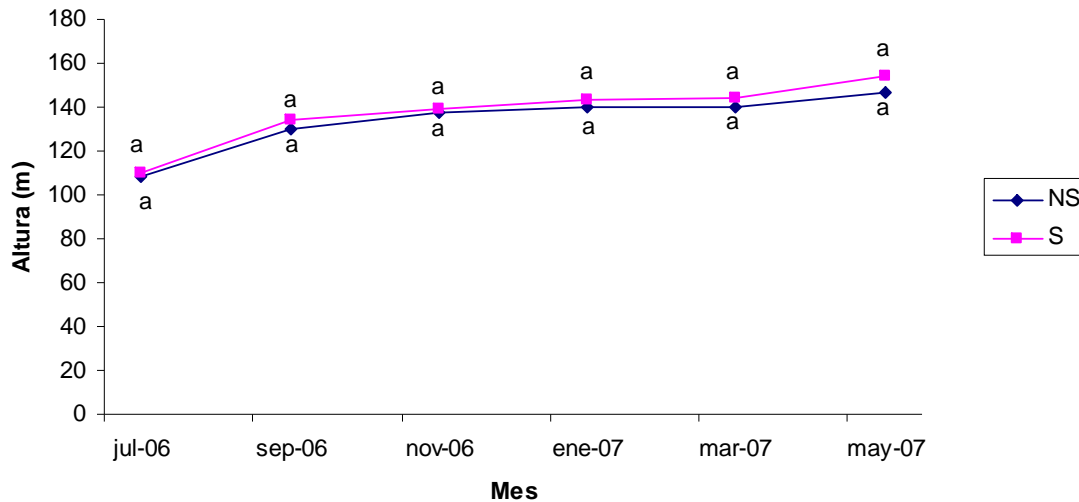
Cruzamientos: AxAo = ‘Arbequina’ x ‘Arbosana’; PxK = ‘Picual’ x ‘Koroneiki’; M libre = ‘Manzanilla de Sevilla’ a polinización libre.

Los tratamientos: **S** = Solarizado; NS = No Solarizado.

 = Monitor para medida de temperatura y de humedad.

### 2.3. Resultados y discusión

No se ha observado una diferencia significativa en el crecimiento en altura entre los árboles solarizados y los árboles no solarizados, aunque los árboles solarizados han alcanzado una altura media mayor que los árboles testigo (figura 18).

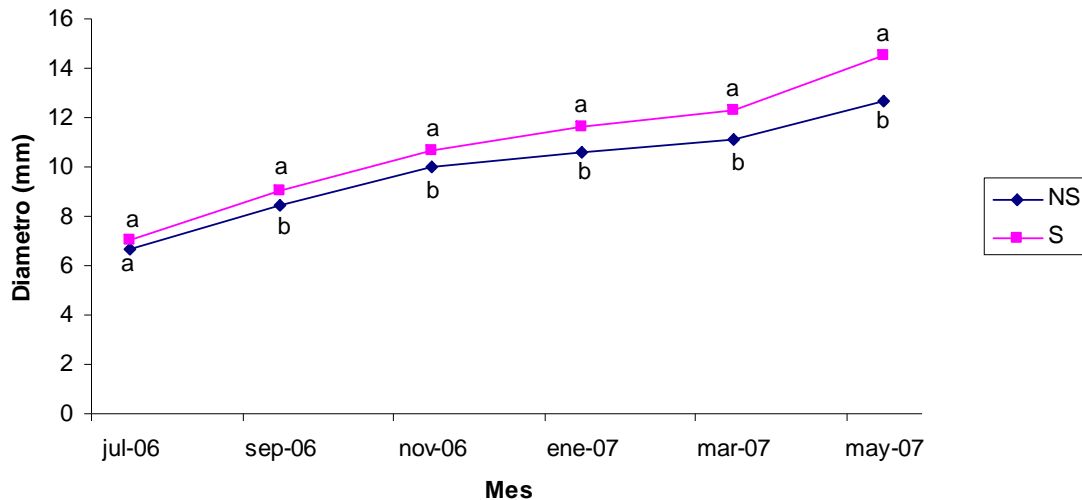


**Figura 18:** Crecimiento en altura de los árboles solarizados (S) y no solarizados (NS).

Los tratamientos difieren significativamente cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $LSD_{0,05}$ ).

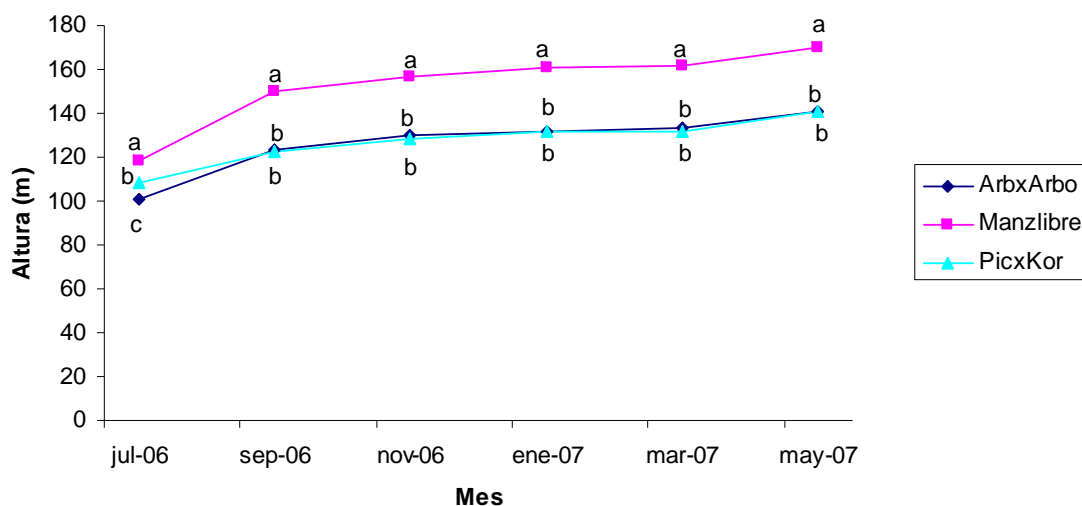
Contrariamente, se ha observado una diferencia significativa en el diámetro de tronco de los árboles, siendo significativamente mayor en árboles solarizados desde el mes de septiembre del 2006 y hasta mayo 2007 (figura 19). Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos por Santos Antunes (1999), que no encontró diferencias significativas ni en altura ni en el diámetro de tronco entre los dos tratamientos: solarizado y no solarizado. No obstante, los resultados coinciden con los obtenidos por Duncan *et al.* (1992), quienes han obtenido un diámetro significativamente mayor en melocotoneros solarizados aunque la diferencia en altura tampoco fue significativa.





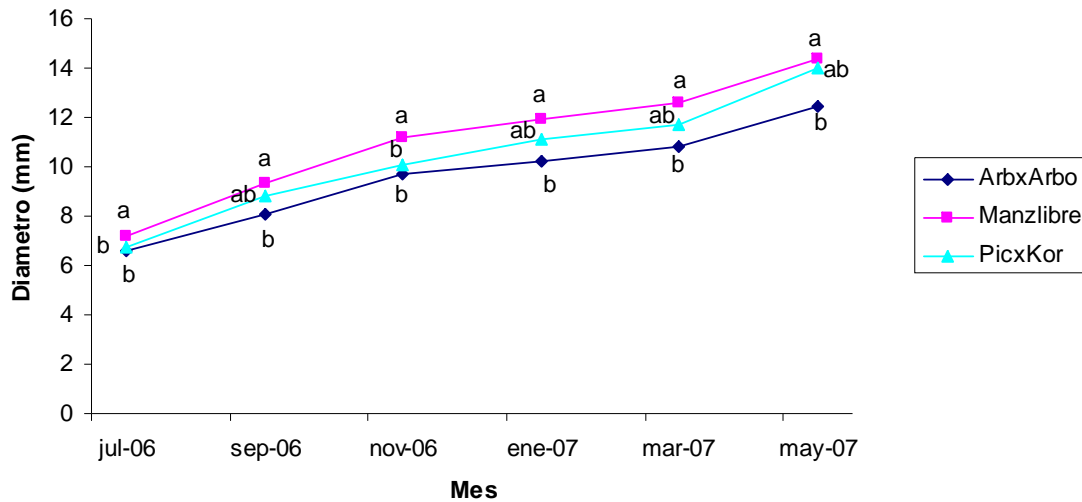
**Figura 19:** Crecimiento en diámetro de tronco de los árboles solarizados (S) y no solarizados (NS). Los tratamientos difieren significativamente cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $LSD_{0,05}$ ).

Por otro lado, el comportamiento de los distintos cruzamientos ha sido muy parecido a lo largo del ensayo. En efecto, el cruzamiento libre de la variedad ‘Manzanilla de Sevilla’ ha mantenido una altura significativamente mayor que los dos otros cruzamientos ‘Arbequina’ x ‘Arbosana’ y ‘Picual’ x ‘Koroneiki’ (figura 20).



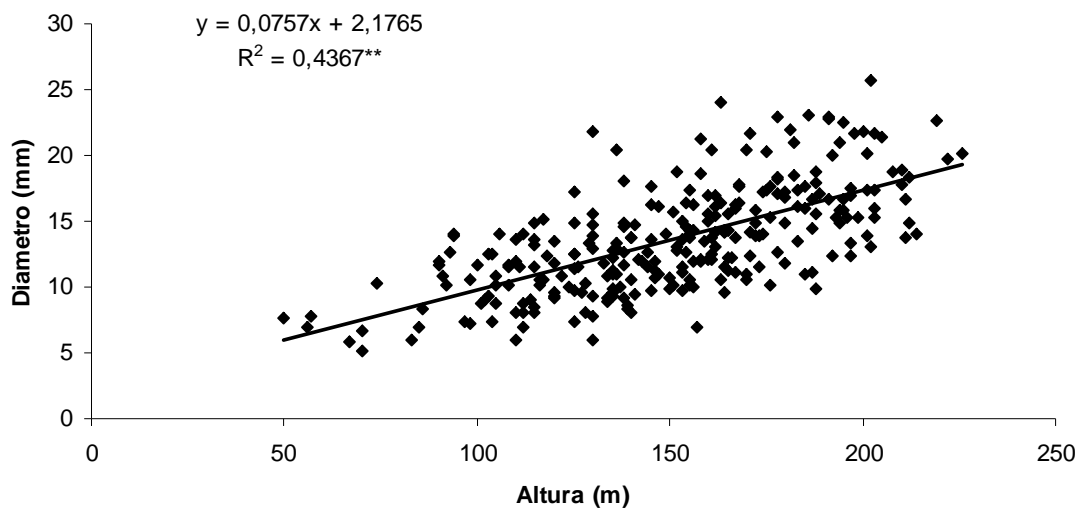
**Figura 20:** Crecimiento en altura de los distintos cruzamientos (Arb x Arbo = ‘Arbequina’ x ‘Arbosana’, Manzlibre = ‘Manzanilla de Sevilla’ a polinización libre, Pic x Kor = ‘Picual’ x ‘Koroneiki’). Los cruzamientos difieren significativamente cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $LSD_{0,05}$ ).

Asimismo, el diámetro de tronco también ha sido mayor pero la diferencia no ha sido significativa excepto en el mes de noviembre 2006, donde el diámetro de tronco de ‘Manzanilla de Sevilla’ ha sido significativamente mayor que lo de las dos otras variedades (figura 21).



