



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE STIMPLEX EN OLIVOS,
VARIEDAD ARBEQUINA, SOBRE LA ACUMULACIÓN DE ACEITE
Y SU CALIDAD**

CAMILA CARVAJAL ESCOBAR

**Santiago, Chile
2022**



UNIVERSIDAD DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE STIMPLEX EN OLIVOS,
VARIEDAD ARBEQUINA, SOBRE LA ACUMULACIÓN DE ACEITE
Y SU CALIDAD**

**STIMPLEX APPLICATION EFFECT IN OLIVE, ARBEQUINA VARIETY, OVER
QUALITY AND ACCUMULATION OF OIL**

CAMILA CARVAJAL ESCOBAR

**Santiago, Chile
2022**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE STIMPLEX EN OLIVOS,
VARIEDAD ARBEQUINA, SOBRE LA ACUMULACIÓN DE ACEITE
Y SU CALIDAD**

Memoria para optar al título
Profesional de Ingeniera Agrónoma

CAMILA CARVAJAL ESCOBAR

	Calificaciones
PROFESORA GUÍA Sra. María de la Luz Hurtado Pumarino Ingeniera Agrónoma. Dra.	7,0
PROFESORES EVALUADORES Sra. Carmen Saenz Hernández Químico Farmacéutico, Dra.	6,0
Sr. Ian Homer Bannister Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,5

María de la Luz Hurtado P.
Firmado digitalmente por María de la Luz Hurtado P.
Fecha: 2023.01.26 09:53:46 -03'00'



IAN HOMER BANNISTER
Firmado digitalmente por IAN HOMER BANNISTER
Fecha: 2023.01.26 14:49:51 -03'00'

Santiago, Chile
2022

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Objetivo general	5
Objetivos específicos	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio	6
Materiales	6
Métodos	7
Tratamientos	7
Diseño experimental	8
Modelo estadístico	9
Manejo del ensayo	10
Evaluaciones	11
Variables medidas en el árbol	14
Largo de brotes, número de entrenudos y largo de entrenudos	14
Cantidad y masa de frutos por árbol	15
Variables medidas en el fruto por muestreo	18
Tamaño del fruto.....	18
Peso promedio de los frutos.....	20
Relación pulpa/carozo.....	21
Contenido de humedad	23
Contenido de aceite en base a materia humedad (b.m.h).....	25
Contenido de aceite en base a materia seca (b.m.s).....	27
Variables medidas en el aceite	32
Acidez libre.....	32
Índice de peróxidos.....	33
Coeficiente de extinción ultravioleta (K232, K270 y ΔK)	34
Polifenoles totales	35

CONCLUSIONES..... 37
BIBLIOGRAFÍA..... 38
APÉNDICE I 43

RESUMEN

Diversas investigaciones sugieren que desde mediados del siglo XX ha surgido un creciente interés por el uso de los extractos de algas marinas en la agricultura. Estas indagaciones han permitido comprobar que tanto las enmiendas al suelo, como las aplicaciones foliares de este tipo de preparados, han conferido a los cultivos una mayor adaptabilidad al medio en el cual se desarrollan, además de incidir positivamente en sus rendimientos. En el área olivícola, su uso ha buscado promover una mayor biosíntesis de lípidos en los frutos, con el fin de mejorar el rendimiento graso y adelantar las cosechas. Dado lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la aplicación de Stimplex® (extracto de la alga *Ascophyllum nodosum*) en olivos variedad Arbequina, sobre la acumulación de aceite en los frutos, el crecimiento vegetativo y la calidad del aceite obtenido, para lo cual se consideraron dos tratamientos (Control y Stimplex®). En cuanto a la medición de las variables, el seguimiento de los frutos se llevó a cabo mediante muestreos en los cuales se evaluó: peso promedio, tamaño, relación pulpa/carozo, contenido de humedad, contenido de aceite y parámetros de calidad; en el caso del árbol solo se realizó una medición al final de la temporada que contempló: largo de brotes, largo de entrenudos, número de entrenudos, cantidad de frutos por árbol y masa de frutos por árbol; finalmente, en el caso del aceite, los parámetros de calidad medidos fueron: acidez libre, índice de peróxidos, coeficiente de extinción ultravioleta y polifenoles totales. En cuanto a los resultados obtenidos, las variables peso y tamaño de los frutos presentaron diferencias significativas respecto al Control, debido a la presunta acción que desempeñaron las citoquininas presentes en Stimplex®, sobre la partición y movilización de los nutrientes; en relación al contenido de aceite en base a materia seca y al crecimiento vegetativo del árbol, no se observó efecto del tratamiento; finalmente en cuanto a los parámetros de calidad del aceite, ambos tratamientos obtuvieron valores dentro de lo establecido por el Consejo Oleícola Internacional (COI) lo que permitió categorizarlos como aceite de oliva Virgen Extra.

Palabras claves: *Olea europea*, *Ascophyllum nodosum*, Stimplex®, biosíntesis de lípidos, citoquininas.

ABSTRACT

Research suggests that since the mid-20th century there has been a growing interest in the use of seaweed extracts in agriculture. These investigations have made it possible to verify that both soil amendments and foliar applications of this type of preparation have given the crops greater adaptability to the environment in which they grow, in addition to having a positive impact on their yields. In the olive growing area, its use has sought to promote greater lipid biosynthesis in fruits, in order to improve fat yield and advance harvests. Given the above, the present study aimed to evaluate the effect of the application of Stimplex® (extract of the alga *Ascophyllum nodosum*) in Arbequina variety olive trees, on the accumulation of oil in the fruits, the vegetative growth and the quality of the oil obtained, for which two treatments were considered (Control and Stimplex®). Regarding the measurement of the variables, the monitoring of the fruits was carried out through samplings in which the following were evaluated: average weight, size, pulp / stone ratio, moisture content, oil content and oil quality parameters; In the case of the tree, only one measurement was made at the end of the season that included: shoot length, internode length, number of internodes, number of fruits per tree and mass of fruits per tree; finally, in the case of oil, the quality parameters measured were: free acidity, peroxide index, ultraviolet extinction coefficient and total polyphenols. For the results obtained, the weight and size variables of the fruits showed significant differences with respect to the Control, due to the presumed action that the cytokinins present in Stimplex® had on the partition and mobilization of the nutrients; Regarding the oil content based on dry matter and the vegetative growth of the tree, no treatment effect was observed; Finally, regarding the oil quality parameters, both treatments obtained values within the established by the International Olive Council (IOC), which allowed them to be categorized as extra virgin olive oil.

Keywords: European *Olea*, *Ascophyllum nodosum*, Stimplex®, lipid biosynthesis, cytokinins.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemoriales, el cultivo del olivo ha sido muy promovido por las distintas culturas oriundas del mediterráneo, debido a los múltiples usos que le otorgaban al aceite que extraían de sus frutos (Fichet y Henríquez, 2013d).

A América llegó en las naves de Cristóbal Colón en 1492 desde Sevilla a las Indias del Oeste, islas que hoy forman parte de las Bahamas, desde donde se propagó al resto del continente. En 1560, ya había plantaciones de olivos en México, las que más tarde llegaron a Perú, California, Argentina y Chile (ChileOliva, s/a).

En Chile el cultivo se extendió principalmente en el Valle Central los primeros años, ya que en esta zona se concentraba toda la actividad agrícola nacional (ChileOliva, s/a). Sin embargo, las plantaciones no tardaron en abarcar una mayor superficie, concentrándose hoy más del 94 % del total de las 22.000 hectáreas plantadas, entre las latitudes 27,2°S (región de Atacama) y 35,4°S (región del Maule) (Fichet y Henríquez, 2013e).

Según lo señalado anteriormente, la superficie olivícola está distribuida en diversas zonas con características edafoclimáticas muy diferentes entre sí, por lo que los factores externos como: temperatura, pluviometría, humedad relativa, radiación, suministro hídrico y nutrientes minerales, inciden fuertemente en el comportamiento fenológico del árbol y en el crecimiento y desarrollo del fruto (Lavee y Wodner, 1991).

Trentacoste *et al.* (2012) sostienen que la temperatura tiene una alta influencia en el proceso de biosíntesis y acumulación de aceite en el fruto, lo que permite inferir que en localidades donde la acumulación térmica es menor, debido a que las temperaturas son más bajas, se induce una menor biosíntesis y acumulación de ácidos grasos en los frutos durante el proceso de crecimiento y maduración de éstos, provocando que dicha acumulación ocurra más tarde en la temporada, motivando a los olivicultores a mantener la fruta por más tiempo en el árbol a la espera de alcanzar la cantidad de aceite deseada (Fichet y Henríquez, 2013e). Esta decisión trae consigo el riesgo de que la fruta sufra daños provocados por heladas, ya que conforme se acerca el invierno es más probable la ocurrencia de éstas (Tapia *et al.*, 2003) y, además, es más factible que se acrecienten los factores que dan cabida a la alternancia productiva, debido a que la presencia de fruta en el árbol inhibe la futura floración (Beyá-Marshall y Fichet, 2016).

En este contexto, es necesario poder contar con herramientas que permitan adelantar la biosíntesis y posterior acumulación de lípidos en los frutos, en zonas donde la acumulación térmica es menor, con el fin de llegar al rendimiento esperado sin tener que retrasar la

cosecha. Es así como surge la excelente alternativa de suministrar bioestimulantes a base de macroalgas marinas para mitigar dicho efecto (Chouliaras *et al.*, 2009).

Las aplicaciones de extractos de algas marinas, tanto al suelo como al follaje, surgen como una forma de dar solución a los problemas antes expuestos, ya que muestran una amplia gama de respuestas positivas en los cultivos a los que se aplican, teniendo un impacto significativo en la estructura del suelo y en su capacidad de retener humedad; en el desarrollo de raíces y su capacidad de absorber agua y nutrientes; en el crecimiento de brotes y la aptitud de realizar fotosíntesis por parte de las hojas; en el rendimiento y además, en otorgar resistencia a los diversos tipos de estrés tanto bióticos como abióticos (Khan *et al.*, 2009).

Según Khan *et al.* (2009) las macroalgas marinas, base fundamental de los extractos antes mencionados, forman parte integral de ecosistemas marinos costeros ubicados en zonas templadas y subárticas de los océanos del mundo. Se clasifican en tres grupos según su pigmentación: Phaeophyta (algas marrones o pardas), Rhodophyta (algas rojas) y Chlorophyta (algas verdes), siendo las pardas las más comúnmente utilizadas en la agricultura (Craigie, 2010) y entre ellas *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol, la más investigada (Ugarte *et al.*, 2006).

Un extracto derivado de alga parda *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol, denominado comercialmente Stimplex®, es utilizado como bioestimulante en muchas especies cultivadas como tomate, vid y manzanas, entre otras, para mejorar los rendimientos y la calidad de la fruta (Craigie, 2010). Su composición química en términos de macro y micronutrientes minerales, tales como: nitrógeno (0,5 – 1,0 %), fósforo (2,5 – 3,5 %), potasio (3,0 – 5,0 %), azufre (0,2, 0,4 %), calcio (0,08 – 0,12 ppm), magnesio (0,04 – 0,1 %), hierro (20 – 50 ppm), boro (10 - 30 ppm) y zinc (5 – 10 ppm) y de reguladores de crecimiento, entre los que destacan las citoquininas (ingrediente activo del producto) presente en un 0,01 % (Apéndice 1).