**Figura 21:** Crecimiento en diámetro de tronco de los distintos cruzamientos (Arb x Arbo = ‘Arbequina’ x ‘Arbosana’, Manzlibre = ‘Manzanilla de Sevilla’ a polinización libre, Pic x Kor = ‘Picual’ x ‘Koroneiki’). Los cruzamientos difieren significativamente cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $LSD_{0,05}$ ).

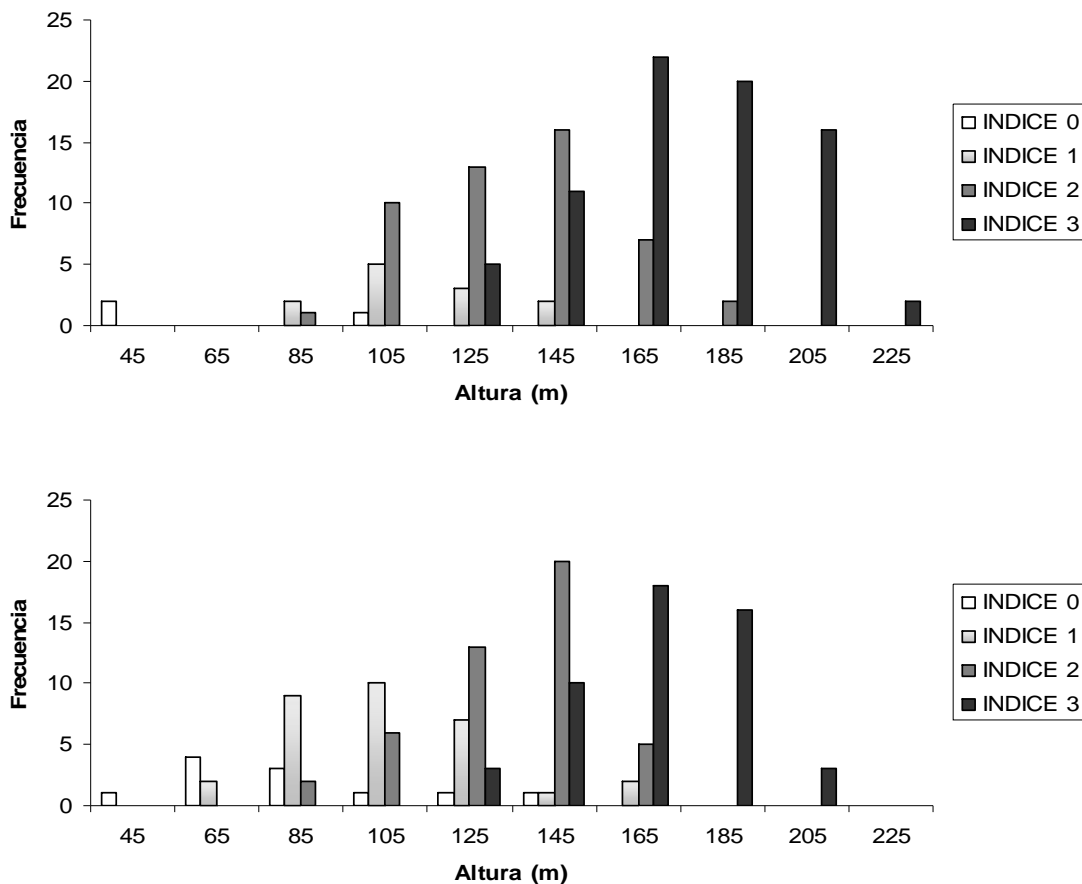
Además, se ha observado una correlación significativa al 1 % entre la altura y el diámetro de tronco de los árboles (figura 22).



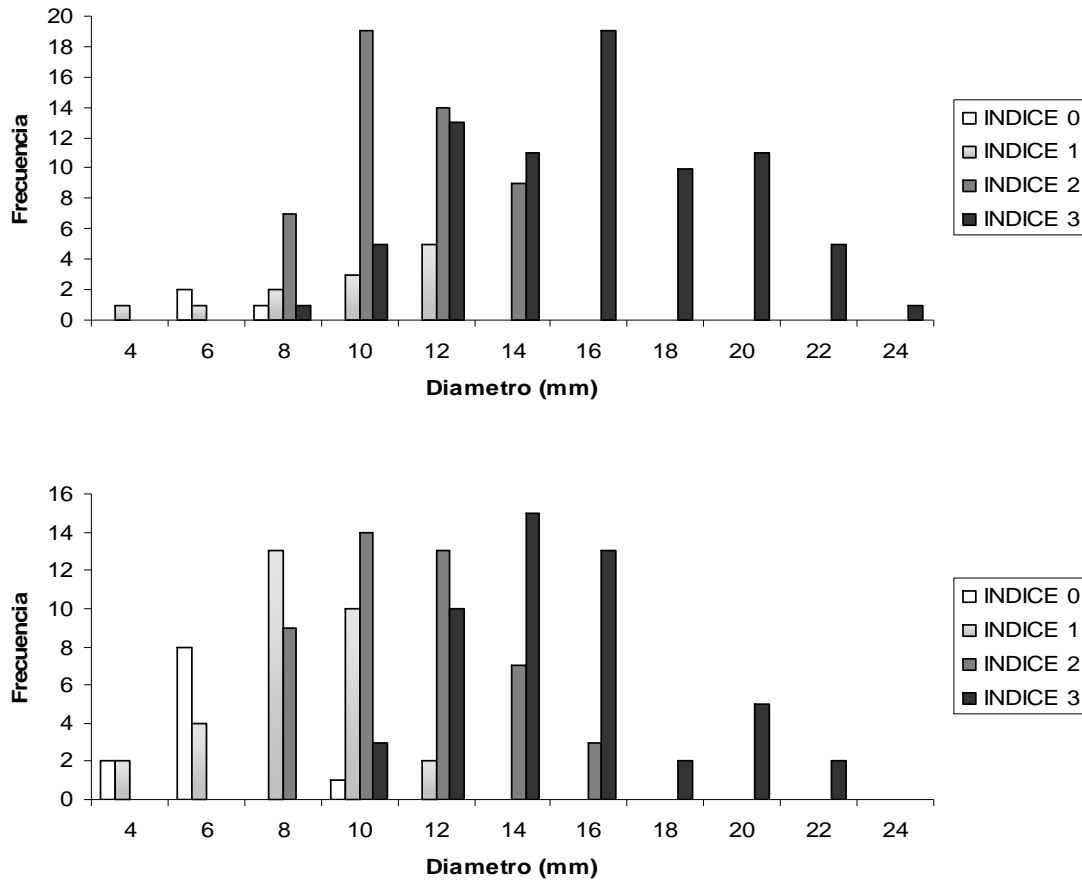
**Figura 22:** Correlación entre la altura y el diámetro de tronco de los árboles.

La interacción tratamiento x cruzamiento no ha sido significativa en el caso del diámetro de tronco a lo largo del ensayo lo que indica un efecto positivo de la solarización sobre este criterio de crecimiento independientemente del material vegetal empleado. Mientras que en el caso de la altura esta interacción no ha sido significativa solo en noviembre y en mayo.

La descripción cualitativa del crecimiento de los árboles realizada mediante el uso de una escala de 0 a 3 (0= crecimiento nulo, 1= crecimiento bajo, 2= crecimiento medio y 3= crecimiento alto), ha mostrado un solapamiento entre las distintas curvas de frecuencia de los árboles solarizados y no solarizados de cada índice tanto en altura (figura 23) como en diámetro del tronco (figura 24). Además se ve que las curvas de altura y de diámetro se desplazan a la derecha (mayor altura y diámetro) cuando aumenta el índice de crecimiento de 0 a 3. Este desplazamiento fue mayor en suelos solarizados.



**Figura 23:** Histograma por altura e índice de crecimiento en árboles solarizados (arriba) y no solarizados (abajo). (Índice 0: Crecimiento nulo, Índice 1: Crecimiento bajo, Índice 2: Crecimiento medio, Índice 3: Crecimiento alto).



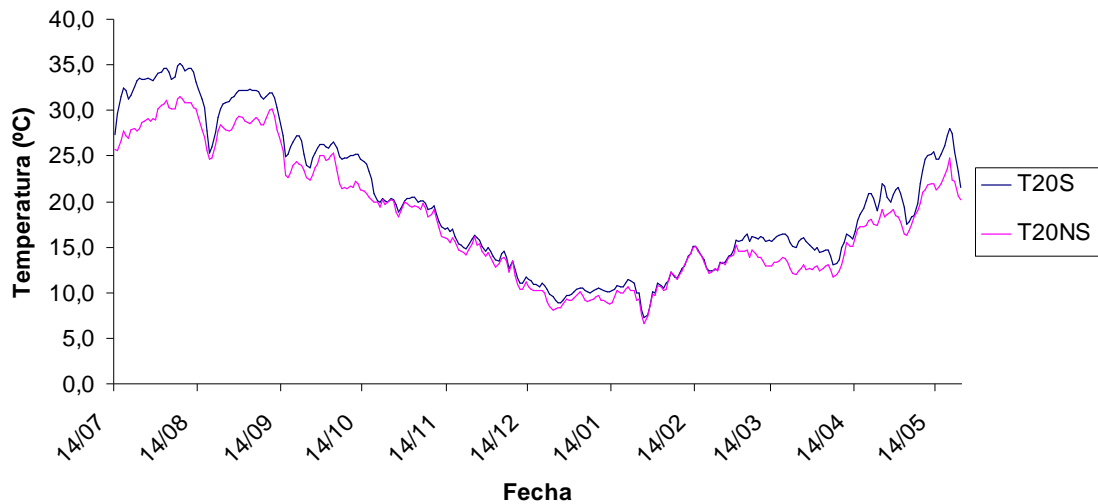
**Figura 24:** Histograma por diámetro de tronco e índice de crecimiento en árboles solarizados (arriba) y no solarizados (abajo). (Índice 0: Crecimiento nulo, Índice 1: Crecimiento bajo, Índice 2: Crecimiento medio, Índice 3: Crecimiento alto).

También se puede ver que la frecuencia de árboles de índice 3 (con crecimiento alto, mayor altura y mayor diámetro) fue más grande en suelos solarizados. Mientras que la frecuencia de árboles de índice 0 y 1 fue más grande en suelos no solarizados.

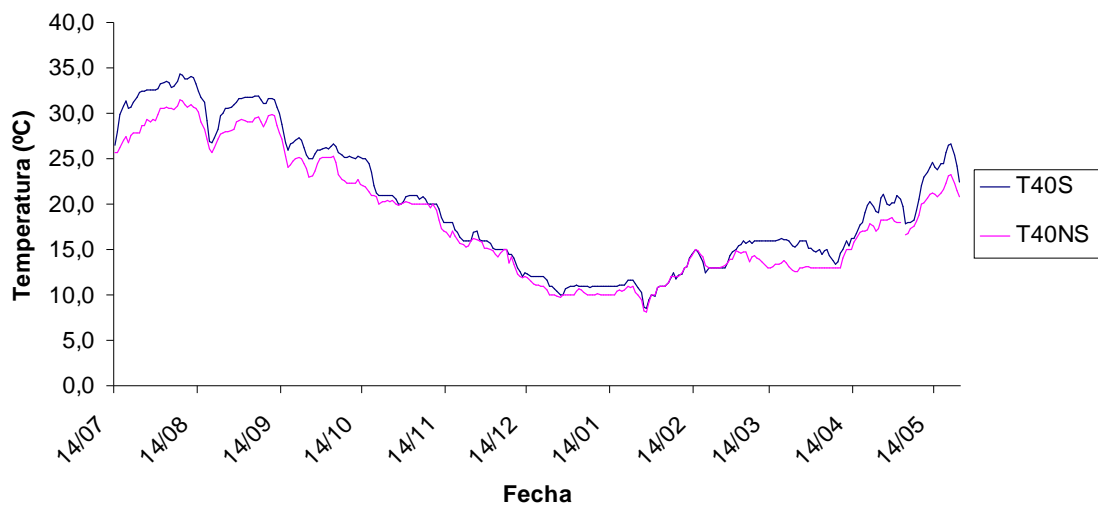
Sin embargo, se observó que se puede adoptar esta escala para poder simplificar las medidas en campo. De manera que se procede a descartar los árboles de índice 0 como tienen menor altura y menor diámetro de tronco y que solapan muy poco con las otras curvas de índice 1, 2 y 3.

La significación estadística de la tabla de contingencia entre los índices de crecimiento (0, 1, 2 y 3) y los distintos cruzamientos ha sido altamente significativa ( $p < 0,001$ ). Los mismos resultados se obtuvieron al establecer esta tabla pero entre los índices de crecimiento y los dos tratamientos: solarizado y no solarizado ( $p = 0,0004$ ).

La temperatura media registrada fue significativamente más alta ( $p < 0,01$ ) en suelos solarizados que en suelos no solarizados ( $19,8^{\circ}\text{C}$  y  $18,1^{\circ}\text{C}$  respectivamente a 20 cm y  $20^{\circ}\text{C}$  y  $18,5^{\circ}\text{C}$  respectivamente a 40 cm) (figuras 25 y 26). Por lo tanto, esta diferencia ha sido mayor en periodos de alta intensidad de energía solar (verano, primera mitad del otoño y primavera).



**Figura 25:** Temperatura media diaria del suelo a 20 cm de profundidad (T20 S = temperatura a 20 cm en suelos solarizados, T20 NS = temperatura a 20 cm en suelos no solarizados).

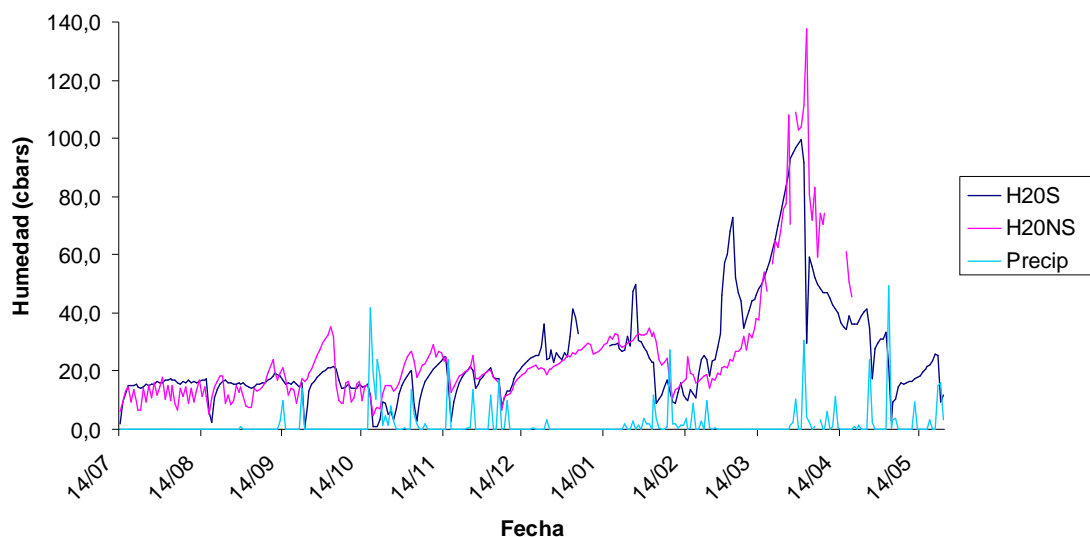


**Figura 26:** Temperatura media diaria del suelo a 40 cm de profundidad (T40 S = temperatura a 40 cm en suelos solarizados, T40 NS = temperatura a 40 cm en suelos no solarizados).

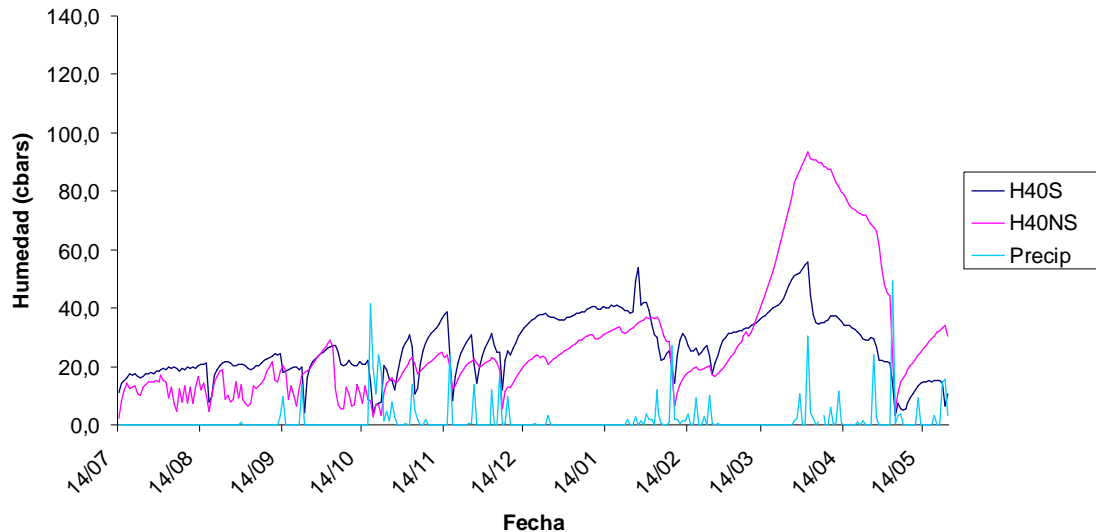
También la humedad fue más alta en suelos solarizados que en suelos no solarizados ( $24,8$  cbars y  $25,1$  cbars respectivamente a 20 cm y  $26,5$  cbars y  $27,9$  cbars

respectivamente a 40 cm) aunque la diferencia no fue significativa (figura 27 y 28). Estos resultados coinciden con los de Duncan *et al.* (1992) y los de Stapleton *et al.* (1993) quienes observaron una mayor temperatura y una mayor conservación de la humedad en suelos solarizados en comparación con los suelos no solarizados.

Los gráficos de humedad (figura 27 y 28) mostraron una alta variación de la misma en los suelos no solarizados al cabo de un riego o de una lluvia, mientras que en los suelos solarizados se mantiene más estable. Además se puede ver que los valores de humedad registrados se mantuvieron por debajo de 80cbars (umbral de peligro de una desecación peligrosa del suelo según la tabla 9 en el apartado material y método) a 40 cm de profundidad y alcanzaron, solo durante una semana, unos valores más altos que 80cbars a 20 cm de profundidad y esto fue en el mes de marzo cuando la planta necesitaba mucha agua y no había posibilidad de regar. Sin embargo, en los suelos no solarizados, se ha superado este umbral (80cbars) por un periodo más amplio y alcanzó valores muy elevados a 20 y a 40 cm de profundidad (137cbars y 90 respectivamente). Estos resultados concuerdan con los resultados de Stapleton *et al.* (1988, 1989 y 1993) que indican la importancia de la solarización en el mantenimiento del agua de lluvia y de riego.



**Figura 27:** Humedad media diaria del suelo a 20 cm de profundidad (H20 S = humedad a 20 cm en suelos solarizados, H20 NS = humedad a 20 cm en suelos no solarizados, Precip = las precipitaciones a lo largo del tiempo del ensayo).



**Figura 28:** Humedad media diaria del suelo a 40 cm de profundidad (H40 S = humedad a 40 cm en suelos solarizados, H40 NS = humedad a 40 cm en suelos no solarizados, Precip = las precipitaciones a lo largo del tiempo del ensayo).

En resumen, los resultados han mostrado un mayor crecimiento tanto en altura como en diámetro del tronco, como en crecimiento general de los árboles solarizados en comparación con los árboles no solarizados. Este mayor crecimiento puede ser debido aparentemente a la mayor temperatura alcanzada en suelos solarizados (Stapleton y DeVay, 1982) y a la mayor conservación de agua en los mismos (Stapleton et al, 1988, 1989). Además no se puede olvidar el efecto de la solarización ya que impide la emergencia de las semillas germinadas de las malas hierbas. Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Santos Antunes (1999) en olivo y por otros investigadores que han estudiado el efecto de la solarización sobre el crecimiento de otros frutales (Ashworth y Gaona, 1982, Stapleton y De Vay, 1982, Duncan *et al.*, 1992 y Stapleton *et al.*, 1993).

### **3. Ensayo de estaquillado**

#### **3.1. Introducción**

En un programa de mejora genética es imprescindible realizar la evaluación de la aptitud a la propagación vegetativa para las preselecciones debido a que la mayoría de los cultivares se propagan en sus propias raíces (Cimato y Fiorino, 1980; Caballero y del Río, 1997 b).

Siendo la propagación por estaquillas semileñosas bajo nebulización la técnica más ampliamente adoptada por viveristas por las ventajas de eficiencia en el enraizamiento y de sanidad del material vegetal obtenido (Porrás *et al.*, 1997), muchos investigadores realizaron trabajos de multiplicación vegetativa utilizando las variedades ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’. Estas variedades mostraron facilidad de enraizamiento (Nahlawi *et al.*, 1975; Del Río *et al.*, 1986 y 1991). Por otra parte, los trabajos de Wiesman y Lavee (1993) con progenies de F1 de distintas plantas madres de la variedad ‘Manzanilla de Sevilla’ mostraron una amplia variabilidad del enraizamiento (0-60%), aunque cuando utilizaron la variedad ‘Kalamata’, difícil de enraizar, observaron que las progenies enraizaron mejor que el cultivar madre pero ninguna progenie enraizó fácilmente.

Este ensayo se realizó teniendo como objetivo comparar la capacidad de enraizamiento de las 15 selecciones avanzadas de 1994 y 1995 procedentes de los cruzamientos entre ‘Arbequina’, ‘Picual’ y ‘Frantoio’ del programa de mejora del olivo en Córdoba, que se encuentran en un ensayo comparativo desde 2001.

#### **3.2. Material vegetal**

Para la ejecución del ensayo, las estaquillas procedían del ensayo comparativo de preselecciones establecido en el Centro “Alameda del Obispo” del IFAPA en Córdoba. Cuyas características han sido descritas anteriormente en los ensayos de germinación.