Chouliaras *et al.* (2009) señalan que cuando se aplican extractos de algas marinas en forma conjunta con una apropiada fertilización de nitrógeno y boro, en olivos variedad Koroneiki, es posible obtener un incremento importante tanto en la productividad, como en el contenido de aceite de los frutos, que puede alcanzar un 51 % y un 33 % respectivamente. Así mismo, es posible lograr un adelanto en la maduración, la que se puede constatar mediante el desarrollo del color en la epidermis de los frutos más temprano en la temporada.

Objetivo general

Determinar el efecto de la aplicación de Stimplex® en olivos, variedad Arbequina, con baja carga frutal, sobre la acumulación de aceite en el fruto, el crecimiento vegetativo y la calidad final del aceite obtenido.

Objetivos específicos

- Cuantificar la acumulación de aceite en los frutos durante la temporada.
- Medir el crecimiento de brotes y el número y largo de entrenudos en plantas de olivo.
- Determinar la calidad química de los aceites obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en un cuartel del huerto olivícola Fundo Don Alonso, ubicado en la Región del Maule, provincia de Curicó, comuna de Sagrada Familia, Ruta K-40 S/N, Villa Prat, perteneciente a la empresa Siracusa S.A.

Las mediciones a los árboles se realizaron en el huerto propiamente tal, mientras que las evaluaciones a los frutos durante su crecimiento y desarrollo, junto con la extracción del aceite y sus respectivos análisis, se realizaron en el Laboratorio de Aceite de Oliva perteneciente Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Se utilizaron 40 plantas de *Olea europaea* variedad Arbequina, del huerto anteriormente mencionado, establecido en el año 2007, con un marco de plantación de 3,8 x 1,5 m, en temporada de baja carga frutal.

Se empleó un extracto de algas pardas (bioestimulante), marca comercial Stimplex®, proporcionado por la empresa Acadian Chile, el cual fue aplicado con una bomba de espalda.

Los frutos fueron pesados en una balanza analítica (0,0001 g de sensibilidad) marca Moretti, modelo AND GR-200,

La molienda de los frutos se realizó en un molino de martillo.

El secado de las muestras se llevó a cabo en una estufa a presión atmosférica marca Binder, modelo ED 23.

Para realizar la extracción del aceite se utilizó el equipo marca Oliomio, modelo “mini” (30 kg·h⁻¹ de capacidad)

Los análisis de laboratorio relacionados con calidad del aceite fueron realizados mediante un espectrofotómetro ultravioleta marca Ray-Leigh, modelo UV-1600 UV/VIS.

Métodos

Tratamientos

Se realizaron dos tratamientos: Control (T0) y Stimplex® (T1), con cuatro repeticiones cada uno. Control correspondió al tratamiento testigo, mientras que Stimplex® fue el tratamiento donde se aplicó el extracto de algas pardas en cinco estados fenológicos del olivo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estados fenológicos del olivo, variedad Arbequina, en los que se llevó a cabo la aplicación de Stimplex®.

Nº de aplicación	Estado fenológico del olivo	Fecha
1	Ramillete floral expuesto	31 de octubre, 2018
2	Plena flor	21 de noviembre, 2018
3	Post-cuaja	13 de diciembre, 2018
4	15 días antes de endurecimiento de carozo	14 de enero, 2019
5	15 después de endurecimiento de carozo	14 de febrero, 2019

La toma de muestras de frutos se realizó de forma manual mediante el método de ordeña y se inició cuatro semanas después de ocurrido el endurecimiento de carozo (29 de enero, 2019), según muestra el Cuadro 2. Cada muestra fue de aproximadamente 200 g y estuvo compuesta de cuatro submuestras, las cuales fueron tomadas de cuatro de los ocho árboles constituyentes de la unidad experimental, específicamente los pertenecientes a la parcela principal (ver Modelo estadístico)

Cuadro 2. Fechas de muestreo de frutos de olivos variedad Arbequina, para análisis de peso promedio de frutos, tamaño de frutos, relación pulpa/carozo, contenido de humedad y contenido de aceite.

Muestreos	Fechas
1	26 de febrero
2	12 de marzo
3	27 de marzo
4	11 de abril
5	2 de mayo
6	14 de mayo
7	28 de mayo
8	05 de junio

Estas muestras fueron identificadas (según tratamiento y repetición) y trasladadas al laboratorio en bolsas plásticas, selladas herméticamente, dentro de recipientes capaces de mantener una temperatura ambiente baja, con el fin de reducir la tasa respiratoria de los frutos y con ello la transpiración. Sin embargo, el 28 de mayo no fue posible cumplir con dicho protocolo, ya que el transporte encargado de trasladar las muestras desde Curicó a Santiago tardó más de lo habitual, lo que provocó una deshidratación inesperada e indeseada.

En términos de irrigación, los árboles pertenecientes a cada unidad experimental fueron regados mediante riego presurizado (goteo), con el objetivo de restituir el 100 % del agua evapotranspirada por el cultivo durante toda la temporada de crecimiento, sin embargo, entre los meses de enero y marzo los recursos hídricos disminuyeron tan drásticamente, que no fue posible cumplir con el calendario de riego estipulado.

Diseño experimental

Las evaluaciones realizadas se categorizaron en: árbol, frutos y aceite. Dentro de cada categoría se midieron distintas variables, las cuales requirieron de diseños experimentales diferenciados. En el caso de los frutos se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizados con estructura de parcelas divididas, mientras que en el caso del árbol y del aceite se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizados.

La unidad experimental asociada a dichos diseños experimentales estuvo compuesta de ocho árboles, cuatro de los cuales formaron parte de la parcela principal (propia del diseño experimental con estructura de parcelas divididas), mientras que los cuatro restantes fueron utilizados para realizar las mediciones relacionadas con el diseño en bloques completamente aleatorizados.

Modelo estadístico

El modelo estadístico, según Di Rienzo *et al.* (2005), que permitió medir las variaciones de los frutos a lo largo de la temporada fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \gamma_{ijk} + (\tau\gamma)_{ik} + \varepsilon_{ijk} \text{ donde:}$$

Y_{ijk} : representa la observación en el k-ésimo nivel del factor aplicado a la subparcela, de la i-ésima parcela principal en el j-ésimo bloque.

μ : representa la media general.

τ_i : representa el efecto del i-ésimo nivel del factor aplicado a la parcela principal.

β_j : representa el efecto del j-ésimo bloque.

$(\tau\beta)_{ij}$: representa el error experimental de las parcelas principales (variación aleatoria entre las parcelas principales tratadas de la misma forma), que se simboliza como la interacción entre el factor principal y los bloques.

γ_{ijk} : representa el efecto del k-ésimo nivel del factor asociado a la subparcela dentro de la i-ésima parcela principal del j-ésimo bloque.

$(\tau\gamma)_{ik}$: representa la interacción del factor principal con el factor aplicado a las subparcelas.

ε_{ijk} : representa el error experimental a nivel de las subparcelas.

Para ello se utilizaron cuatro bloques completamente aleatorizados, en los cuales estuvieron contenidas las parcelas principales, que como se dijo anteriormente, estaban compuestas de cuatro de los ocho árboles que constituyeron la unidad experimental. A cada parcela principal se le aplicó el factor “Tratamiento” (factor principal), el cual contó con dos niveles (con y sin aplicación del extracto de algas pardas), dando origen a dos tratamientos (Control y Stimplex®). A su vez, cada parcela principal fue dividida en subparcelas, correspondientes a las distintas fechas en las que se realizaron los muestreos, por lo tanto, las subparcelas correspondieron al factor “Tiempo”.

Luego, para medir las variables relacionadas con el árbol y el aceite, fue necesario utilizar el modelo estadístico de Di Rienzo *et al.* (2005), el cual consideró solo una medición al final de la temporada (cosecha). En este caso, el factor de interés solo fue el factor “Tratamiento”, el cual también contó con dos niveles (con y sin aplicación del extracto de algas), por lo que, los tratamientos obtenidos fueron los mismos (Control y Stimplex®).

$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$, donde:

Y_{ij} : representa la observación en el i-ésimo tratamiento del j-ésimo bloque.

μ : representa la media general.

τ_i : representa el efecto del i-ésimo tratamiento.

β_j : representa el efecto del j-ésimo bloque.

ϵ_{ij} : representa el error experimental

Manejo del ensayo

- Las aplicaciones del bioestimulante se realizaron con una bomba de espalda, en ambas exposiciones del árbol, desde la copa hacia la base. La dosis utilizada fue de 3 L ha⁻¹ y el volumen de mojamamiento de 1500 L ha⁻¹ (concentración: 0,2% v/v), lo que dio como resultado un mojamamiento de 0,79 L árbol⁻¹ (huerto intensivo con 1900 árboles ha⁻¹).
- Uno de los árboles pertenecientes a la unidad experimental, que no formó parte de la parcela principal, fue marcado al comienzo de la temporada (12 de marzo, 2019) con el fin de realizar las mediciones que se llevarían a cabo el día de la cosecha. Además, se marcaron ocho ramas del mismo árbol con el fin de medir las variables relacionadas con el crecimiento vegetativo.
- Los muestreos de fruta se realizaron aproximadamente cada dos semanas, en los árboles pertenecientes a la parcela principal. Las muestras se dispusieron en bolsas plásticas selladas enviadas al laboratorio para ser analizadas.
- Los árboles que no formaron parte de la parcela principal, pertenecientes a la unidad experimental, fueron cosechados el 5 de junio del 2019 de forma independiente, mediante cosecha mecanizada. La fruta obtenida fue la utilizada para la extracción del aceite posteriormente analizado.
- La fruta proveniente de los árboles marcados fue pesada en el mismo campo con el fin de evitar problemas de pérdidas y luego fue trasladada al laboratorio para la extracción de aceite.

Evaluaciones

Variables medidas en el árbol

-Largo de brotes: se midió el crecimiento de la madera del año en las ramas marcadas al final de la temporada. Con los valores obtenidos se calculó la media aritmética y el resultado se expresó en centímetros.

-Largo de entrenudos: sobre la madera del año de las ramas marcadas se midió el largo de los entrenudos (cálculo en base al crecimiento de la temporada y el número de entrenudos). Con los valores obtenidos se calculó la media aritmética y el resultado se expresó en centímetros.

-Número de entrenudos: el conteo se realizó en el crecimiento de la temporada (madera del año) de las ramas marcadas y con los valores obtenidos se calculó la media aritmética.

-Cantidad de frutos por árbol: se pesaron 100 frutos con el fin de calcular su peso promedio. Luego, el rendimiento obtenido (kg) se dividió por dicho valor para obtener el número promedio de frutos por árbol.

-Masa de frutos por árbol: se cosecharon todos los frutos de los árboles marcados para dicha medición y se pesaron. El resultado se expresó en kilogramos de frutos por árbol.

Variables medidas en los frutos por muestreo

-Peso promedio de los frutos: se obtuvo el peso de 50 frutos mediante balanza, con los que se obtuvo su media. El resultado se expresó en gramos.

-Tamaño del fruto: con un pie de metro digital marcar Ubermann se midió el diámetro ecuatorial y polar a una submuestra compuesta de 25 frutos (tomada de la muestra de 200 g mencionada en el apartado “Tratamientos”). Los valores obtenidos se promediaron y el resultado se expresó en centímetros.