Las preselecciones del año 1994 son: 3 del cruzamiento ‘Arbequina’ x ‘Picual’, 3 ‘Picual’ x ‘Arbequina’ y 2 ‘Frantoio’ x ‘Picual’. Los del año 1995 son: 3 ‘Arbequina’ x ‘Picual’, 2 ‘Picual’ x ‘Arbequina’ y 2 ‘Frantoio’ x ‘Picual’



### **3.3. Protocolo experimental**

#### **3.3.1. Técnica de estaquillado**

En noviembre de 2006, se recogieron estaquillas semileñosas de los árboles de cada genotipo preseleccionado. En total se recogieron: (15 genotipos + 3 genitores) x 6 repeticiones x 20 estaquillas = 2160 estaquillas.

Las estaquillas deben de tener una longitud de 12-15 cm (4-6 nudos). Una vez las estaquillas cortadas, se les quitaron las hojas dejándolas con 2 pares de hojas en posición distal para evitar que se produjera una desecación perjudicial y se les dio un corte justo por debajo del último nudo en la parte proximal para favorecer el enraizamiento.

Una vez las estaquillas preparadas, se les aplicó AIB (ácido indol-3- butírico) a 2000 ppm durante 5 segundos siguiendo la recomendaciones indicadas en olivo para la promoción del enraizamiento (Howard y Nahlawi, 1969, Loreti y Hartmann, 1964). Para la preparación de la solución hormonal se pesaron 0,2 g de AIB, los cuales se disolvieron mediante agitación en 50 ml de etanol a 95%, ya que el AIB no es soluble en agua. Una vez disuelta la hormona, se añadieron a la solución 50 ml de agua destilada. Se puede almacenar esta solución en botella oscura o en una botella cubierta de papel aluminio durante unos 7 días aproximadamente.

Después de mojar la parte basal de las estaquillas con la hormona se dejaron secar antes de pincharlas para permitir la evaporación del disolvente y para asegurar una dosificación adecuada de la hormona. Una vez secas, se colocaron las estaquillas en unas bandejas de alvéolos llenos con un sustrato formado por una mezcla de fibra de coco, turba y una sustancia que ayuda a la aglomeración del sustrato. Las estaquillas se insertaron hasta 1 cm en el sustrato y justo en el centro de cada alvéolo. Las bandejas contienen 2000 estaquillas por metro cuadrado.

Cuando se completaron las bandejas, se pusieron en una cámara de nebulización que disponía de un sistema subterráneo de calefacción con tuberías de agua caliente por debajo de las bandejas para mantener una temperatura de 20-25° C en las bases de las estaquillas y de un ambiente muy húmeda y algo más fresco alrededor de las mismas para prevenir la marchitez de la estaquilla hasta la formación de las raíces. Este ambiente se consiguió en otoño e invierno mediante la nebulización intermitente con la

utilización de nebulizadores (presión= 2-3 kg/cm<sup>2</sup>) situados a 200-225 cm por encima del nivel de las hojas. La nebulización se controlaba mediante un sensor de humedad que permite la activación del sistema cuando la humedad baja por debajo del 70%.

El procedimiento adoptado para el enraizamiento de las estaquillas está mostrado en la siguiente figura (figura 29):



**Figura 29:** Procedimiento adoptado para el enraizamiento de las estaquillas semileñosas.

### **3.3.2. Caracteres evaluados**

Para revelar el poder de enraizamiento de las variedades ensayadas se procedió, cada vez que se observó una cantidad suficiente de estaquillas enraizadas, a determinar el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces por estaquilla.

### **3.3.3. Diseño y análisis estadístico de los datos**

El ensayo se diseñó en bloques al azar con seis repeticiones por genotipo y 20 estaquillas por parcela elemental.

El análisis de los datos se realizó mediante el programa STATISTIX 8 y la comparación de las medias se efectuó mediante el  $LSD_{0,05}$ .

## **3.4. Resultados y discusión**

Las preselecciones proceden de cruzamientos entre ‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’ que son variedades caracterizadas por su facilidad de propagación (Nahlawi *et al.*, 1975; Cimato y Fiorino, 1981 y Del Río *et al.*, 1986, 1991). No obstante, dichas variedades han mostrado una gran variabilidad en su aptitud al enraizamiento en diferentes trabajos (tabla 1).

Para los tres genitores (‘Arbequina’, ‘Frantoio’ y ‘Picual’) se ha observado una diferencia entre el porcentaje de enraizamiento obtenido en este ensayo y el porcentaje medio obtenido en trabajos previos (Nahlawi *et al.* 1975, Abazi, 2000, Del Río y Caballero, 2005). En este ensayo, el porcentaje de enraizamiento respecto al de estudios previos ha diferido según las variedades: 32,5% y 60% para ‘Arbequina’, 47,5% y 45,3% para ‘Frantoio’ y 52,5% y 79,1% en ‘Picual’ respectivamente.

La capacidad de enraizamiento ha mostrado una gran variabilidad entre genotipos de las progenies de todos los cruzamientos (tabla 10). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Wiesman y Lavee (1994) al enraizar las progenies F1 del cultivar ‘Manzanilla de Sevilla’.

Al igual que se ha observado en los datos correspondientes a otras características tales como el contenido en ácido oleico, rendimiento graso y producción (Léon *et al.*,

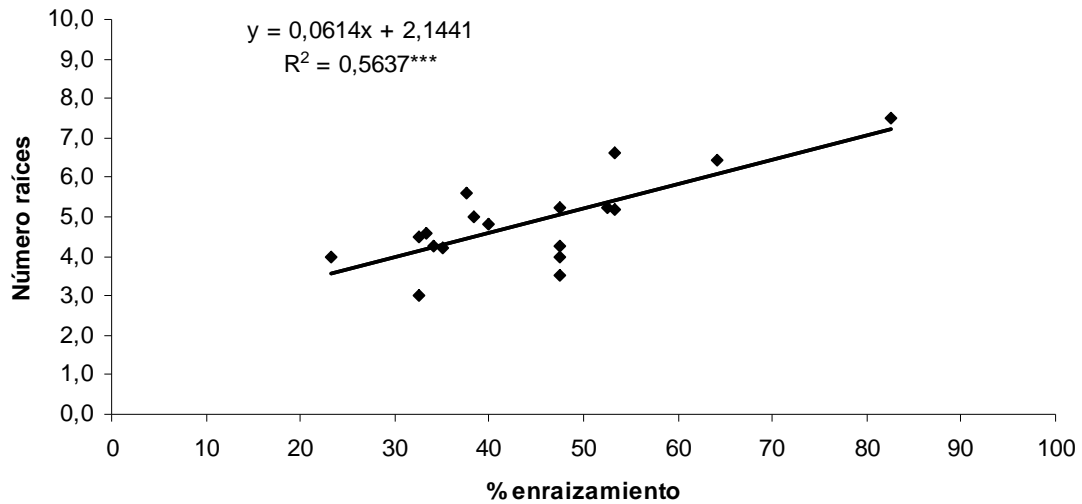
2005), la capacidad de enraizamiento ha mostrado una gran variabilidad entre genotipos de los progenies de todos los cruzamientos (Tabla 10).

El genotipo UC1-19 tuvo el mejor porcentaje de enraizamiento (82,5%) y el UC11-10 el peor (23,33%).

<b>Genotipo</b>	<b>Media</b>	<b>Significancia estadística</b>
UC1-19	82,5	a
UC5-44	64,2	ab
UC7-60	53,3	bc
UC4-62	53,3	bc
'Picual'	52,5	bc
'Frantoio'	47,5	bcd
UC2-68	47,5	bcd
UC8-7	47,5	bcd
UC7-34	47,5	bcd
UC8-20	40,0	bcd
UC11-16	38,3	cd
UC6-9	37,5	cd
UC10-30	35,0	cd
UC10-54	34,2	cd
UC7-8	33,3	cd
'Arbequina'	32,5	cd
UC9-67	32,5	cd
UC11-10	23,3	d

**Tabla 10:** Porcentaje de enraizamiento de las distintas preselecciones comparadas mediante la prueba del rango múltiple de Duncan. Las diferencias entre los genotipos son significativas cuando no coinciden las letras que les acompañan ( $p < 0,05$ ).

Se ha observado una correlación altamente significativa ( $r = 0,75^{***}$ ) entre el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces para las distintas preselecciones (figura 30). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Abazi (2000), quien también observó una alta variabilidad entre las mismas preselecciones estudiadas y una correlación significativa entre ambos parámetros.



**Figura 30:** Relación entre el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces.

La comparación entre las capacidades de enraizamiento de las preselecciones obtenidas en este ensayo con las obtenidas en el ensayo de Abazi (2000) realizado en primavera (tabla 11) confirma la variabilidad entre ensayos señalada por Caballero y Del Río (2003), y la necesidad de repetir suficientemente los ensayos con un mismo genotipo para evaluar la capacidad de enraizamiento con suficiente precisión.

Sin embargo, la mayoría de los porcentajes de enraizamiento obtenidos en el ensayo de Abazi (2000) son mayores que los obtenidos en este ensayo (tabla 11). Este puede ser debido a la alta variabilidad en las condiciones ambientales (de temperatura y humedad) registrada en el vivero donde se llevó a cabo este ensayo, a la época de su realización (otoño) y al estado fisiológico de los árboles.

<b>Genotipo</b>	<b>% enraizamiento (en otoño)</b>	<b>% enraizamiento (en primavera) (Abazi, 2000)</b>	<b>Media</b>
UC 11-10	23,3±2,5	76,8±4,4	50,0
'Arbequina'	32,5±2,5	41,6±10,9	37,0
UC 9-67	32,5±3,9	80,6±6,9	56,5
UC 7-8	33,3±1,8	55±11,1	44,1
UC 10-54	34,2±1,3	70,0±4,4	52,1
UC 10-30	35±5,1	66,2±4,2	50,6
UC 6-9	37,5±1,1	80,0±9,2	58,7
UC 11-16	38,3±6,9	78,1±5,1	58,2
UC 8-20	40,0±1,1	64,3±4,8	52,1
UC 2-68	47,5±2,0	40,6±9,7	44,0
'Frantoio'	47,5±3,1	35,0±16	41,2
UC 8-7	47,5±4,4	-	47,5
UC 7-34	47,5±4,0	85,6±3,2	66,5
'Picual'	52,5±4,4	38,3±14,9	45,4
UC 4-62	53,3±5,3	38,1±9,8	45,7
UC 7-60	53,3±1,1	81,2±7,3	67,2
UC 5-44	64,2±1,3	81,8±5,2	73,0
UC 1-19	82,5±0,8	81,8±4,7	82,1
<b>Media</b>	44,6	64,4	54,5

**Tabla 11:** Comparación entre los porcentajes de enraizamiento obtenidos en nuestro ensayo (otoño) y los obtenidos por Abazi (2000) en primavera para cada genotipo.

En nuestro ensayo, los análisis han mostrado una diferencia altamente significativa del porcentaje de enraizamiento entre los distintos genotipos ( $p=0,0002$ ) (tabla 10). En la tabla 12, se presentan los diferentes genotipos clasificados conforme al porcentaje de enraizamiento, según las categorías propuestas por Del Río y Caballero (2005), asimismo se presenta el número de raíces correspondiente a cada preselección.