-Relación pulpa/carozo: se tomaron 50 g de fruta y se separó la pulpa del carozo de forma manual. Los carozos fueron pesados y por diferencia se calculó el peso del mesocarpio. Con los valores obtenidos se determinó la relación.

-Contenido de humedad: se determinó mediante el método de secado en estufa. El resultado se expresó en porcentaje (Sepúlveda, 1998).

-Contenido de aceite: se determinó mediante el método de Soxhlet. El resultado se expresó en porcentaje de aceite en base a materia seca y en base a materia húmeda (Frías *et al.*, 2001).

Variables medidas en el aceite

-Acidez libre: se determinó por titulación con KOH. El resultado se expresó en porcentaje de ácidos grasos libres, específicamente ácido oleico (Sepúlveda, 1998).

-Índice de peróxidos: el contenido de oxígeno reactivo en el aceite se determinó mediante Iodometría. El resultado se expresó en miliequivalentes (meq) de peróxidos por 1000g de aceite (Sepúlveda, 1998).

-Coeficiente de extinción ultravioleta (K₂₇₀, K₂₃₂ y ΔK): se midió en un espectrofotómetro ultravioleta, a longitud de onda de 232, 266, 270 y 274 nm (Frías *et al.*, 2001).

-Polifenoles totales: se determinó mediante espectrofotometría con el método de Folin-Ciocalteu (espectrofotómetro ultravioleta), a longitud de 725 nm. El resultado se expresó en ppm de ácido cafeico (Tsimidou, 1998).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables medidas en los frutos a través del tiempo (diseño experimental con estructura de parcelas divididas) se realizó mediante un análisis de la varianza, el cual consistió en estudiar el comportamiento de los factores “Tratamiento” y “Tiempo” (actuaron de forma independiente o hubo interacción entre ellos). Cuando dichos factores presentaron diferencias estadísticamente significativas fue necesario realizar una prueba de comparaciones múltiples (método de comparación de Tukey).

Cuando se trató de las variables medidas en el árbol y en el aceite se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia del 5 %, previa verificación de los supuestos del modelo en el software estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables medidas en el árbol

Largo de brotes, número de entrenudos y largo de entrenudos

El olivo es un árbol que fructifica en madera de un año, por lo que, es fundamental que durante la época en que ocurre el crecimiento vegetativo, exista un buen desarrollo de los brotes, ya que serán éstos los responsables de sustentar la producción de la temporada siguiente. El obtener brotes más largos, en donde además exista un mayor número de nudos, posibilitará el desarrollo de más inflorescencias, las que posteriormente darán origen a los frutos que contribuirán a la obtención de un mayor rendimiento (Fichet y Henríquez, 2013e). Las aplicaciones de Stimplex buscaron, entre otras cosas, promover dicho desarrollo, con el fin de incidir en lo anteriormente señalado, sin embargo, cuando se compararon estadísticamente T0 y T1, fue posible concluir que las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas para las variables presentadas en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Variables medidas en los brotes al final de la temporada de crecimiento, en olivos variedad Arbequina.

Tratamiento	Largo de brote	Largo entrenudo promedio	Número entrenudos
	cm		n°
Control	17,99 a*	2,52 a	7,51 a
Stimplex®	17,91 a	2,39 a	7,07 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

A pesar de que los resultados obtenidos confirman que el uso de este bioestimulante no tuvo efecto significativo sobre las variables anteriormente señaladas (Cuadro 3), es importante mencionar que Rayorath *et al.* (2007) sostienen lo contrario. Mediante bioensayos de invernadero demostraron que plantas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh tratadas con extractos de *A. nodosum*, produjeron diversas respuestas positivas concernientes al crecimiento vegetativo, destacándose entre ellas un marcado efecto promotor sobre el desarrollo de los brotes, los cuales experimentaron un aumento significativo en su longitud, desarrollo de nudos y origen de nuevas hojas. Estas diferencias se podrían atribuir, según los mismos autores, a que este tipo de tratamientos tienen una

incidencia muy variada en la fisiología de las plantas (incluso cuando se aplica la misma marca comercial), debido a la composición bioquímica propia de cada producto y a que su amplia gama de compuestos bioactivos (luminaran, betaínas, esteroides, fenoles, ácidos grasos, etc.) (Khan *et al.*, 2009), producen complejas interacciones entre sí, que impiden precisar su comportamiento dentro de las plantas. Esto último ha motivado diversas investigaciones con el propósito de aislar y caracterizar dichas sustancias, con el fin de conocer más específicamente su función dentro de ellas.

Cantidad y masa de frutos por árbol

Cuando se trabaja durante una temporada de baja carga frutal (n° frutos árbol⁻¹), como es el caso de este ensayo, es importante realizar prácticas de manejo que permitan retener la mayor cantidad de frutos en el árbol. En este contexto las tres primeras aplicaciones de Stimplex® (Cuadro 1) buscaron, entre otras cosas, incidir positivamente sobre dicha carga. Según Fichet y Henríquez (2013c) el uso de citoquininas (fitohormonas responsables de la partición y movilización de nutrientes e ingrediente activo en este tipo de extractos) durante las últimas etapas de la diferenciación floral (últimas semanas prefloración), permite a las plantas producir flores de mejor calidad (Craigie, 2010), debido a que aumentan considerablemente el poder sumidero de las yemas reproductivas en formación (Li *et al.*, 2010), lo que permite que una mayor cantidad de fitoasimilados (productos derivados de la fotosíntesis) quede a disposición de las inflorescencias próximas a desarrollarse. A su vez, aplicaciones durante las primeras semanas postfloración favorecen el cuajado de los frutos y el desarrollo embrionario, además de influir positivamente en las caídas naturales, debido a que aumentan el poder sumidero de los frutos en formación, permitiendo que la oferta de fitoasimilados destinados a los órganos reproductivos se incremente (Fichet y Henríquez, 2013c), lo que trae consigo un aumento en la cantidad de frutos retenidos por parte del árbol.

Si bien lo anteriormente expuesto está ampliamente documentado, no fue posible corroborarlo en esta investigación, ya que cuando se analizaron estadísticamente los resultados obtenidos, ambos tratamientos (Control y Stimplex®) no presentaron diferencias significativas (Cuadro 4), lo que se pudo deber, entre otras razones, al incumplimiento del régimen hídrico (riego) entre los meses de diciembre y marzo. Pastor *et al.* (2001) sostienen que las carencias de agua durante la inducción y/o la diferenciación de las yemas vegetativas perjudica considerablemente la floración de los árboles de olivo, debido a que ambos procesos se ven inhibidos por la falta de fitoasimilados. Por otro lado, Fichet y Henríquez (2013e) argumentan también, que la ocurrencia de un déficit hídrico durante el periodo en que se están diferenciando los órganos reproductivos, promueve la formación de flores estaminíferas (masculinas), lo que trae consigo una disminución en el número de

flores perfectas (hermafroditas) y, por ende, en el número potencial de frutos. Se puede mencionar también como posibilidad, que la primera aplicación del extracto de algas pardas Stimplex® fue realizada tarde, cuando la diferenciación floral de las yemas vegetativas ya había finalizado, por lo que no existió incidencia positiva sobre la producción de flores perfectas. Según Fichet y Henríquez (2013c) la mejor fecha para realizar aplicaciones de productos ricos en citoquininas en la zona central del país y lograr un impacto positivo sobre dicha diferenciación, es entre la primera semana de agosto y la segunda de septiembre, sin embargo, en este estudio fue realizada el 31 de octubre, un mes y medio después de haber finalizado el periodo óptimo (Cuadro 1).

Ahora bien, cuando dichos resultados fueron comparados con los señalados en el estudio de Coronado (2018), quien reportó 4.713 frutos árbol⁻¹, fue posible inferir que dicho autor trabajó durante un año de alta carga frutal, ya que la diferencia entre ambas investigaciones fue notoriamente amplia.

Cuadro 4. Variables medidas en los frutos a cosecha, en olivos variedad Arbequina, tratadas con dos concentraciones de Stimplex®.

Tratamiento	Carga frutal	Rendimiento
	n° frutos árbol ⁻¹	kg frutos árbol ⁻¹
Control	7.515 a*	6,49 a
Stimplex®	5.876 a	6,45 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

En términos de rendimiento (kg frutos árbol⁻¹) tampoco hubo diferencias significativas cuando se comparó estadísticamente T1 respecto de T0 (Cuadro 4), lo que se contrapone a los resultados expuestos por Fichet y Henríquez (2013c) en sus ensayos, quien comprobó que aspersiones de citoquininas en arboles de olivo variedad Leccino, al estado de inflorescencia expandida y/o inicio del desarrollo de frutos, mejoran la calidad de las flores y fortalecen el cuajado, lo que trae consigo un aumento en la producción. Esta diferencia se podría atribuir a lo anteriormente planteado, el incumplimiento del régimen de riego no permitió que el producto expresara su potencialidad.

Al igual que Fichet y Henríquez (2013c), Norrie y Keathley (2006) comprobaron mediante su investigación que el uso de este tipo de extractos tiene un efecto positivo sobre el rendimiento de la uva de mesa Thompson, incidiendo directamente sobre sus componentes (número de bayas por racimo, tamaño de bayas, peso de bayas, longitud del raquíz y número de racimos por planta).

Ahora bien, cuando los valores obtenidos para la variable rendimiento (Cuadro 4) fueron comparados con los reportados por Sudzuki (2006) en su estudio realizado en olivos en la localidad de Cholqui (Comuna de Melipilla, Región Metropolitana), donde dicha variable alcanzó los 15,7 kg frutos árbol⁻¹, fue posible notar la amplia diferencia entre los valores. Estas diferencias se podrían justificar mediante lo expuesto por Fichet y Henríquez (2013e), quienes sostienen que las diferencias edafoclimáticas existentes entre las distintas zonas productivas (incluso dentro de las mismas) influyen enormemente en el comportamiento fisiológico de los árboles de olivo, lo que genera alteraciones en las ya mencionadas inducción y diferenciación de las yemas vegetativas y, por ende, en la formación de flores.

Variables medidas en el fruto por muestreo

El rendimiento oleico y cada uno de sus componentes (número de frutos, peso promedio de frutos, tamaño de frutos y concentración de aceite en los frutos), son variables que están estrechamente relacionadas con la carga frutal del olivo (Fichet y Henríquez (2013c), 2013) y con la relación fuente-sumidero que experimenta la planta durante toda la temporada de crecimiento (balance de carbono) (Fichet y Henríquez (2013b), además de las condiciones ambientales, el manejo agronómico y las características genéticas de la variedad que se esté cultivando (Trentacoste *et al.*, 2010), por lo que es fundamental tener en consideración cada uno de estos factores al evaluar cómo responden las plantas una vez que son sometidas a distintos tratamientos químicos u orgánicos.

Tamaño del fruto

El fruto del olivo corresponde a una drupa cuya curva de crecimiento está determinada por tres fases de desarrollo, las cuales han sido descritas por Fichet y Henríquez (2013e). Su tamaño constituye una característica varietal que puede verse alterada cuando se modifica la carga frutal del árbol (Lavee y Wondner, 2004). Dicho tamaño es determinante cuando el objetivo productivo busca maximizar el rendimiento graso, ya que el volumen del mesocarpio, tejido encargado de llevar a cabo la biosíntesis de lípidos, se relaciona directamente con el tamaño de las olivas (Beyá-Marshall y Fichet, 2016).