Clase	Genotipo	% enraizamiento	Nº de raíces
<b>Enraizamiento muy bajo (1-20%)</b>			
<b>Enraizamiento bajo (20-40%)</b>	UC 11-10	23,3±2,5	4,0±0,5
	'Arbequina'	32,5±2,5	4,5±0,5
	UC 9-67	32,5±3,9	3,0±0,8
	UC 7-8	33,3±1,8	4,6±0,4
	UC 10-54	34,2±1,3	4,3±0,3
	UC 10-30	35±5,1	4,2±1,0
	UC 6-9	37,5±1,1	5,6±0,2
	UC 11-16	38,3±6,9	5,0±1,4
<b>Enraizamiento medio (40-60%)</b>	UC 8-20	40,0±1,1	4,8±0,2
	UC 2-68	47,5±2,0	4,2±0,4
	'Frantoio'	47,5±3,1	4,0±0,6
	UC 8-7	47,5±4,4	5,2±0,9
	UC 7-34	47,5±4,0	3,5±0,8
	'Picual'	52,5±4,4	5,2±0,9
	UC 4-62	53,3±5,3	5,2±1,1
	UC 7-60	53,3±1,1	6,6±0,2
<b>Enraizamiento alto (60-80%)</b>	UC 5-44	64,2±1,3	6,4±0,3
<b>Enraizamiento muy alto (80-100%)</b>	UC 1-19	82,5±0,8	7,5±0,2

**Tabla 12:** Clasificación, porcentaje de enraizamiento y número de raíces por estacilla enraizada de los genotipos.

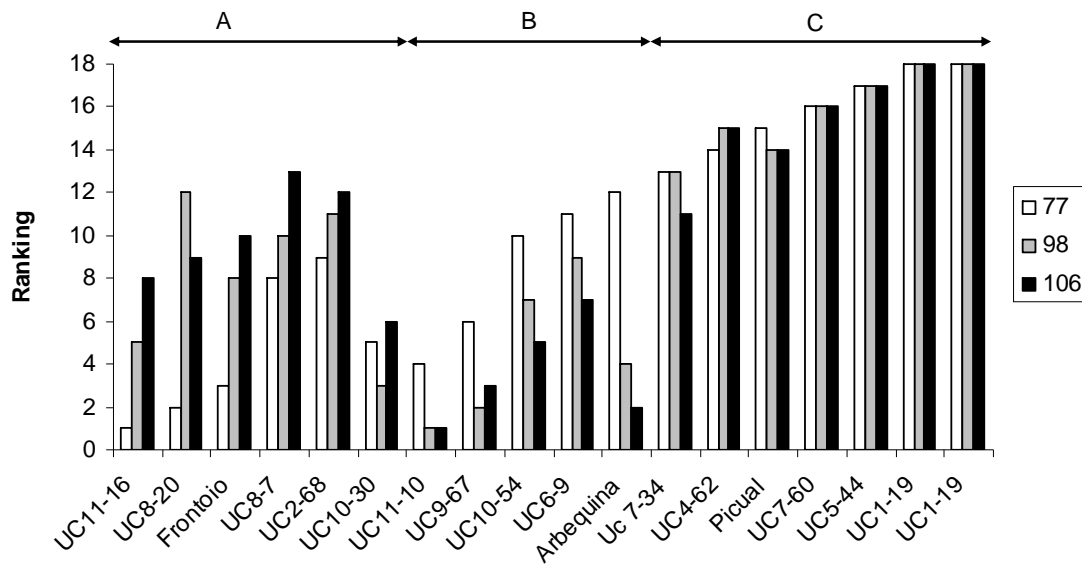
El calculo de la periodo medio de enraizamiento ha mostrado valores entre 82 y 96 días desde la puesta de las estaquillas en las instalaciones de nebulización (tabla 13).

<b>Variedad</b>	<b>Periodo medio de enraizamiento</b>
Arbequina	89,6±2,2
Frantoio	96,0±1,5
Picual	90,3±2,4
UC 7-34	92,0±3,0
UC10-30	93,9±1,0
UC10-54	92,2±3,1
UC11-10	90,1±2,3
UC11-16	97,4±3,0
UC1-19	82,8±1,2
UC2-68	93,7±1,8
UC4-62	90,8±3,0
UC5-44	86,3±1,1
UC6-9	90,9±3,1
UC7-60	82,9±1,9
UC7-8	91,9±2,2
UC8-20	93,5±2,5
UC8-7	93,4±1,5
UC9-67	95,1±4,0

**Tabla 13:** Periodo medio de enraizamiento de las estaquillas de las distintas preselecciones del programa de mejora del olivo de Córdoba.



Se ha observado variabilidad en la velocidad de enraizamiento de las distintas preselecciones. Algunos genotipos mostraron una baja velocidad de enraizamiento en primera fecha y luego la velocidad aumentó (grupo A), otros empezaron con una alta velocidad de enraizamiento y en seguida la velocidad bajó (grupo B) y otros han mantenido la misma velocidad de enraizamiento en las tres fechas (figura 31).



**Figura 31:** Ranking de enraizamiento de las variedades (de menor a mayor enraizamiento) a los 77, 98 y 106 días después de la puesta a enraizar. Según su ordenación los genotipos se clasifican en tres grupos: A: mejoran en la ordenación con el tiempo; B: empeoran en la ordenación con el tiempo y C: se mantienen en los niveles de mayor enraizamiento en las tres fechas.

## **IV – DISCUSIÓN GENERAL**

Los profundos cambios experimentados en los últimos años en el cultivo del olivo han puesto de manifiesto las desventajas que presentan las variedades actualmente existentes y la verdadera necesidad de una mejora genética para la obtención de nuevas variedades adaptadas a las nuevas tendencias de la moderna olivicultura. La mayoría de los estudios realizados sobre el tema se basan sobre la mejora clásica ó convencional mediante cruzamientos entre variedades existentes. Hasta la fecha este método ha sido el más utilizado en la mayoría de las especies frutales para generar nueva variabilidad y obtener nuevas variedades.

Mientras que en la mayoría de las especies frutales, los programas de mejora genética han generado un número apreciable de nuevas variedades, en el olivo, los programas de mejora varietal son escasos y solo muy pocas variedades han sido registradas hasta la fecha. La principal causa de este retraso en olivo es el largo periodo juvenil. Este periodo, definido como el tiempo durante el cual la planta no puede alcanzar y mantener la capacidad o el potencial para florecer, puede llegar hasta 10-13 años en olivo (Natividade, 1956; Rugini, 1990; Bellini, 1993).

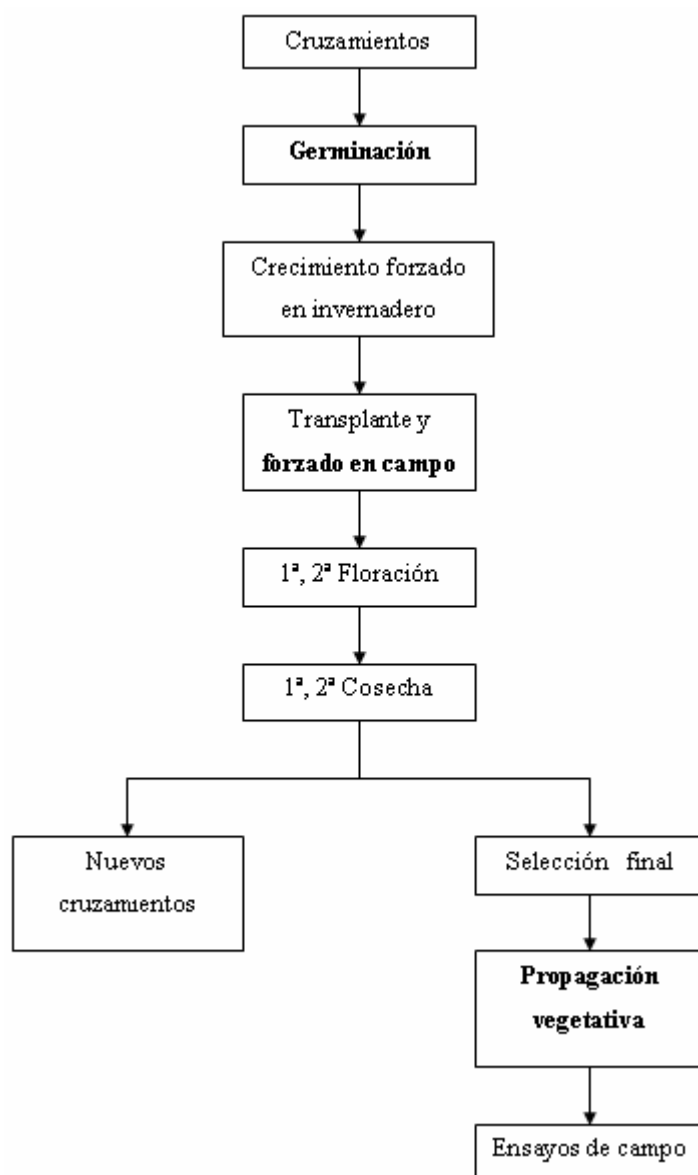
Los trabajos previos intentaron acortar el periodo juvenil por forzado de crecimiento en invernadero mediante técnicas de fotoperiodo continuo, fertirrigación, poda y micorrización (Zimmerman, 1972; Adwinckle, 1975) y en campo mediante poda, fertirrigación y solarización (Lavee, 1990, Stapleton *et al.*, 1993, Duncan, 1992). Otros estudios ilustraron la posibilidad de acortar este periodo mediante la elección de genitores de corto periodo juvenil puesto que se ha observado que la longitud de este periodo es una característica heredable (Visser, 1964, Hansche, 1986).

En olivo, a pesar de su largo periodo juvenil ya señalado, los trabajos para acortar este periodo son escasos. Lavee (1994) logró la floración en la mayoría de las progenies 3 a 5 años después del trasplante a campo mediante un forzado de crecimiento por fertirrigación. Santos Antunes (1999) consiguió acortar este periodo a 29 meses mediante el forzado de crecimiento en invernadero y mediante la elección de genitores de corto periodo juvenil. El mismo autor obtuvo buenos resultados al aplicar la solarización, utilizada en el olivo como método de control de la verticilosis, para forzar el crecimiento de las plantas en campo.

Además, la larga, escalonada y baja germinación en olivo constituye otro obstáculo importante para los programas de mejora. Generalmente, la germinación del olivo es baja y depende de varios factores intrínsecos (latencias, efecto de los genitores, tiempo de recolección) y extrínsecos (ambientales). Algunos trabajos (Istanbouli, 1981;

Alvarado, 1994) propusieron una serie de procedimientos con el fin de mejorar la germinación de las semillas de olivo. En este contexto, se ensayaron diferentes técnicas de escarificación, estratificación, control ambiental, etc.

El presente trabajo ha tenido como objetivo general mejorar la eficiencia del programa de mejora de olivo, establecido en Córdoba desde 1991. Para ello, se realizaron distintos ensayos con el fin de mejorar etapas principales de este programa (figura 32). Asimismo se evaluó el efecto de la solarización en el crecimiento de los olivos recién transplantados en campo.



**Figura 32:** Proceso de obtención de nuevas variedades por cruzamiento. Las etapas destacadas en el diagrama corresponden a las desarrolladas en este trabajo.

En concreto, y con el fin de **simplificar y mejorar la germinación de semillas** de dos variedades españolas ('Arbequina' y 'Picual') adoptadas como genitores en el programa de mejora del olivo de Córdoba, se ha aplicado algunas modificaciones a la técnica propuesta por Alvarado (1994). Estas incluyeron: la manera de escarificación, el tiempo de estratificación, las condiciones ambientales y el sustrato de germinación. Los resultados mostraron que es imprescindible eliminar totalmente el hueso y sembrar solamente la semilla antes de la puesta de las bandejas en cámara de estratificación (oscuridad, humedad: 95% y temperatura: 14° C), sino se puede dañar a la semilla y en consecuencia reducir bruscamente el porcentaje y la velocidad de la germinación (figuras 2, 3, 4 y 5). También se ha observado que se puede reducir el tiempo de estratificación a 20 días sin disminución en el porcentaje de germinación. Por otro lado, los resultados señalaron la importancia tanto de las condiciones ambientales como de la calidad del fruto sobre el poder germinativo de las semillas (sin hablar del periodo de recolección). No obstante, no hubo diferencia significativa tanto en el porcentaje como en la velocidad de la germinación al colocar las semillas en cámaras de germinación o en invernadero con condiciones ambientales, especialmente de temperatura (25°C), controladas (figura 8). Además, el mejor sustrato de germinación ha sido el sustrato que viene ya preparado en bandejas de alvéolos (figuras 9 y 10) por su aceptable porcentaje de germinación y su facilidad de manipulación si se dispone de un simple sistema automático de riego.

La germinación de las semillas de acebuches ha sido también un tema de valor en este trabajo debido a la importancia del material silvestre como fuente de variabilidad y material vegetal interesante en un programa de mejora. Las semillas extraídas de las acebuchinas de buena calidad germinaron igualmente bien como las semillas de las variedades cultivadas (figura 11). Estos resultados discrepan con los resultados previos obtenidos por Milella (1960), Bandino *et al.* (1999) y López (2006) que consideraban difícil la germinación de las semillas de acebuches.

Por otra parte, **la reducción del periodo juvenil** es un tema de gran importancia en el mismo programa de mejora. Por ello, se realizó el **ensayo de solarización** basado sobre trabajos previos en almendro (Duncan *et al.*, 1992), melocotonero (Duncan *et al.*, 1992) y olivo (Santos Antunes, 1999) que obtuvieron un mayor crecimiento en plantas solarizadas respecto al testigo. Los resultados de este ensayo mostraron una mayor altura (figura 18), un mayor diámetro de tronco (figura 19) y un mayor crecimiento general de las plantas solarizadas (figuras 23 y 24). Estos resultados pueden ser debidos

a la mayor temperatura (figuras 25 y 26), a la mayor humedad (figuras 27 y 28) y al impedimento de la emergencia de las semillas de malas hierbas en suelos solarizados. Sin embargo, habrá que esperar hasta el próximo año para ver si este método acortará el periodo juvenil.

Finalmente, la caracterización de la **capacidad de enraizamiento** de las preselecciones del programa de mejora es un carácter muy importante para su difusión siendo la propagación vegetativa por estaquillas semileñosas el método más utilizado en los viveros. Tal como en todos los caracteres de interés agronómico (producción, vigor, resistencia a enfermedades, etc.) y tecnológico (contenido en ácido oleico, rendimiento graso, etc.) evaluados en el programa de mejora, se ha observado una alta variabilidad en la capacidad de enraizamiento de todas las preselecciones ensayadas. No obstante, todas muestran una buena capacidad de enraizamiento suficiente para ser difundidas por estaquillado semileñoso (tabla 10). Sin embargo, es imprescindible repetir cada año el mismo ensayo aunque con el mismo material vegetal pero en condiciones diferentes para llegar a caracterizar con más precisión su capacidad de enraizamiento.

En síntesis, la mejora del procedimiento de germinación y posteriormente el forzado del crecimiento mediante la solarización después del trasplante, acortarán el tiempo necesario para la crianza de las plantas. Además la introducción del material silvestre constituirá una interesante fuente de variabilidad necesaria a estreses abióticos y bióticos. La evaluación de la capacidad de enraizamiento representa un factor muy interesante en el programa y habrá que repetirla cada año, en condiciones distintas, para mejorar la difusión de las nuevas variedades registradas.

## **V – CONCLUSIONES GENERALES**

## V – CONCLUSIONES GENERALES

### 1. Germinación:

- ✧ El método general de germinación utilizado en este trabajo ha sido el propuesto por Alvarado (1994) con pequeñas modificaciones para facilitar el manejo de un número elevado de genotipos. Este procedimiento ha dado los mejores porcentajes de germinación en comparación con los otros experimentados. Puede, por consiguiente, recomendarse como método general de germinación de semillas en un programa de mejora del olivo.
- ✧ No se ha encontrado una relación clara entre la época de maduración y la germinación máxima de las semillas de olivo. Sin embargo, tanto las condiciones ambientales como la calidad del fruto sí han mostrado una gran influencia sobre el poder germinativo de las semillas.
- ✧ No se ha encontrado una diferencia en el porcentaje y en la velocidad de germinación al reducir el periodo de estratificación (a 14° C) de 30 a 20 días.
- ✧ Las semillas germinan igualmente tanto en cámaras de germinación como en invernaderos con condiciones, esencialmente de temperatura (25° C), bien controlada.
- ✧ El substrato compuesto por una mezcla de turba y de fibra de coco (50/50) puede ser más recomendable que la turba sola, la turba mezclada con lima (50/50) o las placas prefabricadas para alcanzar una óptima germinación.
- ✧ La germinación de acebuches alcanza valores de germinación semejantes a los de las variedades cultivadas siempre que las acebuchinas y las aceitunas recogidas sean de buena calidad.

### 2. Acortamiento del periodo juvenil:

- ✧ Se ha confirmado el beneficioso efecto de la solarización en el crecimiento de plantas de semilla de olivo. Este efecto parece relacionado con el aumento de la temperatura del suelo, el mejor estado hídrico en la rizósfera y el impedimento de la emergencia de malas hierbas, todo ello sin causar ningún tipo de estrés en las plantas.



3. Estaquillado:

- ✧ A pesar de la presencia de una alta variabilidad en el porcentaje de enraizamiento de las estaquillas recogidas de estas preselecciones, todas ellas pueden ser propagadas por estaquillado semileñoso. Se deben repetir durante más años los ensayos para una evaluación más precisa de la capacidad de enraizamiento de los nuevos genotipos.

## **VI – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## VI – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VII Congreso Internacional de Oleicultura, 1926. Sevilla 2 a 19 de Diciembre de 1924. Sucesores de Rivadeneyra. 769 pp.
- Acebedo MM, Lavee S, Liñan J y Troncoso A, 1997. In Vitro germination of embryos for speeding up seedling development in olive breeding programmes. *Scientia Horticulturae* 69: 207-215.
- Adakalic M, 2003. Técnicas de germinación y forzado de plántulas de olivo. Tesis de Master of Science en Olivicultura y elaiotecnia. Córdoba. España.
- Alvarado JA, 1994. Métodos para la germinación y crecimiento forzado de plántulas de olivo. Trabajo profesional fin de carrera. ETSIAM. Universidad de Córdoba. España.
- Alvarado J, Rallo L, y Trujillo I, 1995. Crecimiento forzado de plántulas de olivo. VI Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Barcelona. Resúmenes 2003.
- Ashworth LJ y Gaona SA, 1982. Evaluation of clear polyethylene mulch for controlling verticillium wilt in established pistachio nut groves. *The American phytopathological society*. Vol. 72. nº2: 243-246.
- Avidan B y Lavee S, 1978. Physiological aspects of rooting ability of olive cultivars. *Acta Hort.* 79: 93-101.
- Avramov L, Jelenkovic G, 1961. The effect of parents on the germination of hybrids seeds from grape vine. *Journal for Scientific Agricultural Research*, XIV, 44, Beograd.
- Bagnall DJ, 1992. Control of flowering in *Arabidopsis thaliana* by light, vernalization and gibberellins. *Aust. J. Plant Physiol.* 129: 401-409.

- Baker KF y Cook RJ, 1974. Biological control of plant pathogens. Freeman, San Francisco.
- Bandino G, Sedda P y Mulas M, 1999. Germination of olive seeds as affected by chemical scarification, hot water dip, and gibberellic acid treatments. *Acta Horticulturae* 474: 35-38.
- Barranco D y Rallo L, 2006. Mejora genética del olivo. Mejora genética de la calidad en plantas. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Sociedad Española de Genética. Universidad de Valencia. Capítulo 19: 475- 494.
- Bartolini G y Tattini M, 1986. Effect of phenolic acids and auxin on rooting *Olea europaea* L. cuttings XXIIInd Int. Hort. Congress, Davis (USA). *HortScience* 21 (3) sect. 2: 662.
- Basso M, 1962. Observations on the germination capacity of olive seeds. *Agr. Ital. Dec* 1962, p.7, *Hort. Abstract.* 33: 614.
- Bellini E, 1993. Variabilidad genética y heredabilidad de algunos caracteres en plantas de semilla de olivo obtenidas por cruzamiento. *Olivae* 49: 21-34.
- Bellini E, Parlato MV y Giordani E, 2002. Three new olive cultivars obtained by cross-breeding. *Acta Hort.* 586: 221-223.
- Bini G y Bellini E, 1975. Influenza dei genitori sulla facoltà germinativa dei semi. *Ricerche sull'olivo. Rivista della Ortoflorofruitticoltura Italiana* 59: 371-384.
- Blake MA, 1940. Some results of crosses of early ripening varieties of peaches. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 37: 232-241.
- Borchert R, 1976. The concept of juvenility in woody plants. *Acta Horticulturae* 56: 21-36.
- Borges ML, 1990. Solarização do solo e protecção integrada. *Agros. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.*

- Brink y Cooper, 1940. Somatoplastic sterility as a cause of seed failure alter interspecific hybridation. *Genetics*, 25: 593-617.
- Brink y Cooper, 1941. Incomplete seed failure as a result of somatoplastic sterility. *Genetics*, 26: 487-504.
- Brhadda N, Walali Loudyi DM, Abousalim A y Benali D, 2000. Effet de la température et de l'endosperme sur la dormance et la germination des embryons d'olivier *Olea europaea L.* variété Picholine marocaine. *Agronomie* 20: 643-653.
- Caballero JM y Del Río C, 1994. Propagación del olivo por enraizamiento de estaquillas semileñosas bajo nebulización. Comunicación I.D. Agroalimentaria. Consejería de agricultura y pesca, junta de Andalucía. 23pp.
- Caballero JM y Del Río C, 1997. Métodos de multiplicación, 89-113. En: el cultivo del olivo, 2ª edición. Barranco, Fernández-Escobar, Rallo, Eds. Junta de Andalucía/Mundi-Prensa, 651pp
- Caballero JM y Del Río C, 1999. Métodos de multiplicación. In: Barranco D, Fernández E, Rallo L. Eds. El cultivo del Olivo. Mundi-Prensa. Madrid. 93-112 p.
- Caballero JM y Del Río C, 2001. Métodos de multiplicación. En: El cultivo del olivo. Barranco D, Fernández-Escobar R y Rallo L. (Eds.). Ediciones Mundi-Prensa y Junta de Andalucía. Madrid.
- Caballero JM y Del Río C, 2003. Métodos de multiplicación. En: El cultivo del olivo. Barranco D, Fernández-Escobar R y Rallo L. (Eds.). Ediciones Mundi-Prensa y Junta de Andalucía. Madrid.
- Caballero JM y Nahlawi N, 1979. Influencia de los hidratos de carbono y del lavado con agua en el enraizamiento por estaquillado semileñoso del cultivar 'Gordal' de olivo (*Olea europaea L.*). *An. INIA Ser. Prod. Veg.* 11: 219-230.
- Calderon A, 1990. Manual del fruticultor moderno. Limusa. Mexico. 3: 546-565.
- Centeno A Y Gómez-del-Campo M, en prensa. Effect of a different rooting promoting products to obtain ecological olive (*Olea europaea L.*) nursery plant.