En los Cuadros 5 y 6 se presentan los resultados obtenidos al analizar estadísticamente la variable “tamaño del fruto” (ecuatorial y polar), de los cuales es posible desprender que los distintos niveles de los factores “Tratamiento” y “Tiempo” generaron interacción entre sí. Para el caso del diámetro ecuatorial de los frutos, hubo marcados efectos de la aplicación del bioestimulante a partir del 11 de abril, existiendo así diferencias estadísticamente significativas entre T0 y T1 desde esa fecha en adelante. Así también, el factor “Tiempo” tuvo efecto dentro de cada tratamiento a partir del 27 de marzo, fecha desde la cual los frutos tratados con Stimplex® presentaron una mayor tasa de crecimiento respecto del control (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto del factor “Tratamiento” en cada nivel del factor “Tiempo”, sobre el diámetro ecuatorial (cm) de olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Tiempo							
	26 febrero	12 marzo	27 marzo	11 abril	2 mayo	14 mayo	28 mayo	3 junio
Control	0,85 a*	0,85 a	0,91 bc	1,02 d	1,06 de	1,08 ef	1,12 f	1,20 g
Stimplex®	0,85 a	0,86 ab	0,95 c	1,12 ef	1,21 g	1,26 g	1,33 h	1,37 h

*Medias unidas por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05) y promedios unidos por letras iguales, en sentido horizontal, no indican diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos dentro de cada tratamiento, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05).

Para el caso del diámetro polar, cuando se evaluó el efecto del factor “Tratamiento” durante el periodo de crecimiento de los frutos, fue posible observar que, a partir del 11 de abril (al igual que lo ocurrido con el diámetro ecuatorial) la tasa de crecimiento de las olivas provenientes de los árboles tratados con el extracto de algas pardas (Stimplex®) fue notoriamente mayor que las provenientes de árboles testigo (Control), llegándose a registrar diferencias de hasta 0,19 cm en los valores de dicha variable el 28 de mayo (Cuadro 6). Esto último cobra real importancia cuando se sabe que un incremento de tamaño, por pequeño que sea, tiene un impacto directo en la relación pulpa/carozo y, por ende, en el volumen del mesocarpio, que, como se dijo anteriormente, es el tejido encargado de llevar a cabo la biosíntesis del aceite y su posterior acumulación. Ahora bien, cuando se evaluó el factor “Tiempo” dentro de T0 y T1, las diferencias estadísticas entre cada fecha de muestreo no fueron tan marcadas cuando se consideraron correlativamente, no así, cuando se compararon los resultados obtenidos el 26 de febrero con los obtenidos a cosecha, donde fue posible aseverar que dicho factor sí generó importantes cambios en el tamaño de las olivas.

Cuadro 6. Efecto del factor “Tratamiento” en cada nivel del factor “Tiempo”, sobre el diámetro polar (cm) de olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Tiempo							
	26 febrero	12 marzo	27 marzo	11 abril	2 mayo	14 mayo	28 mayo	3 junio
Control	1,14 ab*	1,15 ab	1,16 abc	1,22 bc	1,23 bcd	1,25 cde	1,31 def	1,39 fg
Stimplex®	1,11 a	1,13 a	1,18 abc	1,32 ef	1,39 fg	1,42 gh	1,50 hi	1,55 i

*Medias unidas por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05) y promedios unidos por letras iguales, en sentido horizontal, no indican diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos dentro de cada tratamiento, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05).

Ahora bien, cuando sólo se consideraron los resultados obtenidos el 3 de junio (Cuadro 5 y 6) y se compararon con los reportados por Coronado (2018), quien obtuvo valores de 1,21

cm para el diámetro polar y 1,35 cm para el diámetro ecuatorial, quedó en evidencia que las olivas tratadas con Stimplex® fueron significativamente más grandes (1,39 cm y 1,55 cm respectivamente). Estas discrepancias se podrían atribuir a que la carga frutal de los árboles implicados en cada estudio presentó notorias diferencias. Por un lado, Coronado (2018) trabajó durante una temporada de alta carga frutal, mientras que esta investigación se realizó durante una temporada de baja carga frutal. Según Fichet y Henríquez (2013b) el crecimiento de las olivas (órganos sumideros) está estrechamente relacionado con el balance que existe entre la oferta de asimilados producidos durante la fotosíntesis en los órganos fuentes (principalmente hojas) y la demanda de carbono requerida por los sumideros. Cuando los árboles presentan una alta carga frutal, la demanda respiratoria de los sumideros supera la capacidad que tienen las hojas de producir carbono, lo que provoca que el crecimiento de los frutos se vea limitado.

Estas diferencias también se podrían atribuir a que efectivamente los árboles tratados con Stimplex® produjeron frutos de mayor tamaño, debido a la presunta acción que desempeñan las citoquininas sobre la fisiología de las plantas. Fichet y Henríquez (2013c) sostiene que una alta concentración de citoquininas en los frutos en formación, durante las primeras semanas postfloración, favorece la división celular de las células constituyentes del mesocarpio, lo que trae consigo un aumento en el número de dichas células, lo cual es muy deseado, ya que el tamaño de las olivas depende más del número de células de la pulpa que del tamaño de éstas (Barranco et al., 2004).

Peso promedio de los frutos

El peso de los frutos y la concentración de aceite que alcanzan en la madurez son las variables más relevantes al momento de determinar el rendimiento graso y el margen económico en los cultivos oleaginosos como el olivo (Trentacoste et al., 2012), por lo que es fundamental promover una mayor ganancia de peso durante el transcurso del crecimiento de dichos frutos.

Al observar el Cuadro 7 es posible precisar el comportamiento que tuvo la variable “peso del fruto” durante el desarrollo de las olivas. Los valores ahí expuestos fueron el resultado de la interacción ocurrida entre los distintos niveles de los factores “Tratamiento” y “Tiempo” durante dicho periodo. Estadísticamente fue posible inferir que las diferencias entre el Control y Stimplex®, producto de la aplicación de extracto de *A. nodosum*, fueron significativas a partir del 11 de abril y se mantuvieron como tal hasta el final de la temporada. En cuanto al factor “Tiempo”, éste no fue determinante dentro de cada tratamiento hasta el 12 de marzo, descartándose así la existencia de diferencias estadísticamente significativas para T0 y T1 hasta dicha fecha. A partir del 27 de marzo

comenzaron a notarse marginales, pero progresivas ganancias de peso en las olivas, salvo el 28 de mayo, donde se registró una pequeña disminución, debido a que, como se dijo en el apartado “Metodos”, el transporte encargado de trasladar las muestras desde Curicó a Santiago tardó más de lo habitual, lo que provocó una deshidratación inesperada e indeseada.

Cuadro 7. Efecto del factor “Tratamiento” en cada nivel del factor “Tiempo”, sobre el peso (g) promedio de olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Tiempo							
	26 febrero	12 marzo	27 marzo	11 abril	2 mayo	14 mayo	28 mayo	3 junio
Control	0,51 a*	0,50 a	0,62 ab	0,84 c	0,89 cd	1,00 de	0,95 cde	1,15 fg
Stimplex®	0,52 a	0,51 a	0,67 b	1,03 ef	1,14 fg	1,34 h	1,26 gh	1,37 h

*Promedios unidas por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05) y promedios unidos por letras iguales, en sentido horizontal, no indican diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos dentro de cada tratamiento, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05).

De la misma forma en que la aplicación del extracto de algas pardas en este ensayo tuvo un efecto positivo sobre el peso de las aceitunas, Crouch y Van Staden (1992) demostraron mediante su ensayo de invernadero, que plantas de tomate tratadas con este tipo de bioestimulantes, durante la época vegetativa, produjeron frutos con un peso fresco 30 % mayor que los cosechados de plantas testigo, lo que podría atribuirse principalmente a un incremento en la concentración de citoquininas en los frutos (Featonby-Smith y van Staden, 1984), que tal como se dijo anteriormente, incrementa el flujo de fitoasimilados y nutrientes desde las fuentes hacia los sumideros (Adams-Phillips et al., 2004), lo que promovería una mayor ganancia de peso. Hahn et al. (1974) sostienen que dicho incremento en la concentración de citoquininas se puede atribuir principalmente a un aumento en la movilización de esta fitohormona desde las raíces hacia los frutos, o más probablemente, a una mayor biosíntesis endógena causada por la acción de dichos extractos sobre la fisiología de las plantas.

Relación pulpa/carozo

Como se mencionó anteriormente, el tamaño del mesocarpio es determinante al momento de evaluar la biosíntesis de aceite, por lo que cualquier variación positiva que pueda ocurrir en este tejido deja de manifiesto un incremento en la tasa de acumulación grasa en los frutos (Beyá-Marshall y Fichet, 2016). Por lo tanto, es necesario crear estrategias que permitan aumentar el tamaño de dicho tejido y con ello influenciar un aumento en el valor de la variable “relación pulpa/carozo”.

Ahora bien, cuando se analizó estadísticamente el impacto que tuvo la aplicación del preparado de algas pardas Stimplex® sobre esta variable, fue posible concluir que los distintos niveles de los factores, “Tratamiento” y “Tiempo”, actuaron de forma independiente y que, por ende, no interactuaron entre sí. Para el caso del factor “Tratamiento”, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo (T0) y T1 cuando se compararon los valores promedios obtenidos de todas las fechas de muestreo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Relación pulpa/carozo de olivas variedad Arbequina, según factor “Tratamiento”, independiente del tiempo evaluado.

Tratamiento	Relación pulpa carozo
	pulpa/carozo
Control	3,48 a*
Stimplex®	3,46 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Cuando se consideró sólo el factor “Tiempo”, fue posible encontrar diferencias estadísticamente significativas entre T0 y T1, lo que se corrobora con lo expuesto Fichet y Henríquez (2013e), quienes afirman que después de endurecimiento de carozo es normal que los valores de esta variable se incrementen, ya que el crecimiento del mesocarpio se acelera debido a la profusa elongación celular.

Cuadro 9. Relación pulpa/carozo de olivas variedad Arbequina, correspondiente a la última fecha de muestreo, realizado el 5 de junio de 2019.

Tratamiento	Relación pulpa carozo
	pulpa/carozo
Control	4,57 a*
Stimplex®	4,65 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Ahora bien, cuando sólo se consideró la última fecha de muestreo (cosecha) (Cuadro 9), fue posible concluir que tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y que los valores obtenidos fueron similares a los reportados por Sudzuki (2006) y Coronado (2018) en sus investigaciones, donde la relación pulpa/carozo alcanzó valores de 5,2 y 4,4 respectivamente.

Contenido de humedad

El agua es el componente mayoritario de las olivas, pudiendo llegar a constituir el 90 % de su peso cuando aún se encuentran en estados inmaduros y aproximadamente el 50 % una vez que alcanzan la madurez (Tapia et al., 2003), estado fenológico en el cual el contenido de aceite (segundo componente mayoritario) alcanza entre el 10 y el 30 % del peso fresco de los frutos (Fichet y Henríquez, 2013a). Durante todo su periodo de crecimiento ambos componentes (humedad y contenido de aceite en base a materia húmeda) pueden variar considerablemente, siendo el suministro hídrico el factor más preponderante al momento de evaluarlo.