- Chen Y y Katan J, 1980. Effect of solar heating of soils by transparent polyethylene mulching on their chemical properties. *Soil Sci.* 130: 271-277.
- Cimato A y Fiorino P, 1980. Statu delle conoscenze sulla moltiplicazione dell'olivo con la técnica Della nebulizzazione. *Rev. L'informatore Agrario XXXVI (38):* 12227-12238.
- Clavero I, 1994. Acortamiento del periodo juvenil en olivo (*Olea europae L.*) I. Cultivo in Vitro de embriones II Efecto del fotoperiodo en el crecimiento de plántulas de olivo. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga. España.
- Crisosto C y Sutter EG, 1985a. Improving 'Manzanillo' olive seed germination. *HortScience* 20 (1): 100-102.
- Crisosto C y Sutter EG, 1985b. Role of the endocarp in 'Manzanillo' olive seed germination. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110 (1): 50-52.
- De Almeida FJ, 1958. Posibilidades y limitaciones de la selección y mejora del olivo. *Bol. Oleic. Int.* 45: 31-35.
- De la Rosa R, Kiran AI, Barranco D y Leon L, 2006. Seedling vigor as a preselection criterion for short juvenile period in olive breeding. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57: 477-481.
- Del Río C, 1988. Influencia de los hidratos de carbono y de la presencia del fruto en el enraizamiento del olivo por estaquillado semileñoso. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Del Río C, Caballero JM, 2005. Aptitud al enraizamiento. P 277-308. In: *Variedades de olivo en España*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Del Río C, Caballero JM y Rallo L, 1986. La influencia del tipo de estaquilla y del AIB sobre la variación estacional del enraizamiento de los cultivares de olivo 'Picual' y 'Gordal Sevillano'. *Olea*, 17: 23-26.

- Del Río C, Caballero JM, García Fernández M<sup>a</sup>D, Tous J, Romero A y Plana J, 2005a. Rendimiento graso. En: Variedades de olivo en España (Libro II: Variabilidad y Selección). Luis Rallo, Diego Barranco, Carmen Del Río, Antonio Martín Joan Tous e Isabel Trujillo (eds.) Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Del Río C, Caballero JM, García Fernández M<sup>a</sup>D, Tous J, Romero A y Plana J, 2005b. Producción. pp 257-274. En: Variedades de olivo en España (Libro II: Variabilidad y Selección). Luis Rallo, Diego Barranco, Carmen Del Río, Antonio Martín Joan Tous e Isabel Trujillo (eds.) Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Del Río C, Rallo L and Caballero JM, 1991. Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive. *Journal of Horticultural Science*, 66(3): 301-309.
- Demetrios G, Voyiatzis y Pritsa T, 1994. the onset and disappearance of relative dormancy of olive embryos as affected by age. *Acta Horticulturae* 356: 148-151.
- Dennis FG, 1968. Growth and flowering response of apple and pear seedlings to growth retardants and scoring. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93: 53-61.
- Diamantoglou S y Mitrados K, 1979. Sur la culture in vitro de l'embryon de l'olivier (*Olea europaea* L. var. *oleaster*). *C.R. Acad. Sci. Ser. D* 288: 1537- 1540.
- Diana G y Gaetani FR, 1979-1980. Germinazioni di semi di olivo en relazione a trattamenti pre-semina e a differenti epoche di recolecta. *Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura* 6: 81-97.
- Domenech B, Solana P, Fernández-Aparicio M, González J, Porrás A y Soriano ML, 2000. Influencia de la densidad de plantación en el enraizamiento de estaquillas de olivo de la variedad cornicabra. *Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola, Ciudad Real, España.*
- Doorembos J, 1954. Rejuvenation in *Hedera helix* in graft combination. *Proc. K Ned Akad Wet Ser C Biol Medf Sci* 57: 99-102.

- Doorembos J, 1955. Shortening of breeding cycle of rhododendron. *Euphytica* 4: 141-146.
- Doorembos J, 1965. Juvenile and adult phases in woody plants. En: Ruhland W. (ed) *Encyclopedia of Plant Physiol.* Vol 15 part I, Berlin Heidelberg New York, pp 1222-1235.
- Douay F, 1980. Etude experimental de la germination et plus particulièrement de l'activation des semences d'olivier (*Olea europaea* L.), thèse universitaire d'Aix-MarseilleIII, 167p. France.
- Duncan RA, Stapleton J y McKenry V, 1992. Establishment of orchards with black polyethylene film mulching: effect on nematode and fungal pathogens, water conservation, and tree growth. *Journal of Nematology* 24 (4S): 681-687.
- Fajardo BER, 1985. Micorrizas VAM en cultivos arbóreos: Almendro, Naranja y Olivo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.
- Fernandes Serrano JM, Serrano y Amaral E, 2002. Effect of different hormone treatments on rooting of *olea europaea* cv. 'Galega' vulgar cuttings. *Scientia Horticulturae*, 62: 89-198.
- Fontanazza G, 1996. Olivicultura intensiva mecanizzata. Edagricole. 312p.
- Fontanazza G y Baldon L, 1990. Propuesta de un programa de mejora genética del olivo. *Olivae* 34: 32-39.
- Fontanazza G y Rugini E, 1981. The rooting of olive cultivars in heated boxes. *Frutticoltura* 43: 39-44.
- Hackett WP, 1985. Juvenility, maturation and rejuvenation in woody plants. *Horticultural Reviews* 7: 109-155.
- Hartmann H y Kester D, 1987. Propagación de plántulas en propagación de plantas. Parte II. Compañía Editorial Continental, S.A., México. pp. 75-219.



- Hartmann H, Kester DE y Davies FT, 1990. Plant propagation. Principles and practices. Fifth edition. Part II. Seed Propagation pp. 55-165.
- Hartmann HT , Kester DE, Davies FT y Geneve RL, 1997. Plant propagation. Principles and practices 6<sup>th</sup> edition. XII, 770p.
- Hartmann HT, Loreti F, 1965. Seasonal variation in the rooting of olive cuttings. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 87, 194–198.
- Hield HZ, Coggins CW, JR y Lewis LN, 1966. Temperature influence on flowering of grape fruit seedlings. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89: 175-181.
- Ho Shan-A, Liu JF and GuYing H, 1981. Olive introduction and breeding in China. 1. The theory and practice of olive. Riv. Ortofrutt. It. 65 (6): 413-432.
- Howard BH and Nahlawi N, 1969. Factors affecting the rooting of plum hardwood cuttings. J. Hort. Sci., 44: 303-310.
- Humanes GJ, Ferreira J y Fernandez-Bolaños P, 1967. Selección de nuevas variedades de olivo. Portug. Acta biol. 10: 185-194.
- Istanbouli A, 1974. Etude de la dormance des semences et des embrions d'olivier (*Olea europaea* L.). Revue generale de Botanique 81: 215-221.
- Istanbouli A, 1981. La multiplication sexuelle de l'olivier (*Olea europaea* L.) mise au point d'une technique de reproduction rapide de jeunes plantes issues de semis. Atti. Sem. Int. Cult. Intens. Oliv. Marrakech: 55-72.
- Istanbouli A, Arban M y Kasbi A, 1987. Reproducción rápida de olivos a partir de semillas. Olivae 16: 30-33.
- Istanbouli A y Neville P, 1977. Etude de la 'dormance' des semences' d'olivier (*Olea europaea* L.). Mise en evidence d'une dormance embrionaire: C.R. Acad. Sci. Ser. D 284: 2503-2506.
- Johnsson H, 1940. Hereditary precocious flowering in *Betula verrucosa* and *B. pubescens*. Hereditas 35: 112-114.

- Katan J, 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soil-born pests. Ann. Rev. Phytopath. 19: 211-236.
- Katan J, 1987. Soil solarization. Innovate approaches to plant diseases control J, Wiley & Sons Inc.
- Lagarda A y Martin GC, 1983a. 'Manzanillo' olive seed dormancy as influenced by exogenous hormone application and endogenous abscisic acid concentration. Hort Science 18(6): 869-871.
- Lagarda A, Martin GC y Kester DE, 1983b. Influence of environment, seed tissue, and seed maturity on 'Manzanillo' olive seed germination. HortScience 18 (6): 868-869.
- Lagarda A, Martin GC y Polito VS, 1983c. Anatomical and morphological development of 'Manzanillo' olive seed in relation to germination. Journal of the American Society for Horticultural Science 108 (5): 741-743.
- Lavee S, 1978. 'Kadesh' table olive. HortScience 13: 62-63.
- Lavee S, 1990. Aims, methods and advances in breeding of new olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Acta Hort. 286: 23-36.
- Lavee S, 1993. New cultivars of olives why do we need them. Jornadas Técnicas de Olivicultura. Noviembre. Córdoba. España.
- Lavee S, Avidan N, Haskal A y Ogradovich A, 1996. Acortamiento del periodo juvenil en los plantones de olivo obtenidos de semillas. Un instrumento de revalorización de la mejora genética. Olivae nº60.
- Lavee S, Avidan N y Diezman Z, 1998. Genetic variation Within the Nabali Baladi cultivar of the west bank. Acta Hort. 474.
- Lavee S, Avidan B y Meni Y, 2003. 'Askal', una nueva variedad de almazara sobre saliente por su comportamiento agronómico para olivares intensivos y superintensivos. Olivae. 97: 53-59.

- Lavee S; Haskal A y Wodner M, 1986. 'Barnea'. a new olive cultivar from first breeding generation. *Olea* 17: 95-99.
- Lavee S, Harshemesh H, Haskal A, Meni V, Wodner M, Ogrodovich A, Avidan B, Wiesman Z, Avidan N y Trapero-Casas A, 1999. 'Maalot' un nuevo cultivar resistente al repilo en olivar (*Spilocaea oleagina* Cast.). *Olivae*. 78: 51-59.
- Léon L, Santos Antunes F, Martín LM, Garrido A y Rallo L, 2005. Obtención de nuevas variedades por cruzamientos. pp. 407-420. En *Variedades de olivo en España (Libro III: Mejora Genética y Biotecnología)*. Luis Rallo, Diego Barranco, Carmen Del Río, Antonio Martín, Juan Tous e Isabel Trujillo. (Eds.) Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Léon L, Uceda M, Jiménez A, Martín LM y Rallo L, 2004. Variability of fatty acid composición in olive (*Olea europaea*, L) progenies. *Spanish Journal of Agricultural research*. 2 (3): 353-359.
- Lewak S, 1981. Regulatory pathways in removal of apple seed dormancy. *Acta Horticulturae*, 120: 149-159.
- Lopez-Escudero FJ, and Blanco-Lopez MA, 2001. Effect of a Single or Double Soil Solarization to Control *Verticillium* Wilt in Established Olive Orchards in Spain. *Plant Dis*. 85: 489-496.
- Lopez RS, 2006. Estudios sobre el vigor en las plantas de semillas de olivo y su relación con el period juvenil. Trabajo Profesional Fin de Carrera. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Córdoba. España.
- Loretti F and Hartmann HT, 1964. Propagation of olive trees by rooting Leafy cuttings under mist. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 85: 257-264.
- Mencuccini M, 2003. Effect of medium darkening on in vitro rooting capability and rooting seasonality of olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 97: 129-139.
- Michurin IV, 1949. Selected Works. Foreign Languages Publishing House, Moscow. 496p.

- Milella A, 1960. Il potere germinativo dei noccioli di oleastro (*O. europaea* var. *Oleaster* H.) in rapporto al diverso stadio di maturazione Della drupa. Sez. III. Annali Della Facoltà di agraria dell'Università di Sassari. Vol. VIII: 85-89.
- Mohedo A, 1995. Acortamiento del periodo juvenil en olivo. Trabajo Profesional Fin de Carrera. ETSIAM. Universidad de Córdoba. España.
- Morini S, Loreti F y Sciutti R, 1990. Effect of light quality on rooting of 'leccino' olive cuttings. *Acta horticulturae* , 286.
- Mulas M, 1999. Characterization of olive wild ecotypes. *Acta Horticulturae*, 474: 121-124.
- Mulas M y Francesconi AHD, 2000. Wild olive (*Olive europaea* L.) as a forestry species. Atti del II Congresso su "applicazioni e prospettive per la ricerca forestale italiana". Bologna, 20-22 ottobre 1999: 55-60.
- Mulas M, Fadda A and Cauli E, 2004. Prime osservazioni su cloni do oleastro (*Olea europaea* var. *Sylvestris* Hoff. E Link) selezionati per l'utilizzo forestale. *Italus Hortus*. V 11 (4): 214-217.
- Nahlawi N, Humanes y Philipe JM, 1975. Propagación de estaquillas herbaceas de olivo bajo nebulización en relación con la duración de la inmersión en el AIB y con el grado de humedad de la estaquilla. *Anal. INIA. Ser. Pro. Veg.* 5 (8): 183-186.
- Natividade JV, 1956. Juvenilidad en *Olea Europeae* L. *Agronomia Lusitanica*. 19: 145-159.
- Olmo HP, 1942. Choice of parent influencing seed germination in fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 41: 171-175.
- Olmo HP, 1946. Correlations between seed and berry development in some seed varieties of *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 48.
- Özkaya MT y Çelik M, 1994. The effect of rooting environment and combination of auxin polyamine on the rooting ability of Turkish olive cultivars 'Gemlik' and 'Domat'. *Acta horticulturae* 356: 31-34.

- Pampa A, 2004. Principios de propagación de plantas. Injerto en olivo. [En línea]: [www.lamolina.edu.pe/Facultad/Agronomía/Horticultura/Propagación/Reprodasexual/apampa-Resumen.Htm](http://www.lamolina.edu.pe/Facultad/Agronomía/Horticultura/Propagación/Reprodasexual/apampa-Resumen.Htm).
- Petridou M y Voyiatzis D, 1994. The beneficial effect of girdling, auxin, Tween 20 y Paclobutrazol on the propagation of olive by an improved method of mounting-layering. *Acta Horticulturae* 356: 24-27.
- Polanco SCS, 2004. Efecto de diferentes dosis de AIB y fecha de recolección sobre la propagación de estacas semileñosas basales y apicales de olivo (*Olea europaea* L.) de la variedad 'Empeltre'. Trabajo fin de carrera. Chile.
- Porras Piedra A, Soriano Martín ML y Solana Maldonado P, 1997. Mejoras técnicas en la propagación del olivo bajo nebulización. *Agricultura* 782.
- Porras AS, Doménech BM, Castillo JR, Soriano MML y Porras AP, 2002. Influencia de las micorrizas vesículo-arbusculares en el crecimiento de estaquillas de olivo propagadas bajo nebulización. *Olivae*, 92: 33-37.
- Porras AS, Marcilla IG, Porras RS, León ME, Fernández AH y García AOR, 2006. Efecto de las Micorrizas vesículo-arbusculares en la asimilación de macronutrientes de plantones de olivo cultivados en suelos salinizados.
- Rallo L, 1995. Selección y mejora genética del olivo en España. *Olivae* 59 (12): 46-53.
- Rallo L, Barranco D, Del Río C, Martín A, Tous J y Trujillo I. Variedades de olivo en España (Eds.) Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Rallo L y Del Río C, 1990. Effect of a CO<sub>2</sub>-enriched environment of the rooting ability and carbohydrate level of olive cutting. *Advances in Horticultural Science*, 4: 129-130.
- Rallo L y Nahlawi N, 1976. Situación actual y perspectivas sobre la utilización y selección de patrones en olivo. *Olea* 4: 7-27.
- Robinson LW y Wareing PF, 1969. Experiments on the juvenile-adult phase in some woody species. *New phytol.* 68: 67-78.

- Ruby J, 1916. Recherches morphologiques et biologiques sur l'olivier et sur ces variétés cultivées en France. Ann. Sci. Nat. Bot. 9<sup>o</sup> ser., 20 : 1-286.
- Rugini E, 1990. In vitro culture of the olive: An overview of the present scientific status. Acta Hort. 286: 93-96.
- Rugini E y Fedeli E., 1990. Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. In: Bajaj, J.P.S. (Ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 10: Legumes and Oilseed Crops I. Springer, Berlin.
- Rugini E, Politi V, Bignami C, Grego S y De Agazio M, 1990. Effect of polyamine treatments on rooting cuttings of three olive cultivars. Acta Hort. 286: 97–100.
- Rugini E, Jacoboni A y Luppino M, 1993. Role of basal shoot darkening and exogenous putrescine treatment on in vitro rooting and on endogenous polyamines. Scientia Horticulturae, 53: 63-72.
- Santos Antunes F, 1999. Acortamiento del periodo juvenil en olivo mediante técnicas de forzado de crecimiento y elección de genitores. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba.
- Sarmiento R, Garcia JL y Mazuelos C, 1990. Free amino acids in easy- and difficult-to-root olive varieties. Acta Hort. 286: 105–108.
- Scaramuzzi F, 1957. Studies on the germination power of olive seeds of various ages. Agr. Ital. 56, (Hort. Abstr. 28: 292: 1958).
- Scaramuzzi F y Rozelli G, 1986. Olive genetic improvement. Olea 17: 7-17.
- Sebastiani L y Tognetti R, 2004. Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in *Olea europaea* L. (cvs 'Frantoio' and 'Gentile di Larino') cuttings. Scientia Horticulturae. 100: 75–82.
- SECH, 1999. Diccionario de Ciencias Hortícolas. L. Rallo, R. Fernández-Escobar (Eds.). Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, 605 pp. Ed. Mundi-prensa. Madrid.

- Sherman WB y Lyrene PM, 1983. Handling seedling populations. Chapter V: 66-73.
- Sotomayor-León EM, 1989. Evaluación de distintos sistemas de propagación vegetativa del cultivar 'Gordal Sevillana' (*Olea europaea* L.) Tesis Doctoral.
- Sotomayor-León EM y Caballero JM, 1989. Harvesting time for seed germination. International Symposium on Olive Growing. *Oleae* 20:30.
- Sotomayor-León EM y Caballero JM, 1990. An easy method of breaking olive stones to remove mechanical dormancy. *Acta Horticulturae* 286: 113-116.
- Sotomayor-León EM y Durán-Altisent JM, 1994. Breaking of dormancy in olive (*Olea europaea* L.) seeds. *Acta Horticulturae* 356: 137-142.
- Stapleton JJ, Asai WK y JE DeVay, 1989. Use of polymer mulches in integrated pest management programs for establishment of perennial fruit crops. *Acta Horticulturae* 255: 161-168.
- Stapleton JJ y DeVay JE, 1982. Effect of soil solarization on populationsw of selected Soilborne microorganisms and growth of deciduous fruit tree seedlings. *Phytopathological society* Vol.72, nº3: 323-326.
- Stapleton JJ y DeVay JE, 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. *Phytopathology* 74: 255-259.
- Stapleton JJ y Garza-Lopez J G, 1988. Mulching of soils with transparent (solarization) and black polyethylene films to increase growth of annual and perenial crops in south-western Mexico. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 65: 29-33.
- Stapleton J, Louise F, McKenny M, Dougherty D y Stapleton T, 1998. Using solarisation to disinfest nursery for olive production. III Int. Symp. On olive Growth. Khania, Grecia.
- Stapleton JJ, Paplomatas EJ, Wakeman RJ y DeVay, JE, 1993. Establishment of apricot and almond trees using soil mulching with transparent (solarization) and black

polyethylene film: effects on Verticillium wilt and tree health. *Plant Pathology* 42: 333-338.

Stapleton JJ, Quick J y DeVay JE, 1985. Soil solarization: Effects on soil properties, crop fertilization and plant growth. *Soil Biol. Biochem.* Vol. 17, No. 3: 369-373.

Suárez MP, López EP, Ordovás J, Pérez I y Aguirre I, 1998. Utilización de distintos productos para mejorar el enraizamiento en estaquillado semileñoso en olivo. Una alternativa para el mundo rural del tercer milenio. Valencia, septiembre 1998.

Teich AH y Holst MJ, 1969. Genetic control of cone clusters and precocious flowering in *Pinus Sylvestris*. *Can. J. Botany* 47: 1081-1084.

Trapero y López-Doncel, 2005. Resistencia y susceptibilidad al repilo. pp. 321-328. En: *Varietades de olivo en España (Libro II: Variabilidad y selección)*. Luis Rallo, Diego Barranco, Carmen Del Río, Antonio Martín, Juan Tous e Isabel Trujillo. (Eds.) Junta de Andalucía, MAPA y Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Troncoso A, Montañó J, Murillo J y Cantos M, 1988. Influencia del fotoperiodo sobre el crecimiento y la composición mineral de plantas jóvenes de olivo. *Olea* 19: 63-67.

Visser T, 1970. The relation between growth, juvenile period and fruiting of apple seedlings and its use to improve breeding efficiency. *Euphytica* 19: 293-302.

Voyiatzis DG, 1984. The effect of temperature on the breaking of dormancy and the content of endogenous hormones of the seeds of olive (*Olea europaea* L.). Thesis, University of Thessaloniki.

Voyiatzis DG, 1995. Dormancy and germination of olive embryos as affected by temperature. *Physiol. Plant.* 95: 444-448.

Voyiatzis DG y Porlingis ID, 1987. Temperature requirements for the germination of olive seeds (*Olea europaea* L.). *Journal of Horticultural Science* 62 (3): 405-411.

Wareing PF, 1959. Problems of juvenility and flowering in trees. *Journal Linn. Soc. (Bot)* 56: 282-289.



- Whitman C, Heins R, Cameron A y Carlson, 1996. Cold treatments, photoperiod and forcing temperature influence flowering *Lavandula angustifolia*. *Hortscience* 31 (7): 1150-1153.
- Wiesman Z, Markus A, Wybraniec S, Schwartz L, Wolf D, 2002. Promotion of rooting and development of cuttings by plant growth factors formulated into a controlled-release system. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 5: 330-334.
- Zimmerman RH, 1971. Flowering of crabapple seedlings: methods of shortening the juvenile phase. *Journal of American Society of Horticultural Science* 96: 404-411.
- Zimmerman RH, 1972. Juvenility and flowering in woody plants: A review. *Hort Science* 7 (5): 447-455.
- Zimmerman RH, 1973. Juvenility and flowering in fruit trees. *Acta Hort.* 34: 139-142.