En la Figura 1 se grafica la dinámica del agua dentro de las olivas a partir del 26 de febrero, después de ocurrido el endurecimiento de carozo. En ella es posible observar que hasta el 27 de marzo el contenido de humedad tuvo un comportamiento bastante fluctuante, debido mayoritariamente al incumplimiento del régimen de riego, el que se vio fuertemente afectado por la sequía estival. Tal como se dijo en el apartado “Métodos”, el predio en cuestión, entre enero y marzo, quedó prácticamente sin recursos hídricos, debido a que los pozos profundos quedaron en su mayoría secos y los causes superficiales disminuyeron su caudal considerablemente.

En el caso de lo ocurrido el 28 de mayo, el abrupto cambio en el contenido de humedad de los frutos provenientes del tratamiento T0 se debió a que el transporte encargado de trasladar las muestras desde Curicó a Santiago tardó más de lo habitual, lo que provocó una deshidratación inesperada de éstos (apartado “Métodos”). Si bien las muestras de ambos tratamientos (Control y Stimplex®) estuvieron sometidas a las mismas condiciones ambientales (protocolo de traslado), los frutos provenientes de T1 mantuvieron un contenido hídrico mucho más estable que los provenientes de T0, lo que se podría atribuir a que las aplicaciones del bioestimulante le otorgaron una resistencia mayor a la pérdida de agua.

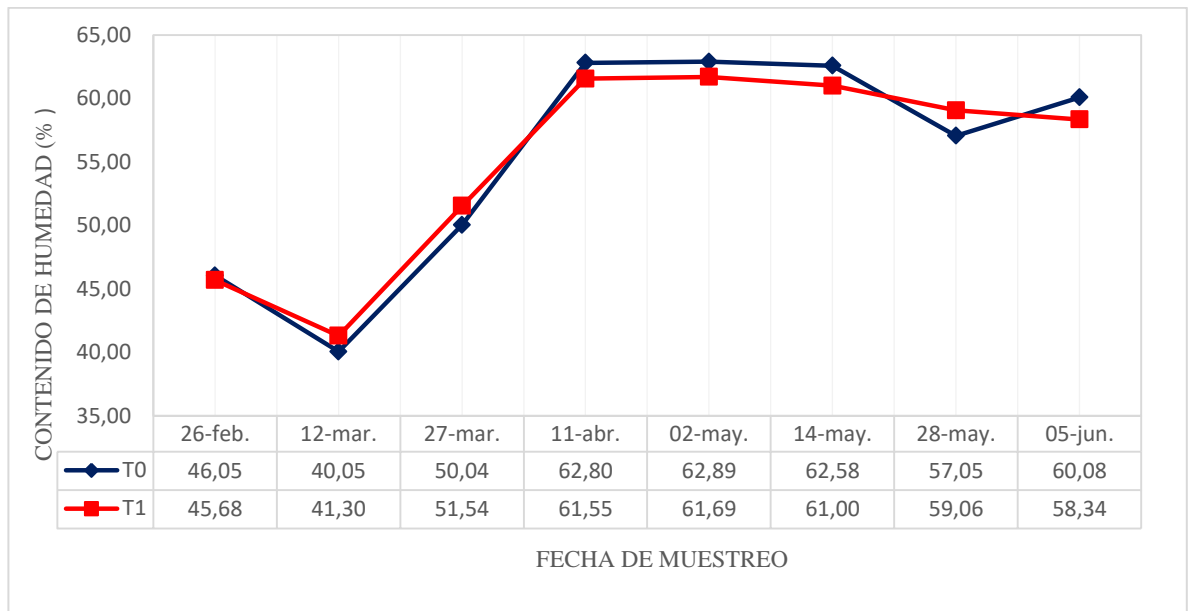


Figura 1. Contenido de humedad (%) medido en olivas variedad Arbequina en distintas fechas a lo largo de la temporada de crecimiento para los tratamientos “Control” y “Stimplex®”.

Ahora bien, en términos estadísticos los resultados mostraron que los factores evaluados, “Tratamiento” y “Tiempo”, actuaron de manera independiente y que solo el factor “Tiempo” presentó diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon las distintas fechas de muestreo dentro de cada tratamiento. Si bien existieron dichas diferencias, el comportamiento del contenido de humedad en las olivas no siguió el patrón señalado por Barranco et al. (2004), quienes sostienen que la cantidad de agua presente en los frutos disminuye conforme éstos se acercan a la madurez, debido al constante incremento del contenido de aceite, lo que pudo deberse en gran medida a los problemas hídricos anteriormente señalados. En cuanto al factor “Tratamiento” la aplicación del bioestimulante no generó influencia sobre el estado hídrico de las olivas durante el periodo de evaluación, presentando en promedio un contenido de humedad de 55,19 % para el Control y 55,02 % para Stimplex® (Cuadro 10).

Cuadro 10. Contenido de humedad (%) en olivas variedad Arbequina, según el factor “Tratamiento”, independiente del tiempo evaluado.

Tratamiento	Contenido de humedad (%)
Control	55,19 a*
Stimplex®	55,02 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Además del análisis de interacción entre los factores “Tratamiento” y “Tiempo”, se evaluó solo el factor “Tratamiento” en la última fecha de muestreo, con el fin de saber si las aplicaciones de Stimplex® influenciaron el contenido de humedad de los frutos cosechados el 5 de junio y si los valores obtenidos para dicha variable fueron similares a los publicados en otras investigaciones. Estadísticamente fue posible afirmar que no existió efecto tratamiento (Cuadro 11) y que los valores obtenidos resultaron estar por debajo al reportado por González (2011) en su ensayo, quien obtuvo un valor de 68,2 % para esta variable.

Cuadro 11. Contenido de humedad (%) en olivas variedad Arbequina, correspondiente a la última fecha de muestreo, realizado el 5 de junio de 2019.

Tratamiento	Contenido de humedad (%)
Control	60,08 a*
Stimplex®	58,34 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Contenido de aceite en base a materia humedad (b.m.h)

La curva de acumulación de aceite en el mesocarpio de las olivas es, por lo general, una curva sigmoidea simple (Tentracoste et al., 2010) cuyo patrón de acumulación en ocasiones puede verse modificado por las condiciones ambientales en la que se llevan a cabo las labores productivas (Lavee y Wodner, 1991) y/o por las prácticas culturales aplicadas en cada huerto (García y Mancha, 1992). Además, cuando se evalúa el contenido de aceite en base a materia húmeda, este patrón de acumulación está fuertemente influenciado por la cantidad de agua que contengan los frutos; así olivas que presenten un mejor estado hídrico van a tener un menor porcentaje graso respecto de las que se encuentren más deshidratadas, a pesar de haber depositado la misma cantidad de aceite en sus mesocarpios.

Dicho esto, es posible notar que en la Figura 2 se representa lo anteriormente planteado. La fluctuación en el contenido de humedad de los frutos (Figura 1) produjo variaciones en el contenido de aceite en base a materia húmeda, lo que explica que el 12 de marzo las olivas de ambos tratamientos presentaran un mayor contenido de aceite que el 27 del mismo mes.

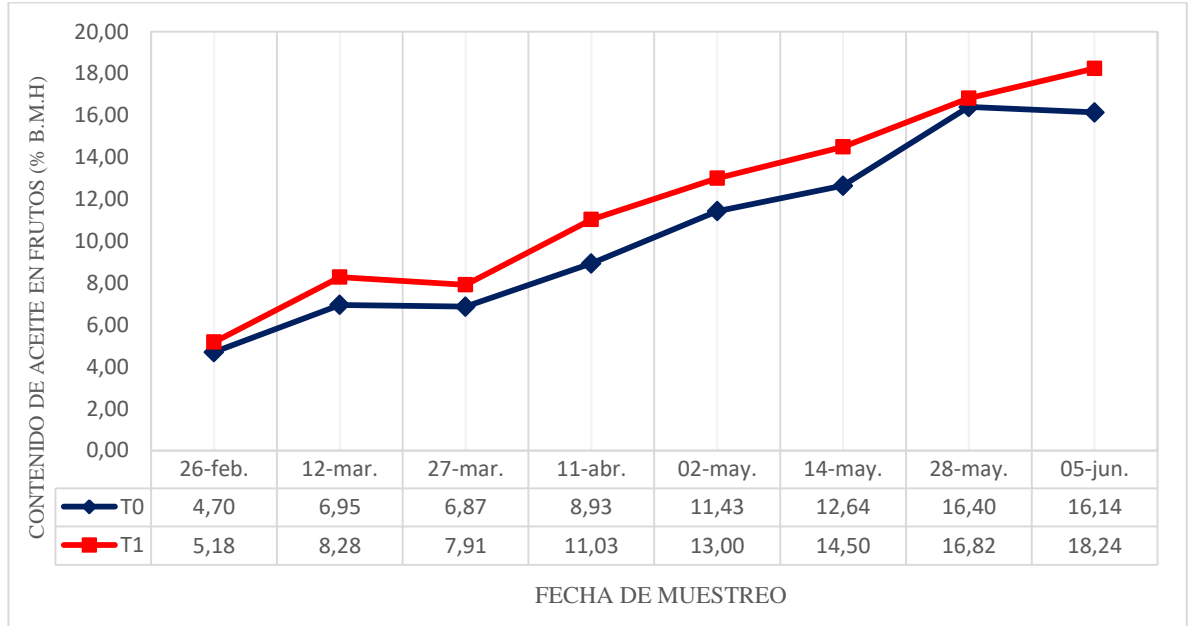


Figura 2. Contenido de aceite b.m.h (%) medido en olivas variedad Arbequina en distintas fechas a lo largo de la temporada de crecimiento para los tratamientos “Control” y “Stimplex®”.

En términos estadísticos al evaluar la interacción de los distintos niveles de los factores “Tratamiento” y “Tiempo” fue posible concluir que actuaron de manera independiente y que solo el factor “Tiempo” presentó diferencias significativas, lo que era de esperar, ya que conforme los frutos se van desarrollando, va aumentando el contenido de aceite en ellos. En cuanto al factor “Tratamiento” las aplicaciones del bioestimulante no tuvieron efecto sobre el contenido de aceite en base a materia húmeda, por lo que los valores promedio para esta variable resultaron ser iguales estadísticamente (Cuadro 12).

Cuadro 12. Contenido de aceite b.m.h (%) en olivas variedad Arbequina, según factor “Tratamiento”, independiente del tiempo evaluado.

Tratamiento	Contenido aceite b.m.h (%)
Control	10,51 a*
Stimplex®	11,87 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Contenido de aceite en base a materia seca (b.m.s)

La Figura 3 muestra el comportamiento que presentó la variable “contenido de aceite en base a materia seca” durante la fase III del crecimiento de los frutos, después de endurecimiento de carozo. En ella es posible observar que el tratamiento Stimplex®, en todas las fechas de muestreo, presentó un mayor porcentaje de aceite respecto al control, pero que dichas diferencias no resultaron ser significativas al ser analizadas estadísticamente. Para llegar a esta conclusión fue necesario conocer el efecto que tuvieron los diferentes niveles de los factores “Tratamiento” y “Tiempo” sobre esta variable y saber si existió interacción entre ellos o actuaron de manera independiente.

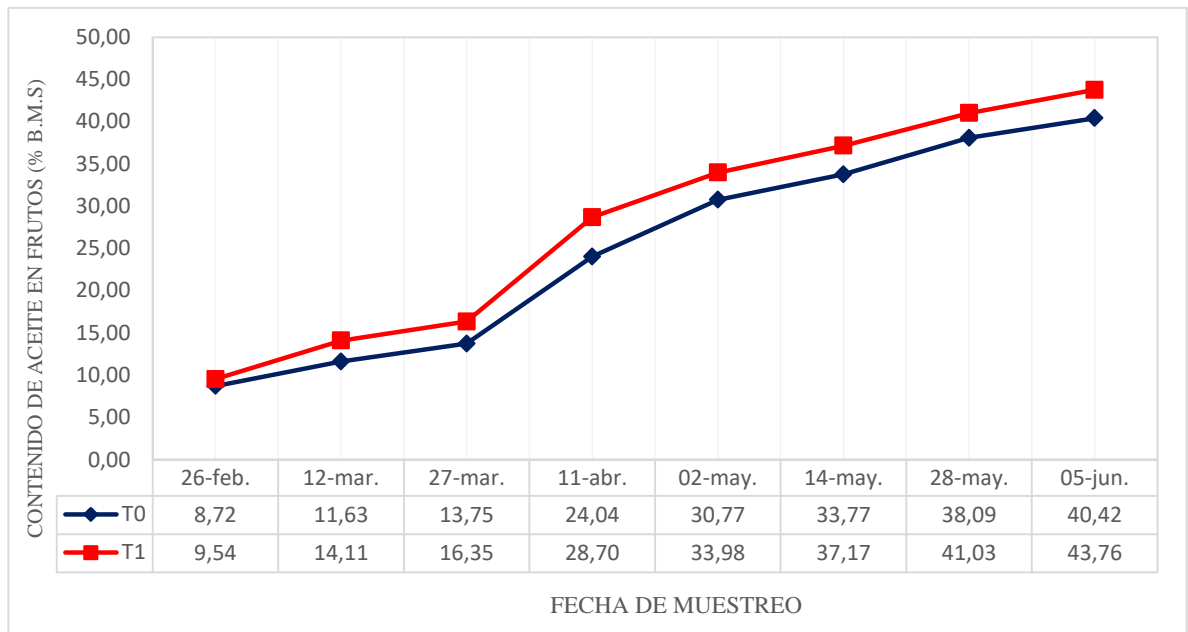


Figura 3. Contenido de aceite b.m.s (%) medido en olivas variedad Arbequina en distintas fechas a lo largo de la temporada de crecimiento para los tratamientos “Control” y “Stimplex®”.

Los resultados obtenidos demostraron que cada factor actuó de manera independiente y que solo el factor “Tiempo” presentó diferencias estadísticamente significativas, lo que fue posible predecir, ya que la biosíntesis de aceite y su posterior acumulación en los frutos, aumenta conforme éstos se acercan a la madurez (Tentracoste et al., 2012). El factor “Tratamiento” no tuvo efecto sobre la producción de aceite, resultando tanto el Control como Stimplex® iguales estadísticamente. En el Cuadro 13 se presenta el contenido de aceite promedio para ambos tratamientos, tomando en consideración todas las fechas de muestreo.

Cuadro 13. Contenido de aceite b.m.s (%) en olivas variedad Arbequina, según factor “Tratamiento”, independiente del tiempo evaluado.

Tratamiento	Contenido aceite b.m.s (%)
Control	25,15 a*
Stimplex®	28,08 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Además del análisis de interacción entre los factores “Tratamiento” y “Tiempo”, se evaluó solo el efecto del factor “Tratamiento” sobre el contenido de aceite en base a materia seca

de los frutos recolectados el 5 de junio (cosecha), con el fin de saber si la aplicación del bioestimulante tuvo efecto sobre el total del aceite acumulado. Los resultados mostraron una diferencia del orden del 3 % entre los tratamientos (Cuadro 14) que, si bien no resultó ser estadísticamente significativa, podría ser interesante al momento de evaluarlo económicamente, ya que pequeñas alzas en el rendimiento industrial de las almazaras significan importantes réditos para los productores.

Cuadro 14. Contenido de aceite b.m.s (%) en olivas variedad Arbequina, correspondiente a la última fecha de muestreo, realizado el 5 de junio de 2019.

Tratamiento	Contenido aceite b.m.s (%)
Control	40,42 a*
Stimplex®	43,76 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p-value > 0,05)

Ahora bien, cuando se compararon los resultados expuestos en el Cuadro 14, con los reportados por Coronado (2018) y González (2011) en sus investigaciones, donde el contenido de aceite en base a materia seca alcanzó un 40,2 % y un 50,4 % respectivamente, fue posible evidenciar que el valor obtenido por González (2011) fue notoriamente mayor, lo que se podría atribuir principalmente a las condiciones ambientales propias del lugar en que llevó a cabo su estudio. Trentacoste et al. (2012) sostienen que, dentro de los factores climáticos más preponderantes relacionados con la biosíntesis de lípidos, la temperatura (específicamente la amplitud térmica) es lo que determina el rendimiento oleico, ya que la acumulación térmica ocurrida desde inicios de floración hasta la madurez del fruto es la que establece la tasa de incremento graso en las olivas durante su época crecimiento (Tapia et al., 2003). De este modo, las biosíntesis de lípidos por parte de los frutos en la comuna de Sagrada Familia, Región del Maule (lugar donde se realizó el presente estudio), fue presuntamente más lenta que la ocurrida en la comuna de Talagante, Región Metropolitana (lugar en donde trabajó González (2011)), debido a que la temperatura media de esta localidad es más baja (dada su ubicación geográfica), lo que restringe la acumulación térmica y, por ende, la acumulación de aceite en las olivas.

En cuanto a la curva de acumulación de aceite es importante mencionar que las temperaturas mínimas, bajo los 10°C, son las que determinan el cambio abrupto en su comportamiento (notorio punto de inflexión producido el 27 de marzo, Figura 4). Cherubini et al. (2008) sostienen que el descenso de las temperaturas mínimas explicaría el aumento en la producción del precursor de la biosíntesis de ácidos grasos acetil-CoA, coenzima derivada de la descomposición de azúcares (glucosa y fructosa) durante el proceso de

glicólisis, lo que sugiere un aumento acelerado en el contenido de aceite en los frutos conforme éstos se acercan a la madurez.

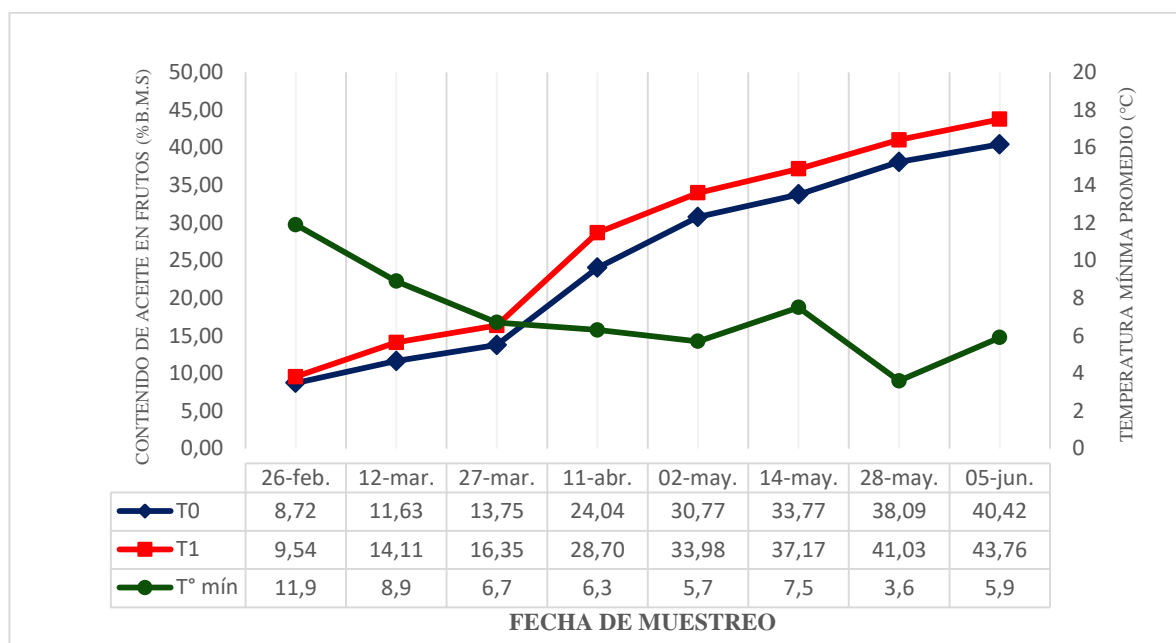


Figura 4. Contenido de aceite b.m.s (%) medido en olivas variedad Arbequina en distintas fechas a lo largo de la temporada de crecimiento para los tratamientos “Control” y “Stimplex®” y su relación con las temperaturas mínimas promedio.

La aplicación de Stimplex® buscó, entre otras cosas, incidir positivamente sobre la biosíntesis de lípidos (acelerando y/o incrementando la acumulación de aceite en los frutos) con el fin de aumentar la productividad del huerto, adelantar las cosechas dadas las condiciones ambientales restrictivas de la localidad en que se llevó a cabo esta investigación (bajas temperaturas y riesgo de heladas tempranas) y/o elevar el rendimiento industrial de la almazara; lo que no fue posible influenciar, ya que como se dijo anteriormente, ambos tratamientos resultaron ser iguales estadísticamente (Cuadro 14).

En contraposición a estos resultados, Chouliaras et al. (2009) comprobó mediante ensayos, que es posible incrementar la productividad en olivos variedad Koroneiki y el contenido de aceite de sus frutos en un 51 % y un 23 % respectivamente, cuando una correcta fertilización de boro y nitrógeno se complementa con aplicaciones de extractos de algas. Si bien el aumento de la magnitud de estas variables es algo que se podría esperar, ya que existen diversas investigaciones que así lo evidencian (Khan et al. 2009; Craigie, 2010; Norrie y Keathley, 2006), es posible inferir que estas respuestas tan positivas se hayan debido principalmente a que el ensayo citado se llevó a cabo bajo condiciones limitantes (no se suministró agua de riego (secano) ni se fertilizó), lo que permitió que el producto se

expresara de mejor forma. Craigie (2010) sostiene que bajo situaciones de estrés (bióticos y abióticos) los cultivos responden mejor a este tipo de aplicaciones, ya que les otorgan una mayor resistencia, lo que les permite desarrollarse con menor dificultad y, por ende, producir más y con mejor calidad.

Variables medidas en el aceite

La calidad, pureza y autenticidad de los aceites de oliva se ha venido estudiando durante el tiempo, mediante el uso de distintas metodologías y técnicas instrumentales que permiten evaluar la condición química en que se encuentran éstos (Moreda *et al.*, 1995). Estas técnicas se basan en diferentes pruebas de control (índice de peróxidos, acidez libre, coeficiente de extinción específica en el ultravioleta, etc.) cuyos valores indicativos permiten evidenciar dicha condición (Aparicio y Harwood, 2003d).

Acidez libre

Los lípidos juegan un papel fundamental en el metabolismo celular, ya que constituyen una fuente de energía y un almacén de materiales de reserva muy importante (Aparicio y Harwood, 2003c). Uno de los procesos que conduce a la alteración de estos lípidos, cuando el aceite aún se encuentra en los frutos, es la rancidez hidrolítica o lipólisis (Aparicio y Harwood, 2003a) provocada por la acción catalítica de enzimas derivadas de algunos microorganismos presentes en ellos. Esta alteración química es consecuencia del desacoplamiento de los ácidos grasos de los glicéridos, lo que provoca un aumento en la acidez libre del aceite, afectándose negativamente las características organolépticas de éste (Aparicio y Harwood, 2003c; Piscopo y Poiana, 2012).

Cuando se evaluó el efecto del extracto de algas pardas sobre la rancidez hidrolítica, se determinó que no hubo efecto tratamiento cuando se comparó T1 respecto de T0 (Cuadro 16) y que los valores obtenidos para ambos tratamientos se encontraron muy por debajo del límite permitido por el Consejo Oleícola Internacional (COI), quien categoriza al aceite de oliva como Virgen Extra cuando la acidez libre presente en él es inferior a 0,8 % de ácido oleico (COI, 2015). Este último antecedente permite corroborar que el estado de la fruta al momento de ser procesada fue óptimo, es decir, no presentaba signos de atroje o pudrición.

Cuadro 16. Acidez libre (%) de los aceites provenientes olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Acidez libre
	(%)
Control	0,13 a*
Stimplex®	0,11 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Índice de peróxidos

Con el paso del tiempo los aceites vegetales se ven expuestos a un continuo deterioro en su calidad, debido a la reacción que experimenta el oxígeno ambiental con los ácidos grasos presentes en el aceite (Antolín y Molero, 2000). Esta oxidación de los lípidos trae consigo la generación de compuestos indeseados (peróxidos e hidroperóxidos) que son muy susceptibles a experimentar una posterior oxidación o descomposición, lo que da origen a productos secundarios que afectan negativamente el *flavor*, aroma, sabor, valor nutricional y calidad sensorial del aceite (Aparicio y Harwood, 2003c). Para estimar el grado de oxidación inicial de los aceites comestibles existen diversos métodos químicos, siendo el índice de peróxidos el más utilizado, ya que permite detectar incipientes niveles de oxidación (Aparicio y Harwood, 2003a), además de presentar una alta correlación con las valoraciones sensoriales en aceites almacenados (Przybylski *et al.*, 1993).

Al analizar el nivel de oxidación de los aceites obtenidos, tanto del tratamiento testigo (T0) como de Stimplex®, fue posible ubicarlos en la categoría Virgen Extra, ya que ambos aceites obtuvieron valores muy por debajo los 20 miliequivalentes de O₂/kg de aceite (Cuadro 17), límite establecido por el COI para situar a los aceites de mejor calidad (COI, 2015). Estos resultados eran esperados, ya que como se dijo anteriormente para que un aceite se deteriore es necesario que tome contacto con el O₂ del ambiente durante un cierto periodo, lo que en este caso no ocurrió, ya que los análisis se llevaron a cabo casi inmediatamente después de procesados los frutos y extraído el aceite, lo que imposibilitó que los ácidos grasos reaccionaran con el oxígeno ambiental. En términos estadísticos ambos tratamientos resultaron ser iguales (Cuadro 17), es decir, la aplicación del bioestimulante en T1 no tuvo efecto sobre el nivel de oxidación del aceite extraído.

Cuadro 17. Índice de peróxidos de los aceites provenientes olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Índice peróxidos meq O ₂ /kg aceite
Control	5,13 a*
Stimplex®	5,03 a

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Ahora bien, cuando los valores obtenidos en este ensayo fueron comparados con los reportados por Romero *et al.* (2014), quienes obtuvieron 7,16 miliequivalentes de O₂/kg de aceite, es posible inferir que los aceites extraídos en este ensayo fueron mejor cuidados de las condiciones ambientales.

Coefficiente de extinción ultravioleta (K₂₃₂, K₂₇₀ y ΔK)

Una forma de cuantificar el grado de oxidación o enranciamiento de los aceites durante el tiempo es mediante una prueba espectrofotométrica en el ultravioleta, ya que permite, mediante absorbancia, detectar compuestos producidos durante la oxidación primaria y secundaria de éstos. La determinación de estos coeficientes de absorción específicos K₂₃₂, K₂₇₀ y ΔK en la región del ultravioleta, permiten proporcionar información relevante sobre el estado de conservación del aceite de oliva y del grado de adulteración de éste (mezclas con aceite de oliva refinado, de orujo u otro tipo de aceite vegetal) (Aparicio, 2003). Según lo establecido por el COI, los valores para cada uno de estos coeficientes no deben superar los 2,5 para K₂₃₂, 0,22 para K₂₇₀ y 0,01 para ΔK (COI, 2015).

Al analizar los valores obtenidos para el coeficiente de absorción K₂₃₂, que mide compuestos de oxidación primaria, fue posible comprobar que ambos tratamientos, T0 y T1, se encontraron bajo el límite máximo permitido por el COI (1,36 y 1,28 respectivamente) y que además no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos, lo que era posible esperar, ya que los aceites no fueron almacenados y, además, su contacto con el ambiente fue prácticamente nulo.

Mediante el análisis K₂₇₀ es posible detectar compuestos de oxidación secundaria y clasificar los aceites según la concentración que presenten. Cuando se analizaron ambos tratamientos fue posible clasificarlos dentro de la categoría virgen extra, ya que tanto Stimplex® como el Control obtuvieron valores muy por debajo del nivel umbral permitido (0,06 y 0,07 respectivamente), lo que se debió a que ambos aceites nunca estuvieron almacenados, ni fueron calentados, ni mucho menos refinados. En términos estadísticos no hubo efecto de la aplicación del extracto de algas sobre la oxidación secundaria, resultando ser ambos tratamientos iguales.

Si se quiere medir un nivel de oxidación mucho más avanzado es necesario utilizar el coeficiente ΔK, el cual además de cuantificar este nivel de oxidación entrega información relacionada con la pureza de los aceites, permitiendo detectar adulteraciones de hasta un 5 % (Aparicio y Harwood, 2003d). Cuando se midió esta variable en los aceites extraídos de los tratamientos T0 y T1 fue posible corroborar que ambos valores obtenidos (-0,0016 y -0,0025 respectivamente) se ubicaron muy por debajo del nivel máximo permitido, lo que permitió clasificarlos como Virgen Extra. En términos estadísticos el tratamiento testigo (T0) se diferenció del tratado con el extracto de *A. nodosum* (T1).

Cuadro 18. Coeficientes de extinción ultravioleta de los aceites provenientes olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Coeficientes de extinción ultravioleta		
	K232	K270	ΔK
Control	1,36 a*	0,07 a	$-1,6 \times 10^{-3}$ a
Stimplex®	1,28 a	0,06 a	$-2,5 \times 10^{-3}$ b

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Al comparar los valores obtenidos en este ensayo (Cuadro 18) con los publicados por Coronado (2018), quien reportó 1,55 para K_{232} , 0,15 para K_{270} y $-0,0027$ para ΔK , es posible notar que todos fueron más bajos, lo que se pudo deber a la rapidez con que se realizaron los análisis en este estudio, ya que en ambas investigaciones se utilizó la misma variedad de olivos (Arbequina).

Polifenoles totales

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios sintetizados en las olivas y transferidos al aceite durante el proceso de extracción, otorgándole cualidades sensoriales y nutricionales que lo diferencian del resto de los aceites (Aparicio y Harwood, 2003b). Su contenido tiene una fuerte base genética que puede verse afectada por las condiciones edafoclimáticas, las prácticas culturales o la madurez de los frutos (Conde *et al.*, 2008) y que, según lo publicado por Troncoso *et al.* (2006), puede categorizarse mediante rangos expresados en ppm de ácido cafeico (bajos, entre 50-200 ppm; medios, entre 200-400 ppm y altos, sobre 400 ppm).

Cuando se evaluó estadísticamente el efecto del bioestimulante sobre el contenido de polifenoles existente en los aceites, fue posible evidenciar que entre ambos tratamientos hubo diferencias estadísticamente significativas, pero en contraposición a lo esperado, fue el tratamiento Control el que presentó una mayor concentración de éstos (Cuadro 19), lo que pudo deberse a pequeñas diferencias expresadas durante el proceso de extracción del aceite, tales como: desajustes en la máquina de molienda, diferencias en la temperatura de batido, volumen de agua utilizado, contacto de la pasta con el agua, etc. (Boskou, 1998), o a que el extracto de algas pardas haya adelantado de cierto modo el envero de los frutos del tratamiento T1 y que con ello se haya producido un descenso del contenido de polifenoles del fruto, ya que como sostiene Conde *et al.* (2008), la cantidad de polifenoles presentes en las olivas disminuye conforme éstas se acercan a la madurez. Ahora bien, cuando se categorizaron dichas concentraciones según lo expuesto por Troncoso *et al.* (2006), el

tratamiento Control obtuvo niveles medios de polifenoles totales, mientras que Stimplex® niveles bajos.

Cuadro 19. Polifenoles totales de los aceites provenientes olivas variedad Arbequina.

Tratamiento	Polifenoles
	ppm ácido cafeico
Control	216,20 a*
Stimplex®	116,89 b

*Promedios unidos por letras iguales, en sentido vertical, no indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Finalmente, cuando se compararon los resultados expuestos en el Cuadro 19 con los reportados por Coronado (2018) fue posible evidenciar que el contenido de polifenoles obtenido en la misma variedad de olivos fue similar a la del tratamiento con Stimplex® (119 ppm).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir que:

- Aunque el uso de Stimplex® no tuvo un efecto significativo sobre la acumulación de aceite en los frutos, sería interesante evaluar desde el punto de vista económico el 3 % de aumento en el contenido final de aceite de este tratamiento.
- Las aplicaciones del extracto de *A. nodosum* tuvieron efecto sobre las variables peso y tamaño de frutos, debido a la presunta acción que desempeñaron las citoquininas (ingrediente activo Stimplex®) sobre la fisiología del árbol.
- El uso del bioestimulante no promovió el crecimiento vegetativo del árbol durante la temporada de evaluación.
- La calidad del aceite obtenido (de ambos tratamientos) permitió categorizarlo como Virgen Extra, según lo establecido por el COI.

BIBLIOGRAFÍA

Adams-Phillips, L., Barry, C. and Giovannoni, J. (2004). Signal transduction systems regulating fruit ripening. *Revista Trends Plant Science*, 9(7), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.05.004>

Antolín, I. y Moleno, M. (2000). Aplicación de la espectrofotometría UV-visible al estudio de la estabilidad térmica de aceites vegetales comestibles. *Grasas y aceites* 51(6), 424-428.

Aparicio, R y Harwood, J. (2003a). Manual del aceite de oliva. En A. Kiristsakis y W.W. Christie, (Eds.). *Análisis de aceites comestibles* (pp. 135-162). Ediciones A. Madrid Vicente y Ediciones Mundi-Prensa.

Aparicio, R y Harwood, J. (2003b). Manual del aceite de oliva. En M.T. Morales y M. Tsimidou (Eds.). *El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva* (pp. 381-442). Ediciones A. Madrid Vicente y Ediciones Mundi-Prensa.

Aparicio, R y Harwood, J. (2003c). Manual del aceite de oliva. En M.T. Morales y R. Przybylski (Eds.). *Oxidación del aceite de oliva* (pp. 443-474). Ediciones A. Madrid Vicente y Ediciones Mundi-Prensa.

Aparicio, R y Harwood, J. (2003d). Manual del aceite de oliva. En R. Aparicio (Ed.). *Autenticación del aceite de oliva* (pp. 475-503). Ediciones A. Madrid Vicente y Ediciones Mundi-Prensa.

Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. (2004). El cultivo del olivo. Ediciones Mundi-Prensa.

Beyá-Marshall, V. and Fichet, T. (2016). Crop load regulates the next season's crop potential and fruit components in Frantoio olive trees (*Olea europaea* L.). *Revista Scientia Horticulturae*, 215(1), 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.051>

Boskou, D. (1998). Química tecnología del aceite de oliva. Mundi-Prensa.

Cherubini, Ch., Migliorini, M., Mugelli, M., Viti, P., Berti, A., Cini, E. and Zenoni, B. (2008). Towards a technological ripening index for olive oil fruits. *Revista Journal of the Science of Food Agriculture*, 89(4), 671-682. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3499>

ChileOliva. s/a. *El olivo en Chile*. <https://www.chileoliva.cl/es/origen-chile/>

- Chouliaras, V., Tasioula, M., Chatzissavvidis, C., Therios, I. and Tsabolatidou, E. (2009). The effects of a seaweed extract in addition to nitrogen and boron fertilization on productivity, fruit maturation, leaf nutritional status and oil quality on the olive (*Olea europaea*) cultivar Koroneiki. *Revista Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6), 984-988. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3543>
- Conde, C., Delrot, S. and Gerós, H. (2008). Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Revista Journal of Plant Physiology*, 165(1), 1545-1562. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.04.018>
- Consejo Oleícola Internacional (2021). Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva. Codex Alimentarius.
- Coronado, B. (2018). Efecto de la aplicación de Forclorfenurón (CPPU) sobre el contenido de azúcares totales en olivos, variedad Arbequina y Arbosana, y su correlación con la acumulación de aceite en el fruto [Memoria de Título, Universidad de Chile].
- Craigie, J.S. (2010). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Revista Journal of Applied Phycology*, 23(1), 371-393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Crouch, I.J. and Van Staden, J. (1992). Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Revista Journal of Applied Phycology*, 4(1), 291-296. <https://doi.org/10.1007/BF02185785>
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Gonzalez, L., Tablada, E., Díaz, M., Robledo, C. y Balzarani, M. (2005). Estadística para las Ciencias Agropecuarias. Editorial Brujas.
- Featonby-Smith B.C., and J. Van Staden, J. (1984). The effect of seaweed concentrate and fertilizer on growth and the endogenous cytokinin content of *Phaseolus vulgaris*. *Revista South African Journal of Botany*, 3(6), 375-379. [https://doi.org/10.1016/S0022-4618\(16\)30006-7](https://doi.org/10.1016/S0022-4618(16)30006-7)
- Fichet, T. y Henríquez, J.L. (2013a). Aportes al conocimiento del olivo en Chile. En M. Hurtado, K., Estay y E., Sepúlveda, (Eds.). *Influencia del manejo agronómico sobre la calidad del aceite de oliva* (pp. 205-221). Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.
- Fichet, T. y Henríquez, J.L. (2013b). Aportes al conocimiento del olivo en Chile. En N. Franck y V. García de Cortázar (Eds.). *Relaciones fuente-sumidero y balance de carbono* (pp. 71-85). Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Fichet, T. y Henríquez, J.L. (2013c). Aportes al conocimiento del olivo en Chile. En T. Fichet (Ed.). *Manejo de la carga frutal y su relación con el añerismo* (pp. 39-85). Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Fichet, T. y Henríquez, J.L. (2013d). Aportes al conocimiento del olivo en Chile. En T. Fichet y J.L. Henríquez (Eds.). *Prologo* (pp. 11-12). Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Fichet, T. y Henríquez, J.L. (2013e). Aportes al conocimiento del olivo en Chile. En T. Fichet y L. Prat (Eds.). *Comportamiento fenológico del olivo en Chile* (pp. 13-38). Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Frías, L., García-Ortiz, A., Hermoso, M., Jiménez, A., Llaverero del Pozo, M., Bernardio, J., Ruano, M. y Uceda M. (2001). Analistas de laboratorio de almazara. Ediciones J. de Haro Artes Gráficas.

García, J.M. y Mancha, M. (1992). Evolución de la biosíntesis de lípidos durante la maduración de las variedades de aceituna “Picual” y “Gordal”. *Revista Grasas y aceites* 43(5), 277-280. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.1992.v43.i5.1140>

Gonzalez, P. (2011). Influencia de la temperatura y el tiempo de batido en la calidad del aceite de oliva variedad Arbequina [Memoria de Título, Universidad de Chile].

Hahn, H., de Zacks, R., and Kende, H. (1974). Cytokinin formation in pea seeds. *Revista Naturwissenschaften*, 61(4), 170–171. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00602596>

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J. and Prithiviraj, B. (2009). Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Revista Journal of Plant Growth Regulation*, 28(1), 386-389. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>

Lavee, S. and Wodner, M. (1991). Factors affecting the nature of oil accumulation in fruit of olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Revista Journal of Horticultural Science*, 66(5), 583-591. <https://doi.org/10.1080/00221589.1991.11516187>

Lavee, S. and Wodner, M. (2004). The effect of yield, harvest time and fruit size on the oil content in fruits of irrigated olive trees (*Olea europaea* L.), cvs. Barnes and Manzanillo. *Revista Scientia Horticulturae* 99(3-4), 267-277. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00100-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00100-6)

Li, X., Kobayashi, F., Ikeura, H. and Hayata, Y. (2010). Chlorophenoxyacetic acid and chloropyridylphenylurea accelerate translocation of photoassimilates to parthenocarpic and

seede fruits of muskmelon (*Cucumis melo*). *Revista Journal of Plant Physiology*, 168(9), 920-926. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.005>

Moreda, W., Pérez Camino, M. C. y Cert, A. (1995). Determinación de algunos parámetros de pureza en aceites de oliva. Resultados de un estudio colaborativo. *Revista Grasas y aceites* 46(4-5), 279-284. <https://doi.org/10.3989/gya.1995.v46.i4-5.938>

Muzzalupo, I. (2012). Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. En A. Piscopo y M. Poiana (Eds.). *Packaging and storage of olive oil* (pp. 201-222). InTechOpen Editorial.

Norrie, J. and Keathley, J.P. (2006). Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to “Thompson seedless” grape production. *Revista Acta Horticulturae*, 727(27), 243-248. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.727.27>

Pastor, M., Hidalgo J., Vega, V., Girona i Gomis, J., Soria, L., Orgaz, F., Fernández, E., Fernández, M. y Rojo, J. (2001). Programación de riego en olivar. En J. Girona i Gomis (Ed.). *Estrategias de riego deficitario controlado en olivar* (pp. 39-58). Junta de Andalucía.

Przybylski, R., Malcolmson, L.J., Eskin, N.A.M., Durance-Tod, S., Mickle, J. and Carr, R. (1993). Stability of low linolenic acid canola oil to accelerated storage at 60°C. *Revista Food science and technology*, 26(3), 205-209. <https://doi.org/10.1006/fstl.1993.1045>

Rayorath, P., Jithesh, M.N., Farid, A., Khan, W., Palanisamy, R., Hankins, S.D., Critchley, A.T. and Prithiviraj, B. (2007). Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) *Revista Heynh. Journal of Applied Phycology*, 20(1), 423-429. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9280-6>

Romero, N., Tapia, F., Saavedra, J., Araniti, V. y Bauzá, M. (2014). Levantamiento y procesamiento de información de variedades de olivo con potencial económico para mejoramiento oferta exportable. Corporación de Fomento de la Producción (CORFO).

Sepúlveda, E. (1998). Manual de trabajos prácticos de análisis de alimentos. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

Sudzuki, K. (2006). Fenología de cuatro variedades de olivo para aceite en la comuna de Melipilla, Región Metropolitana [Memoria de Título, Universidad de Chile].

Tapia, F., Astorga, M., Ibacache, A., Martínez, L., Sierra, C., Quiroz, C., Larraín, P. y Riveros, F. (2003). Manual del cultivo del Olivo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Trentacoste, E., C. Puertas, C. and V. Sadras, V. (2012). Modelling the intraspecific variation in the dynamics of fruit growth, oil and water concentration in olive (*Olea europaea* L.). *Revista European Journal of Agronomy*, 38(1), 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2012.01.001>

Trentacoste, E., Puertas, C. and Sadras, V. (2010). Effect of fruit load on oil yield components and dynamics of fruit growth and oil accumulation in olive (*Olea europaea* L.). *Revista European Journal of Agronomy*, 32(4), 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2010.01.002>

Troncoso, H., Jamett, F., Benavides A. y Astorga M. (2006). Caracterización química de aceites de oliva producidos en la región de Coquimbo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Tsimidou, M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Revista Italian Journal of Food Science*, 10(2), 99-116.

Ugarte, R.A., Sharp, G. and Moore, B. (2006). Changes in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Plant morphology and biomass produced by cutter rake harvests in southern New Brunswick, Canada. *Revista Journal of Applied Phycology* 18(1): 351–359. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9044-8>

APÉNDICE I



HOJA DE ESPECIFICACIÓN TÉCNICA

STIMPLEX® Bioestimulante del Cultivo

STIMPLEX®, es un producto registrado en la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA), como bioestimulante del cultivo, o como regulador natural del crecimiento vegetal, (Plant Growth Regulator, PGR). STIMPLEX® comienza trabajando a nivel celular, estimulando el crecimiento y desarrollo de las plantas, y conlleva a un aumento de los rendimientos y calidad de las cosechas.

Ingredientes activos:

Citoquininas:	0.01% (100 ppm como Kinetin)
Otros Ingredientes:	<u>99.99%</u>
TOTAL:	100.00%

Propiedades físicas

Apariencia:	Líquido viscoso color marrón-negro (pardo)
Materia orgánica:	8.0 - 12.0%
Cenizas (minerales):	8.0 - 12.0%
Densidad:	1.12 g / ml
Solubilidad:	100.0% Soluble en agua
pH:	3.6 - 4.0

Otros Ingredientes*:

Nitrógeno (N):	0.5 - 1.0%
Fosfato Disponible (P ₂ O ₅):	2.5 - 3.5%
Potasa Soluble (K ₂ O):	3.0 - 5.0%
Azufre (S)	0.2 - 0.4%
Magnesio (Mg)	0.04 - 0.1%
Calcio (Ca)	0.08 - 0.12%
Hierro (Fe)	20 - 50 ppm
Cobre (Cu)	1 - 3 ppm
Cinc (Zn)	5 - 10 ppm
Manganeso (Mn)	1 - 3 ppm
Boro (B)	10 - 30 ppm
Cromo	< 1 ppm

Análisis De Aminoácidos*:

Alanina	0.05%
Ácido Aspártico	0.09%
Ácido Glutámico	0.13%
Glicina	0.04%
Isoleucina	0.05%
Leucina	0.06%
Lisina	0.03%
Metionina	0.02%
Fenilalanina	0.05%
Prolina	0.05%
Tirosina	0.04%
Triptofano	0.01%
Valina	0.05%

*Medidas Representadas en p/p

Registro EPA: #67016-1